

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ЗБІРНИК
МЕТОДИЧНИХ ВКАЗІВОК
до лабораторних робіт
з дисципліни «Гідрохімія та біохімія гідробіонтів»
для студентів ІІ-го курсу природоохоронного факультету
Спеціальність «Водні біоресурси та аквакультура»**

Одеса - 2017

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**ЗБІРНИК
МЕТОДИЧНИХ ВКАЗІВОК
до лабораторних робіт
з дисципліни «Гідрохімія та біохімія гідробіонтів»
для студентів ІІ-го курсу природоохоронного факультету
Спеціальність «Водні біоресурси та аквакультура»**

**«Затверджено»
на засіданні методичної комісії
природоохоронного факультету
протокол № 8 від 18 квітня 2017р.**

Одеса - 2017

Збірник методичних вказівок до лабораторних робіт з дисципліни «Гідрохімія та біохімія гідробіонтів» для студентів ІІ-го курсу денної та дистанційної форм навчання, спеціальності – «Водні біоресурси та аквакультура».

Укладачі: старший викладач Васильєва М.Г. та старший викладач Шевченко С.В кафедри хімії навколишнього середовища. – Одеса, ОДЕКУ, 2017. – 90 с.

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА.....	5
РОЗДІЛ 1. Гідрохімія. Техніка безпеки при проведенні гідрохімічних досліджень.....	8
Лабораторна робота №1 «Йони водню у природних водах. Йонний добуток води та водневий показник (рН)».....	10
Теоретична частина	10
Експериментальна частина. Дослід1. «Потенціометричний метод визначення pH у природній воді».....	14
Приклади розв'язання завдань.....	17
Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №1.....	20
Лабораторна робота №2 «Головні аніони, які містяться у природних водах.».....	21
Теоретична частина	21
Експериментальна частина.....	24
Дослід 1. «Визначення лужності природної води».....	24
Дослід 2. «Визначення хлорид-іонів (Cl ⁻) у природній воді аргентометричним методом по Мору».....	27
Дослід 3. «Визначення сульфат-іонів(SO ₄ ²⁻) у природній воді».....	30
Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №2.....	32
Лабораторна робота №3 «Головні катіони. Визначення вмісту йонів кальцію (Ca²⁺), магнію (Mg²⁺), натрію та калію (K⁺+Na⁺) у природній воді та різних видів твердості води.».....	34
Теоретична частина	34
Експериментальна частина.....	38
Дослід 1. Визначення вмісту йонів кальцію (Ca ²⁺) трилонометричним методом.....	38
Дослід 2. Визначення загальної твердості природної води трилонометричним методом. Розрахунок вмісту йонів магнію (Mg ²⁺)...	39
Дослід 3. Визначення карбонатної (тимчасової) твердості природної води. Розрахунок некарбонатної (постійної) твердості води. Розрахунок вмісту йонів натрію та калію (K ⁺ +Na ⁺). Розрахунок мінералізації природної води.....	43
Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи № 3.....	45
Порядок оформлення результатів лабораторних робіт з розділу «Гідрохімія» та формулювання висновків. Обробка результатів гідрохімічного аналізу природних вод.....	46

РОЗДІЛ 2. Біохімія гідробіонтів. Техніка безпеки при проведенні біохімічних досліджень.....	50
Лабораторна робота №4 «Методика відбору зразків тканин і крові у риб для біохімічних досліджень. Якісні реакції на амінокислоти та білки. Визначення вмісту білка у крові гідробіонтів. Висолювання білків. Реакції осадження білків».....	51
Теоретична частина	51
Експериментальна частина.....	53
Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №4.....	61
Лабораторна робота №5 «Обмін ліпідів. Визначення складу ліпідів. Розчинність та утворення емульсій. Відкриття ненасичених жирних кислот в риб'ячому жирі. Гідроліз жиру. Визначення загальної кількості ліпідів. Кількісне визначення ліпідів в тканинах гідробіонтів».....	63
Теоретична частина	63
Експериментальна частина.....	64
Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №5.....	66
Лабораторна робота №6 «Обмін вуглеводів. Визначення глюкози в крові. Дослідження властивостей вуглеводів у гідробіонтів. Властивості вуглеводів. Визначення глюкози в крові гідробіонтів хімічним та ферментативним методами.».....	67
Теоретична частина	67
Експериментальна частина.....	68
Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №6.....	71
Лабораторна робота №7 «Визначення загальних властивостей ферментів. Вплив температури та pH середовища на активність амілази. Специфічність дії ферментів. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази. Кількісне визначення амілази за Вольтгеймутом.».....	72
Теоретична частина	72
Експериментальна частина.....	74
Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №7.....	76
Порядок оформлення результатів лабораторних робіт з розділу «Біохімія гідробіонтів» та формулювання висновків.....	77
Порядок оформлення звіту, його представлення і захист.....	77
Література	78
Додатки	80

ПЕРЕДМОВА

Дисципліна «Гідрохімія та біохімія гідробіонтів», яка викладається для студентів спеціальності «Водні біоресурси та аквакультура» є обов'язковою, загальнонауковою та комплексною дисципліною і служить базою для наступного більш поглиблленого вивчення фахових дисциплін.

Гідрохімія та біохімія – це фундаментальні природничі науки, знання яких потрібні для діяльності майбутнього спеціаліста за даною спеціальністю. Сучасні гідрохімія та біохімія ґрунтуються на досягненнях хімії, фізики, біології, екології, ензимології, молекулярної біології, біоенергетики тощо.

Засвоєння дисципліни «Гідрохімія та біохімія гідробіонтів» в IV семестрі повинно сприяти розвитку у студентів широкого природно-наукового розуміння складних гідрохімічних процесів, які впливають на хімічний склад природних вод та біохімічних процесів, які виникають в організмах гідробіонтів під впливом природних та людських факторів. Дисципліна складається з двох розділів: в першому розділі розглядаються питання з гідрохімії, у другому розділі вивчаються основні структурні компоненти гідробіонтів – білки, ліпіди, вуглеводи та обмінні процеси, що відбуваються у водних організмах.

Мета дисципліни – формування у студентів повного уявлення про хімічний склад природних вод та закономірності його зміни під впливом природних та антропогенних факторів, про шляхи вирішення актуальних проблем регіональної та прикладної гідрохімії; формування у студентів цілісного світогляду на основі сучасних знань щодо уяви про біохімічні процеси, про хімічний склад основних представників гідробіонтів та розуміння сутності процесів, що відбуваються в їхніх організмах, а головне – формування бази знань сучасного стану гідро- та біохімічних проблем та творчого відношення до їх вирішення.

Метою збірника методичних вказівок є надання та формування практичних навичок роботи з лабораторним обладнанням, посудом, реактивами та біологічними об'єктами – гідробіонтами, формування у студентів цілісного світогляду про хімічний склад природних вод, представників гідробіонтів та розуміння процесів, що відбуваються в їхніх організмах.

В збірнику методичних вказівок розглянуто найважливіші питання гідрохімії, біохімії та практичні методи гідрохімічних та біохімічних досліджень, які дуже важливі для даної спеціальності. До збірника методичних вказівок ввійшли описані лабораторні роботи, їх хід виконання та розрахунків, короткі теоретичні відомості з даних тем та запитання для самоконтролю. В процесі проведення лабораторних робіт студенти повинні засвоїти великий об'єм фактичного теоретичного матеріалу, виконати експериментальні частини лабораторних робіт та

відповісти на питання для самоконтролю.

Збірник методичних вказівок з гідрохімії та біохімії включає класичні методи і нові методики практичних досліджень. Це дозволяє студентам опанувати методи якісного і кількісного аналізу біохімічних досліджень, аналізу якості природних вод, їх класифікації, навчитися математично обробляти одержані експериментальні дані, отримати навички експериментальної роботи в гідрохімічних та біохімічних лабораторіях.

В результаті виконання лабораторних робіт та вивчення теоретичних відомостей з дисципліни «Гідрохімія та біохімія гідробіонтів» студент повинен сформувати компетенції:

- оволодіння базовими знанням та вмінням розпізнавати хімічні процеси у водних розчинах та використовувати їх для гідрохімічних досліджень природних вод;
- використання базових знань та вмінь для оцінки якості природних вод; вміння зробити вірні висновки на основі проведених досліджень у гідрохімічній лабораторії;
- оволодіння базовими знанням та умінням пізнати вплив природних та антропогенних факторів на хімічний склад та властивості природних вод;
- бути компетентними у визначенні біохімічної ролі білків, ліпідів, вуглеводів, вітамінів, ферментів, мінеральних речовин в організмах риб та інших гідробіонтів;
- бути компетентними у розумінні закономірностей біохімічних процесів в організмах гідробіонтів;
- здатність здійснювати читання і осмислення професійно орієнтованої та загальнонаукової літератури; використання її у професійній і соціальній сферах;
- здатність здійснювати пошук нової інформації;
- отримувати базові знання фундаментальних розділів гідрохімії та біохімії; володіння методами ведення лабораторних досліджень;
- здатність спілкування професійною українською мовою;
- на основі базових знань та умінь утворити сучасний професійний світогляд майбутнього фахівця з водних біоресурсів.

До збірника ввійшли наступні лабораторні роботи:

1. Техніка безпеки при проведенні гідрохімічних досліджень. Йони водню у природних водах. Водневий показник. Потенціометричний

метод визначення рН у природній воді.

2. Головні аніони, які містяться у природних водах. Визначення лужності, хлорид-іонів (Cl^-) та сульфат-іонів (SO_4^{2-}) у природній воді.

