

Akademia Nauk Stosowanych w Nowym Sączu

Joanna Wyrostek, Monika Golonka

**Biochemia z elementami chemii –
skrypt do ćwiczeń laboratoryjnych**

Nowy Sącz 2025

Redaktor Naukowy

dr Joanna Wyrostek, dr Monika Golonka

Recenzje

prof. dr hab. Ewa Sadowska-Krępa
dr Ewa Śliwicka

Redaktor Techniczny

dr Tamara Bolanowska-Bobrek

© Copyright by Akademia Nauk Stosowanych w Nowym Sączu
Nowy Sącz 2025

ISBN 978-83-67661-63-8

Wydawca

Akademia Nauk Stosowanych w Nowym Sączu
ul. Staszica 1, 33-300 Nowy Sącz
tel.: +48 18 443 45 45, e-mail: sog@ans-ns.edu.pl
www.ans-ns.edu.pl

Adres redakcji

Wydawnictwo Naukowe Akademii Nauk Stosowanych w Nowym Sączu
ul. Staszica 1, 33-300 Nowy Sącz
tel.: +48 18 443 45 45, e-mail: wn@ans-ns.edu.pl, tbolanowska@ans-ns.edu.pl
wydawnictwo.ans-ns.edu.pl

Druk

Wydawnictwo i drukarnia NOVA SANDEC s.c.
Mariusz Kałyniuk, Roman Kałyniuk
ul. Lwowska 14, 33-300 Nowy Sącz
tel.: +48 18 441 02 88, e-mail: biuro@novasandec.pl

Spis treści

WSTĘP	6
WPROWADZENIE DO PRACY W LABORATORIUM	7
1. Organizacja, zasady pracy w laboratorium i przepisy BHP	7
2. Podstawowe szkło i sprzęt laboratoryjny	8
3. Podstawowe czynności laboratoryjne.....	10
3.1. Ważenie.....	10
3.2. Odmierzanie cieczy.....	11
3.3. Ogrzewanie cieczy	11
3.4. Zapalanie i gaszenie palnika gazowego.....	11
3.5. Rozpuszczanie i roztwarzanie substancji.....	12
3.6. Pomiar pH przy użyciu pH-metru.....	12
4. Jednostki układu SI.....	13
5. Rodzaje stężeń roztworów i sposoby ich obliczania	14
6. Metody analizy chemicznej: miareczkowanie i spektrofotometria	20
6.1. Miareczkowanie	20
6.2. Podstawy spektrofotometrii	21
CZĘŚĆ TEORETYCZNA.....	25
1. Równowaga chemiczna w roztworach wodnych – wybrane zagadnienia.....	25
1.1. Dysocjacja elektrolityczna i stopień dysocjacji	25
1.2. Stała równowagi reakcji.....	26
1.3. Hydroliza soli.....	28
1.4. Autodysocjacja wody.....	29
1.5. pH roztworów	29
1.6. Roztwory buforowe	32
1.7. Równowaga kwasowo-zasadowa organizmu	34
2. Podstawowe własności aminokwasów	36

3. Peptydy i białka	40
3.1. Czynniki wpływające na strukturę białek.....	42
3.1.1. Środowisko wodne.....	42
3.1.2. Środowisko soli.....	43
3.1.3. Czynniki denaturujące	43
3.2. Charakterystyka wybranych białek	43
3.2.1. Mioglobina i hemoglobina.....	43
3.2.2. Kolagen i elastyna.....	46
3.2.3. Aktyna i miozyna	47
4. Enzymy.....	47
5. Węglowodany.....	52
6. Lipidy i kwasy tłuszczowe	58
7. Pochodne lipidów	61
8. Zadania do samodzielnego rozwiązania.....	62
CZEŚĆ DOŚWIADCZALNA	63
1. Przygotowywanie roztworów o określonym stężeniu lub objętości	63
2. Ocena pH roztworów.....	64
3. Określenie pH i stopnia dysocjacji kwasu octowego w roztworze wodnym	65
4. Sporządzanie buforu octanowego i badanie jego własności	65
5. Badanie własności buforu fosforanowego	67
6. Badanie własności buforujących białek	68
7. Krzywe miareczkowania dla elektrolitów mocnych i słabych.....	69
8. Oznaczanie stężenia kwasu solnego roztworem wodorotlenku sodu. Analiza miareczkowa	70
9. Analiza jakościowa aminokwasów (wybrane reakcje)	70
10. Ocena własności białek	71
11. Wyznaczanie pI kazeiny.....	72
12. Wyznaczanie widm absorpcyjnych białek przy użyciu spektrofotometrii UV	73
13. Rozkład sacharozy przy udziale inwertazy	74
14. Wykrywanie obecności katalazy	74
15. Próba Molischa.....	74
16. Wykrywanie obecności cukrów redukujących.....	75
17. Próba Tollensa	75
18. Próba Seliwanowa	76
19. Próba Barfoeda	76
20. Próba Wöhlkego	76
21. Hydroliza sacharozy	77

22. Badanie własności skrobi	77
23. Próba Libermann-Burcharda	78
24. Otrzymywanie i reakcja wysalania mydła.....	78
25. Badanie własności wolnych kwasów tłuszczowych i tłuszczu właściwych	79
26. Oznaczenie liczby kwasowej tłuszczu.....	80
BIBLIOGRAFIA.....	81

WSTĘP

Niniejszy skrypt przeznaczony jest przede wszystkim dla studentów kierunków Fizjoterapia oraz Wychowanie fizyczne o profilu praktycznym, a także kierunków pokrewnych, realizowanych w Akademii Nauk Stosowanych w Nowym Sączu. Może być również wykorzystywany na innych kierunkach studiów, w tym na uczelniach akademickich.

Publikacja składa się z części teoretycznej oraz zadań obliczeniowych i opisów doświadczeń chemicznych. Istnieje wiele dostępnych publikacji z tej tematyki, o znacznie szerszym zakresie merytorycznym, jednak, biorąc pod uwagę specyfikę kształcenia w ANS w Nowym Sączu, Autorki uznały, że studenci powinni mieć możliwość korzystania z materiałów dostosowanych do autorskich metod dydaktycznych. Jednym z celów Auterek było zebranie oraz przedstawienie zadań, które mogą być wykorzystywane do uzyskania zaliczenia przedmiotu. Z tego względu zrezygnowano z prezentowania pełnych rozwiązań.

Podział skryptu jest zgodny z układem tematycznym prowadzonych zajęć laboratoryjnych.

WPROWADZENIE DO PRACY W LABORATORIUM

1. Organizacja, zasady pracy w laboratorium i przepisy BHP

Poniższe wytyczne stanowią wprowadzenie do prawidłowego i bezpiecznego wykonywania podstawowych czynności laboratoryjnych.

PRZEPISY PORZĄDKOWE

1. Każdy student jest odpowiedzialny za porządek na stanowisku, przy którym pracuje.
2. Na stole laboratoryjnym powinien się znajdować jedynie ten sprzęt, który w danej chwili jest potrzebny do pracy.
3. Butelki z odczynnikami przeznaczonymi do wspólnego użytku należy natychmiast po użyciu odstawić w wyznaczone miejsce.
4. Nie wolno zostawiać otwartych butelek z odczynnikami.
5. Nie wolno oddzielać korków od butelek.
6. W czasie ćwiczeń studenci mogą korzystać tylko ze sprzętu przydzielonego im przez prowadzącego.
7. Naczynia szklane, przed użyciem, należy dokładnie obejrzeć i w przypadku pęknięcia, wyszczerbienia, porysowania lub zabrudzenia należy je wymienić lub umyć.
8. Resztki nieużytych odczynników i zlewki poreakcyjne należy po zakończonym ćwiczeniu wylać do pojemników na odpady chemiczne.
9. Do mycia szkła i naczyń laboratoryjnych należy używać wody wodociągowej, a do ich płukania wody destylowanej.
10. W przypadku rozlania odczynnika należy wytrzeć zalaną powierzchnię.
11. Zbite szkło zebrać i umieścić w pojemniku na stłuczki.
12. Zabronione jest spożywanie posiłków i picie napojów w laboratorium.
13. Przed wyjściem z zajęć należy dokładnie umyć ręce.
14. Po zakończeniu pracy należy uporządkować stanowisko, umieścić na właściwych miejscach odczynniki i sprzęt laboratoryjny, umyć szkło i odstawić na suszarkę. Stół laboratoryjny powinien być czysty i suchy.

PRZEPISY BEZPIECZEŃSTWA I HIGIENY PRACY

1. Do wykonywania ćwiczeń laboratoryjnych mogą przystąpić jedynie te osoby, które zapoznały się z regulaminem pracowni, zasadami BHP i posiadają odzież ochronną (fartuch, okulary, rękawiczki). Fartuch powinien być uszyty z włókien naturalnych. Nie powinno się stosować odzieży ochronnej z łatwopalnych włókien syntetycznych.
2. Doświadczenia należy wykonywać według otrzymanych instrukcji i wskazówek osoby prowadzącej zajęcia na miejscu do tego celu wyznaczonym.
3. Niedopuszczalne jest wykonywanie prac nieobjętych zakresem zajęć.

4. Roztwory substancji żrących i trujących należy pipetować przy użyciu pompek do pipetowania lub odmierzać za pomocą dozowników.
5. Doświadczenia w trakcie, których mogą wydzielać się trujące substancje gazowe, należy wykonywać pod wyciągiem.
6. W trakcie ogrzewania cieczy nie należy nachylać się nad otwartym naczyniem.
7. W przypadku ogrzewania roztworu znajdującego się w probówce, wylot próbówki należy kierować w stronę, gdzie nikogo nie ma.
8. Przy oznaczaniu cech organoleptycznych preparatów (zapach) należy jedną ręką trzymać otwarte naczynie w pobliżu nosa, a drugą wachlować wylot, nagarniając powietrze w kierunku nosa.
9. O każdym wypadku (poparzenie, połknięcie odczynnika, skaleczenie) powiadomić prowadzącego zajęcia.

Po zajęciach, przed opuszczeniem laboratorium, sprawdź czystość na swoim stanowisku pracy. Pozostaw to miejsce w takim porządku, w jakim sam chciałbyś go zastać, przychodząc na zajęcia.

2. Podstawowe szkło i sprzęt laboratoryjny

- a) **Probówki** służą do przeprowadzania jakościowych reakcji chemicznych. Wykonane są z cienkościennej szkła. Probówki można ogrzewać bezpośrednim płomieniem palnika pod warunkiem, że ogrzewana w nich ciecz jest niepalna, a płomień palnika jest niekopący.
- b) **Zlewki** to naczynia o najbardziej ogólnym zastosowaniu. Różnią się od siebie pojemnością i stosunkiem wysokości do średnicy. Rozróżnia się zlewki wysokie oraz niskie, a na ściance posiadają naniesioną uproszczoną skalę, ułatwiającą określenie objętości. Wykorzystywane są do ogrzewania roztworów pod ciśnieniem atmosferycznym (roztwór powinien zajmować od 1/3 do 2/3 objętości zlewki), do sporządzania roztworów i przeprowadzania reakcji chemicznych w fazie ciekłej.
- c) **Eksykatory** służą do przechowywania tygli i substancji absorbujących wilgoć lub do suszenia substancji pod próżnią. W dolnej części eksykatora umieszcza się substancję suszącą, np. żel krzemionkowy, bezwodny chlorek wapnia.
- d) **Krystalizatory** przeznaczone są do powolnej krystalizacji substancji stałych z roztworów wodnych. W porównaniu ze zlewkami mają mniejszy stosunek wysokości do średnicy, co ułatwia parowanie rozpuszczalnika. Nie wolno ich ogrzewać – ani na płytce elektrycznej, ani nad płomieniem palnika. Krystalizatory często używane są jako naczynia pomocnicze.
- e) **Szkiełka zegarkowe** są wygodne do wykonywania pojedynczych reakcji kroplowych, suszenia niewielkich ilości substancji, odważania substancji stałych i do przykrywania zlewek.
- f) **Szalka Petriego** to naczynie laboratoryjne o kształcie płaskiej podstawki z szerokim dnem i niskimi ściankami bocznymi. Wykonywana jest ze szkła lub tworzywa sztucznego. Zazwyczaj występuje w komplecie złożonym z dwóch części o różnych średnicach (jedna stanowi podstawę, zaś druga – pokrywę). Szalki Petriego są powszechnie stosowane do hodowli mikroorganizmów, mogą być też używane jako naczynia pomocnicze – do przechowywania, suszenia czy krystalizacji niewielkich ilości substancji chemicznych.

- g) **Naczynko wagowe** służy do dokładnego odważania substancji stałych. Najczęściej wykonane jest ze szkła. Często wyposażone jest w pokrywkę, która chroni substancję przed zanieczyszczeniem oraz ulatnianiem, a także ułatwia jej przechowywanie.
- h) **Lejek** służy do przelewania cieczy, przesypywania substancji sypkich oraz prowadzenia filtracji. Ma kształt stożka, zwężając się ku dołowi.
- i) **Kolby** to naczynia laboratoryjne o różnorodnych kształtach oraz pojemnościach, przeznaczonych do różnych zastosowań. Najczęściej stosowane są kolby stożkowe, kuliste i miarowe.

Kolby stożkowe mają kształt stożka i są używane do przeprowadzania reakcji chemicznych. Dzięki płaskiemu dnu można je stabilnie stawiać na twardej, płaskiej powierzchni. Występują w wersjach ze szlifem lub bez.

Kolby kuliste (okrągłodenne) charakteryzują się okrągłym dnem i mogą mieć jedną lub kilka szyjek. Są stosowane w procesie destylacji, reakcji nitrowania, zobojętniania i innych. Bardziej praktyczne w użyciu są kolby kuliste z płaskim dnem. Po postawieniu na płaskiej powierzchni nie przewracają się. Dobór odpowiedniej kolby uzależniony jest od procesu, który chcemy w niej przeprowadzić.

Kolby miarowe wykorzystywane są do sporządzania roztworów o ściśle określonym stężeniu. Mogą też pełnić funkcję naczyń do tymczasowego przechowywania roztworów. Mają kuliste i płaskie dno oraz długą szyjkę.

- j) **Pipeta** to rurka szklana lub z tworzywa sztucznego o zwężonym wylocie, służąca do odmierzania i przenoszenia małych objętości cieczy. Istnieje kilka rodzajów pipet.

Pipety jednomiarowe są to rurki szklane, w środkowej części rozszerzone, z oznaczoną kreską kalibracyjną. Służą do dokładnego odmierzania ściśle określonej objętości cieczy. Końcówka pipety jest zwężona.

Pipety wielomiarowe są to rurki szklane z podziałką, stosowane do odmierzania (zazwyczaj mniej dokładnego) określonych objętości cieczy. Oznakowane są podobnie jak kolby miarowe.

Pipety Pasteura, zwane kropłomierzami, mają charakter sprzętu jednorazowego użytku. Przy ich pomocy pobiera się i przenosi niewielkie ilości cieczy w formie kropli.

Pipeta automatyczna, zwana również mikropipetą, to urządzenie z tłokiem i mechanizmem do regulacji objętości, umożliwiające precyzyjne dozowanie cieczy o bardzo małych objętościach (od 1 μ l do 5 ml). Pipeta ta wymaga użycia wymiennych końcówek z tworzywa sztucznego (tzw. tips).

- k) **Biurety** służą do odmierzania i dozowania różnych objętości cieczy, a przede wszystkim do miareczkowania. Wyróżnia się m.in. biurety z kurkiem lub z kulką szklaną, biurety Schellbacha z niebieskim paskiem na białym tle tylnej ścianki biurety, biurety z automatycznym nastawianiem zera oraz biurety połączone z pojemnikiem na titrant.

l) Cylinder miarowy służy do odmierzania cieczy, gdy nie jest wymagana wysoka dokładność pomiaru jej objętości.

m) Sprzęt pomocniczy

Bagietka to szklany pręt, służący do mieszania zawartości zlewek oraz kolb stożkowych i przenoszenia osadów na sączek.

Tryskawka jest przeznaczona do dozowania rozpuszczalników podczas przemywania osadu na sączku lub spłukiwania szkła.

Szpatułka laboratoryjna to niewielka, wąska łopatka, zazwyczaj wykonana ze stali nierdzewnej, używana do skrobania, przenoszenia, nakładania lub mieszania substancji.

Moździerz laboratoryjny z tłuczkiem służy do ręcznego rozdrabniania, ucierania i mieszania substancji stałych lub półstałych.

Łapy drewniane (uchwyty) są używane do bezpiecznego manipulowania probówkami, zwłaszcza w przypadku ogrzewania ich nad palnikiem lub przenoszenia w łaźni wodnej. Wykonane z drewna, izolują termicznie i chronią przed poparzeniami.

Płytki porcelanowe do reakcji kroplowych mają wgłębienia, w których przeprowadza się reakcje chemiczne na niewielkich ilościach odczynników. Do wgłębień dodaje się krople różnych roztworów i obserwuje przebieg reakcji.

Palnik służy do wytwarzania płomienia, który wykorzystywany jest w celu podgrzewania różnych naczyń laboratoryjnych oraz preparatów. Może być zasilany gazem lub spirytusem denaturowanym.

Trójnóg to stabilna podpora używana do ustawiania i podgrzewania naczyń laboratoryjnych.

Statywy stanowią podstawę do montowania aparatury.

3. Podstawowe czynności laboratoryjne

3.1. Ważenie

Do ważenia w laboratoriach wykorzystuje się dźwigniowe wagi techniczne (nośność: 100-1000 g, dokładność: $\pm 0,01$ g) oraz analityczne (nośność: 100-200 g, dokładność: $\pm 0,1$ mg). Obecnie w większość laboratoriów korzysta się z elektronicznych automatycznych wag analitycznych. Posiadają one układ kalibracji wewnętrznej, który zapewnia utrzymanie dokładności pomiarów w czasie eksploatacji bez ingerencji użytkownika. Wagi analityczne powinny być ustawiane w specjalnych pomieszczeniach wagowych zabezpieczonych przed kurzem, wilgocią, zmianami temperatury oraz słońcem. Powinny być też ustawione na specjalnych stolikach przeciwdziałających drganiom i wstrząsom. Podczas pomiaru należy przestrzegać podstawowych zasady użytkowania wag analitycznych:

- waga powinna być czysta i wypoziomowana;
- waga nie może być obciążana powyżej nośności;
- ważone substancje nie powinny być kładzione bezpośrednio na szlacie wagi;
- wstawianie i zdejmowanie szkiełka zegarkowego z szalki należy wykonywać spokojnym ruchem, a przedmioty ważone należy umieszczać na środku szalki;

- e) nie należy ważyć gorących ani bardzo zimnych przedmiotów, ponieważ może to zakłócić pomiar;
- f) wyniki ważenia należy dokładnie odczytywać i zapisywać;
- g) waga nieużywana powinna pozostawać nieobciążona.

3.2. Odmierzanie cieczy

a) Pipetą miarową

Wymaga nałożenia specjalnej nasadki, pompki lub trózzaworowej gruszki na górny jej koniec, w celu bezpiecznego i precyzyjnego pobierania cieczy.

b) Pipetą automatyczną

Tłok pipety należy wcisnąć do pierwszego oporu, po czym zanurzyć końcówkę pipety pionowo 2-3 mm pod powierzchnię odmierzanej cieczy. Następnie powoli zwolnić tłok, zapewniając gładki jego przesuw oraz zassanie cieczy do końcówki. Odczekać 2-3 sekundy, wyciągnąć końcówkę z cieczy, przesuwając po ścianie naczynia (pionowo). Następnie przenieść pipetowaną ciecz do naczynia docelowego, dotykając końcówką ścianki lub dna naczynia, powoli nacisnąć tłok do pierwszego oporu, po czym docisnąć tłok do drugiego oporu i opróżnić z końcówki pozostałości odmierzanej cieczy.

3.3. Ogrzewanie cieczy

a) W probówce

Podczas ogrzewania cieczy w probówce należy trzymać ją w pozycji ukośnej przy użyciu drewnianej łyły. Probówka powinna być napełniona cieczą maksymalnie do 1/3 swojej objętości. Wylot probówki musi być skierowany z dala od siebie i innych osób. Ogrzewanie należy prowadzić z boku, w pobliżu lustra cieczy, a nie bezpośrednio przy dnie naczynia. Probówkę ogrzewa się w nieświecącym płomieniu palnika (bez widocznego stożka), stale mieszając jej zawartość. Aby uniknąć przegrzania cieczy bądź nagłego wrzenia, proces ogrzewania powinien przebiegać w umiarkowanym, kontrolowanym tempie.

b) W zlewce

Wylot zlewki należy zakryć szkiełkiem zegarkowym o odpowiedniej średnicy, kategorycznie unikając stosowania szczelnych zamknięć, tj. korki, zakrętki czy hermetyczne pokrywki. Naczynie powinno być odizolowane specjalną płytą izolacyjną od źródła ciepła – w przypadku ogrzewania nad palnikiem gazowym jest to bezwzględnie konieczne. Zlewki należy wypełniać cieczą do maksymalnie 2/3 ich objętości, a kolby stożkowe i krystalizatory – do połowy. Aby uniknąć przegrzania cieczy, ogrzewanie powinno odbywać się w wolnym tempie.

3.4. Zapalanie i gaszenie palnika gazowego

Zasady zapalania

- a) Należy upewnić się, że główny zawór gazowy w laboratorium został odkręcony (zawór odkręca wykładowca), następnie odkręcić zawór znajdujący się przy stole laboratoryjnym.
- b) Sprawdzić, czy dopływ powietrza jest całkowicie zamknięty (pierścień regulujący dopływ powietrza powinien być zakręcony).

- c) Palącą się zapałkę należy zbliżyć do palnika, a następnie powoli odkręcić kurek przy palniku i regulować dopływ powietrza, odkręcając pierścień. Nie wolno postępować w kolejności odwrotnej, gdyż przy zbyt dużym dopływie powietrza może nastąpić tzw. przeskoczenie płomienia.
- d) Na początku gaz zapala się, tworząc świecący płomień. Następnie, poprzez regulację dopływu powietrza, należy ustawić płomień w taki sposób, aby był wyraźnie widoczny jego podział na dwa stożki: wewnętrzny i zewnętrzny.
- e) W przypadku „przeskoczenia” płomienia, należy natychmiast zgasić palnik (odcinając dopływ gazu), palnik można zapalić dopiero po ostygnięciu.

Uwaga! Nie wolno pozostawiać palących się palników bez nadzoru.

Zasady gaszenia płomienia

- a) Przed zgaszeniem palnika, w pierwszej kolejności należy zamknąć dopływ powietrza.
- b) Następnie zamknąć kurek gazowy znajdujący się przy stole laboratoryjnym, a po zgaśnięciu płomienia należy zakręcić kurek gazowy znajdujący się przy palniku.
- c) Zamknąć główny zawór gazowy w laboratorium (zawór zakręca wykładowca).

3.5. Rozpuszczanie i roztwarzanie substancji

Rozpuszczanie i roztwarzanie ciał stałych w cieczach to jedne z najczęściej wykonywanych czynności w praktyce laboratoryjnej, ponieważ większość reakcji chemicznych przeprowadza się w roztworach. Rozpuszczanie polega na przechodzeniu substancji stałej do roztworu – bez zmiany jej składu chemicznego, a roztwarzanie jest procesem chemicznym, w którym substancja stała reaguje z rozpuszczalnikiem, tworząc nowe produkty. Przykładowo, rozpuszczamy substancje takie jak cukier czy sól kuchenną w wodzie, a roztwarzamy wodorotlenek żelaza w kwasie solnym czy miedź w kwasie azotowym.

3.6. Pomiar pH przy użyciu pH-metru

Dostępny w laboratorium pH-metr jest przystosowany do współpracy z kombinowaną elektrodą pH-metryczną. W czasie spoczynku elektroda zanurzona jest w roztworze zapobiegającym wysychaniu membrany szklanej, znajdującej się na jej końcu. W celu wykonania pomiaru pH, koniec elektrody należy przemyć wodą destylowaną i osuszyć ręcznikiem papierowym, a następnie zanurzyć w zlewce zawierającej badany roztwór. Pomiar pH pojedynczego roztworu powinien trwać ok. 5 minut (ustalenie się równowagi jonowej). Każdorazowo po wykonaniu pomiaru, elektrodę należy ponownie przemyć wodą destylowaną i osuszyć ręcznikiem papierowym. Po zakończeniu wszystkich pomiarów elektrodę (po wcześniejszym umyciu i osuszeniu) należy zanurzyć w roztworze zapobiegającym wysychaniu membrany szklanej.

4. Jednostki układu SI

Układ SI (Międzynarodowy Układ Jednostek Miar) to spójny układ jednostek miar oparty na siedmiu jednostkach służących do wyrażania podstawowych wielkości fizycznych (tabela 1).

Tabela 1

Podstawowe jednostki miar w układzie SI

Symbol jednostki	Jednostka podstawowa	Wielkość podstawowa
m	metr	długość
kg	kilogram	masa
s	sekunda	czas
A	amper	prąd elektryczny
K	kelwin	temperatura
cd	kandela	kandela światłość
n	mol	liczność materii

Źródło: opracowanie własne.

W jednostkach układu SI wyrażane są wyniki pomiarów oraz wyniki badań wykonywanych w różnych dziedzinach nauki i techniki. Z podstawowych jednostek układu SI wywodzą się pochodne jednostek miar i ich wielokrotności, a także podwielokrotności, np. m/s (jednostka szybkości), m² (jednostka powierzchni), m³ (jednostka objętości), km (jednostka długości), g (jednostka masy). Pochodne jednostek miar najczęściej spotykane i wykorzystywane w literaturze biochemicznej, w tym sposoby ich przeliczania, przedstawiono poniżej.