3. Головні катіони. Визначення вмісту йонів кальцію (Ca^{2+}), магнію (Mg^{2+}), натрію та калію (K^+ + Na^+) у природній воді та різних видів твердості води. Обробка результатів гідрохімічного аналізу природної води.

4. Методика відбору зразків тканин і крові у риб для біохімічних досліджень. Якісні реакції на амінокислоти та білки. Визначення вмісту білка у крові гідробіонтів. Висолювання білків. Реакції осадження білків.

5. Обмін ліпідів. Визначення складу ліпідів. Розчинність та утворення емульсій. Відкриття ненасичених жирних кислот в риб'ячому жирі. Гідроліз жиру. Визначення загальної кількості ліпідів. Кількісне визначення ліпідів в тканинах гідробіонтів

6. Обмін вуглеводів. Визначення глюкози в крові. Дослідження властивостей вуглеводів у гідробіонтів. Властивості вуглеводів. Визначення глюкози в крові гідробіонтів хімічним та ферментативним методами.

7. Визначення загальних властивостей ферментів. Вплив температури та рН середовища на активність амілази. Специфічність дії ферментів. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази. Кількісне визначення амілази за Вольтгеймутом.

Під час виконання лабораторних робіт студенти повинні проводити експерименти з використанням хімічного обладнання за розробленими методиками. Перед початком кожної лабораторної роботи студенти проходять короткий інструктаж з техніки безпеки та відмічаються у спеціальних журналах з техніки безпеки та пожежної безпеки.

Одержані дані лабораторної роботи математично обробляють, аналізують та роблять необхідні висновки.

Після виконання експериментальної частини, студент повинен скласти звіт у вигляді протоколу лабораторної роботи та захистити її, а також відповісти на контрольні питання і самостійно розв'язати завдання індивідуальні, які наведені до кожної лабораторної роботи.

Виконання лабораторної роботи та складання звіту у вигляді протоколу оцінюється викладачем певною кількістю балів згідно затвердженої робочої програми дисципліни «Гідрохімія та біохімія гідробіонтів». Самостійно розв'язані індивідуальні завдання, які наведені до кожної лабораторної роботи також оцінюються викладачем певною кількістю балів згідно затвердженої робочої програми дисципліни «Гідрохімія та біохімія гідробіонтів».

РОЗДІЛ 1. ГІДРОХІМІЯ

Техніка безпеки при проведенні гідрохімічних досліджень.

При проведенні гідрохімічних робіт необхідно ретельно дотримуватися правил техніки безпеки.

Необхідно стежити за вентиляцією лабораторії і у витяжній шафі, не допускати роботи при поганій вентиляції.

В лабораторії у доступному місці встановлюють аптечку, в якій мають бути вата, бинти, борна кислота у розчині (2%) та кристалічна, йодна настойка, розчин оцтової кислоти (2%), лейкопластир, мазь від опіків, розчин двовуглекислої соди (5%), нашатирний спирт, пінцет, ножиці, склянка для промивання очей тощо.

Робота зі склянним посудом.

- Хімічний посуд треба тримати обережно, не стискаючи його сильно руками для запобігання можливого поранення; мити хімічний посуд треба теж вкрай обережно йоршами, щоб не пробити дно або стінки.
- При невеликих порізах склом, треба обережно вилучити осколки, змити кров навколо ранки ватним тампоном, змазати йодом та зав'язати бинтом, або заклеїти лейкопластиром.
- При глибоких артеріальних порізах після вилучення скла треба міцно перев'язати руку вище порізу джгутом, витерти кров навколо рани, накласти кілька шарів стерильної марлі, потім товстий шар гігроскопічної вати та викликати лікаря.

Робота з хімічними реактивами. Випадки отруєння хімічними реактивами у лабораторії надзвичайно рідкісні, але не виключені, тому необхідно знати прийоми надання першої допомоги до прибуття лікаря.

- При роботі з рідкими кислотами треба пам'ятати, що вони можуть спричиняти важкі хімічні опіки, що погано гояться. Розбавляти кислоти потрібно лише певним чином – *лити кислоту у воду*, та ніколи не навпаки. При попаданні сильної кислоти на тіло слід обмити пошкоджене місце спочатку великою кількістю води під проточним струменем з крану, а потім – 5% розчином двовуглекислого натрію (sodи).
- При опіці лугами також треба обмити вражене місце великою кількістю проточної води з крану, а вже потім – 2% розчином оцтової кислоти. Розбавляти концентрований розчин лугу треба таким же чином, що й кислоту – *лити луг у воду*, та ніколи не навпаки. При розчиненні лугів у воді спостерігається сильне розігрівання, тому луги треба розчинити у фарфоровому товстостінному посуді – спочатку концентровані розчини, а після охолодження розбавити до потрібної концентрації.
- При попаданні у рот лужного розчину йодистого калію порожнину рота промивають спочатку водою, а потім 2% розчином борної кислоти до

усунення мильного присмаку у роті і знову водою. Потім порожнину рота змазують харчовим жиром.

- Якщо у порожнину рота попав розчин азотнокислого срібла, необхідно промити порожнину рота великою кількістю розчину хлористого натрію.
- При отруєнні хімічними реактивами необхідно ввести потерпілому у шлунок відповідні речовини: при отруенні кислотами – мильна вода, магнезія, сода, вапнякова вода, молоко, рідке мучне тісто, слизисті відвари; лугами – лимонна кислота або 5% оцтова. При отруєнні солями вводять у шлунок яєчний білок, велику кількість молока. При отруєнні йодом – крохмаль з водою, в'яжучі настойки, міцний чай або кофе.
- Треба завжди пам'ятати, що при наповненні піпетки будь-яким розчином, необхідно користуватись гумовою грушою.
- Роботу зі шкідливими, отруйними та легко летючими речовинами слід проводити у витяжній шафі.

Робота з нагрівальними пристроями.

- Нагрівальні пристроя не можна оставляти без нагляду, їх необхідно встановлювати на спеціальні ізоляційні підкладки.
- Нагрітий посуд або інші предмети треба брати спеціальними щипцями (канцер), колботримачем або просто рушником.
- У приміщенні лабораторії завжди повинні знаходитись протипожежні засоби: азбест, пісок, вогнегасник, кошма. Водою можна гасити тільки такі речовини, що розчиняються у воді або важчі за неї. Масло, бензин, керосин гасити водою неприпустимо.
- При опіках 1-го ступеня (почервоніння шкіри) користуються спеціальними мазями від опіків. При опіках 2-го ступеня (пухирі на шкірі) вражене місце треба обробити розчином марганцевокислого калію або розчином таніну. При опіках 3-го ступеня (руйнування тканини шкіри) треба покрити вражене місце стерильною пов'язкою та викликати лікаря.

Робота з електроприладами.

- В хімічній лабораторії краще використовувати електричну плитку із закритою спіраллю; під плитку треба підкладати азбестову ковдру чи керамічну або мармурову підставку.
- При роботі з електроплиткою, pH-метром, освітлювальними або іншими електричними пристроями слід ретельно ізолювати проводи, не допускати потрапляння на них води, іскріння; усі несправності слід усувати при вимкненій електричній мережі.
- Студентам забороняється усувати несправності самостійно – слід тільки вказати на несправність викладачу або працівнику лабораторії.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

Тема: «Йони водню у природних водах. Йонний добуток води та водневий показник (рН)»

Теоретична частина

Йони водню H^+ займають особливе положення у складі природних вод. Їхній абсолютний вміст порівняно з іншими йонами надзвичайно малий – за концентрацією H^+ посідають ледь не останнє місце, але роль їх у природних розчинах дуже висока.

Йони водню H^+ завжди присутні у природній воді, тому що вони виникають при її дисоціації:



В чистій воді спостерігається незначна електропровідність, тобто вона слабо дисоціює на йони (вода – слабкий електроліт).



Константа дисоціації води

$$K_d = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} = 1,8 \cdot 10^{-16}.$$

Концентрація молекул води – стала величина: 55,55 моль/дм³; її можна включити в константу:

$$K_{dis} \cdot [H_2O] = [H^+] \cdot [OH^-] = 1,8 \cdot 10^{-16} \cdot 55,55 = 1 \cdot 10^{-14} \text{ моль/дм}^3.$$

Оскільки активності йонів приблизно дорівнюють їх концентраціям, а активність води близька до одиниці, то використовують вираз:

$$K_b = [H^+] \cdot [OH^-].$$

Тобто добуток концентрацій йонів водню та гідроксид-іонів є величиною постійною при постійній температурі. Цю величину називають йонним добутком води; чисельне його значення при 22 °C дорівнює 10^{-14} моль/дм³.

$$K_b = [H^+] \cdot [OH^-] = 10^{-14} \text{ моль/дм}^3.$$

Оскільки при дисоціації утворюється однакова кількість йонів водню та гідроксид-іонів, то ймовірно, що в чистій воді $[H^+] = [OH^-] = \sqrt{10^{-14}}$ моль/дм³. Тому й маємо відоме в хімії положення про нейтральну реакцію водного розчину при $[H^+] = 10^{-7}$ моль/дм³ та $[OH^-] = 10^{-7}$ моль/дм³; кислу реакцію при $[H^+] > 10^{-7}$ моль/дм³ та $[OH^-] < 10^{-7}$ моль/дм³; лужну

реакцію при $[H^+] < 10^{-7}$ моль/дм³ та $[OH^-] > 10^{-7}$ моль/дм³.

Оскільки концентрації йонів водню та гідроксилу надто малі, то їх виражають у вигляді логарифмів з оберненим знаком та називають ці величини водневим показником (рН) та показником йонів гідроксилу (рОН):

$$pH = -\lg[H^+];$$
$$pOH = -\lg[OH^-].$$

$$pH + pOH = pK_b = 14,$$

$$\text{де: } pK_b = -\lg K_b = -\lg 10^{-14} = 14.$$

При нейтральній реакції водного розчину, тобто при рівності йонів водню та гідроксилу, $pH = pOH = 7$. При кислій реакції водного розчину $pH < 7$, $pOH > 7$. При лужній реакції водного розчину $pH > 7$, $pOH < 7$.

Природні води залежно від pH поділяються таким чином:

- | | |
|---------------------|---------------------|
| • Сильно кислі води | $pH < 3$ |
| • Кислі води | $pH = 3 \div 5$ |
| • Слабо кислі води | $pH = 5 \div 6,5$ |
| • Нейтральні води | $pH = 6,5 \div 7,5$ |
| • Слабо лужні води | $pH = 7,5 \div 8,5$ |
| • Лужні води | $pH = 8,5 \div 9,5$ |
| • Сильно лужні води | $pH > 9,5$ |

Природна вода – це складний розчин, концентрація йонів водню в якому залежить не лише тільки від дисоціації води, а й від дисоціації та гідролізу інших сполук.

Значно впливають на pH природної води такі компоненти:

а) CO_2 та його похідні: для вод з невеликим вмістом CO_2 характерна слаболужна реакція ($pH \geq 7$), а великі концентрації CO_2 зменшують pH.

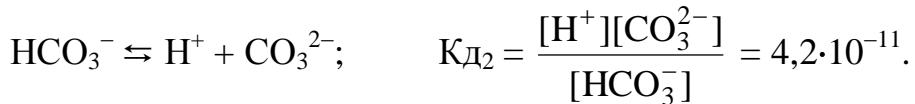
Діоксид вуглецю надзвичайно важливий для життєдіяльності організмів: для рослин він є джерелом вуглецю, без якого у природних водах не існувало би життя, також наявність CO_2 у природних водах лімітує процеси фотосинтезу. Крім того CO_2 відіграє важливу роль у гідрохімічних процесах – збільшує розчинність води і стає джерелом утворення йонів HCO_3^- та CO_3^{2-} .

Розчинений у воді CO_2 частково взаємодіє з нею таким чином, що відбувається рівновага між карбоновою кислотою та вуглекислим газом у водному розчині:



Рівновага сильно зсувається у лівий бік, тому у розчині присутні приблизно 99% CO_2 та лише близько 1% H_2CO_3 .

Карбонова кислота є слабкою, двохосновною кислотою, тобто незначно дисоціює по двом ступеням:



Тому у розчині установлюється рухома рівновага:



Кількісне співвідношення окремих форм карбонової кислоти (H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-}) у воді, як то видно з рівняння, залежить від концентрації іонів водню. Тому можна розрахувати кількісні співвідношення між окремими формами при різних значеннях pH, застосовуючи закон діючих мас.

У таблиці 1.1 наводиться співвідношення молярних концентрацій окремих форм похідних карбонової кислоти, що виражені у відсотках від їхнього загального вмісту.

Таблиця 1.1 – Співвідношення молярних концентрацій окремих форм похідних карбонової кислоти

Форма	pH						
	4	5	6	7	8	9	10
$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3$	99,7	96,2	71,5	20,0	2,4	0,2	-
HCO_3^-	0,3	3,8	28,5	80,0	97,5	95,7	70,4
CO_3^{2-}	-	-	-	-	0,4	4,1	29,6

Як то видно з даних таблиці, іони HCO_3^- практично відсутні у воді при кислій реакції ($\text{pH} < 4,0$), та при $\text{pH} = 7 \div 9$ вони є основною формою карбонової кислоти. При $\text{pH} = 8,3$ у розчині знаходяться майже тільки іони HCO_3^- . Якщо реакція розчину слабо-лужна, то з'являються іони CO_3^{2-} , вміст яких збільшується при підвищенні pH; та при $\text{pH} > 10$ ці іони є головною формою сполук карбонової кислоти.

б) Органічні гумусові кислоти: збагачення води органічними речовинами та гумусом сприяють зменшенню pH до 3,5 – тому що при розкладанні органічних речовин утворюються CO_2 , H_2CO_3 , гумусові та фульвокислоти.

в) Солі важких металів: забруднення водойм важкими металами також призводять до зменшення pH, тому що результатом гідроліза їх солей є кисла реакція середовища. Наприклад,



Накопичується надлишок йонів водню – реакція розчину кисла, $\text{pH} < 7$.

г) Забруднення атмосфери SO_2 та NO_2 приводить до випадіння кислих дощів, що зменшує pH природних вод.

д) Йони лужних металів: наявність соди Na_2CO_3 або гідрокарбонатів натрію NaHCO_3 підвищують pH до 11 – це характерно для підземних вод та зв'язано з їх підйомом і створенням випарувальних бар'єрів, що є причиною засолення ґрунтів.

Визначення pH природної води належить до найважливіших показників при дослідженнях екосистем. pH є важливою константою в біологічних процесах живих істот. Від значення pH залежить життєдіяльність гідробіонтів – оптимальний розвиток тих чи інших водних організмів може існувати лише в певних межах величини pH .

Водневий показник контролює наявність більшості хімічних елементів та визначає форму їхнього перебування у воді. Від значення pH залежить агресивна дія води на бетон та металеві конструкції в природних водах.

Зміна pH води свідчить про забруднення її продуктами розпаду органічних сполук, стічними водами промислових підприємств або іншими речовинами. Постійність pH природних вод має велике значення для нормального протікання в них різних біологічних та фізико-хімічних процесів.

Потенціометричний метод визначення величини pH води зі скляним електродом є найбільш універсальний і точний. Він дозволяє проводити вимірювання з точністю 0,05 – 0,02 одиниць pH а також придатний для аналізу вод з широким діапазоном мінералізації та вод, що мають кольоровість та мутність.

Приблизно визначити pH середовища можна за допомогою кислотно-основних індикаторів – речовин, які в певному інтервалі значень pH розчину змінюють свій колір. Індикаторами можуть бути слабкі органічні кислоти HInd та основи IndOH , молекули та іони яких мають різний колір:



Наприклад, індикатори – слабкі органічні кислоти – це лакмус та фенолфталеїн; індикатори – слабкі основи – це метиловий помаранчевий, метиловий червоний.

Відомі методи використання різних кислотно-основних індикаторів, що змінюють забарвлення при різних значеннях pH . Знаючи інтервал зміни

кольору кількох індикаторів можна встановити pH досліджуваної природної води достатньо точно (додавати по 1-2 краплі індикатора до 10 см³ проби води).

Інтервали переходу та забарвлення деяких pH-індикаторів наведені у таблиці 1.2.

Таблиця 1.2 – Визначення pH за допомогою індикаторів

Індикатор	Інтервал pH	Зміна кольору
Пікринова кислота	0,1 - 1,3	Безбарвний - жовтий
Кристалічний фіолетовий	I 0,13 – 0,5	Жовтий - зелений
	II 1,0 – 1,5	Зелений - синій
	III 2,0 – 3,0	Синій - фіолетовий
Крезоловий червоний	I 0,2 – 1,8	Червоний - жовтий
	II 7,0 – 8,8	Жовтий - пурпурний
Метиловий жовтий	2,9 – 4,0	Червоний - оранжево-жовтий
Бромфеноловий синій	3,0 – 4,6	Жовтий - фіолетово-синій
Метиловий помаранчевий	3,0 – 4,4	Червоний - помаранчово-жовтий
2,5-Динітрофенол	4,0- 5,8	Безбарвний - жовтий
Метиловий червоний	4,4 – 6,2	Червоний - жовтий
Алізариновий червоний	5,0 – 6,6	Жовтий - фіолетово-червоний
Лакмус	5,0 – 8,0	Червоний - синій
Бромтимоловий синій	6,0 – 7,5	Жовтий - синій
Фенолфталеїн	8,2 – 10,0	Безбарвний - рожевий
Тимолфталеїн	9,3 – 10,5	Безбарвний - синій
Алізариновий жовтий R	10,0 –12,0	Жовтий-оранжево-червоний
Алізарин	11,0 –13,0	Рожевий - фіолетовий
Фуксинова кислота	12,0 –14,0	Яскраво-червоний - безбарвний

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

ДОСЛІД 1. ПОТЕНЦІОМЕТРИЧНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ pH

Мета досліду: вивчити пристрій та принцип дії pH-метру; визначити показник водню (pH) проби природної води потенціометричним методом; надати якісну характеристику природної води на основі отриманого результату.

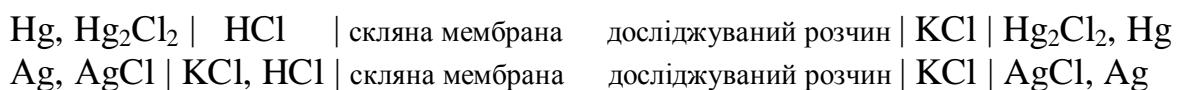
Принцип методу. Потенціометричний метод визначення величини pH води зі скляним електродом заснований на вимірюванні різниці потенціалів, що виникають на межі зовнішньої поверхні скляної мембрани

електроду та досліджуваним розчином, з одного боку, і внутрішньої поверхні мембрани та стандартним розчином кислоти, з іншого боку. Внутрішній стандартний розчин скляного електроду має постійну активність йонів водню, тому потенціал на внутрішній поверхні мембрани не змінюється – і різниця потенціалів, яку вимірюють, визначається потенціалом, що виникає на межі зовнішньої поверхні електроду та досліджуваного розчину.