Jednostki:

a) masy

$1 \text{ kg} = 1\,000 \text{ g}$
 $0,1 \text{ kg} = 100 \text{ g}$
 $0,01 \text{ kg} = 10 \text{ g}$
 $0,001 \text{ kg} = 1 \text{ g}$
 $1 \text{ g} = 1\,000 \text{ mg} = 1\,000\,000 \text{ }\mu\text{g}$
 $0,1 \text{ g} = 100 \text{ mg} = 100\,000 \text{ }\mu\text{g}$
 $0,01 \text{ g} = 10 \text{ mg} = 10\,000 \text{ }\mu\text{g}$
 $0,001 \text{ g} = 1 \text{ mg} = 1\,000 \text{ }\mu\text{g}$
 $0,0001 \text{ g} = 0,1 \text{ mg} = 100 \text{ }\mu\text{g}$
 $0,00001 \text{ g} = 0,01 \text{ mg} = 10 \text{ }\mu\text{g}$
 $0,000001 \text{ g} = 0,001 \text{ mg} = 1 \text{ }\mu\text{g}$

b) liczności materii

$1 \text{ mol} = 1\,000 \text{ mmol} = 1\,000\,000 \text{ }\mu\text{mol}$
 $0,1 \text{ mol} = 100 \text{ mmol} = 100\,000 \text{ }\mu\text{mol}$
 $0,01 \text{ mol} = 10 \text{ mmol} = 10\,000 \text{ }\mu\text{mol}$
 $0,001 \text{ mol} = 1 \text{ mmol} = 1\,000 \text{ }\mu\text{mol}$
 $0,0001 \text{ mol} = 0,1 \text{ mmol} = 100 \text{ }\mu\text{mol}$
 $0,00001 \text{ mol} = 0,01 \text{ mmol} = 10 \text{ }\mu\text{mol}$
 $0,000001 \text{ mol} = 0,001 \text{ mmol} = 1 \text{ }\mu\text{mol}$

c) objętości

$$1 \text{ dm}^3 = 1 \text{ l}$$

$$1 \text{ l} = 1000 \text{ ml} = 1\,000\,000 \text{ }\mu\text{l}$$

$$0,1 \text{ l} = 100 \text{ ml} = 100\,000 \text{ }\mu\text{l}$$

$$0,01 \text{ l} = 10 \text{ ml} = 10\,000 \text{ }\mu\text{l}$$

$$0,001 \text{ l} = 1 \text{ ml} = 1\,000 \text{ }\mu\text{l}$$

$$0,0001 \text{ l} = 0,1 \text{ ml} = 100 \text{ }\mu\text{l}$$

$$0,00001 \text{ l} = 0,01 \text{ ml} = 10 \text{ }\mu\text{l}$$

$$0,000001 \text{ l} = 0,001 \text{ ml} = 1 \text{ }\mu\text{l}$$

5. Rodzaje stężeń roztworów i sposoby ich obliczania

Roztwór to mieszanina jednorodna (homogeniczna), składająca się z rozpuszczalnika (fazy rozpraszającej) i co najmniej jednej substancji rozpuszczonej (fazy rozproszonej). Ze względu na stan skupienia roztwory dzielimy na stałe (np. stopy metali, szkło), ciekłe (np. ocet) i gazowe (np. powietrze). Najczęściej mamy do czynienia z roztworami w stanie ciekłym, wśród których większość roztworów stanowią roztwory wodne (woda jako rozpuszczalnik).

Ze względu na wielkość cząsteczek substancji rozpuszczonej roztwory dzielimy na roztwory rzeczywiste i koloidalne. Roztwory rzeczywiste (właściwe) są to roztwory, w których średnica cząsteczek fazy rozproszonej (substancji rozpuszczonej) nie przekracza 10^{-9} m (1 nanometr). Roztwory koloidalne są to roztwory, w których średnica cząsteczek fazy rozproszonej jest rzędu $10^{-9} \div 10^{-7} \text{ m}$ ($1 \div 100 \text{ nm}$), np. mgła (są to cząsteczki wody rozproszone w powietrzu – fazą rozpraszającą jest gaz, fazą rozproszoną jest ciecz), dym (cząsteczki stałych zanieczyszczeń rozproszone w powietrzu – fazą rozpraszającą jest gaz, a fazą rozproszoną jest ciało stałe). Poniższe zadania dotyczą przede wszystkim wodnych roztworów rzeczywistych, tzn. takich, gdzie fazą rozpraszającą jest woda, a rozpuszczone w niej cząsteczki są mniejsze od 1 nanometra (10^{-9} m). Woda, tworząc wokół rozpuszczanych cząsteczek otoczkę (płaszcz hydratacyjny), zapewnia ich równomierne rozproszenie w całej objętości, co pozwala na obliczanie stężeń oraz gęstości roztworu.

Stężeniem roztworu określa się ilość substancji (wyrażonej w jednostkach masy, objętości lub liczności materii) rozpuszczonej w określonej liczbie jednostek objętości lub masy rozpuszczalnika. Stężenie stanowi metodę ilościowego opisu roztworu.

W praktyce chemicznej i biochemicznej do wyrażania stężeń najczęściej używa się stężenia procentowego/ C_p (%) lub molowego/ C_m (mol/l, mol/dm³).

Stężenie procentowe

Najczęściej przedstawia się je jako stężenie masowo-masowe (m/m) i określa przez stosunek masy substancji rozpuszczonej (m_s) do masy roztworu (m_{r-r}) wyrażony w procentach (C_p). Masa roztworu (m_{r-r}) jest sumą masy substancji (m_s) i masy rozpuszczalnika (m_r). Stężenie procentowe roztworu można obliczyć metodą proporcji:

$$\frac{m_{r-r} - 100\%}{m_s - x\%}$$

lub korzystając ze wzoru:

$$C_p = \frac{m_s}{m_{r-r}} \cdot 100\%$$

gdzie:

$$m_{r-r} = m_s + m_r$$

C_p – stężenie procentowe (%)

m_s – masa substancji rozpuszczonej (g)

m_{r-r} – masa roztworu (g)

m_r – masa rozpuszczalnika (g).

Należy pamiętać, że masa roztworu (m_{r-r}) zawsze stanowi 100% (całość), a stężenie procentowe (C_p) jest proporcjonalne do masy substancji rozpuszczonej (m_s).

Przykład interpretacji

Roztwór 10% zawiera 10 g substancji w 100 g roztworu, czyli 10 g substancji rozpuszczonej w 90 g rozpuszczalnika.

Wyróżnia się następujące rodzaje stężeń procentowych:

- masowo – masowe (% m/m) – określa liczbę gramów substancji rozpuszczonej w 100 gramach roztworu;
- masowo – objętościowe (% m/v) – określa liczbę gramów substancji rozpuszczonej w 100 ml roztworu;
- objętościowo – objętościowe (% v/v) – określa liczbę mililitrów substancji rozpuszczonej w 100 ml roztworu.

Do oznaczenia stężenia roztworu, zawierającego bardzo małe ilości substancji rozpuszczonej, stosuje się następujące jednostki: mg/l, mg/dl, mg/100 ml, µg/l. Używane są też jednostki stężeniowe, wyrażające liczbę gramów substancji w litrze roztworu – g/l, czyli promile i jednostki do oznaczania śladowych ilości substancji, określające liczbę gramów substancji w 1 000 000 g roztworu, czyli ppm (*parts per million*).

Przykładowe zadania

1. Jak sporządzić 200g 5% roztworu sacharozy?

Dane	Szukane	Obliczenia
$C_p = 5\%$ $m_{r-r} = 200 \text{ g}$	$m_s = ?$ $m_r = ?$	$200 \text{ g} - 100\%$ $m_s (x) \text{ sacharozy} - 5\%$ $m_s (x) = 10 \text{ g}$ $m_r = 200 \text{ g} - 10 \text{ g} = 190 \text{ g}$

Odpowiedź: Należy odważyć 10 g sacharozy i rozpuścić w 190 g wody.

2. W ilu gramach wody należy rozpuścić 10 g substancji, aby otrzymać roztwór 25%?

Dane	Szukane	Obliczenia
$C_p = 25\%$ $m_s = 10 \text{ g}$	$m_r = ?$ $m_{r-r} = ?$	$m_{r-r} = \frac{m_s}{C_p} \cdot 100\%$ $m_{r-r} = \frac{10 \text{ g}}{25\%} \cdot 100\% = 40 \text{ g}$ $m_r = 40 \text{ g} - 10 \text{ g} = 30 \text{ g}$

Odpowiedź: Do przygotowania 25% roztworu należy rozpuścić 10 g substancji w 30 g wody.

3. Obliczyć stężenie procentowe roztworu otrzymanego w wyniku rozpuszczenia 40 g substancji w 200 cm³ etanolu o gęstość 0,78 g/cm³.

Dane	Szukane	Obliczenia
$V_r = 200 \text{ cm}^3$ $m_s = 40 \text{ g}$ $d_r = 0,78 \text{ g/cm}^3$	$C_p = ?$ $m_r = ?$	$d_r = \frac{m_r}{V_r}$ gdzie d_r – gęstość rozpuszczalnika V_r – objętość rozpuszczalnika $m_r = d_r \cdot V_r = 0,78 \text{ g/cm}^3 \cdot 200 \text{ cm}^3 = 156 \text{ g}$ $m_{r-r} = 40 \text{ g} + 156 \text{ g} = 196 \text{ g}$ $C_p = \frac{40 \text{ g}}{196 \text{ g}} \cdot 100\% = 20,4\%$

Odpowiedź: W wyniku rozpuszczenia 40 g substancji w 200 cm³ etanolu otrzymano roztwór o stężeniu 20,4%.

Stężenie molowe

Mol to jednostka liczebności materii, która zawiera taką samą liczbę cząsteczek, atomów, rodników, jonów, jaką liczbę atomów zawiera 0,012 kg izotopu węgla ¹²C, tj. $6,023 \cdot 10^{23}$ (liczba Avogadra). Natomiast masa molowa związku chemicznego będzie równa masie $6,023 \cdot 10^{23}$ cząsteczek tego związku i odpowiadać ilości gramów substancji równej liczbowo jego masie cząsteczkowej.

Stężenie molowe (C_m) określa liczbę moli (n) substancji rozpuszczonej w 1 dm³ (1000 ml) roztworu. Można je wyznaczyć, korzystając ze wzoru:

$$C_m = \frac{n}{V_{r-r}}$$

gdzie:

C_m – stężenie molowe (mol/dm³), (mol/l), (M)

n – liczba moli rozpuszczonej substancji (mol)

V_{r-r} – objętość roztworu (dm³), (l).

W przypadku roztworów rozcieńczonych stosuje się podwielokrotności stężenia molowego, takie jak: milimolowe (mmol/l), mikromolowe (μmol/l) i nanomolowe (nmol/l).

Przykład interpretacji

Roztwór 5-molowy oznacza 5 moli substancji rozpuszczonej w 1 dm³ (1l) roztworu.

Jeżeli znana jest masa substancji rozpuszczonej (m_s), należy ją przeliczyć na liczbę moli (n). Można tego dokonać, korzystając ze wzoru:

$$n = \frac{m_s}{M}$$

gdzie:

M – masa molowa substancji rozpuszczonej (g/mol).

Przykładowe zadania

1. Obliczyć stężenie molowe roztworu, wiedząc, że w 1,5 l roztworu znajduje się 6 moli substancji rozpuszczonej.

Dane	Szukane	Obliczenia
$V_r = 1,5 \text{ l}$ $n = 6 \text{ mol}$	$C_m = ?$	$C_m = \frac{6 \text{ mol}}{1,5 \text{ l}} = 4 \text{ mol/l}$

Odpowiedź: Stężenie molowe roztworu wynosi 4 mol/l.

2. Jakie jest stężenie molowe glukozy, jeżeli 10 cm³ tego roztworu zawiera 240 mg glukozy, gdy masa molowa glukozy wynosi 180 g/mol.

Dane	Szukane	Obliczenia
$M = 180 \text{ g/mol}$ $m_s = 240 \text{ mg} = 0,24 \text{ g}$ $V_r = 10 \text{ cm}^3 = 0,01 \text{ l}$	$C_m = ?$	$n = \frac{0,24 \text{ g}}{180 \text{ g/mol}} = 0,00133 \text{ mol}$ $C_m = \frac{0,00133 \text{ mol}}{0,01 \text{ l}} = 0,133 \text{ mol/l}$

Odpowiedź: Stężenie molowe glukozy wynosi 0,133 mol/l.

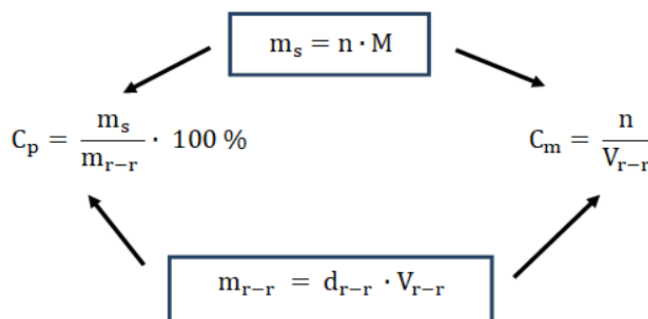
3. Ile gram chlorku potasu ($M = 74,5 \text{ g/mol}$) znajduje się w 500 cm³ 0,25-molowym roztworze?

Dane	Szukane	Obliczenia
$M = 74,5 \text{ g/mol}$ $V_r = 500 \text{ cm}^3 = 0,5 \text{ l}$ $C_m = 0,25 \text{ mol/l}$	$m_s = ?$	$n = C_m \cdot V_{r-r} = 0,25 \text{ mol/l} \cdot 0,5 \text{ l} = 0,125 \text{ mol}$ $m_s = n \cdot M = 0,125 \text{ mol} \cdot 74,5 \text{ g/mol} = 9,31 \text{ g}$

Odpowiedź: W 500 cm³ 0,25-molowego roztworu chlorku potasu znajduje się 9,31 g tej substancji.

Przeliczanie stężeń

W celu przeliczenia stężenia procentowego na molowe lub odwrotnie można skorzystać z definicji stężeń lub z wyprowadzonych wzorów:



Rysunek 1. Schemat zamiany stężeń.

Źródło: opracowanie własne.

Przy przeliczaniu stężeń należy pamiętać, że gęstość roztworu musi być wyrażona w (g/dm³).

$$C_p = \frac{n \cdot M}{d_{r-r} \cdot V_{r-r}} \cdot 100 \% = \frac{C_m \cdot M}{d_{r-r}} \cdot 100 \%$$

$$C_m = \frac{C_p \cdot d_{r-r}}{M \cdot 100 \%}$$

Przykładowe zadanie

1. Obliczyć stężenie molowe 30% roztworu perhydrołu (nadtlenku wodoru, H_2O_2 , $M = 34 \text{ g/mol}$) o gęstości 1,11 g/ml.

Dane	Szukane	Obliczenia
$C_p = 30\%$ $M = 34 \text{ g/mol}$ $d_{r-r} = 1,11 \text{ g/ml} = 1110 \text{ g/l}$	$C_m = ?$	$C_m = \frac{30\% \cdot 1110 \text{ g/l}}{34 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \cdot 100\%} = 9,8 \text{ mol/l}$

Odpowiedź: Stężenie molowe roztworu wynosi 9,8 mol/l.

Wzajemne przeliczanie stężeń

1% m/v = 10 g/l = 1000 mg/100 ml = 10 000 ppm = 1 000 000 µg/100 ml

1 g/l = 0,1% m/v = 100 mg/100 ml = 1000 ppm

1 mg/100 ml = 0,001% m/v = 0,01 g/l = 10 ppm

1 ppm = 0,0001% m/v = 0,001 g/l = 0,1 mg/100 ml = 100 µg/100 ml

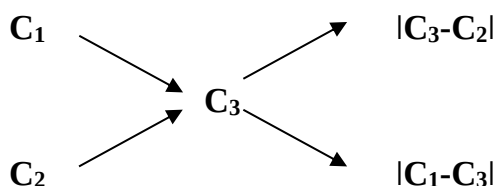
1 µg/100 ml = 0,000001% m/v = 0,00001 g/l = 0,001 mg/100 ml

Mieszanie i rozcieńczanie roztworów

Podstawowe sposoby zmiany stężeń roztworów to :

- mieszanie roztworów tej samej substancji o różnych stężeniach – w celu uzyskania roztworu o nowym stężeniu;
- dolewanie rozpuszczalnika (rozcieńczanie) – w celu obniżenie stężenia roztworu;
- dosypywanie substancji (zateżanie) w celu podwyższenia stężenia roztworu poprzez dodanie substancji rozpuszczonej;
- odparowywanie rozpuszczalnika (zateżanie) w celu podwyższenie stężenia przez zmniejszenie ilości rozpuszczalnika.

W celu obliczenia stężenia nowego roztworu (C_3), powstałego po zastosowaniu jednego z ww. sposobów zmiany stężeń posługujemy się tzw. schematem krzyżowym.



Rysunek 2. Schemat krzyżowy.

Źródło: opracowanie własne.

gdzie:

C_1, C_2 – stężenia roztworów, które są ze sobą mieszane

C_3 – stężenie roztworu docelowego (powstałego w wyniku zmieszania roztworów C_1 i C_2).

Wyrażenia wynikające z zastosowania opisanej wcześniej reguły mieszania roztworów.

Dla stężenia procentowego:

$$\frac{|C_3 - C_2|}{|C_1 - C_3|} = \frac{m_{r-r1}}{m_{r-r2}}$$

$$m_{r-r3} = m_{r-r1} + m_{r-r2}$$

gdzie:

m_{r-r3} – masa roztworu docelowego
 m_{r-r1} i m_{r-r2} – masy roztworów mieszanych.

Dla stężenia molowego:

$$\frac{|C_3 - C_2|}{|C_1 - C_3|} = \frac{V_{r-r1}}{V_{r-r2}}$$

$$V_{r-r3} = V_{r-r1} + V_{r-r2}$$

gdzie:

V_{r-r3} – objętość roztworu docelowego przy założeniu, że pomijane jest zjawisko kontrakcji
 V_{r-r1} i V_{r-r2} – objętości roztworów mieszanych.

Zależności, jakie uzyskujemy po zastosowaniu algorytmu w przypadku stężenia procentowego, oznaczają: *liczbę równą $|C_3 - C_2|$ części wagowych roztworu o stężeniu C_1 , jakie trzeba zmieszać z $|C_1 - C_3|$ częściami wagowymi roztworu o stężeniu C_2 , aby uzyskać roztwór o stężeniu C_3 .*

Wykorzystując algorytm w obliczeniach z udziałem stężeń molowych, zawarte w nim wyrażenia oznaczają wówczas: *liczbę równą $|C_3 - C_2|$ części objętościowych roztworu o stężeniu C_1 , jakie trzeba zmieszać z $|C_1 - C_3|$ częściami objętościowymi roztworu o stężeniu C_2 , aby uzyskać roztwór o stężeniu C_3 .*

Kontrakcja objętości to zjawisko fizyczne polegające na zmianie objętości roztworu lub mieszaniny na skutek reakcji chemicznej lub międzycząsteczkowych oddziaływań pomiędzy składnikami mieszaniny.

Zmiana stężenia roztworu na drodze rozcieńczania lub zateżniania roztworu

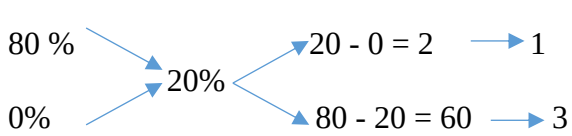
W wyniku rozcieńczania roztworu jego stężenie maleje z C_1 (stężenie początkowe) do C_2 (stężenie końcowe). Najprostszym sposobem rozcieńczenia roztworu jest dodanie rozpuszczalnika, co powoduje zwiększenie objętości roztworu z V_1 (objętość początkowa) do V_2 (objętość końcowa). W wyniku dodania rozpuszczalnika ilość substancji rozpuszczonej nie ulega zmianie ($n = \text{const}$), zatem:

$$n = C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

W wyniku zateżniania roztworu jego stężenie rośnie. Zateżniania można dokonać, dodając substancji rozpuszczonej lub odparowując część rozpuszczalnika.

Przykładowe zadania

1. W jaki stosunku wagowym należy mieszać 80% kwas siarkowy (VI) z wodą, aby otrzymać roztwór 20% tego kwasu?

Dane	Szukane	Obliczenia
$C_{p1} = 80\%$ $C_{p2} = 0\% (H_2O)$ $C_{p3} = 20\%$	$\frac{W_{r-r1}}{W_{r-r2}} = ?$	

Odpowiedź: Aby otrzymać 20% kwas, należy mieszać 80% kwas z wodą w stosunku wagowym 1 do 3.

2. Zmieszano 3 l roztworu węglanu sodu o stężeniu 4 mol/l i 2 l roztworu węglanu sodu o stężeniu 0,5 mol/l. Oblicz stężenie molowe uzyskanego roztworu węglanu.

Dane	Szukane	Obliczenia
$C_{m1} = 4 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ $C_{m2} = 0,5 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ $V_1 = 3 \text{ l}$ $V_2 = 2 \text{ l}$	$C_{m3} = ?$	Należy skorzystać z zależności: $C_{m1} \cdot V_1 + C_{m2} \cdot V_2 = (V_1 + V_2) C_{m3}$ $4 \frac{\text{mol}}{\text{l}} \cdot 3 \text{ l} + 0,5 \frac{\text{mol}}{\text{l}} \cdot 2 \text{ l} = 5 \text{ l } C_{m3}$ $C_{m3} = 2,6 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$

Odpowiedź: Otrzymany roztwór ma stężenie $2,6 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$.

6. Metody analizy chemicznej: miareczkowanie i spektrofotometria

6.1. Miareczkowanie

Miareczkowanie to metoda służąca do wyznaczania stężenia substancji w roztworze przez stopniowe dodawanie titranta o znanym stężeniu, aż do momentu zakończenia reakcji, który zazwyczaj rozpoznaje się po zmianie barwy wskaźnika (jest to tzw. punkt końcowy miareczkowania). W tej technice analitycznej najczęściej korzysta się z roztworów wyrażonych w stężeniu molowym. Istnieje wiele typów miareczkowania, jednak w ramach doświadczeń w niniejszym skrypcie zostało zawarte miareczkowanie kwasów wodorotlenkiem, czyli miareczkowanie alkalimetryczne. Pojęciami stosowanymi w analizie miareczkowej są:

- titrant – roztwór miareczkujący;
- roztwór wzorcowy – roztwór o znanym stężeniu;
- analit – roztwór badany o nieznanym stężeniu;
- mianowanie roztworu – ustalanie miana titranta, czyli rzeczywistego stężenia molowego titra
- punkt równoważnikowy miareczkowania – moment, w którym ilość dodanego titranta odpowiada takiej ilości oznaczanej substancji, która umożliwi całkowite przereagowanie, bez powstawania nadmiaru któregośkolwiek z reagentów;
- punkt końcowy miareczkowania – moment, w którym reagenty przereagowały całkowicie, zazwyczaj zauważany po zmianie barwy wskaźnika.

Miareczkowanie przeprowadza się przy użyciu biurety, w której znajduje się titrant. Należy pamiętać o każdorazowym zamieszaniu roztworu po dodanej porcji roztworu miareczkującego. W celu obliczenia stężenia analitu korzysta się z zależności:

$$C_{\text{analitu}} = \frac{C_{\text{titranta}} \cdot V_{\text{titranta}}}{V_{\text{analitu}}}$$

gdzie:

C_{analitu} – stężenie molowe roztworu badanego (mol/l)

V_{analitu} – objętość roztworu badanego (l lub inna spójna ze stężeniem)

C_{titranta} – stężenie molowe roztworu miareczkującego (mol/l)

V_{analitu} – objętość zużytego titranta (l lub inna spójna ze stężeniem).

6.2. Podstawy spektrofotometrii

Spektrofotometria to metoda analityczna, polegająca na pochłanianiu promieniowania elektromagnetycznego w zakresie UV, VIS oraz IR przez roztwór analizowanej substancji. W zależności od długości fali promieniowania, wyróżnia się spektrofotometrię w świetle widzialnym (VIS, 380-780 nm), w nadfiolecie (UV, 100-380 nm) i w podczerwieni (IR 800-10⁶ nm). Aby substancja mogła absorbować promieniowanie elektromagnetyczne, musi zawierać odpowiednie grupy chemiczne lub struktury elektronowe, które pozwalają na przejścia między poziomami energetycznymi cząsteczki. Do struktur umożliwiających absorpcję promieniowania w zakresie UV-VIS zalicza się m.in. wiązania wielokrotne, przede wszystkim układy sprzężonych wiązań podwójnych, pierścienie aromatyczne i atomy posiadające wolne pary elektronowe – ugrupowania te nazywane są chromoforami. W zakresie IR, absorpcja promieniowania związana jest z drganiami wiązań chemicznych, którym towarzyszy zmiana momentu dipolowego cząsteczki. Spektrofotometria absorpcyjna znajduje wiele praktycznych zastosowań, jednak w ramach tych ćwiczeń zostanie wykorzystana do wyznaczenia stężenia badanej substancji w oparciu o prawo Lamberta-Beera. Prawo Lamberta-Beera opisuje zależność pomiędzy absorpcją światła monochromatycznego a stężeniem substancji badanej i długością drogi, którą światło pokonuje w próbce. Absorbancja jest wprost proporcjonalna do stężenia badanego roztworu oraz grubości warstwy absorbującej, przez którą przechodzi światło o określonej długości fali. Prawo to ma zastosowanie:

- dla roztworów rozcieńczonych i klarownych;
- gdy przechodząca wiązka promieniowania jest monochromatyczna;
- gdy występuje stała długość drogi optycznej;
- gdy w czasie pomiaru nie zachodzą żadne reakcje w badanej próbce.

Wzór na prawo Lamberta-Beera:

$$A = \varepsilon \cdot C \cdot l$$

gdzie:

A – absorbancja

ε – molowy współczynnik absorbancji dla danej długości fali (λ), ($l \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

l – grubość warstwy absorbującej (zazwyczaj 1 cm)

C – stężenie molowe badanego związku (mol/l).

Molowy współczynnik absorpcji ϵ określa intensywność absorpcji światła monochromatycznego przez roztwór o stężeniu 1 mol/l przy przejściu promieniowania przez warstwę roztworu o grubości 1 cm. ϵ jest wielkością charakterystyczną dla danej substancji, a jego wartość nie zależy od stężenia tej substancji czy innych warunków pomiarowych. Wartość ϵ można odczytać z danych literaturowych lub wyznaczyć eksperymentalnie przez pomiar absorbancji próbki o znanym stężeniu i długości fali, a następnie przekształcając wzór Lamberta-Beera.

$$\epsilon = \frac{A}{C \cdot l}$$

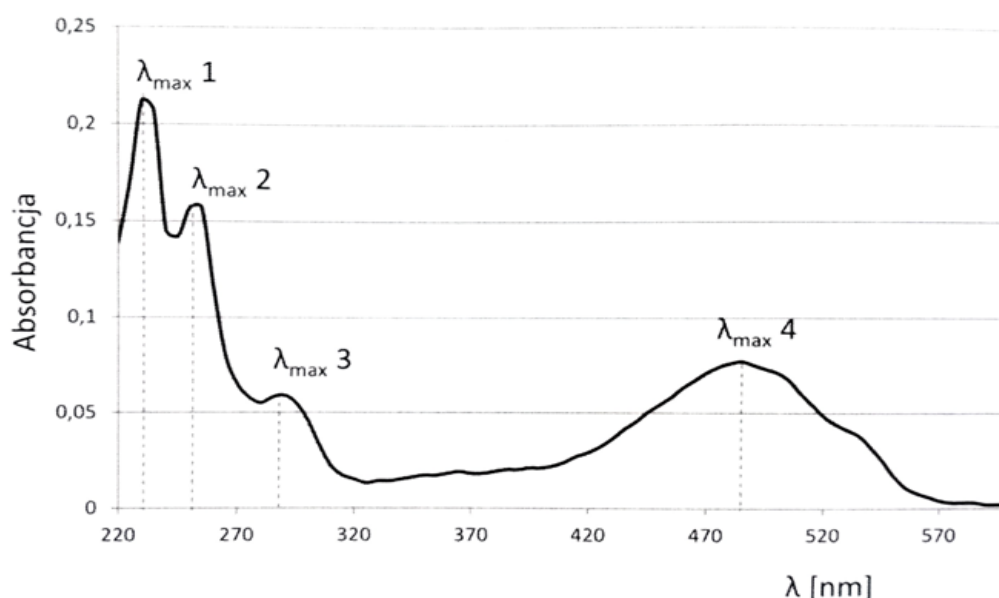
gdzie:

A – absorbancja

ϵ – molowy współczynnik absorpcji dla danej długości fali ($\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

l – grubość warstwy absorbującej (cm)

C – stężenie molowe badanego związku (mol/l).