Вимірювання проводять відносно потенціалу іншого електроду, який називають електродом порівняння. Вибирають такий електрод, потенціал якого практично не залежить від активності йонів водню, наприклад, каломельний або хлорсрібний.

Скляний електрод являє собою трубку з напаяною на конус порожньою кулькою, що виготовлена з літієвого скла. При зануренні електрода у розчин між поверхнею кульки електрода та розчином відбувається обмін йонами, внаслідок якого йони літію в поверхневому шарі скла замінюються на йони водню. Між поверхнею скла та досліджуваним розчином виникає різниця потенціалів, величина якої залежить від активності йонів водню у розчині та його температури. Для вимірювання цієї різниці потенціалів створюють електричний ланцюг. Внутрішній електрод цього ланцюга забезпечує контакт з розчином, який заповнює внутрішню частину скляного електрода. Допоміжний електрод являє собою проточний хлорсрібний електрод. Він забезпечує контакт з досліджуваним розчином за допомогою електричного ключа – трубки, що заповнена насиченим розчином калію хлоридом, яка закінчується пористою перегородкою. Насичений розчин KCl повинен безперервно повільно поступати в досліджуваний розчин зі швидкістю 20 см³/добу. Значення pH реєструють мілівольтметром, градуйованим в одиницях pH.

Вимірювальні осередки складають з індикаторного (скляного) електрода, електродів порівняння (каломельний або хлорсрібний), досліджуваного розчину та розчинів з постійною активністю водневих іонів:



Електрорушійна сила, що виникає у вимірювальних осередках, є функцією активності Йонів водню (pH) та температури у досліджуваному розчині. У деяких межах значень pH ця функція є лінійною та описується рівнянням:

$$E = E_o + \frac{RT}{F} \ln a^+ = E_o + 2,3026 \frac{RT}{F} \lg a^+ = E_o - 2,3026 \frac{RT}{F} \text{ pH},$$

де: Е – електрорушійна сила, яку вимірюють;

E_0 – стандартний потенціал скляного електрода;

a^+ – активність Йонів водню у досліджувані розчині;

R – універсальна газова стала;

T – абсолютна температура;

F – число Фарадея.

Хід визначення. Вимірювання pH проводять безпосередньо навколо об'єкту незабаром після забору проби води. Пробу відбирають в чисту, бажано поліетиленову пляшку, яку ретельно обполіскували досліджуваною водою 2-3 рази. Скляний електрод, особливо новий, перед роботою відержують не менш 8 годин у 0,01N розчині соляної кислоти. Безпосередньо перед вимірюванням його декілька разів обполіскують досліджуваною водою.

Конкретні рекомендації по підготовці pH-метра до роботи викладають в інструкціях до приладу. Загальна схема вимірювань така:

- 1) перевіряють та встановлюють «механічний нуль» приладу до його включення;
- 2) включають pH-метр та після прогріву і установки «електричного нуля» перевіряють та коректують його шкалу по двом – трьом буферним розчинам.

Для цього у склянку з буферним розчином поміщають скляний електрод (так, щоб розчин повністю покрив кульку електрода) та електрод порівняння (каломельний або хлор срібний). У склянку поміщають термометр з ціною розподілу 0,1-0,05 °C. До вимірювання pH приступають, перевіривши, що на поверхні кульки скляного електрода немає пухирців повітря. Вимірювши величину pH буферного розчину, записують його значення та через декілька хвилин повторюють вимір. Якщо обидва значення pH співпадають, то потенціал електрода враховують встановленим та приступають до корекції шкали у відповідності з інструкцією до приладу. Потім аналогічні операції проводять з другим та третім буферними розчинами. Кожний раз перед вимірюванням електроди необхідно обполіскувати дистильованою водою та потім знімати краплі її шматочками фільтрувального паперу. Для кожного з буферних розчинів застосовують окрему чисту склянку. Значення pH буферних розчинів, що застосовують для корекції шкали, приведені у таблиці 1.3.

Таблиця 1.3 – Значення pH буферних розчинів при різній температурі

t °C	pH біфталатного буферного розвину	pH фосфатного буферного розчину $KH_2PO_4 + Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	pH боратного буферного розвину $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$
0	4,01	6,98	9,46
5	4,00	6,95	9,39
10	4,00	6,92	9,33
15	4,00	6,90	9,27
20	4,00	6,88	9,22
25	4,01	6,86	9,18
30	4,01	6,85	9,14
35	4,02	6,84	9,10

3) Після перевірки та корекції шкали приладу склянку, електроди та термометр ретельно обполіскують дистильованою, а потім досліджуваною водою. Досліджувану воду наливають у склянку та вимірюють pH таким же чином, як і в разі буферних розчинів. Вимірювання повторюють 2-3 рази чи більше. Останні два показання приладу повинні бути однаковими.

Якщо вимірюють pH слабо мінералізованих вод, то всі операції необхідно проводити з особливою ретельністю, тому що навіть невеликі кількості сторонніх речовин можуть сильно спотворити результати. Пробу треба охороняти від контакту з повітрям, щоб виключити поглинання досліджуваною водою CO_2 .

Розчини та реактиви, що застосовують: Буферні розчини готують, використовуючи набір фіксаналів для pH-метрії.

Прилади та посуд: pH-метр зі скляним та хлорсрібним (або каломельним) електродами та термометром з ціною розподілу 0,1-0,05 °C; 4-5 склянок (50-100 см³); поліетиленові пляшки для буферних розчинів; промивалка з дистильованою водою; фільтрувальний папір.

Приклад розв'язання завдань.

Приклад №1

Розрахуйте концентрацію йонів H^+ та OH^- а також рОН розчину, якщо водневий показник pH = 9,24.

Розв'язання:

Концентрації йонів водню та гідроксиду виражають у вигляді логарифмів з оберненим знаком та називають ці величини водневим

показником (рН) та показником йонів гідроксиду (рОН):

$$\text{рН} = -\lg[\text{H}^+]; \quad \text{рОН} = -\lg[\text{OH}^-].$$

$$\text{Отже, } \text{рН} + \text{рОН} = \text{рК}_\text{в} = 14, \text{ де } \text{рК}_\text{в} = -\lg K_\text{в} = -\lg 10^{-14} = 14.$$

Тому рОН розчину розраховують за формулою:

$$\text{рОН} = 14 - \text{рН} = 14 - 9,24 = 4,76.$$

Для перерахунку рН в H^+ та H^+ в рН зручно користуватись таблицею 1.4. В нашому прикладі $\text{рН} = 9,24$. За мантисою 0,24 (яка міститься у стовпчику рН) знаходимо поряд у стовпчику (H^+) коефіцієнт 0,575, який множимо на 10 у ступені, рівною характеристиці ($Q = 9$) з оберненим знаком. Тобто концентрація йонів водню дорівнює:

$$[\text{H}^+] = 0,575 \cdot 10^{-9} = 5,75 \cdot 10^{-10}.$$

Добуток концентрації йонів водню та гідроксид-йонів є величиною постійною при постійній температурі. Цю величину називають йонним добутком води (або константою води); чисельне його значення при 22°C дорівнює 10^{-14} моль/дм³.

$$K_\text{в} = [\text{H}^+] \cdot [\text{OH}^-] = 10^{-14} \text{ моль/дм}^3.$$

Тому концентрацію гідроксид-йонів розраховують за формулою:

$$[\text{OH}^-] = \frac{10^{-14}}{[\text{H}^+]} = \frac{1 \cdot 10^{-14}}{5,75 \cdot 10^{-10}} = 0,174 \cdot 10^{-4} = 1,74 \cdot 10^{-5} \text{ моль/дм}^3.$$

Відповідь: $\text{рОН} = 4,76; [\text{H}^+] = 5,75 \cdot 10^{-10} \text{ моль/дм}^3;$
 $[\text{OH}^-] = 1,74 \cdot 10^{-5} \text{ моль/дм}^3.$

Приклад №2

Концентрація йонів водню в розчині становить $1,4 \cdot 10^{-3}$ моль/дм³. Визначити рН, рОН розчину та концентрацію гідроксид-йонів.

Розв'язання:

$$[\text{H}^+] = 1,4 \cdot 10^{-3} = 0,14 \cdot 10^{-2} \text{ моль/дм}^3.$$

Визначаємо водневий показник за таблицею 1.4. Якщо треба знайти значення рН за відомим значенням концентрації водневих йонів $[\text{H}^+] = 0,14 \cdot 10^{-2}$ моль/дм³, то розрахунок ведуть таким чином: за коефіцієнтом 0,14 знаходимо у правій графі мантису 0,85, а за характеристику приймаємо показник ступеня, взятий з оберненим знаком. Тобто, $\text{рН}=2,85$.

$$\text{рН} = -\lg [\text{H}^+] = -\lg [0,14 \cdot 10^{-2}] = -\lg 0,14 - \lg 10^{-2} = 2,85.$$

Розраховуємо показник гідроксильних йонів:

$$pOH = 14 - pH = 14 - 2,85 = 11,15.$$

Визначаємо концентрацію гідроксид-іонів в розчині за іонним добутком води:

$$[OH^-] = \frac{10^{-14}}{[H^+]} = \frac{10^{-14}}{1,4 \cdot 10^{-3}} = 0,71 \cdot 10^{-11} = 7,1 \cdot 10^{-12} \text{ моль/дм}^3.$$

Відповідь: $pH = 2,85$; $pOH = 11,15$; $[OH^-] = 7,1 \cdot 10^{-12}$ моль/дм³.

Таблиця 1.4 – Перерахунок pH в $[H^+]$ та навпаки ($pH = -\lg[H^+]$)

pH	H^+	pH	H^+	pH	H^+
Q 0,00	$1,000 \times 10^{-Q}$	Q 0,34	$0,457 \times 10^{-Q}$	Q 0,67	$0,214 \times 10^{-Q}$
0,01	0,977	0,35	0,447	0,68	0,209
0,02	0,955	0,36	0,437	0,69	0,204
0,03	0,933	0,37	0,427	0,70	0,200
0,04	0,912	0,38	0,417	0,71	0,195
0,05	0,891	0,39	0,407	0,72	0,191
0,06	0,871	0,40	0,398	0,73	0,186
0,07	0,851	0,41	0,389	0,74	0,182
0,08	0,832	0,42	0,380	0,75	0,178
0,09	0,813	0,43	0,372	0,76	0,174
0,10	0,794	0,44	0,363	0,77	0,170
0,11	0,776	0,45	0,355	0,78	0,166
0,12	0,759	0,46	0,347	0,79	0,162
0,13	0,741	0,47	0,339	0,80	0,158
0,14	0,725	0,48	0,331	0,81	0,155
0,15	0,709	0,49	0,324	0,82	0,151
0,16	0,692	0,50	0,316	0,83	0,148
0,17	0,676	0,51	0,309	0,84	0,144
0,18	0,661	0,52	0,302	0,85	0,141
0,19	0,646	0,53	0,295	0,86	0,138
0,20	0,631	0,54	0,288	0,87	0,135
0,21	0,617	0,55	0,282	0,88	0,132
0,22	0,603	0,56	0,275	0,89	0,129
0,23	0,589	0,57	0,269	0,90	0,126
0,24	0,575	0,58	0,263	0,91	0,123
0,25	0,562	0,59	0,257	0,92	0,120
0,26	0,549	0,60	0,251	0,93	0,117
0,27	0,537	0,61	0,245	0,94	0,115
0,28	0,525	0,62	0,240	0,95	0,112
0,29	0,513	0,63	0,234	0,96	0,110
0,30	0,501	0,64	0,229	0,97	0,107
0,31	0,490	0,65	0,224	0,98	0,105
0,32	0,479	0,66	0,219	0,99	0,102
0,33	0,468				

Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №1

1. Надайте визначення йонного добутку води.
2. Що називають водневим показником?
3. У яких межах водневий показник змінюється у природних водах?
4. Як зміна вмісту CO_2 у воді впливає на водневий показник?
5. Як похідні карбонатної системи впливають на водневий показник?
6. Які фактори впливають на водневий показник у природних водах?
7. Опишіть принцип дії pH-метру.
8. На чому заснований потенціометричний метод визначення pH?
9. Який ще існує метод визначення pH природної води?
10. Знайдіть молярну концентрацію йонів H^+ у водних розчинах, якщо концентрація гідроксид-іонів OH^- (моль/дм³) встановлює:
а) 10^{-4} ; б) $3,2 \cdot 10^{-6}$; в) $7,4 \cdot 10^{-11}$.
11. Знайдіть молярну концентрацію йонів OH^- у водних розчинах, де концентрація йонів H^+ (моль/дм³) дорівнює:
а) 10^{-3} ; б) $6,5 \cdot 10^{-8}$; в) $1,4 \cdot 10^{-12}$.
12. Розрахуйте pH розчинів, де концентрація йонів H^+ (моль/дм³) дорівнює: а) $2 \cdot 10^{-7}$; б) $8,1 \cdot 10^{-3}$; в) $2,7 \cdot 10^{-10}$.
13. Розрахуйте pH розчинів, де концентрація йонів OH^- (моль/дм³) дорівнює: а) $4,6 \cdot 10^{-4}$; б) $5 \cdot 10^{-6}$; в) $9,3 \cdot 10^{-9}$.
14. Розрахуйте pH 0,01N розчину оцтової кислоти, у якому ступінь дисоціації кислоти дорівнює 0,042.
15. Визначте pH розчину, у 1 дм³ якого вміщується 0,1 г NaOH. Дисоціацію лугу враховувати повною.
16. Визначте концентрації $[\text{H}^+]$ та $[\text{OH}^-]$ у розчині, pH якого дорівнює 6,2.
17. Розрахуйте pH розчинів слабких електролітів:
а) 0,02M NH_4OH ; б) 0,1M HCN ; в) 0,05N HCOOH ; г) 0,01M CH_3COOH .
18. Чому дорівнює концентрація розчину оцтової кислоти, pH якої дорівнює 5,2?
19. Ступінь дисоціації слабкої одноосновної кислоти у 0,02N розчині дорівнює 0,03. Розрахуйте значення $[\text{H}^+]$, $[\text{OH}^-]$ та pH для цього розчину.
20. Визначте pH розчину, у 0,2 дм³ якого вміщується $7 \cdot 10^{-4}$ г NH_4OH . Константа дисоціації NH_4OH дорівнює $1,8 \cdot 10^{-5}$.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №2

Тема: «Головні аніони, які містяться у природних водах»

Теоретична частина

Головні йони, які містяться у природних водах: Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} . Вміст хлоридних, сульфатних і гідрокарбонатних солей натрію, калію, кальцію та магнію становить у прісних водах 90 – 95% а у високо мінералізованих водах – понад 99% всіх солей. Головні йони зумовлюють хімічний тип вод, їх називають *макрокомпонентами*. Мало мінералізовані природні води переважно вміщують йони HCO_3^- та Ca^{2+} , високо мінералізовані – Cl^- та Na^+ , а йони Mg^{2+} та SO_4^{2-} мають проміжне значення. Змінення складу води відповідно до величини загальної мінералізації пояснюється неоднаковою розчинністю хлористих, сульфатних і карбонатних солей лужних та лужноземельних металів, як то видно з таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Розчинність деяких солей, % (масова частка)

Йон	Cl^-	SO_4^{2-}	HCO_3^-
Na^+	26,40	16,0	8,76
K^+	25,58	9,91	24,9
Mg^{2+}	35,3	30,0	-
Ca^{2+}	42,7	0,204	-

Мала розчинність карбонатних солей кальцію обмежує концентрацію гідрокарбонатних та карбонатних йонів до 1000 мг/дм³ (крім вод з високим вмістом CO_2). Порівняно невелика розчинність сульфату кальцію також обмежує вміст сульфатів. Найбільші концентрації характерні лише для хлоридних йонів, що пов’язано з високою розчинністю солей хлористоводневої кислоти. Проте й при малих концентраціях кальцію сульфатні й карбонатні йони можуть міститися у природних водах у досить великих концентраціях.

Завдяки відмінностям у розчинності добре розчинені солі легко вимиваються з ґрунтів і порід у місцевостях з підвищеною вологістю, тому їх так мало у водах.

Проміжне значення між макро- та мікрокомпонентами займають йони H^+ , NH_4^+ , NO_3^- , HS^- , Br^- , які у деяких типах вод містяться у великих концентраціях.

Масова концентрація головних йонів у прісних водах виражаються першими одиницями міліграмів у 1 дм³, в розсолах же може досягати кількох сотень проміле (%).

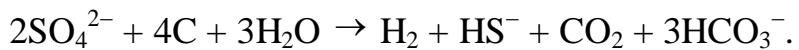
Таким чином, головні аніони, які містяться у природній воді, це: Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- .

Внаслідок великої розчинності хлоридів, йони Cl^- присутні практично у всіх природних водах. Хлоридні йони не утворюють важкорозчинних мінералів і не накопичуються біогенним шляхом, бо вони мають високу міграційну здатність. Розчинність хлоридних солей натрію, калію, магнію та кальцію дуже висока (див. табл. 2.1), тому йони Cl^- без перешкод мігрують з водами. Вони містяться у всіх природних водах – від слідів до десятків та сотень грамів на 1 дм³ у розсолах (до 60 г/дм³ у водах Тилігульського лиману). Домінуючого значення вони набувають переважно у високо мінералізованих водах і розсолах. Основними джерелами надходження йонів Cl^- у природні води є: хлористі мінерали з гірських порід, ґрунтів (особливо солончаків), скupчення солей; атмосферні опади; вулканічні викиди; стічні води промислових підприємств і господарсько-побутові відходи. Хлориди зумовлюють солоність морської і океанічної води, солоних озер, мінеральних вод і вод підземних джерел. У водах рік, прісних озер та водоймах хлориди за концентрацією займають третє місце після гідрокарбонат- і сульфат-іонів. Вміст Cl^- в питній воді не має перевищувати 350 мг/дм³ (ГДК). Деякі мінеральні води збагачені хлоридами, наприклад, їх вміст у цілющій Миргородській досягає 1 – 2,5 г/дм³. Солоність ґрутових вод є важливою екологічною характеристикою, оскільки різні види гідробіонтів пристосовані до життя у воді з певною солоністю. Йони Cl^- не засвоюються рослинами та бактеріями і виділяються у вільному стані організмами тварин. У природних водах йони Cl^- найчастіше врівноважуються катіонами Na^+ (NaCl), рідше – Mg^{2+} (MgCl_2) і Ca^{2+} (CaCl_2), у виняткових випадках K^+ (KCl).