Rysunek 3. Widmo absorpcyjne.

Źródło: *Ćwiczenia z biochemii dla studentów Wydziału Lekarskiego*, P. Laidler, B. Piekarska, M. Wróbel (red.), 2014, Kraków: Wydawnictwo UJ.

Stężenie badanej substancji można wyznaczyć na kilka sposobów.

- a) Przez pomiar absorbancji badanego roztworu i roztworu wzorcowego oraz z użyciem poniższej zależności:

$$C_{\text{badanego roztworu}} = \frac{A_{\text{badanego roztworu}}}{A_{\text{wzorca}}} \cdot C_{\text{wzorca}}$$

gdzie:

C_{wzorca} – stężenie molowe roztworu wzorcowego (mol/l)

A_{wzorca} – wartość absorbancji dla roztworu wzorcowego

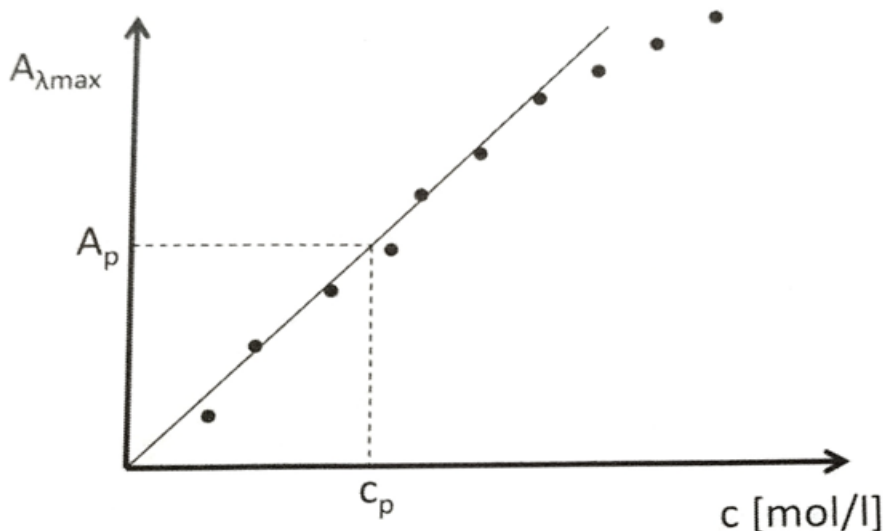
$C_{\text{badanego roztworu}}$ – stężenie molowe badanego roztworu (mol/l)

$A_{\text{badanego roztworu}}$ – wartość absorbancji dla badanego roztworu.

Stężenia zarówno próbki badanej, jak też wzorca muszą być podane w tych samych jednostkach, a ich objętości wprowadzone do kuwety powinny być jednakowe. Pomiar absorbancji wykonuje się względem tzw. próby ślepej, zawierającej wszystkie składniki mieszaniny reakcyjnej, poza oznaczaną substancją, dlatego próba ślepa nie zawsze musi składać się wyłącznie z wody.

b) Z wykorzystaniem krzywej wzorcowej

Aby sporządzić krzywą wzorcową, należy przygotować serię roztworów (zazwyczaj 6), zawierających badaną substancję o znanych stężeniach, które mieszczą się w zakresie planowanej analizy. Następnie każdy z roztworów poddaje się reakcji/om, zgodnie z procedurą danego oznaczenia oraz mierzy jego absorbancję przy ustalonej długości fali w odniesieniu do próby ślepej. Otrzymane wartości absorbancji nanoszone są na wykres: na osi X umieszcza się stężenia, zaś na osi Y odpowiadające im absorbancje. Na podstawie zmierzonej absorbancji dla badanego roztworu i danych z krzywej wzorcowej określa się stężenie analizowanego związku w roztworze. Uzyskana krzywa wzorcową powinna być linią prostą (gdy temperatura jest stała, a długości fali oraz grubość warstwy absorbującej są niezmiennie w warunkach wykonywania pomiaru). Jeśli wykres zależności absorbancji od stężenia wykazuje odchylenia, oznacza to, że prawo Lamberta-Beera nie jest spełnione. W takiej sytuacji analizę można przeprowadzać tylko w tym zakresie stężeń, dla którego krzywa wzorcową zachowuje liniowy przebieg. Wśród przyczyn odchylenia od praw absorpcji wymienia się m.in. zbyt stężony badany roztwór, brak monochromatyzacji promieniowania, zmiany temperatury w trakcie pomiaru oraz nieprawidłowy dobór długości fali, a także zanieczyszczenia próbki.



Rysunek 4. Krzywa kalibracyjna.

Źródło: *Ćwiczenia z biochemii dla studentów Wydziału Lekarskiego*, P. Laidler, B. Piekarska, M. Wróbel (red.), 2014, Kraków: Wydawnictwo UJ.

c) Przy użyciu molowego współczynnika absorpcji

Współczynnik ten można odczytać z tablic lub wyznaczyć doświadczalnie, gdy znana jest absorbancja, stężenie roztworu i grubość warstwy absorbującej. W tej metodzie korzysta się z zależności:

– gdy C wyrażone w mol/l to $C = \frac{A}{\epsilon \cdot l}$

– gdy C wyrażone w $\mu\text{g/ml}$ to $C = \frac{A \cdot 1000 \cdot M}{\epsilon \cdot l}$

gdzie:

C – stężenie próbki (mol/l lub $\mu\text{g/mol}$)

ϵ – molowy współczynnik absorpcji ($\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

l – grubość warstwy absorbującej (cm)

M – masa molowa (g/mol).

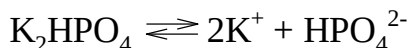
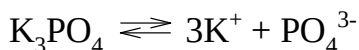
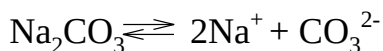
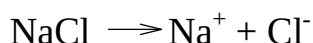
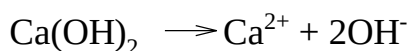
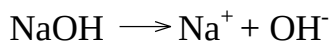
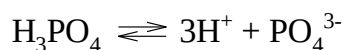
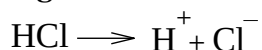
CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1. Równowaga chemiczna w roztworach wodnych – wybrane zagadnienia

1.1. Dysocjacja elektrolityczna i stopień dysocjacji

Dysocjacja elektrolityczna to pojęcie opisujące rozpad związku chemicznego pod wpływem wody (lub innego rozpuszczalnika polarnego) na kationy i aniony. Dysocjacji mogą ulegać kwasy, zasady i sole.

Przykładowe dysocjacje według teorii Arrheniusa



Z punktu widzenia teorii Arrheniusa, elektrolity to substancje, które w roztworze wodnym dysocjują na kationy oraz aniony, dzięki czemu posiadają zdolność do przewodzenia prądu elektrycznego. W zależności od stopnia dysocjacji wyróżnia się elektrolity całkowicie zdysocjowane ($\alpha = 1$), tzw. mocne, oraz częściowo zdysocjowane na jony – o średniej mocy ($0,3 < \alpha < 1$) lub słabe ($\alpha < 1$). Stopień dysocjacji (α) wyraża się jako stosunek liczby moli cząsteczek zdysocjowanych do całkowitej liczby moli cząsteczek w roztworze przed dysocjacją. Stopień dysocjacji pozwala zdefiniować, czy mamy do czynienia z elektrolitem mocnym, słabym czy też o średniej mocy, co z kolei pozwala na rozróżnienie związków o wysokim lub niskim przewodnictwie elektrycznym. Własność ta umożliwia także przewidzieć, w którym kierunku reakcja zajdzie, tzn. czy substancja X wyprze Y z jego soli i mechanizm działania roztworów buforowych. W przypadku elektrolitów słabych i o średniej mocy stopień dysocjacji zwiększa się wraz ze spadkiem stężenia elektrolitu, czyli wraz z rozcieńczeniem roztworu (gdyż większy procent elektrolitu ulega dysocjacji). Wpływ temperatury na stopień dysocjacji nie jest jednoznaczny, jednak zazwyczaj wzrost temperatury prowadzi do wzrostu wartości α . W przypadku elektrolitów mocnych, α jest niezależne od stężenia, ponieważ elektrolit jest praktycznie w 100% zdysocjowany.

Wzór na stopień dysocjacji

$$\alpha = \frac{n_z}{n_c}$$

gdzie:

n_z – liczba moli cząsteczek zdysocjowanych (mol)

n_c – początkowa liczba moli wszystkich cząsteczek w roztworze (mol)

dla słabych kwasów: $\alpha = \frac{[H^+]}{C_m}$

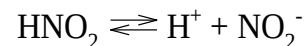
gdzie:

$[H^+]$ – stężenie jonów wodorowych (mol/l)

C_m – początkowe stężenie kwasu (mol/l).

Przykładowe zadania

1. Napisz równanie dysocjacji dla kwasu azotowego (III) i oblicz stopień dysocjacji, wiedząc, że w 1 litrze roztworu znajduje się 0,33 mola cząsteczek zdysocjowanych oraz 0,75 mola cząsteczek niezdisocjowanych.



$$\alpha = \frac{n_z}{n_c} = \frac{0,33}{0,33+0,75} = 0,3$$

Odpowiedź: Stopień dysocjacji wynosi 0,3.

2. Na podstawie podanych wartości pH, określ odczyn roztworu dla $pH_1 = 3,5$ oraz $pH_2 = 6$, a także odpowiedz, w którym przypadku występuje wyższe stężenie jonów wodorowych.

$pH_1 = 3,5$ odczyn kwasowy

$[H^+] = 10^{-pH} = 10^{-3,5} = 0,000316 \text{ mol/l}$

$pH_2 = 6$ odczyn kwasowy

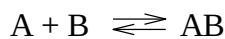
$[H^+] = 10^{-pH} = 10^{-6} = 0,000001 \text{ mol/l}$

Odpowiedź: Wyższe stężenie jonów H^+ występuje dla roztworu o pH_1 .

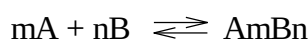
1.2. Stała równowagi reakcji

Innym parametrem związanym z równowagą w roztworach wodnych jest stała równowagi reakcji K , która wyrażana jest jako: iloczyn stężeń molowych produktów do iloczynu stężeń molowych substratów. Dla danej reakcji chemicznej i w stałej temperaturze jest wielkością stałą. Wśród czynników wpływających na stałą równowagi reakcji wymienia się temperaturę, stężenia reagentów, natomiast w przypadku gazów – ciśnienie. Usunięcie lub dodanie substratu/produktu będzie zmieniać położenie równowagi reakcji, a wpływ temperatury wymaga najpierw określenia, czy mamy do czynienia z reakcją egzoenergetyczną (wzrost temperatury powoduje spadek wartości stałej K) czy endoenergetyczną (wzrost temperatury powoduje wzrost wartości

stałej K). W odniesieniu do organizmu człowieka, znajomość stałej równowagi reakcji jest niezbędna w procesach enzymatycznych, w przemianach metabolicznych, tj. glikoliza, cykl Krebsa, w regulacji pH, w zaburzeniach równowagi kwasowo-zasadowej czy w zrozumieniu mechanizmów transportu aktywnego przez błony komórkowe. Wyróżnia się kilka typów stałej równowagi reakcji: stężeniowa, ciśnieniowa, dysocjacji, solwatacji. Przykładowy zapis wyrażenia na stałą równowagi reakcji ukazano poniżej:



$$K = \frac{[A][B]}{[AB]}$$



$$K = \frac{[A^m][B^n]}{[AmBn]}$$

gdzie:

[A], [B] – stężenia odpowiednich substratów w (mol/l)

[AB] – stężenie produktu w (mol/l).

Związek między stałą dysocjacji a stopniem dysocjacji

$$K_a = \frac{\alpha^2 \cdot C_m}{1 - \alpha}$$

lub

$$K_a = \alpha^2 \cdot C_m \text{ gdy } \alpha < 5\% \text{ oraz } \frac{C_m}{K} > 400$$

gdzie:

α – stopień dysocjacji

C_m – stężenie (mol/l).

Przykładowe zadania

1. Oblicz wartość stałej dysocjacji dla HNO_2 o $\text{pH} = 3$ oraz $\alpha = 1\%$.

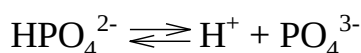
Dane	Szukane	Obliczenia
$\alpha = 1\% = 0,01$ $\text{pH} = 3$	$K = ?$	$[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}} = 10^{-3}$ $K = \alpha^2 \cdot c = 0,01 \cdot 0,001 = 0,00001$

Odpowiedź: Stała K wynosi 0,00001.

2. Zapisz wyrażenie na stałą dysocjacji dla H_2PO_4^- i HPO_4^{2-} .



$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

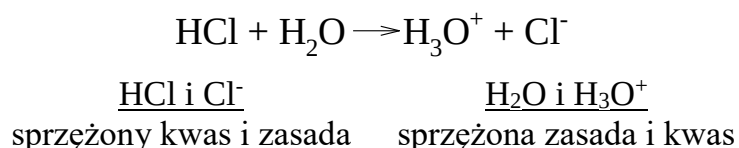


$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{PO}_4^{3-}]}{[\text{HPO}_4^{2-}]}$$

Aby łatwiej zrozumieć zasady równowagi w roztworach wodnych, wskazana jest znajomość sposobu definiowania kwasów i zasad według podstawowych teorii: Arrheniusa i Brönsteda-Lowry'ego. Zgodnie z teorią Arrheniusa, kwas to substancja, która w roztworze wodnym dysocjuje na kation wodoru i anion reszty kwasowej, a zasada (wodorotlenek) to substancja, która w roztworze wodnym dysocjuje na kation metalu i anion wodorotlenkowy. Zatem obecność jonów wodorowych będzie wskazywała na środowisko kwasowe ($\text{pH} < 7$), a obecność jonów wodorotlenkowych na środowisko zasadowe ($\text{pH} > 7$).

Według teorii Brönsteda-Lowry'ego, kwasem jest każda substancja, która może oddać proton (H^+) – kwas jest donorem protonów, natomiast zasada to substancja, która może przyjąć proton – jest akceptorem protonów. W układzie musi więc istnieć sprzężona para kwas – zasada. Wiele procesów zachodzących w organizmie człowieka opiera się na reakcjach wymiany protonów, m.in. procesy buforowania, oddychanie komórkowe, regulacja pH krwi i transport błonowy.

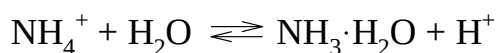
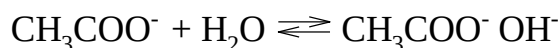
Przykład kwasów i zasad według teorii Brönsteda-Lowry'ego



1.3. Hydroliza soli

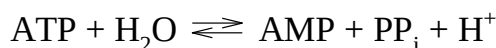
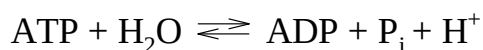
Sole to grupa związków, która może ulegać hydrolizie jako efekt rozpuszczania w wodzie. Z tego względu, że jony w soli pochodzące od mocnych kwasów i mocnych zasad nie reagują z wodą, nie ulegają one hydrolizie. Zatem hydroliza będzie zachodzić dla soli pochodzących od słabych kwasów lub zasad.

Przykładowe reakcje hydrolizy



W organizmie człowieka zachodzą reakcje hydrolizy m.in. skrobi, białek, lipidów, mocznika czy reakcje rozkładu ATP (adenozynotrójfosforanu), które są zaliczane do podstawowych reakcji metabolicznych, warunkujących funkcjonowanie organizmu.

Hydroliza ATP

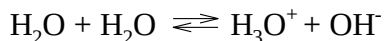


Celem rozkładu ATP jest pozyskanie energii niezbędnej do pracy mięśni, biosyntezy nowych molekuł, regeneracji tkanek, utrzymania potencjału błonowego w komórkach i transportu aktywnego. Bez hydrolizy ATP, funkcjonowanie organizmu i zachowanie homeostazy byłoby niemożliwe.

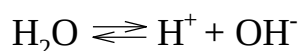
1.4. Autodysocjacja wody

Woda jest słabym elektrolitem, co oznacza, że tylko niewielka część wody ulega dysocjacji. Woda posiada niski stopień jonizacji, a średnie stężenie otrzymanych jonów (H^+ oraz OH^-) w temperaturze 25°C przyjmuje się jako $1 \cdot 10^{-7} \text{ mol/l}$. Dzięki temu można wyprowadzić poniższe zależności (w wersji uproszczonej).

Równanie autodysocjacji wody



lub



Wyrażenie na stałą równowagi (K) powyższej reakcji

$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]}$$

Wyrażenie na iloczyn jonowy wody (K_w)

$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-]$$

gdzie:

$$[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7}, \text{ więc } K_w = 10^{-14} (\text{temp.} = 25^\circ\text{C}).$$

Iloczyn jonowy wody określa stężenie kationów wodorowych oraz anionów hydroksylowych, co pozwala wprowadzić pojęcie pH. Dla czystej wody pH równe jest 7, co wskazuje na pH obojętne. Zgodnie z definicją, pH to ujemny logarytm dziesiętny ze stężenia jonów wodorowych. Analogicznie, bazując na jonach OH^- , można zdefiniować pOH jako ujemny logarytm dziesiętny ze stężenia wodorotlenowych (hydroksylowych). Szczegółowe informacje na temat pH przedstawiono w kolejnym rozdziale.

1.5. pH roztworów

pH jest wskaźnikiem kwasowości roztworu, służącym do oceny (wraz z innymi parametrami) izohydrii bądź zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej. pH oblicza się ze wzoru:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

natomiast

$$[\text{H}^+] = 10^{-\text{pH}}$$

Skala pH mieści się w przedziale 0-14, gdzie:

pH < 7 roztwór kwasowy

pH = 7 roztwór obojętny

pH > 7 roztwór zasadowy.

Prawidłowe pH krwi mieści się w zakresie 7,35-7,45 i na podstawie odchyłeń od tych wartości określa się, czy w organizmie występuje kwasica, zasadowica – czy zachowana jest izohydria. Czytelnika może zastanawiać, dlaczego akurat krew jest punktem odniesienia, a nie inny płyn ustrojowy. Istnieje kilka argumentów, m.in. fakt, że krew jest płynem docierającym do każdej komórki/tkanki, pH krwi jest mniej zależne od wpływu diety, nawodnienia (niż np. pH moczu), poza tym krew odzwierciedla pH płynu wewnątrzkomórkowego. Znajomość pH jest istotna z punktu widzenia procesów fizjologicznych, które do prawidłowego przebiegu wymagają określonych warunków kwasowych lub zasadowych. Są to m.in. procesy związane z aktywnością enzymów oraz szeroko rozumianym metabolizmem (np. trawieniem, wchłanianiem składników pokarmowych, transportem tlenu i dwutlenku węgla).

W sporcie ocena pH ma funkcję diagnostyczną, gdyż ocenia stan zawodnika i jego przygotowanie pod względem wydolnościowym, możliwości regeneracyjnych czy w celu doboru odpowiednich ćwiczeń, kształtujących cechy aerobowe bądź też anaerobowe. Wchodząc bardziej szczegółowo w temat, można dodać, że utrzymanie właściwego pH jest istotne, by wiązania utrzymujące strukturę przestrzenną cząsteczek biologicznych (szczególnie białek) nie uległy modyfikacjom. W przeciwnym razie – cząsteczki mogą stracić swoje funkcje.

Tabela 2

Wartości pH wybranych płynów ustrojowych

Płyn ustrojowy	pH
Krew (osocze, surowica)	7,35-7,45
Mocz	4,0-9,0
Ślina	7,0
Sok żołądkowy	0,8-1,2
Sok trzustkowy	7,5-8,5
Pot	5,5
Limfa	7,5-8,9
Płyn stawowy	7,2-7,4
Mięśnie – spoczynek	7,0
Mięśnie – wysiłek maksymalny	6,4-6,5

Źródło: opracowanie własne.

Przyczynami odchyłeń od norm pH mogą być: choroby (np. płuc, nerek, cukrzyca, biegunki, wymioty), dieta, nadmiar alkoholu, chroniczne niedotlenienie, wysiłek fizyczny, utrudniona wymiana gazowa czy przyjmowane leki (np. diuretyki). Lekkie postaci zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej organizm jest w stanie uregulować, natomiast poważniejsze zaburzenia muszą być wyrównane poprzez podaż odpowiednich płynów leczniczych. Szczególnie niebezpieczny dla człowieka jest spadek pH w krwi do wartości 6,8 i poniżej lub wzrost do ok. 7,8 i wyżej, gdyż może doprowadzić nawet do śmierci.

pH roztworów oznacza się za pomocą:

- kolorymetrii – na podstawie zmian barwy określonego wskaźnika i oceny wartości pH, np. przy użyciu fenoloftaleiny, oranżu metylowego, papierków uniwersalnych;
- potencjometrycznie – z użyciem pH-metru.

Przykładowe zadania

- Oblicz pH roztworu, w którym stężenie jonów wodorowych wynosi $0,02 \text{ mol/dm}^3$.

Dane	Szukane	Obliczenia
$[\text{H}^+] = 0,02 \text{ mol/dm}^3$	$\text{pH} = ?$	$\text{pH} = -\log 0,02 = 1,7$

Odpowiedź: pH roztworu wynosi 1,7.

- Oblicz stężenie OH^- w roztworze zasady, gdy pH wynosi 8.

Dane	Szukane	Obliczenia
$\text{pH} = 8$	$[\text{OH}^-] = ?$	$\text{pOH} = 14 - 8 = 6$ $[\text{OH}^-] = 10^{-\text{pOH}} = 10^{-6} = 0,000001 \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$

Odpowiedź: Stężenie jonów wodorotlenowych wynosi $0,000001 \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$.

- Oblicz pH roztworu otrzymanego przez rozpuszczenie 0,01 g NaOH w $0,6 \text{ dm}^3$ wody.

Dane	Szukane	Obliczenia
$m_s = 0,01 \text{ g}$ $V = 0,6 \text{ dm}^3$ $M = 40 \frac{\text{g}}{\text{mol}}$	$\text{pH} = ?$	Jest to mocny wodorotlenek, więc $[\text{OH}^-] = [\text{NaOH}]$ $\text{NaOH} \longrightarrow \text{Na}^+ + \text{OH}^-$ $n = \frac{m}{M} = \frac{0,01 \text{ g}}{40 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0,00025 \text{ mol}$ $[\text{OH}^-] = \frac{n}{V} = \frac{0,00025 \text{ mol}}{0,6 \text{ dm}^3} = 0,000417 \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$ $\text{pOH} = -\log[\text{OH}^-] = -\log 0,000417 = 3,4$ $\text{pH} = 14 - \text{pOH} = 14 - 3,4 = 10,6$

Odpowiedź: pH roztworu wynosi 10,6.

- Ile wynosi pH roztworu kwasu octowego, wiedząc, że jego stężenie wynosi $0,03 \text{ mol/dm}^3$, a α równej jest 1%.

Dane	Szukane	Obliczenia
$C_m = 0,03 \text{ mol/dm}^3$ $\alpha = 1\%$	$\text{pH} = ?$	$\text{CH}_3\text{COOH} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{CH}_3\text{COO}^-$ $\alpha = \frac{[\text{H}^+]}{c} \rightarrow [\text{H}^+] = \alpha \cdot c$ $[\text{H}^+] = 0,01 \cdot 0,03 = 0,0003 \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3}$ $\text{pH} = -\log 0,0003 = 3,52$

Odpowiedź: pH roztworu wynosi 3,52.

1.6. Roztwory buforowe

Bufory to sprzężone układy kwas – zasada, będące mieszaniną słabego kwasu i jego soli z mocną zasadą lub słabej zasady i jej soli z mocnym kwasem. Rolą buforów jest utrzymanie prawie niezmiennego pH po dodaniu określonej ilości kwasu lub zasady. To dzięki układom buforującym w naszym organizmie jest on w stanie przeciwdziałać kwasicy lub zasadowicy, żeby zachować stan izohydrii. Bufory charakteryzują się pojemnością buforową, która określa, ile kwasu lub zasady może zostać wprowadzone, by pH nie uległo zmianie. Pojemność buforowa zależy od stężenia buforu w układzie, a także od stosunku stężeń soli i kwasu lub zasady. Pojemność buforowa może zostać przekroczona, wówczas dojdzie do rozwoju kwasicy lub zasadowicy i konsekwencji z tym związanych. Aby dowiedzieć się, ile wynosi pH buforu w zależności od zmian w proporcjach kwasu i zasady w buforze (według teorii Brönsteda-Lowry’ego), należy skorzystać z równania Hendersona-Hasselbalcha.

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

czyli

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{zasada}]}{[\text{kwas}]}$$

gdzie:

pK_a – ujemny logarytm stałej dysocjacji kwasu

$[\text{A}^-]$ – stężenie zasady w buforze

$[\text{HA}]$ – stężenie kwasu w buforze

lub

$$\text{pH} = 14 - \text{pK}_b + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

gdzie:

pK_b – ujemny logarytm stałej dysocjacji zasady.

Istnieją różne postaci równania Hendersona-Hasselbalcha, w zależności od tego, czy pytamy o zmianę pH buforu po zmianie stężenia części kwasowej czy zasadowej w buforze.

W organizmie człowieka najważniejszymi buforami są:

1. Bufor wodorowęglanowy $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$

Najważniejszy bufor krwi (osocza i wnętrza erytrocytów) podlega eliminacji na drodze oddechowej (jako CO_2) i metabolicznej (jako HCO_3^- przez nerki). Postać H_2CO_3 w rzeczywistości jest formą $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$. Wspiera mechanizm usuwania dwutlenku węgla z przemian metabolicznych w postaci HCO_3^- . Przemiany metaboliczne prowadzą do powstania dużej ilości CO_2 , który powinien zostać związany i usunięty z organizmu. Najwięcej powstającego CO_2 jest wiązane w postaci HCO_3^- , część jest przyłączana do grup aminowych w hemoglobinie, tworząc karbaminohemoglobinę, a niewielka ilość występuje jako gaz rozpuszczony. Przyłączenie CO_2 do hemoglobiny stabilizuje deoksyhemoglobinę, jednocześnie zmniejszając interakcję pomiędzy tlenem a hemoglobiną.