Сульфатні іони SO_4^{2-} мають добру рухливість, поширену у поверхневих природних водах. Вони поступаються йонам Cl^- у високо мінералізованих водах, але переважають у більшості мало- та помірно мінералізованих водах. Вміст сульфатних йонів на відміну від хлоридних, лімітується наявністю йонів кальцію Ca^{2+} , які утворюють малорозчинний CaSO_4 (ДР = $6,1 \cdot 10^{-5}$). У присутності інших солей розчинність CaSO_4 значно збільшується. Наприклад, у морській воді вміст йонів SO_4^{2-} збільшується до 2,7 г/кг при вмісті йонів Ca^{2+} близько 0,208 г/кг. При малому вмісті кальцію концентрація сульфат-іонів може досягати великих значень. Наприклад, в сильномінералізованих водах спостерігається концентрація SO_4^{2-} до десятків грамів на 1 дм³ води. У питній воді їх вміст не має перевищувати 500 мг/дм³ (ГДК).

Сульфатні йони біологічно нестійкі та за відсутністю кисню (анаеробні умови) можуть відновлюватись до сірководню (H_2S). Процес такого роду називають сульфатредукцією. Він може відбуватись,

наприклад, у глибинах деяких морів та водах нафтоносних родовищ під дією бактерій (*Mikrospira*) у присутності органічної речовини за приближеною схемою:



Присутність таких бактерій виявлено у водах нафтоносних родовищ на глибинах до 2000 м. Надалі сірководень при контакті з повітрям знову окислюється до сірки: $2\text{H}_2\text{S} + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{S}$,



Оскільки сірка є життєво важливим елементом у складі білків, амінокислот і багатьох інших сполук, вона активно захоплюється живою речовиною. Рослини засвоюють сірку у формі SO_4^{2-} . З цим пов’язане біогенне накопичення сірки у гумусовому горизонті ґрунту. Отже ряд процесів затримує накопичення сірки в природних водах у міру зростання мінералізації.

Поверхневі і підземні води неглибоких горизонтів майже завжди містять сульфати. На великих глибинах, де відсутній кисень, часто залягають безсульфатні води.

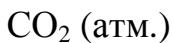
Надходження сульфатів у воду пов’язане переважно з осадочними породами. Певне значення у збагаченні вод йонами SO_4^{2-} мають процеси окислення сульфідів, поширені у земній корі. Значна кількість сульфідів виділяється при вулканічній діяльності та окислюється до SO_4^{2-} . Низькі значення концентрації сульфат-іонів зумовлюються їх внесенням дощовими водами. У пустелях поверхневі і ґрутові води збагачуються сульфатами при вилуговуванні солончаків, які містять, крім галіту, гіпс ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) та мірабіліт ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$). Деяка кількість сульфатів антропогенного походження потрапляє у поверхневі води при розкладанні промислових та побутових стічних вод, а також з атмосферними опадами при спалюванні палива.

Гідрокарбонатні HCO_3^- і карбонатні йони CO_3^{2-} – найважливіша частина хімічного складу природних вод, оскільки основний внесок йонів маломінералізованих вод належить саме їм. Обидва йони в розчині перебувають в стані динамічної рівноваги за участю карбонатної кислоти.

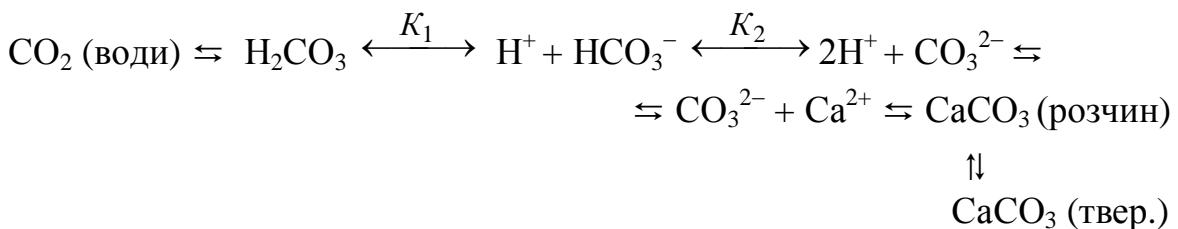
В гідрохімії говорять про карбонатну систему хімічної рівноваги, яка уявляє собою систему рівноваг з загальним вмістом її компонентів, позначеного $\sum \text{CO}_2$:

$$\sum \text{CO}_2 = [\text{CO}_2] + [\text{HCO}_3^-] + [\text{H}_2\text{CO}_3] + [\text{CO}_3^{2-}]$$

Карбонатна система природних вод є найскладнішою рівновагою, яка містить низку таких рівноваг, як абсорбційно-гідраційну рівновагу розчину з газовою фазою, багатоступеневу дисоціацію в розчині і гетерогенну рівновагу розчину з твердою фазою, що відповідає схемі:

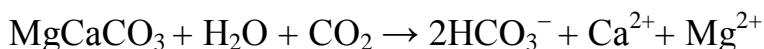


↓

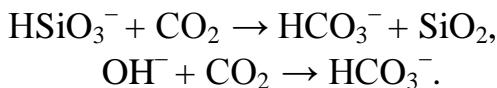


Величина pH природної води залежить від наявності в ній форм карбонатної системи, як то видно із даних таблиці 1.1. Йони HCO_3^- практично відсутні у воді при кислій реакції ($\text{pH} < 4,0$), та при $\text{pH} = 6,5 \div 8,5$ вони є основною формою карбонової кислоти. При $\text{pH} = 8,3$ у розвинені знаходяться майже тільки йони HCO_3^- . Якщо реакція розвинені слабо-лужна, то з'являються йони CO_3^{2-} , вміст яких збільшується при підвищенні pH; та при $\text{pH} > 10$ ці йони є головною формою сполук карбонової кислоти.

Основні джерела надходження гідрокарбонатних іонів у природну воду – це вапняки CaCO_3 , доломіти $\text{MgCa}(\text{CO}_3)_2$, мергелі (глиністі осадочні породи з 50-80 % вмістом CaCO_3 і MgCO_3), які в процесі ерозії розчинюються під впливом води і CO_2 :



Невелика частка гідрокарбонатів присутня у природних водах як результат глибокої метаморфізації продуктів хімічного вивітрювання вивержених порід:



Важливим джерелом надходження карбонатної кислоти та її похідних є магматичні процеси, дихання рослин і тварин, розкладання органічних решток. Атмосферні, мікробіохімічні процеси та парниковий ефект також заносять свій внесок у появу в природній воді CO_2 , що зумовлює високий вміст HCO_3^- .

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

ДОСЛІД 1. ВИЗНАЧЕННЯ ЛУЖНОСТІ ПРИРОДНОЇ ВОДИ

Мета досліду: визначити лужність даної проби природної води та дати їй якісну характеристику на основі отриманого результату.

Лужністю називають вміст у воді сполук, які можуть вступати у реакцію з сильними кислотами, тобто з іонами водню (H^+). Витрата кислоти визначає загальну лужність води (m). У звичайних природних

водах лужність, як правило, залежить тільки від вмісту гідрокарбонатів лужноземельних металів. Гідрокарбонатні та карбонатні йони – найважливіша частина хімічного складу природних вод, оскільки основний внесок йонного складу в карбонатну твердість вод належить переважно гідрокарбонатам кальцію та магнію. Загальна лужність природної води практично тотожна карбонатній твердості та відповідає вмісту гідрокарбонатів. У цьому випадку значення pH води не перевищує 8,3.

Наявність розчинених карбонатів (CO_3^{2-}) та гідроксидів (OH^-) збільшує значення pH $> 8,3$. Та частина загальної лужності, що відповідає певній кількості кислоти, необхідної для зниження pH до 8,3, називають *вільною лужністю води* (p). Враховуючи, що загальна та вільна лужність знаходяться у стехіометричній залежності від вмісту йонів HCO_3^- , CO_3^{2-} та OH^- , по величині p та t можна визначити присутність та кількість цих іонів у пробі води.

Принцип методу. Лужність визначають титруванням проби води розчином сильної кислоти. Кількість розчину кислоти, витраченого до досягнення pH 8,3, еквівалентна вільної лужності. Кількість розчину кислоти, витраченого до досягнення pH 4,5, еквівалентна загальної лужності. Якщо pH води менша 4,5, то її лужність дорівнює нулю. Титрування до pH 4,5 менш точне, тому що на результат впливає наявність вільної CO_2 .

Кінцеву точку можна знаходити візуально або електрометрично. Електрометричне титрування рекомендують при аналізі більш забруднених вод. Лужність, особливо вільну, слід визначати негайно після взяття проби. Якщо це неможливо, то не пізніше, ніж через 24 години. Результат визначають у ммоль/дм³ (мг·екв/дм³).

Впливи, що заважають визначенням лужності: При візуальному титруванні визначенням заважає інтенсивне забарвлення проби води. Його усувають додаванням активованого вугілля або фільтруванням проби перед аналізом.

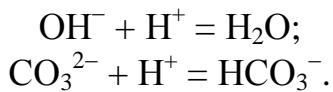
Заважає визначенням також вільний хлор (Cl_2) – він обезбарвлює індикатор. Хлор видаляють додаванням еквівалентної кількості 0,1N розчину тіосульфату натрію ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

Правильному визначенням переходу забарвлення при титруванні заважають великі концентрації вільної CO_2 , а також і CO_2 , що виділяється при високому вмісті карбонатів. Тому при більш точному визначення лужності попередньо видаляють CO_2 продуванням повітря крізь воду.