2. Bufor fosforanowy $\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$

W niewielkim stopniu uczestniczy w buforowaniu osocza i wnętrza erytrocytów. Jest najważniejszym buforem moczu, a wydalany jest z moczem jako H_2PO_4^- , co przyczynia się do podniesienia pH, natomiast usuwany w formie HPO_4^{2-} powoduje obniżenie pH.

3. Bufor amonowy $\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4^+$ lub $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}/\text{NH}_4^+$

Wspomaga regulację pH w nerkach, a po przyłączeniu H^+ tworzy jony amonowe, usuwane z moczem.

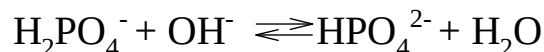
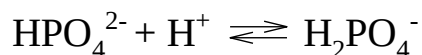
4. Bufor białczanowy H-białczany/białczany⁻

Białka ze względu na obecność grupy aminowej i karboksylowej mogą pełnić funkcje buforujące – grupa aminowa przyłącza H^+ , a grupa karboksylowa wiąże OH^- (produktem ubocznym jest woda).

5. Bufor hemoglobinowy H-Hb/HbO₂⁻

Reguluje pH we wnętrzu erytrocytów, a tym samym przyczynia się do regulacji pH krwi. Współpracuje z buforem wodorowęglanowym i pośredniczy w procesie wymiany gazowej, gdyż hemoglobina transportuje tlen do komórek, zabierając dwutlenek węgla jako produkt metabolizmu w warunkach tlenowych.

Mechanizm działania buforów po dodaniu kwasów lub zasad do buforu fosforanowego



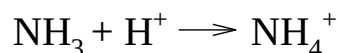
Analogicznie, powyższą równowagę można rozpisać dla pozostałych buforów, pamiętając, że według teorii Brönsteda-Lowry'ego kwas oddaje proton i ulega reakcji z zasadami, a zasada przyjmuje proton, reagując z kwasami.

Przykładowe zadania

1. Podaj postać równania Hendersona-Hasselbalcha dla buforu fosforanowego. Wartość pK_a odczytaj z tablic chemicznych.

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]} = 7,6 + \log \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]}$$

2. Odpowiedz, jak zmieni się pH buforu amoniakalnego, gdy do buforu dodano silny kwas i wiadomo, że przekroczono pojemność buforową. Napisz równanie reakcji przedstawiające wiązanie jonów H^+ przez bufor.



Odpowiedź: pH buforu zmniejszyło się.

3. Oblicz pH roztworu buforowego otrzymanego przez zmieszanie 180 ml roztworu kwasu octowego o stężeniu 0,1 mol/l ($pK_a = 4,76$) i 200 ml roztworu octanu sodu o stężeniu 0,4 mol/l.

Dane	Szukane	Obliczenia
$C_{CH_3COOH} = 0,1 \text{ mol/l}$ $V_{CH_3COOH} = 180 \text{ ml} = 0,18 \text{ l}$ $C_{CH_3COONa} = 0,4 \text{ mol/l}$ $V_{CH_3COONa} = 200 \text{ ml} = 0,2 \text{ l}$ $pK_a = 4,76$	$pH = ?$	$CH_3COOH \rightleftharpoons H^+ + CH_3COO^-$ I sposób $[CH_3COOH] = \frac{0,1 \frac{\text{mol}}{\text{l}} \cdot 0,18 \text{ l}}{0,18 \text{ l} + 0,2 \text{ l}} = 0,047 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ $[CH_3COONa] = \frac{0,4 \frac{\text{mol}}{\text{l}} \cdot 0,2 \text{ l}}{0,18 \text{ l} + 0,2 \text{ l}} = 0,21 \frac{\text{mol}}{\text{l}}$ $pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} = 4,76 + \log \frac{[0,21]}{[0,047]} = 4,7 + 0,65 = 5,41$ II sposób $n_{CH_3COOH} = 0,1 \text{ mol/l} \cdot 0,18 \text{ l} = 0,018 \text{ mol}$ $n_{CH_3COONa} = 0,4 \text{ mol/l} \cdot 0,2 \text{ l} = 0,08 \text{ mol}$ $pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} = 4,76 + \log \frac{[0,08]}{[0,018]} = 4,76 + 0,65 = 5,41$

Odpowiedź: pH roztworu buforowego wynosi 5,41.

4. W osoczu stężenie H_2CO_3 wynosi 1,2 mmol/l, a stężenie HCO_3^- jest równe 25 mmol/l. Ile wynosi pH buforu wodorowęglanowego, wiedząc, że pK_1 dla H_2CO_3 równe jest 6,1.

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} = 6,1 + \log \frac{[25]}{[1,2]} = 6,1 + 1,32 = 7,42$$

Odpowiedź: pH roztworu buforowego wynosi 7,42.

1.7. Równowaga kwasowo-zasadowa organizmu

Aby właściwie oszacować i określić rodzaj zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej, wynik badania laboratoryjnego należy porównać z normami (tabela 3). W oparciu o wartość pH, określa się wystąpienie kwasicy lub zasadowicy. Spadek pH krwi poniżej 7,35 wskazuje na kwasicę, a wzrost pH krwi powyżej 7,45 informuje o wystąpieniu zasadowicy. Co więcej, na podstawie zmian wartości HCO_3^- oraz pCO_2 , wskazuje się, czy nieprawidłowości mają podłoże oddechowe czy metaboliczne. Rozróżnienie zaburzeń: wyrównanych, niewyrównanych czy częściowo wyrównanych nie jest wymagane na tym poziomie nauczania. Nieprawidłowe wartości pH mogą zostać wyrównane poprzez bufony, regulację nerkową lub płucną, a w sytuacjach cięższych – wymagana jest odpowiednia terapia medyczna. Opisuując sposób kompensacji odchyłeń kwasowo-zasadowych, warto pamiętać, że zaburzenia oddechowe wyrównywane są na drodze metabolicznej, a zaburzenia metaboliczne przez regulację oddechową.

Tabela 3

Wartości prawidłowe krwi tętniczej w diagnostyce zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej

Wskaźnik	Zakres prawidłowy
H^+ (nmol/l)	35-45
pH	7,35-7,45
pCO_2 (mmHg)	35-45
pO_2 (mmHg)	80-100
HCO_3^- (mmol/l)	23-27
Niedobór lub nadmiar zasad (mmol/l)	-2,5-2,5

Źródło: opracowanie własne na podstawie *Zaburzenia gospodarki wodno-elektrolitowej oraz kwasowo-zasadowej*, F. Kokot, E. Franek, 2015, Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL.

Typy zaburzeń równowagi kwasowo-zasadowej opisano poniżej.

a) Kwasica metaboliczna

- przyczyny: nadmierne wytwarzanie lub dostarczanie organizmowi kwasów nietłych, obniżone wydzielanie H^+ lub nieprawidłowa regeneracja HCO_3^- przez nerki, zbyt duża ilość traconych zasad (np. przy biegunce);
- sposób kompensacji: hiperwentylacja;
- rodzaje kwasicy metabolicznych:
 - ketonowa cukrzycowa jako konsekwencja hiperglikemii i obecności ciał ketonowych,
 - ketonowa alkoholowa jako konsekwencja odwodnienia i ograniczonych możliwości wykorzystania glukozy; ciała ketonowe jako dodatkowe źródło energii,
 - mocznicowa jako konsekwencja niewydolności nerek,
 - mleczanowa jako konsekwencja deficytu tlenowego podczas wysiłku fizycznego, przzerwania ciągłości naczyń krwionośnych, wstrząsu kardiogennego czy niewydolności wielonarządowej.

b) Kwasica niemetaboliczna (oddechowa)

- przyczyny: utrudniona wymiana gazowa, przewlekłe niedotlenienie, uszkodzenie ośrodka oddechowego;
- sposób kompensacji: wzrost wydalania H^+ w regulacji nerkowej.

c) Zasadowica metaboliczna

- przyczyny: zwiększona utrata H^+ (np. w wyniku wymiotów), wystąpienie hipokaliemii, nadmiar zasad (podwyższony poziom HCO_3^-);
- sposób kompensacji: ograniczone usuwanie H^+ przez nerki oraz częściowo spowolniony oddech.

d) Zasadowica niemetaboliczna (oddechowa)

- przyczyny: zwiększona wentylacja płuc, co prowadzi do wzrostu usuwania dwutlenku węgla, gorączka, szok psychiczny;
- sposób kompensacji: ograniczone usuwanie H^+ przez nerki z moczu pierwotnego i uregulowanie czynności oddychania.

Przykładowe zadania

1. Wskaż rodzaj zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej u osoby, u której wykryto 1 promil alkoholu we krwi i zaobserwowano trudności w oddychaniu. Wyniki zestawiono w poniżej.

$\text{pH} = 7,30$
 $\text{pCO}_2 = 21 \text{ mmHg}$
 $\text{pO}_2 = 98 \text{ mmHg}$
 $\text{HCO}_3^- = 13 \text{ mmol/l}$
 $\text{BE} = -12 \text{ mEq/l}$

Odpowiedź:

- *pH poniżej dolnej granicy normy, co wskazuje na kwasicę*
- *pCO₂ poniżej dolnej granicy normy jako konsekwencja trudności w oddychaniu*
- *HCO₃⁻ poniżej dolnej granicy normy, co informuje o niedoborze zasad*

Zatem u pacjenta zdiagnozowano kwasicę metaboliczną (częściowo wyrównaną).

2. Na podstawie poniższych danych wskaż rodzaj zaburzenia równowagi kwasowo-zasadowej:

a) $\text{pH} = 7,35$ $\text{pCO}_2 = 60 \text{ mmHg}$ $\text{pO}_2 = 68 \text{ mmHg}$ $\text{HCO}_3^- = 29,5 \text{ mmol/l}$ $\text{BE} = 7,5 \text{ mmol/l}$

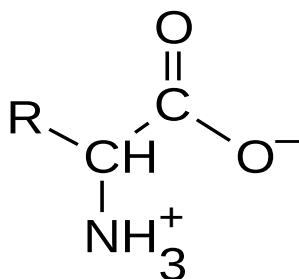
Odpowiedź: kwasica oddechowa (wyrównana).

b) $\text{pH} = 7,48$ $\text{pCO}_2 = 49 \text{ mmHg}$ $\text{pO}_2 = 79 \text{ mmHg}$ $\text{HCO}_3^- = 32 \text{ mmol/l}$ $\text{BE} = 9 \text{ mmol/l}$

Odpowiedź: zasadowica metaboliczna (niewyrównana)

2. Podstawowe własności aminokwasów

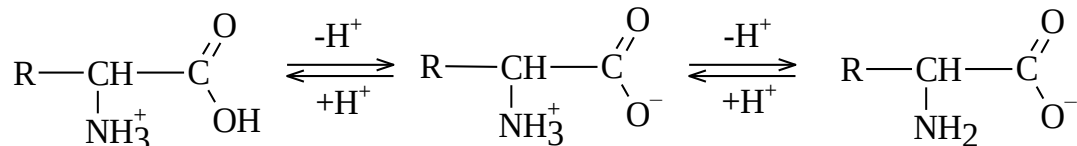
Aminokwasy to grupa związków organicznych, zbudowana z atomów węgla, wodoru, łańcucha bocznego oznaczanego jako R oraz grup funkcyjnych, tj. grupa karboksylowa (COOH) oraz aminowa (NH₂), przyłączonych do tego samego atomu węgla, tzw. węgla α (wyjątek prolina). Obecność tych grup nadaje aminokwasom własności amfoteryczne – możliwość reakcji z kwasami i zasadami.



Rysunek 5. Wzór ogólny aminokwasu.

Źródło: opracowanie własne.

W środowisku wodnym, w punkcie izoelektrycznym aminokwasy mogą występować w postaci jonu obojnego (ładunek elektrostatyczny wynosi 0), w pH kwasowym w formie kationowej, zaś w pH zasadowym w formie anionowej. Amfoteryczny charakter aminokwasów nadaje im własności buforujących.



Rysunek 6. Zmiany stopnia protonacji aminokwasu w zależności od pH.

Źródło: opracowanie własne.

W przyrodzie dostępnych jest kilkaset aminokwasów, ale tylko 20 z nich może budować białka – jako α -aminokwasy. Co więcej, aminokwasy białkowe stanowią podstawę kodu genetycznego, który jest uniwersalny dla wszystkich form życia. Pozostałe funkcje aminokwasów białkowych i aminokwasów niebiałkowych to:

- budowa centrów aktywnych enzymów, np. seryna buduje proteazy serynowe i lipazy;
- budowa różnych struktur w organizmie, np. kolagenu oraz elastyny (hydroksyprolina), koenzymu A (β -alanina);
- substraty w syntezie neuroprzekaźników, np. z tyrozyny powstaje dopamina;
- udział w szlakach metabolicznych, np. cykl mocznikowy (cytrulina, ornityna) i w przewodnictwie nerwowym (np. kwas γ -aminomasłowy);
- przeciwutleniające, np. cysteina w glutationie;
- regulacyjne, np. tauryna;
- buforujące;
- hormonalne, np. pochodne tyrozyny, tj. tyroksyna, trójjodotyronina;
- transportujące azot, np. glutamina i alanina;
- jako źródło energii w sytuacji niedoboru węglowodanów (glukogenne: alanina, glicyna i inne; ketogenne: leucyna, lizyna; gluko-ketogenne: izoleucyna, fenyloalanina i inne);
- udział w syntezie immunoglobulin, np. cysteina, tyrozyna, tryptofan.

Tabela 4

Nazewnictwo aminokwasów i ich wzory strukturalne

Nazwa aminokwasu	Skrót	Wzór
Glicyna	Gly	
Alanina	Ala	
Walina	Val	
Leucyna	Leu	
Izoleucyna	Ile	
Fenylalanina	Phe	
Tyrozyna	Tyr	
Tryptofan	Trp	
Kwas asparaginowy (asparaginian)	Asp	
Kwas glutaminowy (glutaminian)	Glu	
Histydyna	His	
Lizyna	Lys	
Arginina	Arg	
Prolina	Pro	
Seryna	Ser	
Treonina	Thr	
Asparagina	Asn	
Glutamina	Gln	
Cysteina	Cys	
Metionina	Met	

Źródło: opracowanie własne.

Aminokwasy posiadają cztery różne podstawniki przy węglu α (wyjątek glicyna), są związkami optycznie czynnymi, co oznacza, że mogą skręcać płaszczyznę światła spolaryzowanego w prawo lub w lewo. Aminokwasy mogą mieć konfigurację D lub L, jednak te, które występują naturalnie i budują białka w organizmach żywych, posiadają konfigurację L, co oznacza, że w projekcji Fischera grupa aminowa znajduje się po lewej stronie, a grupa karboksylowa u góry.

Istnieje kilka sposobów klasyfikacji aminokwasów:

a) endogenne i egzogenne

Aminokwasy egzogenne muszą być dostarczane z pożywieniem, gdyż w organizmie nie ma szlaków ich syntezy lub są syntezowane w niewystarczającej ilości w stosunku do zapotrzebowania organizmu.

Tabela 5

Klasyfikacja aminokwasów

Endogenne	Egzogenne
Alanina	Fenylalanina
Asparagina	Izoleucyna
Kwas asparaginowy	Leucyna
Cysteina	Lizyna
Glutamina	Metionina
Kwas glutaminowy	Treonina
Glicyna	Tryptofan
Prolina	Walina
Seryna	Histydyna (egzogenna u dzieci)
Tyrozyna	

Źródło: opracowanie własne.

b) glukogenne, ketogenne, glukoketogenne

W sytuacji niedoboru energetycznego w organizmie, aminokwasy glukogenne mogą być przekształcane do metabolitów, z których powstanie glukoza. Aminokwasy ketogenne są przekształcane w ciała ketonowe, a glukoketogenne mogą być metabolizowane do glukozy lub ciał ketonowych.

Tabela 6

Klasyfikacja aminokwasów

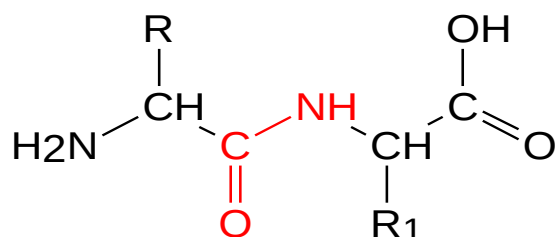
Glukogenne	Ketogenne	Glukoketogenne
Alanina		
Arginina		
Asparagina		
Kwas asparaginowy		
Cysteina		
Glutamina		
Kwas glutaminowy		
Glicyna		
Histydyna		
Metionina		
Prolina		
Seryna		
Walina		
	Lizyna	Izoleucyna
	Leucyna	Fenylalanina
		Treonina
		Tryptofan
		Tyrozyna

Źródło: opracowanie własne.

3. Peptydy i białka

Wiązanie peptydowe jest sposobem połączenia dwóch lub więcej aminokwasów. Powstaje między grupą α karboksylową jednego aminokwasu a grupą α aminową kolejnego aminokwasu. Wiązanie to ma charakter częściowego wiązania podwójnego, jest wiązaniem kowalencyjnym, jest odporne na czynniki denaturujące, nie jest obdarzone ładunkiem, wykazuje polarność i ograniczone możliwości rotacji.

W zależności od liczby połączonych aminokwasów wyróżnia się dipeptydy, tripeptydy itd., a połączenie od kilku do kilkunastu aminokwasów określane jest jako oligopeptyd. Polipeptydy składają się z kilkadziesiątu aminokwasów. Zatem każde białko zbudowane jest z polipeptydów, natomiast nie każdy polipeptyd jest białkiem. Oprócz odpowiedniej liczby aminokwasów w swojej strukturze, kryterium stawiane białkom wymaga, by posiadały one strukturę przestrzenną (trzeciorzędową strukturę), ponieważ wiąże się to z pełnionymi przez nie funkcjami. Peptydy znalazły szerokie zastosowanie w różnych dziedzinach życia, m.in. jako hormony (insulina, glukagon, oksytocyna, wazopresyna), leki (analogi GLP-1), antyoksydanty (glutacja), substancje rozszerzające naczynia krwionośne (bradykinina), regulujące ciśnienie krwi i gospodarkę wodno-elektrolitową (angiotensyna), substancje przeciwstarzeniowe w kosmetologii czy przeciwdrobnoustrojowe.



Rysunek 7. Wiązanie peptydowe.

Źródło: opracowanie własne.

Białka proste zbudowane są tylko z aminokwasów, a białka złożone zawierają w swojej budowie część niebiałkową (prostetyczną), którą mogą być np. jony metali, lipidy, cukry, kwasy nukleinowe.

Uwzględniając kształt cząsteczki białka, wyróżnia się białka globularne oraz fibrylarne, których cechy porównano w tabeli 7.

Tabela 7

Różnice między białkami globularnymi a fibrylarnymi

Własność/cecha	Globularne	Fibrylarne
Budowa	sferyczna, kulista	wydłużone, uporządkowane włókna
Rozpuszczalność w wodzie	dobra	zazwyczaj nierozpuszczalne
Funkcje w organizmie	enzymatyczne, odpornościowe, transportowe i inne	strukturalne, wytrzymałościowe m.in. w tkance łącznej, w ścięgnach
Przykład białek	hemoglobina, mioglobina, immunoglobuliny	kolagen, elastyna

Źródło: opracowanie własne.

Kolejnym sposobem klasyfikacji jest podział białek ze względu na pełnione funkcje:

- a) budulcowe, np. kolagen, aktyna, elastyna;
- b) enzymatyczne, np. amylaza, lipaza;
- c) motoryczne, np. aktyna, miozyna;
- d) transportujące, np. hemoglobina, transferyna;
- e) hormonalne, np. insulina;
- f) odpornościowe, np. immunoglobuliny;
- g) magazynujące, np. ferrytyna, mioglobina.

Białka można także podzielić na albuminy – związki dobrze rozpuszczalne w wodzie oraz roztworach soli, a także globuliny – białka słabo rozpuszczalne w wodzie, natomiast dobrze rozpuszczalne w roztworach soli.

Aktywność biologiczna białek wynika bezpośrednio z ich niepowtarzalnej budowy przestrzennej, więc szczegółowe zrozumienie struktury białek jest niezbędne do poznania ich roli w komórkach. Struktura białek nie jest jednorodna, obejmuje różne stopnie organizacji, z których każdy ma istotne znaczenie dla przestrzennej konfiguracji oraz aktywności białek. Wyróżnia się struktury: pierwszorzędową, drugorzędową, trzeciorzędową i czwartorzędową.

Struktura pierwszorzędowa opisuje kolejność aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym, połączonych wiązaniem peptydowym. Analiza sekwencji aminokwasów w białku pozwala określić jego rolę biologiczną, przewidzieć trójwymiarową strukturę i zidentyfikować zmiany genetyczne.

Drugorzędowa struktura białka określa kształt łańcucha polipeptydowego – helisę α czy harmonijkę β (są to najczęstsze struktury białek, istnieją jeszcze inne). Helisa α jest prawoskrętną spiralą, stabilizowaną przez wiązania wodorowe w obrębie łańcucha, a boczne łańcuchy aminokwasów zwrócone są na zewnątrz, umożliwiając kontakt z innymi cząsteczkami. Przykładowe białka o strukturze helisy α to m.in. keratyna oraz mioglobina. Forma harmonijki β zawiera dwa lub więcej łańcuchów polipeptydowych, łańcuchy mogą być ułożone w tym samym kierunku bądź w przeciwnych kierunkach, a odległość między sąsiadującymi aminokwasami jest większa niż w α helisie. Podobnie jak wcześniej, wiązania wodorowe pomiędzy wiązaniami peptydowymi oddalonymi od siebie w tym samym łańcuchu lub między różnymi łańcuchami polipeptydowymi zapewniają stabilność struktury β . Fibroina czy β keratyna to białka o strukturze β harmonijki.

Trzeciorzędowa struktura białka to ich przestrzenne ukształtowanie, obejmujące pofałdowanie łańcucha przy jednoczesnym zachowaniu helisy α oraz harmonijek β . Struktura trzeciorzędowa odnosi się do tego, jak aminokwasy – nawet oddalone od siebie – układają się względem siebie w przestrzeni i wyjaśnia, w jaki sposób grupy boczne aminokwasów oddziałują ze sobą, wpływając przez to na tworzenie zwartej, przestrzennej budowy białka. W strukturze trzeciorzędowej wyróżnia się wiązania stabilizujące, tj.:

- wodorowe – pomiędzy polarnymi grupami bocznymi aminokwasów, aminokwasy o polarnych lub naładowanych grupach bocznych przemieszczają się na zewnętrzną część cząsteczki białka, gdzie mogą wchodzić w interakcje z wodnym otoczeniem, zatem wiązania te zwiększają rozpuszczalność białka;

- hydrofobowe – między niepolarnymi grupami bocznymi aminokwasów, które mają skłonność do gromadzenia się we wnętrzu białka;
- disiarczkowe – są rodzajem wiązania kowalencyjnego, jako efekt oddziaływań reszt cysteiny oddalonych od siebie w ramach jednego łańcucha polipeptydowego lub będących na różnych łańcuchach polipeptydowych; wiązania te szczególnie są zaangażowane we wzmacnianie struktury przestrzennej białka;
- jonowe – są efektem oddziaływań pomiędzy bocznymi grupami -COO^- w asparaginie, glutaminie a grupami bocznymi -NH_3^+ lizyny; są zaangażowane w utrzymanie fałdowań i odpowiednich zgięć łańcucha polipeptydowego, tworzenie specyficznych układów przestrzennych, co jest istotne dla budowy centrów aktywnych enzymów.

Przykładem białek o strukturze trzeciorzędowej jest mioglobina i lizozym.

Białka posiadają strukturę czwartorzędową, gdy składają się z więcej niż jednego łańcucha polipeptydowego (podjednostki), a ich łańcuchy oddziałują ze sobą za pomocą wiązań wodorowych, disiarczkowych, hydrofobowych czy jonowych. Podjednostki w strukturze czwartorzędowej mogą być takie same lub różne, np. α i β , a białko może podlegać wpływowi efektorów allosterycznych, czyli cząsteczek, które przyłączając się do określonego miejsca w białku, mogą zmieniać jego strukturę przestrzenną i aktywność biologiczną. Przykładami białek o strukturze czwartorzędowej są: hemoglobina, dehydrogenaza mleczanowa i immunoglobuliny.

Fałdowanie łańcucha polipeptydowego jest procesem, w którym białko uzyskuje strukturę trzeciorzędową, a czasem czwartorzędową. Proces ten jest niezbędny, aby białko mogło ostatecznie pełnić swe funkcje. W fałdowaniu białek istotną rolę odgrywają wszystkie wspomniane powyżej oddziaływania stabilizujące strukturę białek, a oprócz tego też tzw. białka opiekuńcze (białka szoku cieplnego, HSP) – wspomagają one prawidłowe fałdowanie białek i zapobiegają ich agregacji.

3.1. Czynniki wpływające na strukturę białek

3.1.1. Środowisko wodne

Białka zbudowane z aminokwasów polarnych (aminokwasy z grupami -OH , -SH , -NH_3^+ , -COO^-) cechują się dobrą rozpuszczalnością w wodzie. Wynika to z ich zdolności do tworzenia wiązań wodorowych z cząsteczkami wody. Białka zbudowane z aminokwasów hydrofobowych są nierozpuszczalne w wodzie. Jeśli białko zawiera zarówno grupy polarne, jak i niepolarne, wówczas o jego rozpuszczalności w wodzie (lub jej braku) decyduje, które z tych grup dominują – przewaga grup polarnych sprzyja rozpuszczaniu w wodzie, a dominacja grup niepolarnych ogranicza tę zdolność. Białka – ze względu na dużą masę cząsteczkową – w wodzie tworzą roztwór koloidalny. Oznacza to, że cząsteczki białka nie rozpuszczają się całkowicie, lecz rozpraszają się w postaci cząstek koloidalnych. W roztworze koloidalnym białka zachowują strukturę przestrzenną, ulegają efektowi Tyndala i nadal są zdolne do oddziaływania z innymi cząsteczkami.

3.1.2. Środowisko soli

W niskim stężeniu sole działają stabilizująco na białka. Jony soli neutralizują ładunki powierzchniowe białek oraz ułatwiają ich solwatację, czyli otaczanie cząsteczkami wody. Dzięki temu białka lepiej się rozpuszczają. Z kolei wysokie stężenie soli powoduje wytrącanie białek w roztworze (wysalanie), gdyż działanie soli polega na wiązaniu wody, co prowadzi do odwodnienia białka, utraty jego otoczki hydratacyjnej i wytrącenia białka z roztworu. Jednak podczas wysalania nie dochodzi do zerwania wiązań stabilizujących strukturę przestrzenną białka.

3.1.3. Czynniki denaturujące

Denaturacja to proces, w którym dochodzi do rozwinięcia i zniszczenia struktury drugorzędowej, trzeciorzędowej i czwartorzędowej białka, z zachowaniem struktury pierwszorzędowej. Denaturacja nie niszczy wiązań peptydowych w białku, lecz wpływa na wiązania stabilizujące strukturę białka. Gdy stabilizujące wiązania ulegają rozerwaniu, grupy funkcyjne aminokwasów stają się aktywne i mogą tworzyć inne wiązania, co prowadzi do zmiany kształtu cząsteczki. Czynnikiem denaturującym mogą być: wysoka temperatura, ekstremalne pH, rozpuszczalniki organiczne, sole metali ciężkich, detergenty, kwasy, zasady, promieniowanie UV, wytrząsanie, pozbawienie białka wody hydratacyjnej i wiele innych determinantów, choć należy pamiętać, że czas i nasilenie/stężenie działającego czynnika będzie decydować, czy dojdzie do denaturacji. Z praktycznego punktu widzenia denaturację można rozpoznać po utracie aktywności biologicznej białka, zmianie lepkości roztworu, jego zmętnieniu lub wytrąceniu osadu. Należy jednak pamiętać, że samo wytrącenie osadu nie zawsze jednoznacznie świadczy o denaturacji, gdyż może być też wynikiem koagulacji.

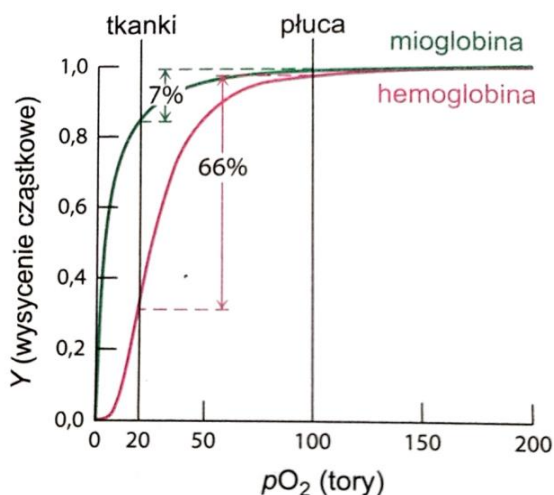
3.2. Charakterystyka wybranych białek

3.2.1. Mioglobina i hemoglobina

Mioglobina należy do białek globularnych, a większość łańcucha występuje w formie α helis. Mioglobina występuje w mięśniach szkieletowych i w sercu, posiada trzeciorzędową strukturę przestrzenną, a jej pojedynczy łańcuch zawiera grupę hemową, stanowiącą część prostetyczną tej cząsteczki. W hemie obecny jest atom żelaza, do którego przyłącza się tlen. Mioglobina odznacza się dużym powinowactwem do tlenu i dosyć ścisłym upakowaniem – niepolarne aminokwasy budujące mioglobinę skierowane są do jej wnętrza, a ugrupowania polarne rozmieszczone są na powierzchni mioglobiny, dzięki czemu woda i mioglobina oddziałują na siebie (poprzez wiązania wodorowe). Mioglobina odpowiada za wiązanie tlenu w mięśniach, a następnie uwalnianie go na potrzeby komórki mięśniowej. W procesie oddychania komórkowego, wspomaga dostawę tlenu do mitochondriów, gdzie przebiega fosforylacja oksydacyjna. Również dzięki mioglobinie możliwe jest utrzymanie przemian aerobowych w komórce mięśniowej, w celu pozyskania energii w stanach niedoboru tlenu.

Innym białkiem, ważnym z punktu widzenia gospodarki tlenem w organizmie i przemian metabolicznych, jest hemoglobina. Hemoglobina charakteryzuje się bardziej złożoną budową niż mioglobina (czwartorzędowa struktura), jest białkiem allosterycznym, a jej cechą wspólną z mioglobiną jest obecność hemu w cząsteczce. Hemoglobina zbudowana jest z czterech łańcuchów polipeptydowych (dwa łańcuchy α oraz dwa łańcuchy β), z aminokwasami niepolarnymi wewnątrz i częściowo zlokalizowanymi na powierzchni podjednostek. Hemoglobina występuje w erytrocytach, przenosi tlen

z płuc do naczyń włosowatych, a także poprzez przyłączanie dwutlenku węgla transportuje go z tkanek do płuc. Najpopularniejszym rodzajem hemoglobiny u osoby dorosłej jest hemoglobina A (HbA), a w okresie życia płodowego dominuje hemoglobina F (HbF). Hemoglobina jest buforem krwi, gdyż w zależności od pH komórki i stężenia dwutlenku węgla może wiązać jony wodorowe, tym samym regulując pH. Wiązanie tlenu przez hemoglobinę jest procesem odwracalnym, podlegającym regulacji allosterycznej. W porównaniu z mioglobiną, posiada niższe powinowactwo do tlenu, dzięki czemu tlen jest łatwiej oddawany do komórek. Przyłączanie tlenu do Fe^{2+} nie wywołuje zmiany stopnia utlenienia żelaza na 3^+ , więc proces ten nazywany jest utlenowaniem, a hemoglobina utlenowana to oksyhemoglobina, zaś odtlenowana – deoksyhemoglobina.

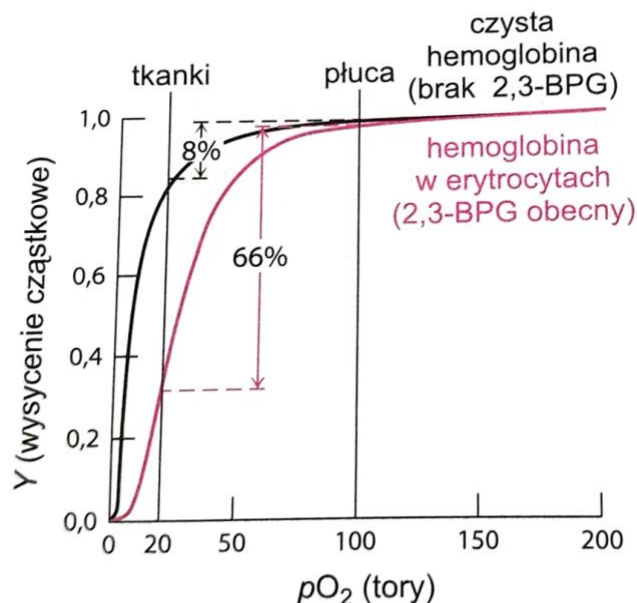


Rysunek 8. Krzywe wysycenia hemoglobiny i mioglobiny tlenem.

Źródło: *Biochemia. Krótki kurs*, J.L. Tymoczko, J.M. Berg, L. Stryer, 2013, Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.

Krzywa wysycenia hemoglobiny lub mioglobiny tlenem w zależności od ciśnienia parcjalnego tlenu ($p\text{O}_2$) nazywana jest krzywą dysocjacji tlenu. Z wykresu powyżej wynika, że zarys krzywych dysocjacji przyjmuje różną formę dla hemoglobiny (kształt sigmoidalny) i mioglobiny (kształt hiperboli). W płucach, gdzie $p\text{O}_2$ jest wysokie, hemoglobina prawie całkiem ulega wysyceniu tlenem (w 98%). Transportując wraz z krwią i oddając tlen do tkanek, stopień wysycenia hemoglobiny tlenem maleje. Wymiana tlenu pomiędzy hemoglobiną a tkankami zachodzi na drodze dyfuzji, zaś dostarczony tlen może być przeznaczony do przemian metabolicznych w mitochondriach. Tetraedryczna budowa hemoglobiny, a zatem możliwość przyłączenia i transportu większej ilości tlenu w porównaniu z mioglobiną, jak również wpływ regulatorów allosterycznych na oddawanie tlenu do tkanek sprawia, że to hemoglobina, a nie mioglobina jest lepszym przekaźnikiem tlenu. Hemoglobina może wiązać cztery cząsteczki tlenu. Co więcej, wykazuje tzw. działanie kooperatywne, które można wytłumaczyć w następujący sposób: przyłączenie tlenu do jednej podjednostki hemoglobiny sprawia, że wiązanie tlenu przez kolejne podjednostki jest łatwiejsze; innymi słowy – przyłączenie pierwszej cząsteczki tlenu do podjednostki zwiększa powinowactwo pozostałych podjednostek do wiązania tlenu przez hemoglobinę.

Jak wspomniano wcześniej, powinowactwo hemoglobiny do tlenu zależy od ciśnienia parcjalnego tlenu i dwutlenku węgla, aktualnej wartości pH, a także podlega regulacji przez 2,3-bisfosfoglicerynian. Z kolei mioglobina nie podlega wpływowi efektorów allosterycznych.

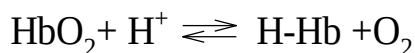


Rysunek 9. Rola 2,3-BPG w regulacji transportu tlenu przez hemoglobinę.

Źródło: *Biochemia. Krótki kurs*, J.L. Tymoczko, J.M. Berg, L. Stryer, 2013, Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.

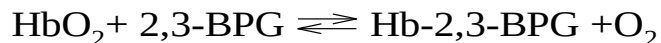
W tkankach aktywnych metabolicznie ilość powstających jonów H⁺ oraz CO₂ jest większa, ze względu na szybsze tempo przemian metabolicznych. Wzrost pCO₂ lub stężenia H⁺ są czynnikami zwiększającymi oddawanie tlenu do komórek, gdyż powinowactwo hemoglobiny do tlenu maleje, a krzywa dysocjacji przesuną się w prawo. Deoksyhemoglobina chętniej wiąże H⁺ niż oksyhemoglobina, stąd też po oddaniu tlenu tkankom, hemoglobina przyłącza H⁺, tym samym pełniąc funkcję buforującą. W sytuacji odwrotnej – wzrost pH i spadek pCO₂ powoduje, że krzywa dysocjacji ulegnie przesunięciu w lewo, a powinowactwo hemoglobiny do tlenu zwiększy się. Opisany proces jest określany jako efekt Bohra.

Równanie reakcji opisujące efekt Bohra



2,3 bisfosfoglicerynian (2,3-BPG) występuje w erytrocytach, gdzie pełni rolę allosterycznego regulatora aktywności hemoglobiny. Stabilizując stan T deoksyhemoglobiny, zmniejsza powinowactwo tlenu do hemoglobiny odtlenowanej, dzięki czemu tlen jest łatwiej oddawany do tkanek. Mechanizm ten ma znaczenie w sytuacjach niedotlenienia w organizmie, ponieważ powoduje uwolnienie większej ilości tlenu z oksyhemoglobiny.

Równanie reakcji opisujące efekt wywołany przez 2,3-BPG



Hemoglobina ma możliwość przyłączania też tlenku węgla (II) – powstaje karboksyhemoglobina. W rezultacie, ze względu na wyższe powinowactwo hemoglobiny do CO niż do O₂, dojdzie do trudności w oddawaniu tlenu przez hemoglobinę do komórek i rozwoju niedotlenienia. Proces ten jest odwracalny i podanie tlenu pod zwiększonym ciśnieniem sprzyja odłączaniu CO od hemoglobiny.

3.2.2. Kolagen i elastyna

Kolagen jest najbardziej rozpowszechnionym białkiem w organizmie człowieka. Należy do białek fibrylarnych, posiada czwartorzędową strukturę, zbudowany jest z trzech łańcuchów polipeptydowych w formie α, łańcuchy te są skręcone wokół siebie, połączone wiązaniami wodorowymi, a cząsteczka kolagenu jest sztywna oraz długa. Aminokwasy budujące kolagen to: glicyna, prolina oraz hydroksyprolina lub hydroksylizyna. Dwa ostatnie aminokwasy powstają w wyniku obróbki potranslacyjnej i decydują o stabilizacji struktury przestrzennej kolagenu. Reszty hydroksylizyny mogą ulegać glikozylacji enzymatycznej poprzez dodanie glukozy lub galaktozy. W zależności od miejsca występowania, kolagen może przybierać formę żelu lub włókien. Kolagen odpowiada za wytrzymałość tkanek na rozciąganie, uczestniczy w regeneracji tkanek i w adhezji komórek, nadaje skórze odpowiednią jędrność oraz elastyczność. Istnieje wiele typów kolagenów, z których każdy pełni określoną funkcję i występuje w konkretnych miejscach w organizmie. Kolageny te różnią się między sobą budową, właściwościami biochemicznymi oraz sposobem organizacji struktury przestrzennej. W związku z powyższym wyróżnia się kolageny:

- a) tworzące włókna i nadające wytrzymałość tym włóknom – typ I, II, III;
- b) tworzące siateczkowate struktury – typ IV, VIII;
- c) łączące włókna z elementami tkanek – typ IX, XII;
- d) specyficzne tkankowo – typ VI, VII, XIII, XV i inne.

Elastyna jest białkiem mniej rozpowszechnionym niż kolagen, należy do białek fibrylarnych, jest nierozpuszczalna w wodzie, w przeciwieństwie do jej prekursora – tropoelastyny, która rozpuszcza się w środowisku wodnym. Elastyna nie posiada potrójnego heliksu jak kolagen, nie zawiera hydroksylizyny, reszt cukrowych, ale zawiera poprzeczne połączenia desmozynowe. Elastyna, w odróżnieniu od większości białek, nie tworzy regularnych struktur drugorzędowych, takich jak helisa α czy β-harmonijka. Jej budowa jest nieregularna i elastyczna, co umożliwia pełnienie funkcji sprężystych. Utworzona sieć w wyniku sieciowania tropoelastyny sprawia, że tkanki zawierające elastynę są odporne na wyginanie i rozciąganie. Elastyna buduje skórę, ściany naczyń krwionośnych, płuca i więzadła.

3.2.3. Aktyna i miozyna

Najważniejsze białka budujące mięśnie to aktyna i miozyna. Białka te wraz z innymi białkami pomocniczymi, zaangażowane są w skurcz mięśni, tworząc sarkomer. Aktyna tworzy filamenty cienkie mięśnia. Jest białkiem globularnym (G - aktyna), niewykazującym aktywności katalitycznej, a w odpowiednich warunkach fizjologicznych organizmu polimeryzuje, tworząc formę F - aktyny, czyli podwójny heliks. G - aktyna posiada pojedyncze miejsce wiązania miozyny. Forma α aktyny jest charakterystyczna dla komórek mięśniowych, a w komórkach niemięśniowych aktyna przyjmuje postać β lub γ i zaangażowana jest w organizację cytoszkieletu. Dodatkowo, w odpowiednich warunkach może dojść do przemiany aktyny niemięśniowej do F - aktyny.

Miozyna tworzy filamenty grube, zbudowana jest z białkowych łańcuchów tworzących tzw. ogon i główkę, zawierającą łańcuchy lekkie i ciężkie. Łańcuchy lekkie mają postać α helis, są nierozpuszczalne i nie wykazują aktywności katalitycznej. Łańcuchy ciężkie są rozpuszczalne w wodzie, posiadają miejsca wiążące aktynę i ATP, którego hydroliza dostarcza energii do skurczu mięśni. Mostki poprzeczne pomiędzy aktyną a miejscem wiążącym aktynę w głowie miozyny są sposobem interakcji tych dwóch białek i pozwalają na wzajemne przesuwanie się filamentów aktynowych i miozynowych.

4. Enzymy

Enzymy to biologiczne katalizatory, które przyspieszają reakcje zachodzące w organizmach żywych, obniżając energię aktywacji, jednocześnie nie ulegając przy tym trwałemu zużyciu. Większość enzymów jest białkami (wyjątek: rybozymy), których łańcuchy polipeptydowe ulegają zwinięciu oraz ułożeniu w specyficzną, trójwymiarową strukturę, niezbędną do ich funkcjonowania. Enzymy proste składają się wyłącznie z części białkowej/apoenzymu. Ich aktywność katalityczna zależy od określonych fragmentów aminokwasowych, które stanowią centrum aktywne. Utrata tej części powoduje trwałą utratę funkcji enzymu. Do enzymów prostych zalicza się: enzymy proteolityczne, amylazę, ureazę i aldolazę.

Enzymy złożone zbudowane są z części białkowej (apoenzymu) i niebiałkowej (kofaktora), tj.:

- grupy prostetyczne – trwale połączone z częścią białkową enzymu za pomocą wiązań kowalencyjnych; utrata grupy prostetycznej powoduje trwałą utratę aktywności enzymu; grupami prostetycznymi mogą być hem, Fe^{2+} i inne jony nieorganiczne;
- koenzymy, czyli związki, które mogą zostać oddzielone od enzymu; gdy koenzym zostanie usunięty, zarówno część białkowa enzymu, jak i sam koenzym tracą zdolność do katalizowania reakcji, jednak po ponownym połączeniu enzym odzyskuje pełną aktywność. Koenzymy wiążą się z enzymem w trakcie wiązania substratu, a opuszczają go, gdy powstanie produkt. Większość koenzymów pochodzi z witamin z grupy B, a ich funkcją jest transport grup funkcyjnych, wodoru lub elektronów. Przykłady koenzymów to: koenzym A, koenzym Q, pirofosforan tiaminy (witamina B₁), dinukleotyd flawinoadeninowy (FAD, witamina B₂), dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NAD^+ , witamina B₃), acetyloCoA (witamina B₅), biotyna (witamina B₇).

Koenzymy oraz grupy prostetyczne są odporne na ogrzewanie i różnią się budową. Te same grupy prostetyczne czy koenzymowe mogą brać udział w różnych reakcjach chemicznych.

Centrum aktywne jest miejscem, do którego wiązany jest substrat za pomocą słabych, niekowalencyjnych wiązań. Oddziaływania te obejmują siły elektrostatyczne, wiązania wodorowe oraz siły van der Waalsa i są wzmacniane przez efekty hydrofobowe, a większość zmian w konformacji cząsteczki enzymu prowadzi do utraty jego możliwości katalitycznych. Zgodnie z teorią indukowanego dopasowania (Koshlanda), enzymy wykazują elastyczność – kształt ich centrum aktywnego może się zmieniać, dopasowując się do substratu. Apoenzym decyduje o specyficzności substratowej enzymu, kierunku reakcji oraz ma zdolność rozpoznawania substratu, z kolei koenzym lub grupa prostetyczna decydują o typie reakcji.

Każdy enzym ma swoją niepowtarzaną strukturę i specyfikę działania, jednak ich funkcje można uporządkować w czytelny sposób dzięki podziałowi enzymów na sześć głównych klas, co zestawiono w poniższej tabeli.

Tabela 8
Klasy enzymów

Klasa	Typ katalizowanej reakcji	Przykład enzymu
1. Oksydoreduktazy	Utlenianie-redukcja	Dehydrogenaza, reduktaza, oksydaza, katalaza, peroksydaza
2. Transferazy	Przenoszenie grup między związkami	Fosfotransferaza, peptydylotransferaza, glukozylotransferaza, kinaza
3. Hydrolazy	Rozkład wiązań z udziałem wody	Amylaza, lipaza, nukleaza, glukozydaza, peptydaza
4. Liazy	Odszczepianie pewnych grup bez udziału wody oraz addycja grup do wiązań podwójnych	Aldolaza, dehydrataza, dekarboksylaza
5. Izomerazy	Izomeryzacja	Racemaza, epimeraza
6. Ligazy/syntetazy	Reakcje syntezy z hydrolizą ATP	Ligaza DNA, polimeraza DNA, karboksylaza

Źródło: opracowanie własne.

Reakcje z udziałem enzymów są przyspieszane dzięki obniżaniu energii aktywacji dla danej reakcji. Energia aktywacji jest najmniejszą ilością energii, którą muszą uzyskać substraty, żeby uległy przemianom w produkty, a istotną rolę w tym procesie odgrywa stan przejściowy. Energia aktywacji jest różnicą energii swobodnej między stanem przejściowym a substratem. Enzymy obniżają energię aktywacji dzięki dopasowaniu centrum aktywnego do substratu, zmianom w strukturze enzymu oraz stabilizacji stanu przejściowego. Obniżenie energii aktywacji sprawia, że większa liczba cząsteczek substratu może pokonać barierę energetyczną, co prowadzi do zwiększenia szybkości reakcji.

Schemat przebiegu reakcji enzymatycznej



gdzie:

E – enzym

S – substrat

ES – kompleks enzym–substrat

P – produkt.

Aby opisać, jak zmienia się szybkość reakcji enzymatycznej w zależności od stężenia dostępnego substratu, opracowano model kinetyczny Michaelisa-Menten.

$$V = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_M \cdot [S]}$$

gdzie:

V – szybkość reakcji enzymatycznej

[S] – stężenie substratu

K_M – stała Michaelisa,

$V_{\max}$ – szybkość maksymalna.

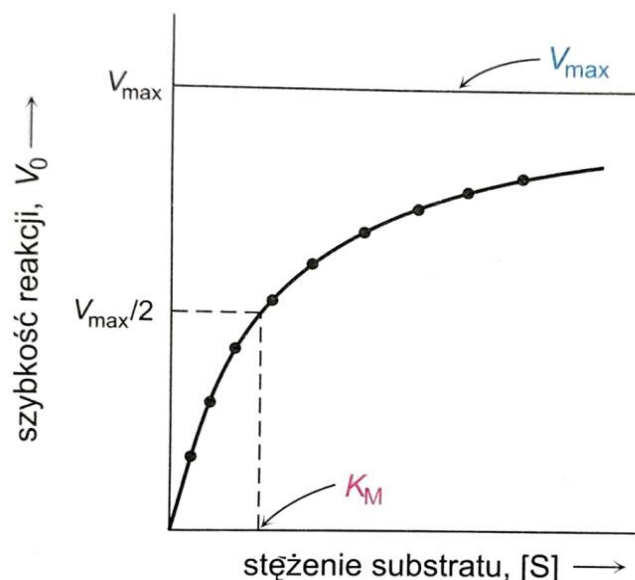
Z równania Michaelisa-Menten wynika, że szybkość reakcji jest wprost proporcjonalna do stężenia substratu, a maksymalną szybkość reakcji ($V_{\max}$) osiąga się, gdy wszystkie cząsteczki enzymu są związane z substratem (pełne wysycenie). $V_{\max}$ jest bezpośrednio związane z liczbą obrotów i stężeniem enzymu.

Stała Michaelisa (K_M) jest jednym z podstawowych parametrów opisujących kinetykę reakcji enzymatycznych. Wyraża stężenie substratu, przy którym szybkość reakcji osiąga połowę swej wartości maksymalnej ($\frac{1}{2}V_{\max}$), wówczas połowa cząsteczek enzymu występuje w postaci wolnej (E), a połowa w postaci kompleksu enzym-substrat (ES). Wartość K_M zależy od właściwości enzymu i substratu, a także od warunków środowiskowych, takich jak pH, temperatura czy siła jonowa roztworu. Typowe wartości K_M mieszczą się w zakresie od 10^{-2} do 10^{-8} mol/dm³. K_M jest zestawieniem stałych szybkości poszczególnych etapów reakcji. Można ją interpretować jako miarę powinowactwa enzymu do substratu:

- niskie $K_M \rightarrow$ wysokie powinowactwo enzymu do substratu (enzym działa efektywnie przy niskim [S]);
- wysokie $K_M \rightarrow$ niskie powinowactwo enzymu do substratu (potrzebne wyższe [S], by osiągnąć $\frac{1}{2}V_{\max}$).

Dla najefektywniejszego działania enzymu korzystne jest, żeby stężenie substratu [S] było zbliżone do K_M , co pozwala na precyzyjną regulację szybkości reakcji w odpowiedzi na zmiany stężenia substratu. Gdy [S] jest znacznie mniejsze niż K_M , to prawie wszystkie miejsca aktywne w enzymie są niezajęte przez substrat, więc szybkość reakcji zależy od stężenia substratu. Gdy [S] jest znacznie większe niż K_M , osiągnięta została szybkość maksymalna, wszystkie miejsca aktywne w enzymie zostały zajęte przez substrat, więc dodanie kolejnej porcji substratu nie wpływa na wzrost szybkości reakcji.

Zasady kinetyki Michaelisa-Menten nie odnoszą się do wszystkich enzymów, a jedynie do takich, które reagują z jednym rodzajem substratu, posiadają jedno miejsce aktywne, nie wykazują kooperatywności i allosteryczności. Ich aktywność zależy od obecności substratu – jeśli substrat jest dostępny, enzym przeprowadza reakcję. Dla enzymów złożonych czy też allosterycznych występują odchylenia od kinetyki Michaelisa-Menten, a enzymy te wymagają bardziej zaawansowanych modeli kinetycznych.



Rysunek 10. Krzywa Michaelisa-Menten.

Źródło: *Biochemia. Krótki kurs*, J.L. Tymoczko, J.M. Berg, L. Stryer, 2013, Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.

Oprócz K_M , do opisu aktywności enzymów wykorzystuje się inne parametry kinetyczne, tj.:

- aktywność właściwa wyrażana w jednostkach katal (kat); 1 katal to ilość enzymu, która w danych warunkach przekształca 1 mol substratu w ciągu 1 sekundy;
- liczba obrotów, która ocenia, ile cząsteczek substratu może zostać przekształconych przez jedną cząsteczkę enzymu w określonej jednostce czasu.

Szybkość reakcji enzymatycznej może być regulowana w zależności od stężenia substratu, ale także od stężenia enzymu, temperatury, wartości pH czy obecności aktywatorów lub inhibitorów. Regulacja ta wygląda następująco:

- a) stężenie enzymu – w sytuacji, gdy substrat jest w nadmiarze, zwiększenie ilości enzymu przyspieszy reakcję;
- b) temperatura – im wyższa temperatura, tym reakcja przebiega szybciej, lecz do pewnego momentu – u człowieka po przekroczeniu 40°C szybkość reakcji enzymatycznej będzie maleć, ze względu na proces denaturacji termicznej enzymu;
- c) pH – nie istnieje jedna, optymalna wartość pH dla większości enzymów; każdy enzym działa aktywnie w optymalnym pH dla środowiska, w którym występuje, np. pepsyna w pH ~1-2, trypsyna pH~8;

- d) aktywatory – są to substancje umożliwiające lub ochraniające aktywność katalityczną enzymu, aktywator zwiększa powinowactwo enzymu do substratu, dzięki czemu maksymalna prędkość reakcji osiągnąca jest przy niższym stężeniu substratu;
- e) inhibitory – są to substancje hamujące aktywność enzymów. Wyróżnia się inhibicję:
- nieodwracalną, w której inhibitor trwale wiąże się z enzymem w wyniku nieodwracalnych modyfikacji grup funkcyjnych w enzymie, a usunięcie inhibitora lub wzrost ilości substratu nie przywraca aktywności enzymu; aby odzyskać zablokowany enzym, musi on zostać ponownie zsyntezowany,
 - odwracalną, w której inhibitor nietrwale wiąże się z enzymem:
 - w miejscu aktywnym – jest to tzw. *inhibicja kompetycyjna*, inhibitor jest strukturalnie podobny do substratu, konkuruje z substratem o przyłączenie do miejsca aktywnego, a po przyłączeniu inhibitora do enzymu substrat nie ma możliwości związania się z jego centrum aktywnym; w tym typie inhibicji im więcej substratu, tym większe prawdopodobieństwo, że miejsce aktywne zostanie zajęte przez substrat, a nie przez inhibitor; należy pamiętać, że inhibitor może odłączyć się od enzymu m.in. w wyniku zmiany warunków zewnętrznych układu;
 - poza miejscem aktywnym – jest to tzw. *inhibicja niekompetycyjna*, inhibitor i substrat mogą jednocześnie wiązać się z enzymem, lecz w innych miejscach, substrat może wiązać się do wolnego enzymu lub układu enzym-inhibitor; w wyniku tej regulacji dochodzi do zmniejszenia liczby obrotów enzymu, natomiast nie zmniejsza się liczba cząsteczek enzymu;
 - do kompleksu enzym-substrat – jest to tzw. *inhibicja akompetycyjna*, w której miejsce wiązania inhibitora jest tworzone tylko po utworzeniu kompleksu enzym-substrat, co oznacza, że inhibitor nie może przyłączyć się wcześniej w jakiegokolwiek miejsce w enzymie; w tym typie inhibicji zwiększenie stężenia substratu może nasilić hamowanie reakcji, gdyż więcej substratu to więcej układów enzym-substrat, więc tworzonych jest więcej miejsc do wiązania inhibitora.