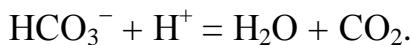
Силікатні (SiO_3^{2-}), боратні (BO_3^{3-}), фосфатні (PO_4^{3-}), сульфідні (S^{2-}) йони та йони гумінових та інших слабких кислот титуються разом з карбонатними (CO_3^{2-}) та гідроксидними (OH^-) йонами. Але звичайно ці йони присутні у природних водах у дуже малих концентраціях.

Хід визначення.

Вільна лужність (р). У конічну колбу на 200-250 см³ відміряють 100 см³ проби досліджуваної води. Додають 0,1 см³ (2 краплі) розчину індикатору фенолфталейну та титрують (після появи рожевого забарвлення) на білому фоні 0,1N розчином соляної кислоти HCl до повного обезбарвлення (до pH 8,3). При цьому протікають реакції:



Загальна лужність (m). До тієї ж колби з пробою води (після визначення вільної лужності за фенолфталейном) додають 0,1 см³ (2 краплі) розчину індикатору метилового оранжевого та ведуть титрування соляною кислотою до початку переходу забарвлення від жовтого до оранжевого. Через декілька хвилин, якщо забарвлення зникає, пробу дотитровують (pH 4,5).



При не дуже суворих вимогах до точності визначення титрування за метиловим-оранжевим проводять без продування проби води повітрям, звільненим CO₂. Титрують із бюретки з ціною поділу 0,1 см³; точність відліку – до 0,05 см³.

Якщо лужність за фенолфталейном дорівнює нулю, то загальна лужність зумовлена наявністю тільки гідрокарбонат-іонів. У переважній більшості природних вод йони HCO₃⁻ пов'язані тільки з йонами кальцію та магнію, тому, якщо лужність за фенолфталейном дорівнює нулю, можна вважати загальну лужність води рівною її карбонатної твердості.

Розрахунок. Вільну лужність (p) та загальну лужність (m) у ммоль/дм³ розраховують за формулами:

$$p = \frac{a \times k \times 0,1 \times 1000}{V}; \quad m = \frac{b \times k \times 0,1 \times 1000}{V};$$

де: a – об'єм 0,1N розчину соляної кислоти, витраченої на титрування за фенолфталейном (до pH 8,3), см³;

b – загальний об'єм 0,1N розчину соляної кислоти, витраченої на титрування за фенолфталейном та метиловим оранжевим (до pH 4,5), см³;

k – поправочний коефіцієнт для приведення концентрації розчину HCl до точного 0,1N;

V – об'єм проби води, що взяли для титрування, см³.

Розчини та реагенти, що застосовують:

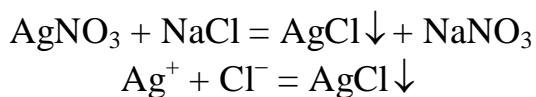
- 0,1N розчин соляної кислоти HCl. Розбавити 8,5 см³ концентрованої HCl ч.д.а. дистильованою водою до 1 дм³. Титр, або поправковий коефіцієнт (k) визначають за 0,1N розчином натрію карбонату (Na₂CO₃).

- Фенолфталеїн, 0,5% розчин. Розчиняють 0,5 г фенолфталеїну у 50 см³ 96% етилового спирту та додають 50 см³ дистильованої води.
 - Метиловий оранжевий, 0,05% розчин. Розчиняють 0,05 г натрієвої солі метилового оранжевого у 100 см³ гарячої дистильованої води та після охолодження фільтрують.
- Прилади та посуд:** пристрій для продування повітря, вільного від CO₂; колби 200-250 см³; бюретка 25 см³; крапельниці для індикаторів.

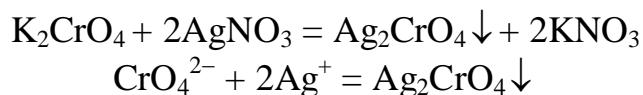
ДОСЛІД 2. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ХЛОРИД-ІОНІВ (Cl⁻) У ПРИРОДНІЙ ВОДІ АРГЕНТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ ПО МОРУ

Мета досліду: визначити вміст хлорид-іонів (Cl⁻) у даній пробі природної води аргентометричним методом та дати їй якісну характеристику на основі отриманого результату.

Принцип методу. Визначення хлорид-іонів по аргентометричному методу засновується на малій розчинності хлориду аргентуму (AgCl), що кількісно випадає з розчину при додаванні азотокислого аргентуму до води, яка вміщує іони Cl⁻.



Після повного видалення галогенів надлишок іонів аргентуму вступає у реакцію з хромат-іонами, які додають у якості індикатора, та викликають зміну забарвлення внаслідок утворення червоно-бурового осаду Ag₂CrO₄.



За кількістю витраченого на титрування AgNO₃ вирішують про кількість іонів Cl⁻ у даному об'ємі води. У результат визначення вносять поправку на виклик забарвлення, тому що хромовокислий аргентум (Ag₂CrO₄) має деяку невелику розчинність.

Аргентометричний метод по Мору можливо застосовувати при будь-якому вмісті іонів Cl⁻, але якщо їх концентрація менше 10 мг/дм³, то кінець реакції визначається менш виразно і похибка збільшується. Точність визначення методу - ± 1-3 мг/дм³.

Цим методом визначають також іони інших галогенів (Br⁻, I⁻), що можуть знаходитись у даній пробі води. Але їхній вміст у більшості природних вод настільки незначний, що їм знехтують, та результат визначення виражають через Cl⁻.

Визначеню Cl⁻ цим методом можуть заважати: кисла реакція води (pH = 6,5), присутність H₂S та HS⁻, а також значне забарвлення води. При

кислій реакції води у пробу додають 2-3 краплі фенолфталейну, вона усереднюється додаванням (по краплях) 0,05N розчину $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ до появи слабо-рожевого забарвлення (від однієї краплі), яке знищується додаванням однієї краплі 0,05N HNO_3 .

У природних водах спостерігають різний вміст йонів Cl^- , тому приступаючи до їхнього визначення, слід установити певний об'єм проби води та нормальність розчину AgNO_3 . При вмісті йонів Cl^- до 100 мг/дм³ слід брати на визначення 100 см³ води та 0,02N розчин AgNO_3 . Якщо вміст йонів Cl^- від 100 до 250 мг/дм³, слід брати 100 см³ води та 0,05N розчин AgNO_3 . При вмісті йонів Cl^- від 250 до 800 мг/дм³ беруть 50 см³ проби та 0,1N розчин AgNO_3 .

При визначенні хлоридів аргентометричним методом дуже важно закінчувати титрування при одному і тому ж перехідному забарвленні, яке здобуває рідина в кінці титрування. Для кращого уловлювання тону забарвлення в кінцевій крапці титрування поряд з пробою необхідно ставити, так званий «свідок». Розрізняють 2 види «свідків»:

- стандарт, що використовують при дуже малому вмісті йонів Cl^- (менше 15-10 мг/дм³). Для приготування в іншу колбу приливають 100 см³ дистильованої води, вільної від найменших слідів Cl^- (проба з 10% розчином AgNO_3 у присутності HNO_3 , яку оставили стояти декілька годин), 1 см³ розчину K_2CrO_4 та точно відмірюють до неї невелику кількість розчину AgNO_3 до перетворення забарвлення від світло-жовтого до темно-жовтого (для 0,02N розчину AgNO_3 близько 0,18 см³). Забарвлення, що з'явилося, буде стандартним для кінцевої крапки титрування. Такий стандарт недовговічний, тому його виготовляють безпосередньо перед роботою.
- «свідок», являє собою пробу, яку дещо недостатньо титрували, приблизно з такою ж кількістю осаду, індикатором, та в такій самій колбі. Цей «свідок» ставлять поряд з досліджуваною пробою та титують її доти, поки колір не почне злегка відрізнятися від «свідка». «Свідок» застосовують при титруванні проб з вмістом хлорид-іонів більше 20 мг/дм³.

Визначення Cl^- добре проводити при вечірньому освітленні, та зовсім неприпустимо проводити титрування при прямому сонячному світлі.

Хід визначення. 100 см³ досліджуваної води відбирають піпеткою в конічну колбу на 250 см³, додають 1 см³ (20 крапель) 10%-го розчину K_2CrO_4 та титують 0,05N розчином AgNO_3 до появи цегельно-червоного забарвлення, безперервно струшуючи колбу. При малому вмісті хлорид-іонів вже від перших крапель AgNO_3 появляється цегельно-червоне забарвлення Ag_2CrO_4 , яке спочатку може зникати. Тому титувати треба дуже обережно – додавати розчин AgNO_3 по одній краплі. Якщо ж вміст хлорид-іонів у пробі води значний, то при титруванні спочатку випадає лише білий осад AgCl , але при наближенні до кінця титрування появляється цегельно-червоне забарвлення, швидкість зникнення якого поступово сповільнюється. Кінець титрування визначається цегельно-

червоним забарвленням, що вже не зникає при струшуванні колби від однієї доданої краплі. Забарвлення порівнюють зі «свідком».

Розрахунок. У результат титрування необхідно внести поправки на виклик забарвлення. При малому вмісті хлорид-іонів (титрування за стандартом) для ведення поправки достатньо відняти кількість см³ розчину AgNO₃, витраченого при приготуванні стандарту.