Podsumowując rolę inhibitorów, należy mieć na uwadze, że inhibicja nie zawsze jest zjawiskiem niekorzystnym. Inhibitory wykorzystywane są jako:

- leki w celu blokowania enzymów zaangażowanych w proces rozwoju choroby, np. ibuprofen hamuje enzym cyklooksygenazę, która katalizuje przemianę kwasu arachidonowego w prostaglandyny, które z kolei nasilają ból i stan zapalny;
- regulatory funkcji enzymów, w celu zapobiegania nadmiernemu wytwarzaniu produktu, np. hormonów czy blokowania funkcji enzymów powodujących patologiczne zmiany w tkankach;
- substancje kontrolujące homeostazę w organizmie, przez co można spowolnić lub zablokować określony szlak metaboliczny.

Ciekawą i ważną grupą enzymów są enzymy allosteryczne, które oprócz miejsc aktywnych mają także miejsca allosteryczne, do których mogą przyłączać się tzw. aktywatory lub inhibitory. Enzymy allosteryczne zbudowane są z wielu podjednostek, posiadają czwartorzędową strukturę z wieloma miejscami aktywnymi, co umożliwia im kooperatywne wiązanie substratów i efektorów. Przyłączenie liganda do centrum allosterycznego w podjednostce regulatorowej enzymu prowadzi do zmian w konformacji

w podjednostkach z centrami aktywnymi, co wpływa na wzrost bądź spadek ich powinowactwa do substratu. Co więcej, w przypadku enzymów allosterycznych obserwuje się zjawisko kooperatywności polegające na tym, że przyłączenie substratu do pierwszej podjednostki ułatwia przyłączanie następnych substratów do kolejnych podjednostek. Aktywność katalityczna enzymów allosterycznych jest dostosowywana do warunków panujących w komórce – reagują na sygnały z otoczenia, w tym na obecność produktów szlaków, które same kontrolują. Przykładami enzymów allosterycznych są: fosfofruktokinaza 1, karbamoilotransferaza asparaginianowa oraz fosforylaza glikogenowa.

Pomiar aktywności enzymatycznej polega na określeniu szybkości zużywania substratu lub powstawania produktu. Jedną z technik wykorzystywanych w tym celu jest spektrofotometria, która wykorzystuje zdolność substratu lub produktu do pochłaniania światła o określonej długości fali. Na podstawie zmian absorbancji w czasie możliwe jest wyznaczenie stężenia tych związków, a tym samym aktywności enzymu katalizującego daną reakcję.

5. Węglowodany

Węglowodany, czyli cukry, są szeroko rozpowszechnioną grupą substancji w środowisku człowieka. Znane są przede wszystkim z funkcji energetycznej, ale ich zadań jest znacznie więcej, m.in. budowa ścian komórkowych u roślin (celuloza), udział w budowie RNA, a także DNA (ryboza oraz deoksyryboza), możliwość rozpoznawania się komórek (rola glikokaliksu), zapas energii (glikogen u człowieka, a skrobia u roślin), udział w szlakach metabolicznych (glikoliza, glikogenoliza, szlak pentozofosforanowy), budowa cząsteczek złożonych, m.in. glikoprotein, glikolipidów.

Grupami funkcyjnymi w cukrach są grupy: aldehydowa lub ketonowa. W strukturze węglowodanów obecne są ugrupowania –OH, które wpływają na dobrą rozpuszczalność cukrów w wodzie. Wzory cukrów mogą być zapisywane w formie otwartej, czyli łańcuchowej/Fischera lub ze względu na oszczędność energetyczną cukru niektóre z nich (składające się co najmniej z 5-ciu atomów węgla) w środowisku wodnym mogą przyjmować strukturę pierścieniową/cykliczną/taflową/Hawortha. Jeśli po utworzeniu struktury pierścieniowej węgiel z grupy ketonowej lub aldehydowej pozostał wolny (nie utworzył wiązania glikozydowego, jest to tzw. anomeryczny węgiel, a grupa –OH jest niezwiązana), taki cukier ma własności redukujące (grupa karbonylowa pozostaje wolna) i pierścień może ulec przemianie do formy łańcuchowej, umożliwiając redukcję związków utleniających. Grupa aldehydowa w cukrach może być utleniana do grupy karboksylowej, tworząc kwasy aldonowe, np. dla glukozy powstanie kwas glukonowy. Ketozy w środowisku zasadowym ulegają izomeryzacji do aldoz i wówczas mogą wchodzić w reakcje utleniania. Podczas reakcji utleniania może dojść do utlenienia grupy –OH na końcu cząsteczki, wówczas powstaje kwas uronowy, np. dla glukozy – kwas glukuronowy, dla galaktozy – kwas galakturonowy. W reakcji redukcji, z aldoz oraz ketoz powstają alkohole, np. z glukozy – soritol, z mannozy – mannitol, z rybozy – rybitol.

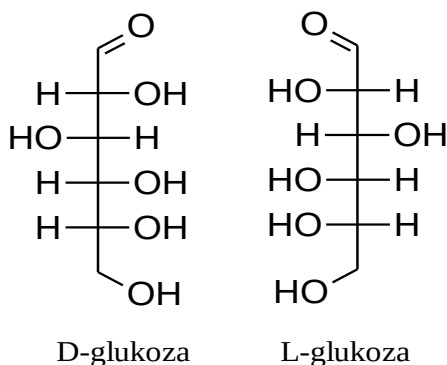
Niektóre cząsteczki cukrów są względem siebie izomerami, czyli związkami o tym samym wzorze sumarycznym, a różnym wzorze strukturalnym i odmiennych właściwościach, jak np. glukoza i fruktoza. Wyróżnia się izomery konstytucyjne, które

różnią się rozmieszczeniem atomów w cząsteczce lub układem wiązań (np. rodzajem lub położeniem grup funkcyjnych, kolejnością połączenia atomów, ułożeniem łańcucha węglowego – prosty czy rozgałęziony) oraz stereoizomery, które różnią się sposobem rozmieszczenia atomów w przestrzeni. W ramach stereoizomerii wyodrębnia się:

- a) enancjomery – izomery będące wzajemnymi, nienakładalnymi odbiciami lustrzanymi; związki te różnią się od siebie orientacją atomów w przestrzeni, mają takie same właściwości fizyczne np. temperaturę wrzenia, gęstość, lecz różnią się kierunkiem skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego („+” w prawo, „-” w lewo); posiadają takie same właściwości chemiczne, oprócz wchodzenia w reakcję z innym optycznie czynnym reagentem, np. (+) glukoza, która ulega przemianom metabolicznym w organizmie człowieka, natomiast (-) glukoza nie uczestniczy w metabolizmie. W sytuacji, gdy w roztworze występują równe ilości enancjomerów prawo- i lewoskrętnych, efekty ich działania znoszą się, mieszanina jest optycznie nieczynna i nazywana jest racematem;
- b) diastereoizomery – izomery nienakładalne i niebędące swymi odbiciami lustrzanymi, mogą zawierać więcej niż jedno centrum chiralności, mają zbliżone właściwości chemiczne (nie takie same), a różne właściwości fizyczne, np. temperaturę topnienia.

Ze zjawiskiem stereoizomerii związane jest pojęcie chiralności. Cząsteczka chiralna to taka, której odbicia lustrzanie nie nakładają się na siebie, co definiuje enancjomerię, więc substancje chiralne mogą tworzyć enancjomery. Kolejnym ważnym pojęciem w stereochemii jest centrum chiralności, które oznacza atom węgla (lub innego pierwiastka, np. azotu), do którego przyłączone są cztery różne podstawniki, jest to tzw. asymetryczny atom węgla. Co więcej, nie zawsze związki posiadające centrum chiralności są chiralne, gdyż zdarza się, że substancje z centrum chiralności są achiralne (są nakładalnymi odbiciami lustrzanymi).

We wzorach węglowodanów spotyka się zapis D lub L (rzadko). Jeśli grupa –OH przy asymetrycznym, najdalej położonym węglu w stosunku do grupy karbonylowej (ostatnim chiralnym atomie węgla) we wzorze strukturalnym cukru znajduje się po prawej stronie – występuje izomer D, a jeśli jest po lewej stronie – izomer L. Należy pamiętać, że cukry proste występują tylko w formie D. Jak wcześniej wspomniano, niektóre węglowodany mogą przechodzić z formy łańcuchowej do formy pierścieniowej. Oznaczenia α i β we wzorach cyklicznych służą do określenia położenia grupy –OH przy anomerycznym atomie węgla (C1 w aldozach, C2 w ketozach) względem grupy –CH₂OH po utworzeniu pierścienia. Izomer α powstaje, gdy grupa –OH przy węglu anomerycznym znajduje się pod płaszczyzną pierścienia, a izomer β – gdy będzie nad płaszczyzną pierścienia. Z kolei grupy –OH przy atomach węgla od C2 do C5 zachowują określoną zależność – jeśli grupa –OH w strukturze łańcuchowej znajduje się po prawej stronie, to w formie pierścieniowej będzie skierowana w dół względem płaszczyzny pierścienia, a gdy znajduje się po lewej stronie, wówczas w strukturze pierścieniowej będzie skierowana w górę.



Rysunek 11. Izomeria optyczna monosacharydów.

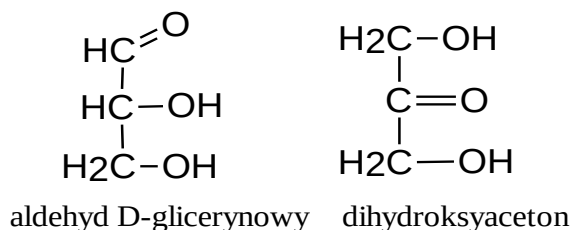
Źródło: opracowanie własne.

Aby związek wykazywał czynność optyczną, muszą być spełnione następujące warunki:

- posiada centrum chiralności/asymetryczny atom węgla;
- posiada nienakładalne odbicia lustrzane (jest enancjomerem);
- brak płaszczyzny symetrii;
- nie jest racematem.

Jednym ze sposobów klasyfikacji jest podział węglowodanów na monosacharydy, disacharydy, oligosacharydy oraz polisacharydy. Monosacharydy zbudowane są z pojedynczego cukru, który w cząsteczce najczęściej zawiera 3-6 atomów węgla. Do monosacharydów należą:

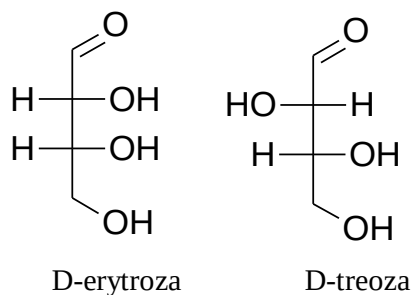
a) triozy, tj.:



Rysunek 12. Budowa trioz.

Źródło: opracowanie własne.

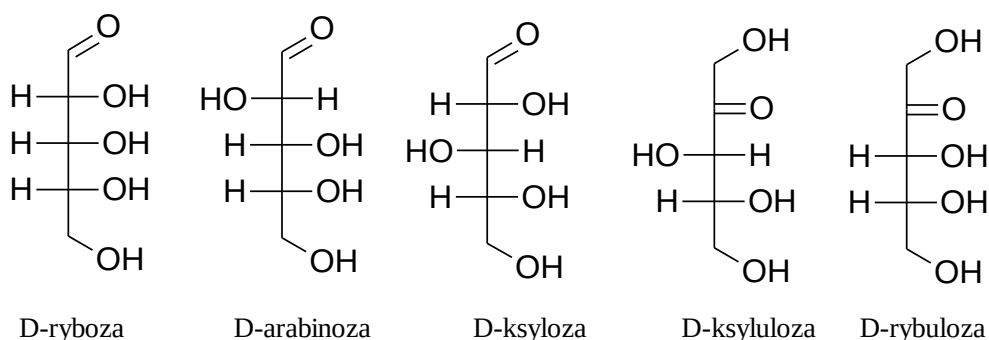
b) tetrozy, tj.:



Rysunek 13. Budowa tetroz.

Źródło: opracowanie własne.

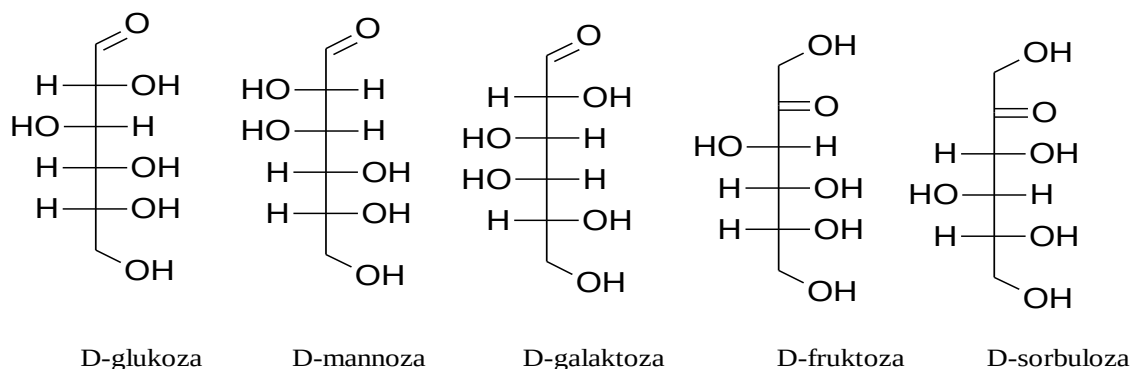
c) pentozy, tj.:



Rysunek 14. Budowa pentozy.

Źródło: opracowanie własne.

d) heksozy, tj.:



Rysunek 15. Budowa heksoz.

Źródło: opracowanie własne.

Disacharydy składają się z dwóch cukrów prostych połączonych wiązaniem O-glikozydowym. Wiązanie glikozydowe powstaje między grupą –OH przy węglu anomerycznym jednego cukru a grupą –OH innego cukru z uwolnieniem cząsteczki wody. Wiązania glikozydowe mogą mieć różne konfiguracje i położenie. Przykładowo, wiązanie α ,1-4 oznacza wiązanie między grupą –OH przy węglu anomerycznym (C1) pierwszego cukru w konfiguracji α z grupą –OH przy C4 drugiego cukru. Hydroliza disacharydów jest reakcją, w wyniku której rozkładane jest wiązania glikozydowe, w konsekwencji czego uzyskuje się dwa monosacharydy. Do disacharydów należą: sacharoza, laktoza, maltoza, trehaloza. Połączenie od 3 do 10 cukrów prostych tworzy oligosacharyd. W przypadku połączenia co najmniej 11 monosacharydów mamy do czynienia z polisacharydami, można powiedzieć krótkołańcuchowymi, gdyż wiele naturalnych polisacharydów, tj. skrobia czy glikogen, zawiera znacznie dłuższe łańcuchy, złożone z setek lub tysięcy jednostek monosacharydowych.

W wielocukrach spotyka się strukturę amylozy i amylopektyny. Amylozę stanowi długi, liniowy łańcuch glukozy połączonych wiązaniami α ,1-4 O-glikozydowymi, natomiast amylopektyna jest rozgałęzionym łańcuchem, zbudowanym z glukozy połączonych wiązaniami α ,1-4 wzdłuż głównego łańcucha i z glukozy połączonych wiązaniami α ,1-6 O-glikozydowymi w miejscach rozgałęzień. Obecność rozgałęzień

w polisacharydach nie tylko umożliwia wydajniejsze i łatwiejsze wykorzystanie glukozy w procesach metabolicznych, ale także poprawia ich rozpuszczalność w wodzie. Wielocukry, w porównaniu z monosacharydami, odznaczają się słabą rozpuszczalnością, zwłaszcza te nierozgałęzione, np. celuloza. Dla człowieka najważniejszymi polisacharydami są: glikogen, skrobia i celuloza.

Charakterystyka wybranych cukrów prostych i złożonych

Tabela 9

Własności trójwęglowych cukrów prostych

Aldehyd glicerynowy	Dihydroksyaceton
posiada asymetryczny atom węgla	brak asymetrycznego atomu węgla
pośrednie produkty glikolizy	

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 10

Porównanie własności wybranych aldopentoz

Ryboza	Deoksyryboza	Ksyloza
– buduje RNA, ATP, GTP, UTP, FAD, NAD⁺, koenzym A – bardzo dobrze rozpuszczalna w wodzie – może tworzyć strukturę łańcuchową i pierścieniową	– pozbawiona tlenu przy C2 w porównaniu z rybozą – buduje DNA	– element hemiceluloz – obecna w pektynach

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 11

Charakterystyka wybranych ketopentoz

Rybuloz	Ksyluloza
fosforanowe pochodne obydwu ketoz to metabolity pośrednie w szlaku pentozofosforanowym	

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 12

Porównanie glukozy i fruktozy

Glukoza	Fruktoza
dobrze rozpuszczalne w wodzie	
aldoza	ketoza
– w przyrodzie występuje zazwyczaj jako składnik innych cukrów – we krwi człowieka może występować w postaci wolnej, a w mięśniach i w wątrobie w postaci glikogenu	– występuje jako składnik owoców, warzyw, miodu – jest znacznie słodsza niż glukoza – w wątrobie i w jelitach ulega przemianie do glukozy, jej metabolizm nie podlega regulacji przez insulinę
funkcje: składnik glikoprotein i glikolipidów, uczestniczy w szlakach pozyskiwania energii	

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 13

Cechy galaktozy, mannozy i fukozy

Galaktoza	Mannoza	Fukoza
wszystkie są aldozami		
– składnik laktozy, niektórych glikoprotein i glikolipidów – w wątrobie ulega przemianie do glukozy – uczestniczy w tworzeniu antygeny B, który decyduje o grupie krwi B	– składnik niektórych glikoprotein – w wątrobie może ulegać przemianie do glukozy	– składnik niektórych glikoprotein i antygenów związanych z prawidłowym działaniem układu odpornościowego – składnik prekursorowego łańcucha oligosacharydowego (antygeny H) związanego z grupami krwi

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 14

Charakterystyka disacharydów

Sacharoza	Laktoza	Maltoza
– zbudowana z glukozy i fruktozy – nie ma własności redukujących – ulega hydrolizie w kwaśnym środowisku, pod wpływem inwertazy/sacharazy – źródło energii dla organizmu	– zbudowana z glukozy i galaktozy – ma własności redukujące – pod wpływem laktazy ulega hydrolizie – wytwarzana u kobiet podczas laktacji, gdzie służy jako pokarm dla noworodków	– zbudowana z dwóch glukozy – ma własności redukujące – pod wpływem maltazy ulega hydrolizie – produkt pośredni trawienia skrobi i glikogenu – źródło energii dla organizmu

Źródło: opracowanie własne.

Tabela 15

Opis wybranych polisacharydów

Glikogen	– ma strukturę podobną do amylopektyny, lecz jest od niej jeszcze bardziej rozgałęziony – magazynowany w wątrobie i w mięśniach jako zapas energetyczny – glikogen wątrobowy utrzymuje stałe stężenie glukozy we krwi, a glikogen mięśniowy dostarcza glukozę na potrzeby mięśnia
Skrobia	– posiada strukturę amylozy i amylopektyny – materiał zapasowy u roślin – nierozpuszczalna w wodzie, tworzy koloid
Celuloza	– zbudowana z cząsteczek glukozy połączonych wiązaniami β,1-4 O-glikozydowymi – nierozpuszczalna w wodzie (pęcznieje w obecności wody) – buduje ściany komórkowe roślin – nie jest trawiona przez człowieka, wchodzi w skład błonnika pokarmowego, wpływając na szybsze przesuwanie się treści jelitowej poprzez drażnienie ścian jelit – wpływa korzystnie na florę bakteryjną jelit – pomaga oczyszczać organizm, ułatwiając usuwanie szkodliwych substancji i metabolitów

Źródło: opracowanie własne.

6. Lipidy i kwasy tłuszczowe

Lipidy są grupą biocząsteczek, które cechują się brakiem rozpuszczalności w wodzie i jednocześnie dobrą rozpuszczalnością w rozpuszczalnikach niepolarnych. W organizmie człowieka pełnią wiele ważnych funkcji m.in:

- źródło i zapas energii zgromadzony w postaci tkanki tłuszczowej;
- ochrona przed utratą ciepła,
- udział tkanki tłuszczowej w termogenezie bezdrzeniowej;
- wydzielanie substancji o podłożu hormonalnym – adipokin;
- ochrona mechaniczna narządów;
- rozpuszczalnik dla witamin ADEK;
- budowa błon komórkowych.

Jednym ze sposobów klasyfikacji lipidów jest podział na:

- a) lipidy proste – estry kwasu tłuszczowego i alkoholu; jeśli alkoholem jest glicerol, mówimy o tłuszczu właściwym, a obecność długłańcuchowego alkoholu monohydroksylowego charakteryzuje woski;
- b) lipidy złożone – estry kwasu tłuszczowego i alkoholu (glicerolu lub sfingozyny), które dodatkowo zawierają inną grupę chemiczną, taką jak:
 - reszta kwasu fosforowego – fosfolipidy (budują błony komórkowe),
 - reszta cukrowa – glikolipidy (budują błony komórkowe);
- c) prekursorzy i pochodne lipidów.

Ze względu na dużą różnorodność związków zaliczanych do lipidów, w niniejszym skrypcie omówiono jedynie jedną z głównych grup lipidów – tłuszcze właściwe, które są formą magazynowania energii u człowieka.

Tabela 16

Budowa lipidów prostych

Nazwa	Wzór
Monoacyloglicerole	$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \text{OH} \quad \text{OH} \\ \\ \text{O}=\text{C} \\ \\ \text{R}_1 \end{array} $
Diacyloglicerole	$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{OH} \\ \quad \\ \text{O}=\text{C} \quad \text{O}=\text{C} \\ \quad \\ \text{R}_1 \quad \text{R}_2 \end{array} $
Triacyloglicerole	$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \quad \text{O} \\ \quad \quad \\ \text{O}=\text{C} \quad \text{O}=\text{C} \quad \text{O}=\text{C} \\ \quad \quad \\ \text{R}_1 \quad \text{R}_2 \quad \text{R}_3 \end{array} $

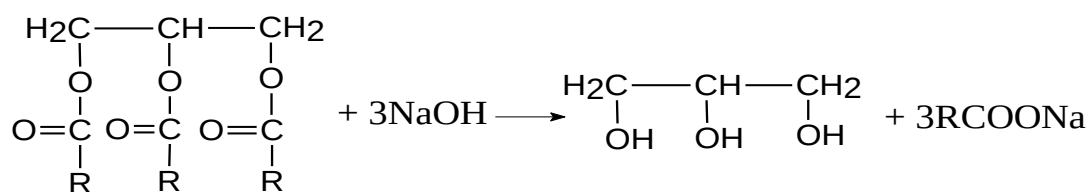
gdzie: R₁, R₂, R₃ – reszty kwasów tłuszczowych

Źródło: opracowanie własne.

Tłuszcze właściwe (triacyloglicerole, TAG) powstają w wyniku połączenia glicerolu z trzema wyższymi kwasami tłuszczowymi poprzez utworzenie wiązania estrowego. Termin *wyższe kwasy tłuszczowe* oznacza kwasy tłuszczowe posiadające długie łańcuchy węglowe, zazwyczaj składające się z co najmniej 12 atomów węgla (według innych źródeł wystarczy 10 atomów węgla). Hydroliza triacylogliceroli pod wpływem lipaz lub środowiska reakcji (kwasowego lub zasadowego) polega na ich rozkładzie na glicerol i wolne kwasy tłuszczowe. Glicerol może zostać włączony do glikolizy, glukoneogenezy lub być wykorzystany do syntezy nowych lipidów, a wolne kwasy tłuszczowe są przenoszone przez krew do różnych tkanek, gdzie służą jako paliwo energetyczne. W komórkach ulegają β -oksydacji, co prowadzi do powstania acetylo-CoA, który następnie uczestniczy w cyklu Krebsa lub może być przeznaczony do syntezy ciał ketonowych. Ponadto, kwasy tłuszczowe mogą być wykorzystywane do budowy nowych lipidów i innych pochodnych, np. fosfolipidów, eikozanoidów.

W hydrolizie zasadowej (proces zmydlania) w obecności wodorotlenku i pod wpływem odpowiedniej temperatury, TAG ulegają rozpadowi na glicerol oraz sole kwasów tłuszczowych, czyli mydła.

Reakcja zmydlania



Kwasy tłuszczowe zbudowane z mniej niż 4 atomów węgla są zbyt krótkie, są rozpuszczalne w wodzie i nie wykazują hydrofobowości. Dopiero kwasy tłuszczowe o co najmniej 4 atomach węgla spełniają kryteria charakterystyczne dla tej grupy związków – dzięki dłuższemu łańcuchowi węglowodorowemu są hydrofobowe i zdolne do tworzenia struktur, tj. dwuwarstwowe błony komórkowe. Posiadają amfipatyczną budowę, tzn. składają się z polarnej „główki”, która może przyłączać fosforan, cukier lub zasadę azotową, a także niepolarnego „ogona”, będącego łańcuchem kwasów tłuszczowych. W organizmie człowieka kwasy tłuszczowe występują zarówno w formie związanej – jako składniki trójglicerydów, fosfolipidów i estrów cholesterolu, jak też w formie wolnej – krążąc we krwi, są związane z albuminami. Zazwyczaj kwasy tłuszczowe składają się z parzystej liczby atomów węgla, a typowe lipidy zawierają kwasy tłuszczowe zbudowane z 16-18 atomów węgla. Opierając się na długości łańcucha węglowego, wyróżnia się kwasy: krótkołańcuchowe (do 6 atomów węgla), średniołańcuchowe (od 8 do 14 atomów węgla) i długołańcuchowe (zawierające co najmniej 16 atomów węgla). Nasycone kwasy tłuszczowe posiadają wszystkie wiązania pojedyncze i są ciałami stałymi, natomiast nienasycone kwasy tłuszczowe mają postać ciekłą, a w swej strukturze oprócz wiązań pojedynczych zawierają wiązania podwójne. Ilość wiązań podwójnych decyduje czy kwas jest jednonienasycony czy wielonienasycony. Zgodnie z zasadami chemii, numerację atomów węgla w kwasie tłuszczowym zaczyna się od końca $-\text{COOH}$, a pierwszy węgiel za grupą karboksylową to węgiel α , kolejny β itd., natomiast ostatni określa się jako węgiel ω , bez względu na liczbę węgli w cząsteczce kwasu tłuszczowego. Symbol ω używany jest także do

opisu nienasyconych kwasów tłuszczowych, by wskazać miejsce pierwszego wiązania podwójnego. Przykładowo ω -3 oznacza, że pierwsze wiązanie podwójne znajduje się na trzecim atomie węgla, licząc od końca cząsteczki. Możliwy jest również zapis: 18:1;9, którego interpretacja wygląda następująco: kwas tłuszczowy zawierający 18 atomów węgla z jednym wiązaniem podwójnym, które znajduje się za 9-tym węglem, licząc od grupy $-\text{COOH}$ lub zapis: 18:1, czyli kwas tłuszczowy zawierający 18 atomów węgla z jednym wiązaniem podwójnym. W przypadku zapisu z wykorzystaniem symbolu ω byłby to zapis: ω -9.

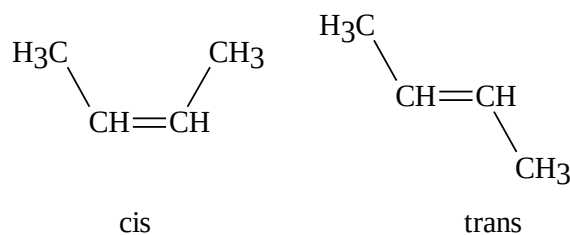
Tabela 17

Charakterystyka wybranych kwasów tłuszczowych

Nazwa zwyczajowa	Nazwa systematyczna	Wzór półstrukturalny
KWASY NASYCONY		
Masłowy	Butanowy	$\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}$
Laurynowy	Dodekanowy	$\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{COOH}$
Palmitynowy	Heksadekanowy	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$
Stearynowy	Oktadekanowy	$\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$
Arachidowy	Eikozanowy	$\text{C}_{19}\text{H}_{39}\text{COOH}$
KWASY NIENASYCONE		
Oleinowy	cis-9-oktadecenoowy	$\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$
Linolowy	9,12-oktadekadienowy (ω -6)	$\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$
α -linolenowy	9,12,15-oktadekatrienowy (ω -3)	$\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$
γ -linolenowy	6,9,12-oktadekatrienowy (ω -3)	$\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$
Ekozapentaenowy (EPA)	5,8,11,14,17-eikozapentaenowy (ω -3)	$\text{C}_{19}\text{H}_{29}\text{COOH}$
Dokozaheksaenowy (DHA)	4,7,10,13,16,19-dokozaheksaenowy (ω -3)	$\text{C}_{21}\text{H}_{31}\text{COOH}$
Kwas arachidonowy	5,8,11,14-eikozatetraenowy (ω -6)	$\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{COOH}$

Źródło: opracowanie własne.

Nienasycone kwasy tłuszczowe mogą przyjmować konformację „cis” lub „trans”. Izomery „trans” są szkodliwą formą kwasów tłuszczowych dla człowieka, ponieważ mogą nasilać/powodować stan zapalny w organizmie przez wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego. Kwasy tłuszczowe „trans” powstają w wyniku przemysłowego utwardzania/uwodornienia tłuszczów roślinnych. Na rycinie zamieszczonej poniżej można zauważyć, że w izomerach „trans” grupy metylowe przy wiązaniu podwójnym są po przeciwnych stronach, a w formie „cis” po tej samej stronie.



Rysunek 16. Izomeria cis-trans.

Źródło: opracowanie własne.

Niektóre wielonienasycone kwasy tłuszczowe w układzie „cis” muszą być dostarczane z dietą, gdyż organizm człowieka nie potrafi ich samodzielnie syntezować ze względu na brak enzymów przystosowanych do tego celu. Są to m.in. kwasy tłuszczowe ω -3, tj. kwas α -linolenowy, eikozapentaenowy oraz dokozaheksaenowy, a także kwasy ω -6, tj. linolowy, γ -linolenowy i arachidonowy. Przypuszcza się, że te kwasy mogą działać protekcyjnie w chorobach układu sercowo-naczyniowego, stymulują układ immunologiczny w kierunku działania przeciwzapalnego, usprawniają pracę układu nerwowego, wspierają wzrost i rozwój organizmu. Człowiek potrzebuje zarówno kwasów ω -3, jak i ω -6, lecz należy pamiętać o zachowaniu odpowiednich proporcji między tymi kwasami, w przeciwnym razie nie spełnią one prawidłowo swojej roli w organizmie.

7. Pochodne lipidów

Są to związki chemiczne wywodzące się z lipidów lub zawierające ich fragmenty. Odgrywają ważną rolę w organizmie człowieka. Do tej grupy należą:

- a) cholesterol:
 - z punktu widzenia chemii należy do szeregu alkoholi,
 - rozpoznawany po tzw. szkielecie steroidowym z grupą $-\text{OH}$ przy C3, połączonym z ośmiowęglowym łańcuchem węglowodorowym,
 - buduje błony komórkowe, jest prekursorem w syntezie kwasów żółciowych, hormonów steroidowych i witaminy D;
- b) hormony steroidowe, tj.:
 - glukokortykoidy – wpływają na metabolizm białek, tłuszczów i węglowodanów oraz wykazują działanie przeciwzapalne,
 - mineralokortykoidy – kontrolują gospodarkę wodno-elektrolitową,
 - androgeny – wspierają rozwój drugorzędowych męskich cech płciowych,
 - estrogeny – wspierają rozwój drugorzędowych żeńskich cech płciowych, uczestniczą w owulacji,
 - progestageny – wspomagają utrzymanie ciąży, regulują zmiany w endometrium podczas cyklu menstruacyjnego;
- c) kwasy żółciowe:
 - syntezowane są w wątrobie z cholesterolu,
 - niezbędne do emulgacji tłuszczu podczas trawienia;
- d) eikozanoidy – składają się z co najmniej 20 atomów węgla i są pochodnymi wielonienasyconych kwasów tłuszczowych ω -3 i ω -6; należą tu prostaglandyny, tromboksany i leukotrieny, które są związkami silnie związanymi z funkcjonowaniem układu odpornościowego; odpowiadają za stan błony śluzowej żołądka, wpływają na funkcjonowanie nerek, regulują napięcie mięśni gładkich i średnicę naczyń krwionośnych, a także regulują krzepnięcie krwi poprzez wpływ na aktywność płytek krwi.

8. Zadania do samodzielnego rozwiązania

1. Z 300 g 15% roztworu odparowano 45 g rozpuszczalnika. Oblicz stężenie procentowe otrzymanego roztworu.
2. Stosowany w lecznictwie płyn fizjologiczny to 0,9-procentowy wodny roztwór soli kuchennej. Ile gramów soli i jaką objętość wody (gęstość wody, $d_r = 1 \text{ g/cm}^3$) należy użyć, aby przygotować 2000 cm^3 tego roztworu (przyjmij gęstość tego roztworu równą 1 g/cm^3)?
3. Do 200 g 2% roztworu chlorku magnezu (II) dodano 10 g tej soli. Obliczyć stężenie procentowe otrzymanego roztworu.
4. 10 cm^3 roztworu zawiera 360 mg glukozy. Obliczyć stężenie molowe roztworu.
5. Obliczyć stężenie molowe nadtlenu wodoru (H_2O_2) w 30% perhydrolu o gęstości roztworu równej $1,13 \text{ g/cm}^3$.
6. W 250 cm^3 roztworu znajduje się 1,1 g chlorku wapnia (II). Obliczyć stężenie procentowe, przyjmując gęstość roztworu jako 1 g/cm^3 .
7. Na etykiecie butelki z kwasem solnym jest napisane, że jest to roztwór 12-molowy o gęstości równej $1,19 \text{ g/cm}^3$. Jakie jest jego stężenie procentowe?
8. Obliczyć stężenie molowe handlowego (stężonego) kwasu siarkowego (VI), wiedząc, że jest to roztwór 98% o gęstości równej $1,84 \text{ g/cm}^3$.
9. Obliczyć jaki będzie stopień dysocjacji i pH otrzymanego roztworu HNO_2 , jeśli 40 ml 2,9% HNO_2 rozcieńczono do 100 ml (gęstość HNO_2 wynosi 1 g/ml).
10. Ile ml 25% amoniaku o gęstości $0,907 \text{ g/ml}$ należy dodać do 400 ml wody, aby otrzymać r-r 8%?
11. Zmieszano 200 ml roztworu zawierającego 115 mg CaO ze 100 ml $0,01 \text{ mol/l}$ HCl. Oblicz pH roztworu.
12. Obliczyć stopień dysocjacji elektrolitu, wiedząc, że w roztworze znajduje się 0,4 mola cząsteczek zdysocjowanych oraz 0,9 mola cząsteczek niezdisocjowanych.
13. Obliczyć stopień dysocjacji jednowodorotlenowej zasady, wiedząc, że jej 0,2-molowy roztwór ma pH równe 11.
14. Obliczyć stałą dysocjacji kwasu octowego, wiedząc, że w roztworze tego kwasu o stężeniu $0,023 \text{ mol/dm}^3$ pH wynosi 3,2.
15. pH kwasu chlorowego (VII) wynosi 1,2. Obliczyć stężenie tego kwasu.
16. Obliczyć pH 0,03-molowego roztworu zasady sodowej.
17. Obliczyć pH roztworu KOH, który w 50 ml zawiera 80 mg tego wodorotlenku.
18. Obliczyć stopień dysocjacji jednoprotonowego kwasu o stężeniu $0,05 \text{ mol/l}$ wiedząc, że jego stała dysocjacji wynosi $8 \cdot 10^{-6}$.
19. Roztwór buforowy składa się z 0,1 mola kwasu octowego i 0,025 mola octanu sodu w objętości 1 dm^3 . Obliczyć pH otrzymanego buforu ($K_a = 1,8 \times 10^{-5}$).
20. Do roztworu HCl o objętości 10 ml i stężeniu $0,01 \text{ mol/l}$, dodano 100 ml buforu octanowego o stężeniu $0,1 \text{ mol/l}$ dla CH_3COOH i CH_3COO^- . Obliczyć zmianę pH, wiedząc, że pK_a kwasu octowego wynosi 4,75.
21. Odważkę 6,5 g KH_2PO_4 i 3,55 g Na_2HPO_4 rozpuszczono w 1 l roztworu. Następnie do 100 ml tego roztworu dodano 100 ml $0,1 \text{ mol/l}$ NaOH. Obliczyć pH pierwszego i drugiego buforu.
22. Jakie było początkowe stężenie HCOOH , jeśli w wyniku zmieszania 200 ml tego roztworu ze 200 ml $0,05 \text{ mol/l}$ roztworu NaOH uzyskano bufor o $\text{pH}=4,8$?

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Przed przystąpieniem do wykonania doświadczenia, student zobowiązany jest do samodzielnego zapoznania się z podstawami teoretycznymi danej reakcji – na czym polega, jaki jest jej cel i jakie są spodziewane produkty/rezultaty.

1. Przygotowywanie roztworów o określonym stężeniu lub objętości

a) Sporządzanie 100 cm³/50 cm³ roztworu soli o stężeniu 1 mol/dm³

Odczynniki: Sól związku chemicznego, woda destylowana

Obliczenia: Obliczyć, jaką ilość zleconej soli należy odważyć w celu sporządzenia 100 cm³/50 cm³ roztworu o stężeniu 1 mol/dm³.

Wykonanie: W celu sporządzania 100 cm³ roztworu należy odważyć odpowiednią ilość zleconej soli, następnie przenieść ilościowo odważoną substancję do kolby miarowej, zawierającej niewielką ilość rozpuszczalnika i dopełnić wodą „do kreski” (menisk dolny). Całość należy dokładnie wymieszać.

Opracowanie wyników:

- napisać niezbędne obliczenia
- opisać wszystkie czynności związane z przygotowaniem roztworu.

b) Sporządzanie 50 ml roztworu kwasu solnego o stężeniu 0,1 mol/dm³

Odczynniki: 35% HCl, woda destylowana

Obliczenia: Obliczyć, w jakiej objętości stężonego HCl ($d_{r-r} = 1 \text{ g/cm}^3$) znajduje się 0,1 mol HCl.

Wykonanie: W celu przygotowania 50 ml roztworu HCl należy zmieszać ze sobą wodę i stężony HCl w obliczonych proporcjach. Po wykonanych obliczeniach, do kolby należy wprowadzić część wody destylowanej (ok. 1/4 wymaganej objętości), następnie dodać obliczoną objętość stężonego HCl (odmierzyć pipetą pod dygestorium!), po czym uzupełnić wodą destylowaną do kreski (menisk dolny) i dokładnie wymieszać.

Opracowanie wyników:

- napisać niezbędne obliczenia
- opisać wszystkie czynności związane z przygotowaniem roztworu.

c) Sporządzanie 200 cm³ roztworu wodorotlenku sodu o stężeniu 8%

Odczynniki: 33% NaOH, woda destylowana

Obliczenia: Obliczyć ilość 33% NaOH i wody, jakie należy ze sobą zmieszać, aby otrzymać 200 cm³ 8% roztworu.

Wykonanie: Kolbę napełnić wodą destylowaną do ok. 1/4 objętości, następnie pod dygestorium wprowadzić obliczoną objętość 33% NaOH, po czym uzupełnić kolbę wodą destylowaną do kreski i dokładnie wymieszać.

Opracowanie wyników:

- napisać niezbędne obliczenia
- opisać wszystkie czynności związane z przygotowaniem roztworu.

2. Ocena pH roztworów

a) Kwasów i zasad

Odczynniki: 1M HCl, 1M CH₃COOH, 1M NaOH, 1M NH₃·H₂O

Wykonanie: Przy pomocy pH-metru lub papierka uniwersalnego zmierzyć pH badanych roztworów. Wyniki wpisać do tabeli.

Wyniki:

Roztwór	1M HCl	1M CH ₃ COOH	1M NaOH	1M NH ₃ ·H ₂ O
Wartość pH				
Odczyn				

Opracowanie wyników:

- obliczyć stężenie jonów H⁺ dla każdego z roztworów
- napisać równania dysocjacji i hydrolizy (tam, gdzie jest to możliwe)
- ocenić moc kwasów i zasad zawartych w tabeli
- sformułować wnioski.

b) Soli

Odczynniki: 1M NaNO₃, 1M NH₄Cl, 1M AlCl₃, 1M Na₂CO₃, 1M NaCl, 1M CH₃COONH₄

Wykonanie: Przy pomocy pH-metru lub papierka uniwersalnego, określić pH badanych roztworów. Wyniki wpisać do tabeli.

Wyniki:

Roztwór	Wartość pH	Odczyn
1M NaNO ₃		
1M NH ₄ Cl		
1M AlCl ₃		
1M Na ₂ CO ₃		
1M NaCl		
1M CH ₃ COONH ₄		

Opracowanie wyników:

- napisać równania dysocjacji analizowanych soli
- pogrupować sole na mocne i słabe
- ocenić, czy otrzymane wyniki z pomiaru pH-metrem są spójne z wiedzą teoretyczną na temat analizowanych elektrolitów
- sformułować wnioski.

3. Określenie pH i stopnia dysocjacji kwasu octowego w roztworze wodnym

Odczynniki: Roztwory CH_3COOH o różnych stężeniach

Wykonanie: Zmierzyć pH roztworów CH_3COOH za pomocą pH-metru. Wyniki wpisać do tabeli.

Wyniki:

Numer próbki	1.	2.	3.	4.
Stężenie roztworu CH_3COOH				
Wartość pH				

Opracowanie wyników:

- obliczyć stężenie jonów H^+ oraz stopień dysocjacji dla badanych roztworów
- zastanowić się, czy możliwe byłoby określenie stężenia H^+ , gdyby pomiar był wykonywany papierkiem uniwersalnym
- sformułować wnioski.

4. Sporządzanie buforu octanowego i badanie jego własności

a) Sporządzanie roztworu buforu octanowego i ocena pH

Odczynniki: 0,2M CH_3COOH , 0,2M CH_3COONa , woda destylowana

Wykonanie: Przygotuj trzy roztwory buforu octanowego, mieszając: 0,2M CH_3COOH z 0,2M CH_3COONa w objętościach podanych w tabeli poniżej, uzupełniając każdy z roztworów z wodą do objętości 50 ml. Zmierzyć pH (pH-metrem lub innym wskaźnikiem).

Wyniki:

Numer próbki	ml 0,2M CH_3COOH	ml 0,2M CH_3COONa	pH
1	20,5	4,5	
2	12,5	12,5	
3	4,5	20,5	

W celu wykonania kolejnych punktów (b i c), buforu należy rozdzielić do probówek po 10 ml i odpowiednio oznaczyć: 1a, 1b, 1c, 1d, 1e oraz 2a, 2b, 2c, 2d, 2e, a także: 3a, 3b, 3c, 3d, 3e.

Opracowanie wyników:

- przedstawić postać równania Hendersona-Hasselbalcha dla buforu octanowego
- wyjaśnić różnice w otrzymanych wartościach pH.

b) Ocena wpływu dodatku wody na pH roztworu buforowego

Odczynniki: Roztwory buforowe z poprzedniego punktu, woda destylowana

Wykonanie: Do probówek z roztworami buforowymi 1-3 należy dodać po 10 ml wody i zmierzyć pH, następnie dolać 90 ml wody (objętość dodanej wody wynosi łącznie 100 ml) i ponownie oszacować pH. Wyniki wpisać do tabeli.

Wyniki:

Numer probówki	pH po dodaniu 10 ml wody	pH po dodaniu 100 ml wody
1a		
2a		
3a		

Opracowanie wyników:

- ocenić wpływ rozcieńczania na pH roztworu buforowego.

c) Wpływ dodatku kwasu i zasady na własności buforu octanowego

Odczynniki: Roztwory buforowe, 0,1M HCl, 0,1M NaOH

Wykonanie: Zgodnie z informacjami w poniższej tabeli, do odpowiednich probówek (z buforami) dodać po 1 ml 0,1M HCl lub 1 ml 0,1M NaOH. Zmierzyć pH wszystkich roztworów i obliczyć zmianę pH w stosunku do wartości początkowych. Te same czynności powtórzyć, dodając do kolejnych probówek po 10 ml 0,1M HCl, a także 10 ml 0,1M NaOH.

Wyniki po dodaniu 1 ml kwasu lub zasady:

Oznaczenie	1b	2b	3b
pH po dodaniu 0,1M HCl			
ΔpH			
Numer probówki	1c	2c	3c
pH po dodaniu 0,1M NaOH			
ΔpH			

Wyniki po dodaniu 10 ml kwasu lub zasady:

Oznaczenie	1d	2d	3d
pH po dodaniu 0,1M HCl			
ΔpH			
Numer probówki	1e	2e	3e
pH po dodaniu 0,1M NaOH			
ΔpH			

Opracowanie wyników:

- ocenić, czy początkowe pH buforów różniło się między próbkami 1, 2 i 3
- określić, jak zmieniło się pH po dodaniu 1 ml oraz 10 ml kwasu i zasady
- rozpoznać, czy bufor octanowy lepiej przeciwdziała zakwaszeniu czy zobojętnieniu
- rozpisać mechanizm działania buforu octanowego w środowisku kwasowym i zasadowym
- obliczyć pojemność buforową dla jednego wybranego przypadku oraz ocenić, czy pojemność buforowa została przekroczona; jeśli tak, to w której probówce i w jakich warunkach
- sformułować wnioski.

5. Badanie własności buforu fosforanowego

a) Przygotowanie buforu fosforanowego

Odczynniki: 0,1M NaH_2PO_4 , 0,1M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, woda destylowana

Wykonanie: W celu sporządzenia buforu fosforanowego, należy zmieszać 0,1M NaH_2PO_4 z 0,1M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, zgodnie z danymi w tabeli poniżej, a następnie roztwory uzupełnić wodą destylowaną do 200 ml. Należy oszacować pH przy użyciu pH-metru lub innego wskaźnika.

Wyniki:

Numer próbki	ml 0,1M NaH_2PO_4	ml 0,1M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	pH
1	45	5	
2	25	25	
3	5	45	

b) Wyznaczanie pojemności buforowej

Odczynniki: Roztwory buforowe z poprzedniego punktu, 0,1M HCl, 0,1M NaOH

Wykonanie: Jedną z wybranych próbek (1, 2 lub 3) o objętości 100 ml umieścić na mieszadle magnetycznym i dodawać po 1 ml 0,1M HCl, za każdym razem kontrolując pH. Czynność powtarzać aż zużyciu ulegnie 30 ml kwasu. Ten sam proces należy wykonać dla tej samej wybranej próbki z użyciem 0,1M NaOH.

Wyniki dla HCl:

V (ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pH										
V(ml)	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
pH										
V(ml)	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
pH										

Wyniki dla NaOH:

V (ml)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pH										
V(ml)	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
pH										
V(ml)	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
pH										

Opracowanie wyników:

- wykreślić wykres zależności pH od objętości HCl i pH od objętości zużytego NaOH
- określić, przy jakiej objętości zaobserwowano gwałtowne zmiany pH
- rozpisać zachodzące reakcje chemiczne podczas dodawania HCl i NaOH
- oszacować, jaka była całkowita zmiana pH po dodaniu 30 ml kwasu i 30 ml zasady
- obliczyć pojemność buforową ze wzoru:

$$\beta = \frac{n}{\Delta \text{pH}}$$

gdzie:

β – pojemność buforowa

n – ilość moli dodanego mocnego kwasu lub zasady do buforu

ΔpH – zmiana pH po dodaniu mocnego kwasu lub zasady do buforu

– sformułować wnioski.

6. Badanie własności buforujących białek

Odczynniki: Świeże mleko, 1M albumina, 0,1M HCl, 0,1M NaOH, woda destylowana

Wykonanie: Do zlewek numer 1 i 4 wprowadzić po 10 ml świeżego mleka, do zlewek 2 i 5 wprowadzić 10 ml 1M roztworu albuminy, a do zlewek numer 3 i 6 dodać 10 ml wody destylowanej. Zmierzyć początkowe pH wszystkich roztworów, a następnie do zlewek:

- 1, 2, 3 dodać po 1 ml 0,1M HCl
- 4, 5, 6 dodać po 1 ml 0,1M NaOH.

Wyniki dla HCl:

Numer próbki	Badany roztwór	pH początkowe	pH po dodaniu HCl	ΔpH
1	mleko			
2	albumina			
3	woda			

Wyniki dla NaOH:

Numer próbki	Badany roztwór	pH początkowe	pH po dodaniu NaOH	ΔpH
4	mleko			
5	albumina			
6	woda			

Opracowanie wyników:

- ocenić, jak zmieniło się pH po dodaniu HCl oraz NaOH do mleka, roztworu albuminy i wody
- określić, który z roztworów wykazał największą odporność na zmiany pH
- porównać uzyskane wyniki z próbą kontrolną
- sformułować wnioski.

Opracowanie wyników:

- wykreślić krzywe miareczkowania, porównać ze sobą te krzywe i zaznaczyć punkt równoważnikowy
- ocenić, przy jakim pH nastąpiła zmiana barwy oranżu metylowego i fenoloftaleiny oraz czy zmiany te pokrywały się z odpowiednimi wartościami pH
- napisać równania reakcji do wykonanego doświadczenia
- wyjaśnić różnice między miareczkowaniem mocnego a słabego kwasu mocną zasadą
- sformułować wnioski.

8. Oznaczanie stężenia kwasu solnego roztworem wodorotlenku sodu. Analiza miareczkowa

Odczynniki: 0,1M NaOH, oranż metylowy, próbka kwasu HCl o nieznanym stężeniu

Wykonanie: Do roztworu HCl (o $V = 25 \text{ cm}^3$) znajdującego się w kolbie stożkowej dodać kilka kropli oranżu metylowego, a następnie wprowadzać powoli, kroplami roztwór NaOH z biurety, aż do momentu trwałej zmiany barwy roztworu. Po każdorazowym dodaniu titranta roztwór należy zamieszać. Miareczkowanie wykonać trzykrotnie dla tej samej próbki roztworu HCl o znanej objętości.

Opracowanie wyników:

- napisać równanie zachodzącej reakcji
- opisać obserwacje
- zamieścić niezbędne obliczenia (obliczyć stężenie kwasu)
- sformułować wnioski.

9. Analiza jakościowa aminokwasów (wybrane reakcje)

a) Reakcja biuretowa

Odczynniki: Próbką badanej substancji/roztwór albuminy, 2M NaOH (lub 10% NaOH), 0,5% CuSO_4 , woda destylowana

Wykonanie: Do 1 ml badanego roztworu należy dodać 1 ml 2M NaOH i kilka kropli 0,5% CuSO_4 (unikać nadmiaru). Całość zamieszać. Wykonać próbę kontrolną z wodą destylowaną.

Opracowanie wyników:

- ocenić zmianę zabarwienia i wyjaśnić, co ono oznacza w kontekście własności białek
- porównać badane próby z próbą kontrolną
- sformułować wnioski.

b) Próba z ninhydriną

Odczynniki: 1% roztwór badanego aminokwasu (np. glicyny, lizyny, proliny, fenyloalaniny), roztwór białka, woda destylowana, 0,1% ninhydryna w 50% etanolu

Wykonanie: Do 1 ml badanego roztworu dodać 0,5 ml 0,1% roztworu ninhydryny w 50% etanolu. Uzyskany roztwór ogrzewać kilka minut we wrzącej łaźni wodnej. Wykonać próbę kontrolną z wodą destylowaną.

Opracowanie wyników:

- ocenić różnice w intensywności i kolorze zabarwienia dla różnych aminokwasów
- ocenić wynik eksperymentu dla próbki białka i wody destylowanej
- napisać, na czym polega reakcja ninhydrynowa
- narysować wzory strukturalne badanych aminokwasów, zaznaczyć grupy funkcyjne i wyjaśnić, jak obecność grup funkcyjnych ($-\text{OH}$, $-\text{SH}$, pierścień aromatyczny) wpływa na wynik oznaczenia
- napisać, jak można wykorzystać reakcję ninhydrynową do wykrywania aminokwasów w mieszaninie
- sformułować wnioski.

c) Reakcja ksantoproteinowa

Odczynniki: 1% roztwór badanego aminokwasu (glicyny, tyrozyny), roztwór białka, stężony HNO_3 , stężony NaOH

Wykonane: Do 1 ml badanego roztworu, pod wyciągiem dodać 2 ml stężonego HNO_3 , wymieszać i ostrożnie ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej przez ok. 5 minut. Po ochłodzeniu układu reakcyjnego, pod dygestorium dodać 3,5 ml stężonego NaOH .