При більшому вмісті хлорид-іонів (титрування зі «свідком») поправка на виклик забарвлення визначається за допомогою досліду. Для цього у колбу відміряють 100 см³ дистильованої води (без хлорид-іонів, краще двічі перегнаної), додають 1 см³ розчину K₂CrO₄ та 200 мг дрібо стертоого сухого крохмалю. Кількість см³ розчину AgNO₃, що витратили при титруванні приготовленої рідини до певного кольору, визначає поправку Δ₁₀₀ для об'єму проби у 100 см³.

Поправка на виклик забарвлення (см³) віднімається від кількості см³ розчину AgNO₃, що пішло на титрування досліджуваної проби води. Для 0,1N розчину AgNO₃ поправку на виклик забарвлення можна не враховувати.

Після введення поправки вміст хлорид-іонів провадиться за формулою:

$$[\text{Cl}^-] = 35,445 \times N \times n \times \frac{1000}{V}, \text{ мг/дм}^3,$$

де: 35,445 – кількість мг Cl⁻, еквівалентне 1 см³ 1N розчину AgNO₃;

N – нормальність розчину AgNO₃;

n – кількість см³ розчину AgNO₃, що пішло на титрування проби (після віднімання поправки на виклик забарвлення);

V – об'єм досліджуваної проби води (см³).

Розчини та реагенти, що застосовують:

- 0,05N розчин AgNO₃ готують таким чином: 8,49 г AgNO₃ розчиняють дистильованою водою до 1 дм³ в міrnій колбі. Розчин AgNO₃ треба зберігати в склянці з темного скла без доступу сонячного світла. Бюретку для титрування слід закривати темним чохлом, який можна знімати лише під час титрування, для запобігання випадання металевого аргентуму (чорний наліт) з розчину AgNO₃.
- 0,05N розчин NaCl – 2,9221г NaCl (х.ч.), просушеного в тиглі при 500-600 °C до повного видалення вологи, розчиняють дистильованою водою до 1 дм³ в міrnій колбі. Якщо беруть 0,05N розчин KCl (х.ч.), то готують його таким же чином, але маса наважки дорівнює 3,7277г.
- 10% розчин K₂CrO₄.

Визначення нормальності розчину AgNO₃.

Для визначення нормальності 0,05N AgNO₃ застосовують точний 0,05N розчин NaCl. У конічну колбу піпеткою відміряють 15 см³ точного розчину NaCl та додають мензуркою дистильовану воду до загального об'єму 50 см³. Додають 0,5 см³ розчину K₂CrO₄ та титують розчином AgNO₃ до переходу забарвлення. Визначення повторюють, середню величину беруть за результат. Нормальність (N₁) розчину AgNO₃

розраховують по формулі: $N_1 = N_2 \frac{a}{n}$;

де: а – кількість см³ розчину NaCl;

N_2 – нормальність розчину NaCl;

н – кількість см³ розчину AgNO₃.

Посуд: конічні колби на 250 см³; бюретка на 25 см³ з притертим краном; піпетка на 15 см³; крапельниця для розчину K₂CrO₄; мензурка; скляна паличка.

ДОСЛІД 3. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ СУЛЬФАТ-ІОНІВ (SO_4^{2-}) У ПРИРОДНІЙ ВОДІ

Мета досліду: визначити вміст сульфат-іонів (SO_4^{2-}) у даній пробі природної води методом титрування нітратом плюмбуму з дитизоном у якості індикатора; надати природній воді якісну характеристику на основі отриманого результату.

Принцип методу. Для визначення сульфатів у природних водах застосовують декілька аналітичних методів: комплексонометричний об'ємний, ваговий та метод титрування нітратом плюмбуму з дитизоном у якості індикатора. Результати визначення приводяться у ммоль або у міліграмах сульфатів на 1 дм³ води: 1 ммоль SO_4^{2-} = 48,03 мг SO_4^{2-} ; 1 мг SO_4^{2-} = 0,0208 ммоль SO_4^{2-} .

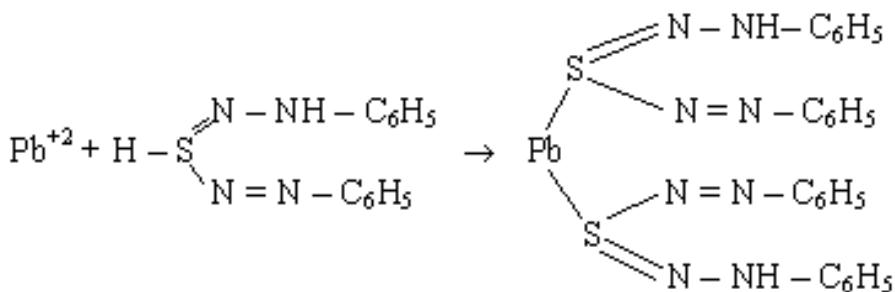
Якісне визначення сульфат-іонів проводять таким чином: приблизно 10 см³ проби досліджуваної води підкислюють у пробірці декількими краплями соляної кислоти (HCl) та додають близько 0,5 см³ 10% розчину хлориду барію (BaCl₂). Якщо вміст сульфатів від 5 до 50 мг/дм³, то виникає опалесценція, або слабке помутніння. При більш високому вмісті сульфат-іонів у досліджуваній пробі випадає осад.

Метод титрування нітратом плюмбуму з дитизоном у якості індикатора заснований на реакції йонів плюмбуму з сульфатними йонами у водноспиртовій суміші, в результаті якої утворюється важкорозчинний сульфат плюмбуму (PbSO₄). У присутності спирту, що доданий у пробу води, розчинність PbSO₄ значно знижується. В результаті цього чутливість методу підвищується.

При досягненні крапки еквівалентності надлишок йонів плюмбуму реагує з індикатором дитизоном, у результаті чого утворюється дитизонат плюмбуму.

Метод дозволяє визначати 1 мг сульфатів у пробі з похибкою $\pm 1\text{-}2\%$.

Визначенню заважають катіони, що можуть реагувати з дитизоном. Для їхнього усунення пробу води попередньо пропускають крізь колонку з катіонітом КУ-2 у H⁺-формі (про підготовку смоли див. нижче).



Хід визначення. 200-300 см³ (для визначення паралельних проб) води пропускають крізь колонку зі смолою (швидкість пропускання 6-8 крапель за хвилину). Перші 30 см³ відкидають, а ту частину, що осталась збирають у колбу.

Для титрування беруть 10-20 см³ (щоб вміст SO₄²⁻ був не менший, ніж 1 мг), додають потрійну кількість спирту та дитизону у такої кількості, щоб розчин набув зеленувато-синього кольору. Титують нітратом плюмбуму дуже обережно з бюретки, постійно перемішуючи до переходу зеленувато-синього забарвлення у червоно-фіолетове. При появі бузкового відтінку нітрат плюмбуму додають по одній краплі, інтенсивно струшуючи доти, поки синє забарвлення не перестане повернатися та після чергової краплі колір помітно не зміниться.

Якщо концентрація сульфат-іонів у пробі мала (10-20 мг/дм³), то в колбу для титрування відбирають 50-100 см³ проби досліджуваної води, випарюють до 10 см³ без кип'ятіння, охолоджують, доливають 30 см³ спирту, а далі поступають, як описано вище.

Розрахунок. Концентрацію сульфатів (в мг/дм³) визначають за формулою:

$$[\text{SO}_4^{2-}] = \frac{n \times N \times 1000 \times 48,03}{V},$$

де: n – кількість розчину нітрату плюмбуму, що пішла на титрування (см³);

N – нормальність розчину Pb(NO₃)₂;

V – об'єм проби води, яку взяли для визначення після пропускання її крізь катіоніт (см³).

Розчини та реагенти, що застосовують:

- 0,02N розчин нітрату плюмбууму Pb(NO₃)₂. 3,31 г Pb(NO₃)₂ (х.ч.) розчиняють у бідистильованій воді в мірній колбі на 1 дм³. Нормальність розчину визначають за стандартним розчином сульфату калію.
- Індикатор дитизон. 0,1 г дитизону розтирають у порцеляновій ступці з 5 г бензойної кислоти.
- 96% етиловий спирт.
- Розчин соляної кислоти HCl для катіоніту. Отримують розведенням концентрованої (12N) х.ч. HCl у співвідношеннях 1:3 та 1:12.
- 4% розчин їдкого натру NaOH. 40 г х.ч. NaOH розчиняють у воді та доводять об'єм розчину до 1 дм³ бідистильованою водою.

Підготовка катіоніту КУ-2 до роботи. Свіжу смолу заливають водою на ніч. На наступний день воду зливають та заливають катіоніт 4N розчином соляної кислоти, залишаючи на добу. Таку процедуру повторюють доти, поки розчин над смолою перестане зафарбовуватися у жовтий колір. Потім проводять тренування смоли, послідовно заливаючи її 100 см³ 1N розчину їдкого натру (NaOH), дистильованою водою, 100 см³ 1N розчину соляної кислоти та знову водою. Так повторюють 10-12 разів; після останнього промивання кислотою смолу відмивають водою до нейтральної реакції за індикаторним папірцем. При заповненні колонки необхідно слідкувати, щоб в ній не було пухирців повітря. При роботі з катіонітом його необхідно періодично регенерувати. Критерієм насичення катіоніту є появлена фіолетових або червоних тонів замість чистого зеленувато-синього кольору проби (після пропускання її крізь катіоніт і додавання до неї спирту та індикатору