Opracowanie wyników:

- ocenić efekt reakcji z glicyną, tyroziną i roztworem białka
- wyjaśnić, dlaczego otrzymano inne zabarwienia w mieszaninie poreakcyjnej
- ustalić, czy przeprowadzona reakcja było reakcją endoenergetyczną czy egzoenergetyczną
- sformułować wnioski.

10. Ocena własności białek

a) Amfoteryczność białek

Odczynniki: Roztwór białka o znanym stężeniu (np. 1%), 0,1M NaOH , 0,1M HCl , błękit tymolowy

Wykonanie: Do dwóch probówek dodać po 2 ml wody i po 3 krople błękitu tymolowego. Do jednej z probówek należy wprowadzić kroplami 0,1M NaOH do uzyskania niebieskiej barwy, a do drugiej 0,1M HCl do uzyskania czerwono-różowej barwy roztworu. Należy unikać nadmiaru NaOH i HCl . Do obydwu probówek dodawać małymi porcjami roztwór białka aż do zubożenia kwasu i zasady. Należy pamiętać o każdorazowym zamieszaniu roztworu po dodaniu kolejnego odczynnika.

Opracowanie wyników:

- zanotować i wyjaśnić zmianę barw na każdym etapie doświadczenia
- rozpisać równania reakcji, odpowiednio z HCl i białkiem oraz z NaOH i białkiem
- wyjaśnić, na czym polega amfoteryczność
- podać przykład innych związków, które są amfoteryczne
- ocenić, czy białko zawierało więcej grup o charakterze kwasowym czy zasadowym
- sformułować wnioski.

b) Wpływ różnych czynników na strukturę białek

Odczynniki: Roztwór białka (np. jaja kurzego), stężony CH_3COOH , 10% NaCl , 96% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, woda destylowana

Wykonanie: Do 1 ml roztworu białka dodać odczynniki zawarte w tabeli lub poddać próbkę ogrzewaniu. Zanotować obserwacje.

Wyniki:

Numer próbki	Odczynnik/ proces fizyczny	Obserwacje
1.	15 ml stężonego CH_3COOH	
2.	15 ml 10% NaCl	
3.	15 ml 96% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	
4.	ogrzewanie w 100°C przez kilka minut	

Ze stężonymi odczynnikiem należy pracować pod dyktando.

Do powyższych próbek dodać 10 ml wody destylowanej, zanotować obserwacje oraz określić, czy doszło do denaturacji czy koagulacji.

Numer próbki	Obserwacje	Nazwa procesu
1.		
2.		
3.		
4.		

Opracowanie wyników:

- napisać, na czym polega koagulacja oraz denaturacja
- po jakich zmianach w roztworze rozpoznać, czy doszło do koagulacji czy denaturacji
- ocenić, czy dodatek wody destylowanej spowodował cofnięcie zaobserwowanych zmian
- sformułować wnioski.

11. Wyznaczanie pI kazeiny

Odczynniki: 1M CH_3COOH , roztwór kazeiny, woda destylowana

Wykonanie: Do próbki numer 1 wprowadzić 3,2 ml 1M CH_3COOH oraz 6,8 ml wody, całość dokładnie wymieszać. Do kolejnych próbek (oznaczonych od 2 do 9) wprowadzić po 5 ml wody. Następnie z pierwszej próbki pobrać 5 ml roztworu i przenieść do drugiej, zamieszać. Z próbki numer 2 przenieść 5 ml do próbki numer 3, zamieszać itd. Czynność powtarzać aż do ostatniej próbki. Następnie do próbek od 1 do 9 dodać po 1 ml roztworu kazeiny i wymieszać układ reakcyjny. Obserwować, czy pojawiło się zmętnienie i/lub osad zaraz po zamieszaniu oraz po 30 minutach. Wyniki obserwacji wpisać do tabeli poniżej.

Wyniki:

Numer próbówki	1	2	3	4	5	6	7	8	9
pH roztworu	3,5	3,8	4,1	4,4	4,7	5,0	5,3	5,6	5,9
Zmętnienie (0 minut)									
Osad (0 minut)									
Zmętnienie (30 minut)									
Osad (30 minut)									

Wskazówka: W pI cząsteczki kazeiny zbliżają się do siebie i łączą się, co powoduje ich wytrącanie z roztworu. Najobfitszy osad pojawi się w środowisku o pH równym pI kazeiny.

Opracowanie wyników:

- napisać, w której próbówce zaobserwowano największe zmętnienie i/lub najbardziej obfity osad oraz przy jakim pH
- ocenić rozpuszczalność kazeiny w zależności od pH roztworu
- wyjaśnić, czym jest pI oraz napisz postać dowolnego aminokwasu w pI
- sformułować wnioski.

12. Wyznaczanie widm absorpcyjnych białek przy użyciu spektrofotometrii UV

Odczynniki: Roztwór albuminy wołowej

Wykonanie: Do kuwety wprowadzić badany roztwór. Przed wykonaniem pomiaru spektrofotometrycznego wyzerować aparat, używając jako próbki odniesienia czystego rozpuszczalnika, w którym rozpuszczono albuminę wołową. Wykonać kilkukrotny pomiar absorbancji w zakresie 200-300 nm (zmieniać długość fali co 10 nm). Wyniki wpisać o tabeli.

Wyniki:

λ (nm)	Absorbancja
200	
210	
220	
230	
240	
250	
260	
270	
280	
290	
300	

Opracowanie wyników:

- naszkicować wykres zależności absorbancji (oś Y) od długości fali (oś X)
- obliczyć stężenie molowe albuminy wołowej w oparciu o prawo Lamberta-Beera
- odczytać maksimum absorpcji zaobserwowane w badanym widmie i określić, przy jakiej długości fali ono wystąpiło
- ocenić, czy uzyskane wyniki są zgodne z danymi literaturowym dla albuminy; jeśli nie, to spróbować wyjaśnić co mogło zakłócić proces
- sformułować wnioski.

13. Rozkład sacharozy przy udziale inwertazy

Odczynniki: Drożdże piekarskie, roztwór sacharozy, odczynnik Benedicta

Wykonanie: Do trzech probówek (A, B, C) odmierzyć po 3 ml zawiesiny drożdży piekarskich. Probówkę A wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 10 minut. Po wyjęciu z łaźni, schłodzić pod bieżącą wodą. Następnie do probówek A i B należy dodać po 3 ml nasyconego roztworu sacharozy, a do probówki C dodać 3 ml wody destylowanej (próba kontrolna). Zawartość probówek należy wymieszać i pozostawić na 10 minut. W kolejnym etapie z każdej probówki pobrać do oddzielnych, czystych, naczyń laboratoryjnych po 2 ml roztworu i dodać po 5 ml odczynnika Benedicta. Wstawić na 3 minuty do łaźni wodnej.

Opracowanie wyników:

- napisać, w którym roztworze próba powinna wypaść dodatnio
- wyjaśnić, dlaczego w innych roztworach próba jest ujemna
- sformułować wnioski.

14. Wykrywanie obecności katalazy

Odczynniki: Wyciąg z ziemniaka, 3% H_2O_2 , 0,1% KCN

Wykonanie:

a) Przygotowanie wyciągu z ziemniaka

Obrany ziemniak zetrzeć na tarce. Powstałą miazgę umieścić w kilku warstwach złożonej gazy i zanurzyć w zlewce z wodą destylowaną. Delikatnie mieszać zawartość zlewki przez kilka minut. Po tym, jak skrobia opadnie na dno naczynia, zlać płyn znad osadu.

b) Wyciąg z ziemniaka w ilości 1 ml przenieść do probówki numer 1 oraz numer 2. W kolejnym kroku do probówki numer 1 wprowadzić 0,5 ml 3% H_2O_2 , a do probówki numer 2 – dwie krople 0,1% KCN oraz 0,5 ml 3% H_2O_2 . Zanotować obserwacje.

Opracowanie wyników:

- napisać, co zaobserwowano w probówce numer 1, a co w probówce numer 2
- jaką rolę odgrywa katalaza w wykonanym doświadczeniu, a jaką KCN
- napisać równanie reakcji rozpadu H_2O_2
- sformułować wnioski.

15. Próba Molischa

Odczynniki: Badany roztwór (jakiś cukier lub całkiem inna substancja w celu wykrycia lub stwierdzenia braku węglowodanów w próbce), 20% α -naftol w $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, stężony H_2SO_4 .

Uwaga: czynności związane ze stężonymi odczynnikiem należy wykonywać pod wyciągiem.

Wykonanie: Do 1 ml badanego roztworu dodać 2 krople 20% α -naftolu w $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, zamieszać i ostrożnie wprowadzać po ściance naczynia 1 ml stężonego H_2SO_4 , tak aby podwarstwić roztwór. Obserwować zmiany w probówce na granicy obu cieczy.

Opracowanie wyników:

- napisać, co zaobserwowano na granicy obu cieczy
- wyjaśnić, co świadczy o obecności węglowodanów w roztworze w wyniku tej reakcji
- ocenić, czy próba Molischa jest dokładnym sposobem oceny obecności cukrów w próbce
- sformułować wnioski.

16. Wykrywanie obecności cukrów redukujących

a) Próba Benedicta

Odczynniki: 1% roztwór wybranego cukru, odczynnik Benedicta

Wykonanie: Do 5 ml odczynnika Benedicta dodać 1 ml badanego roztworu cukru i wstawić na 5 minut do wrzącej łaźni wodnej. Po tym czasie obserwować zabarwienie roztworu.

Opracowanie wyników:

- napisać, jakie zmiany zaobserwowano podczas doświadczenia
- wymienić dwa przykłady cukrów redukujących i narysować ich wzory strukturalne
- ocenić przydatność próby Benedicta w analizie jakościowej węglowodanów
- sformułować wnioski.

b) Próba Fehlinga

Odczynniki: 10% roztwory: sacharozy, laktozy, glukozy, odczynnik Fehlinga I i II

Wykonanie: W trzech probówkach (1-3) zmieszać 1 ml odczynnika Fehlinga I z 1 ml odczynnika Fehlinga II, następnie do probówek dodać po 1 ml sacharozy (probówka 1), laktozy (probówka 2) oraz glukozy (probówka 3). Całość dokładnie wymieszać i ogrzewać nad płomieniem palnika lub we wrzącej łaźni wodnej w 100°C. Zanotować obserwacje.

Opracowanie wyników:

- ocenić, gdzie zaobserwowano zmianę koloru roztworu podczas ogrzewania i wyjaśnić, dlaczego
- napisać po jednej własności analizowanych cukrów
- wyjaśnić, czym różnią się cukry redukujące w porównaniu z cukrami nieredukującymi
- sformułować wnioski.

17. Próba Tollensa

Odczynniki: 1% AgNO_3 , 10% NaOH , 15% NH_3 , 10% roztwory glukozy i sacharozy

Przygotowanie odczynnika Tollensa: do dokładnie umytej, odtłuszczonej i suchej probówki wprowadzić 5 ml 1% roztworu AgNO_3 , 1 kroplę (max 2) 10% NaOH , a następnie nieustannie mieszając wprowadzać kroplami 15% roztwór NH_3 , aż do rozpuszczenia powstającego osadu. Należy unikać nadmiaru NH_3 .

Wykonanie: Do kolejnych dwóch probówek przenieść po 1 ml uprzednio przygotowanego odczynnika Tollensa, następnie dodać po 1 ml glukozy oraz sacharozy. Zawartość probówek ostrożnie wymieszać, a następnie powoli i ostrożnie ogrzewać nad płomieniem palnika lub we wrzącej łaźni wodnej przez ok. 5 minut.

Opracowanie wyników:

- opisać zaobserwowane zmiany w roztworach
- napisać równanie zachodzącej reakcji
- odpowiedzieć, czym jest tzw. lustro srebrne i co świadczy o jego powstaniu
- wyjaśnić, dlaczego niektóre cukry nie dają pozytywnego wyniku próby Tollensa
- odpowiedzieć, jakie inne grupy związków (oprócz cukrów) można wykryć za pomocą tej próby
- sformułować wnioski.

18. Próba Seliwanowa

Odczynniki: 1% roztwór wybranego cukru, rozcieńczony HCl, 2% rezorcyna w C₂H₅OH

Wykonanie: Do 1 ml badanego cukru, dodać 1 ml rozcieńczonego HCl, zamieszać, po czym wprowadzić kilka kropli 2% etanolowego roztworu rezorcyny. Wymieszać układ reakcyjny i wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 1 minutę.

Opracowanie wyników:

- podać cel próby Seliwanowa
- ocenić, jakie zmiany zaobserwowano podczas ogrzewania próbki
- napisać, które cukry i dlaczego dają pozytywny wynik próby Seliwanowa
- odpowiedzieć oraz uzasadnić, czy sacharoza mogłaby dać pozytywny wynik w próbie Seliwanowa i zapisać wnioski.

19. Próba Barfoeda

Odczynniki: 1% roztwór cukru, odczynnik Barfoeda

Wykonanie: Do 5 ml odczynnika Barfoeda dodać 1 ml badanego cukru, zamieszać i ogrzewać roztwór we wrzącej łaźni wodnej przez 3 minuty.

Opracowanie wyników

- napisać, do czego służy próba Barfoeda
- ocenić zaobserwowane zmiany podczas ogrzewania roztworu z badanym cukrem
- wyjaśnić, czym różni się próba Barfoeda od próby Benedicta lub Fehlinga
- sformułować wnioski.

20. Próba Wöhlkego

Odczynniki: Roztwór cukru, stężony NH₃, 3% KOH

Wykonanie: Do 1 ml badanego roztworu cukru dodać 1 ml stężonego amoniaku oraz 2 krople 3% KOH. Ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej przez kilka minut.

Opracowanie wyników:

- wyjaśnić, co wykrywa ta próba
- napisać, co zaobserwowano w przeprowadzonym doświadczeniu
- wskazać, które cukry dają pozytywny wynik próby Wöhlkego
- sformułować wnioski.

21. Hydroliza sacharozy

Odczynniki: 10% roztwory sacharozy, 0,1M HCl, 0,1M NaOH, odczynnik Benedicta

Wykonanie: 2 ml roztworu sacharozy zakwasić 6 kroplami 0,1M HCl, wymieszać i wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 5 minut. Po ochłodzeniu próbki, zobojętnić 6 kroplami 0,1M NaOH. Otrzymany roztwór zbadać, wykonując próbę Benedicta.

Próba Benedicta: Do 5 ml odczynnika Benedicta dodać 1 ml powyżej przygotowanego roztworu cukru oraz wstawić do wrzącej łaźni wodnej na 5 minut. Obserwować zabarwienie roztworu.

Opracowanie wyników:

- określić, co zaobserwowano i wyjaśnić te zmiany
- napisać reakcję hydrolizy sacharozy i nazwać produkty
- wskazać rolę HCl w hydrolizie sacharozy
- sformułować wnioski.

22. Badanie własności skrobi

a) Otrzymywanie kleiku skrobiowego

Odczynniki: Skrobia, woda destylowana

Wykonanie: Zagotować ok. 75 ml wody. W drugim naczyniu sporządzić jednolitą zawiesinę 1 g skrobi w 15 ml zimnej wody, którą wlewa się do wrzącej wody, ciągle mieszając. Naczynie po skrobi przepłukać 10 ml wody i dodać do wrzącego roztworu. Gotować aż do rozpuszczenia się próbki. Po schłodzeniu, roztwór ten należy wykorzystać do kolejnych prób.

b) Wykrywanie skrobi

Odczynniki: Kleik skrobiowy, I₂ w KI

Wykonanie: Do 2 ml kleiku skrobiowego dodać kroplę roztworu I₂ w KI.

Opracowanie wyników:

- ocenić, czy próbka zawierała skrobię oraz uzasadnić odpowiedź
- omówić budowę skrobi i napisać, z jakim składnikiem skrobi reaguje jod – z amylozą czy amylopektyną
- sformułować wnioski.

c) Wpływ temperatury

Wykonanie: Próbkę z punktu „b” ogrzać, po czym ochłodzić.

Opracowanie wyników:

- napisać, co zaobserwowano po ogrzaniu i po ochłodzeniu próbki
- wyjaśnić zachodzące zmiany.

d) Wpływ środowiska na zabarwienie jodem

Odczynniki: Kleik skrobiowy, 1M NaOH, 1M HCl, I₂ w KI

Wykonanie: Do 2 ml kleiku skrobiowego dodać kilka kropli 1M roztworu NaOH i kroplę roztworu I₂ w KI. Czynność powtórzyć przy użyciu 1M roztworu HCl.

Opracowanie wyników:

- napisać, jakie zmiany zaobserwowano
- ocenić, jak środowisko kwasowe i zasadowe wpływają na zabarwienie próbki z jodem i skrobią?

23. Próba Libermann-Burcharda

Odczynniki: CHCl_3 , cholesterol, inny roztwór zawierający tłuszcze, bezwodnik kwasu octowego, stężony H_2SO_4

Uwaga: Doświadczenie należy przeprowadzić pod dygestorium, a wykorzystywane próbówki muszą być suche.

Wykonanie: Do próbówki numer 1 wprowadzić 1 ml 0,2% chloroformowego roztworu cholesterolu, a do próbówki numer 2 dodać kilka kropli tłuszczu rozpuszczonego w 1 ml chloroformu. Do obydwu probówek dodać 0,5 ml bezwodnika kwasu octowego, delikatnie i ostrożnie zamieszać próbki, a następnie bardzo wolno i ostrożnie po ściankach probówek wprowadzić kilka kropli (3-5) stężonego H_2SO_4 (nie mieszać roztworów). Obserwować efekty reakcji przez kilka minut.

Opracowanie wyników:

- napisać, co wykrywa próba Liebermann-Burcharda
- ocenić zmiany barwy w próbce przed dodaniem H_2SO_4 i po dodaniu, a także po kilku minutach
- wyjaśnić, dlaczego stężony H_2SO_4 dodaje się powoli po ściance próbówki
- naszkicować wzór strukturalny cholesterolu oraz napisać funkcje cholesterolu w organizmie człowieka
- sformułować wnioski.

24. Otrzymywanie i reakcja wysalania mydła

Odczynniki: Smalec, 30% NaOH, 96% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

a) Rozpuszczalnego

Wykonanie: Stopić ok. 5 g smalcu. Dodać 8 ml 30% NaOH, 5 ml etanolu, zamieszać. Całość ogrzewać do momentu uzyskania jednolitej masy. Dodać 200 ml wrzącej wody, zamieszać i kontynuować ogrzewanie do momentu całkowitego rozpuszczenia się mydła.

Opracowanie wyników:

- napisać równanie reakcji do wykonanego doświadczenia
- wyjaśnić, po czym rozpoznać, że powstało mydło
- wyjaśnić, co znaczy, że tłuszcze ulegają hydrolizie zasadowej i czym różni się ta hydroliza od zwykłej hydrolizy
- sformułować wnioski.

b) Nierozpuszczalnego

Odczynniki: roztwór mydła z pkt. „a”, 1% CaCl_2 , 1% MgCl_2 , woda destylowana

Wykonanie: Do probówek numer 1 i numer 2 wprowadzić ok. 2 ml roztworu mydła otrzymanego w podpunkcie „a”. Następnie do próbówki numer 1 dodać 0,5 ml 1% roztworu CaCl_2 , a do próbówki numer 2 dodać 0,5 ml 1% roztworu MgCl_2 . Odląć płyn nad osadu. Do osadu dodać wodę destylowaną.

Opracowanie wyników:

- ocenić, o czym świadczy powstały osad
- napisać równania reakcji do wykonanego doświadczenia

- ocenić, czy otrzymane osady rozpuszczają się w wodzie destylowanej
- napisać wzory półstrukturalne kilku mydeł
- wyjaśnić, jakie znaczenie praktyczne ma to doświadczenie w kontekście prania w twardej wodzie
- sformułować wnioski.

c) Wysalanie mydła sodowego

Odczynniki: Roztwór mydła, NaCl, woda destylowana

Wykonanie: Do 2 ml mydła otrzymanego w pkt. „a”, dodać tyle NaCl, aby uzyskać roztwór nasycony. Odlać płyn znad osadu. Zbadać rozpuszczalność osadu poprzez dodanie wody destylowanej.

Opracowanie wyników:

- wyjaśnić, dlaczego po dodaniu NaCl wytrącił się osad i napisać, na czym polega wysalanie koloidów
- ocenić rozpuszczalność osadu po dodaniu wody
- sformułować wnioski.

25. Badanie własności wolnych kwasów tłuszczowych i tłuszczów właściwych

a) Otrzymywanie wolnych kwasów tłuszczowych z roztworu mydła

Odczynniki: Roztwór mydła z doświadczenia 24a, stężony H_2SO_4

Uwaga: czynności związane ze stężonymi odczynnikami należy wykonywać pod wyciągiem.

Wykonanie: Do 3 ml roztworu mydła wprowadzać powoli stężony H_2SO_4 , aż do otrzymania kwaśnego środowiska (kontrolować pH np. pH-metrem). Należy obserwować zmiany w badanym układzie reakcyjnym.

Opracowanie wyników:

- napisać, jaki był cel doświadczenia
- określić, co zaobserwowano po dodaniu stężonego H_2SO_4
- ocenić rolę stężonego H_2SO_4 w tej reakcji
- napisać równanie zachodzącej reakcji, nazwać i podkreślić produkt główny reakcji
- sformułować wnioski.

b) Identyfikacja kwasów tłuszczowych i tłuszczów właściwych

Odczynniki: Roztwór mydła z doświadczenia 25a, smalec, eter dietylowy, 0,002M NaOH

Wykonanie: Do roztworu wolnych kwasów tłuszczowych z doświadczenia 25a, dodać 3 ml zimnego eteru dietylowego i wytrząsać (jest to zlewka numer 1). Następnie do osobnego naczynia wprowadzić 1 ml 0,002M NaOH i kilka kropli fenoloftaleiny, po czym dodać do niej zawartość zlewki numer 1. Obserwować zmianę zabarwienia. Próbę powtórzyć dla smalcu (roztwór ten należy otrzymać przez rozpuszczenie ok. 0,1 g smalcu w 3 ml eteru dietylowego).

Opracowanie wyników:

- ocenić, jak zmieniło się zabarwienia każdego z analizowanych roztworów i wyjaśnić powód tych zmian
- wyjaśnić, jakie znaczenie praktyczne może mieć ta próba w analizie jakości tłuszczów spożywczych/w procesie jęlczenia
- sformułować wnioski.

26. Oznaczenie liczby kwasowej tłuszczu

Odczynniki: Tłuszcz, mieszanina eterowo-alkoholowa, 0,01M KOH, fenoloftaleina

Wykonanie: Do naczynia numer 1 wprowadzić 10 g tłuszczu, dodać 50 ml zubożonej mieszaniny eterowo-alkoholowej, po czym wymieszać. Następnie dodać kilka kropli fenoloftaleiny i roztwór miareczkować mianowanym 0,01M roztworem KOH, aż do uzyskania jasnoróżowego, trwałego zabarwienia. Proces oznaczenia powtórzyć dwukrotnie. Dodatkowo wykonać ślełą próbę (powtórzyć wszystkie czynności, lecz bez obecności tłuszczu w próbce).

Opracowanie wyników:

- napisać na czym polega metoda oznaczania liczby kwasowej tłuszczu
- obliczyć liczbę kwasową ze wzoru:

$$LK = \frac{(a-b) \cdot 0,5611}{m}$$

gdzie:

- a – objętość (ml) 0,01M KOH zużyta do miareczkowania badanej próbki
- b – objętość (ml) 0,01M KOH zużyta do miareczkowania próby ślepej
- m – masa tłuszczu (g)

- dokonać interpretacji momentu pojawienia się jasnoróżowego zabarwienia
- napisać, w jakim celu wykonuje się próbę ślełą
- wskazać możliwe przyczyny błędów w oznaczaniu liczby kwasowej
- sformułować wnioski.

BIBLIOGRAFIA

- Bielawski, W., Zagdańska, B. (red.). (2023). *Przewodnik do ćwiczeń z biochemii*. Warszawa: Wydawnictwo SGGW.
- Buhl, F., Kania, K., Mikuła, B. (2004). *Obliczenia rachunkowe z chemii analitycznej*. Katowice: Wydawnictwo Uniwersytetu Śląskiego.
- Chlubek, D. (red.). (2022). *Biochemia Lippincott Illustrated Reviews*. Wrocław: Edra & Partner.
- Cięszczyk, P. (red.). (2023). *Biochemia sportowa*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
- Kędryna, T., Gałka-Walczak, M., Ostrowska, B. (2001). *Wybrane zagadnienia z biochemii ogólnej z ćwiczeniami*. Kraków: Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.
- Kłyszajko-Stefanowicz, L. (red.). (2013). *Ćwiczenia z biochemii*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Kokot, F., Franek, E. (2015). *Zaburzenia gospodarki wodno-elektrolitowej oraz kwasowo-zasadowej*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
- Laidler, P., Piekarska, B., Wróbel, M. (red.). (2014). *Ćwiczenia z biochemii dla studentów Wydziału Lekarskiego*. Kraków: Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.
- McMurry, J. (2003). Stereochemia. W: *Chemia organiczna* (s. 292-338). Warszawa: Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Minczewski, J., Marczenko, Z. (2001). Zagadnienia ogólne oraz analiza miareczkowa. Część ogólna. W: *Chemia analityczna 2. Chemiczne metody analizy ilościowej* (s. 18-22, 173-189). Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Murray, R.K., Granner, D.W., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. (1995). *Biochemia Harpera*. Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL.
- Pawlak, M., Podgórski, T. (2016). *Biochemia – czytasz i rozumiesz*. Poznań: Akademia Wychowania Fizycznego im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu.
- Sienko, M.J., Plane, R.A. (2002). *Chemia – podstawy i zastosowania*. Warszawa: Wydawnictwa Naukowo-Techniczne.
- Tymoczko, J.L., Ber, J.M., Stryer, L. (2013). *Biochemia – krótki kurs*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.
- Węglarz, L. (red.). (2017). *Skrypt do ćwiczeń laboratoryjnych z biochemii dla studentów Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej*. Katowice: Wydawnictwo Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

- Włodek, L. (2000). *Biochemia: ćwiczenia praktyczne dla studentów Wydziału Farmaceutycznego*. Kraków: Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego.
- Zgirski, A., Gondko, R. (2012). *Obliczenia biochemiczne*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN.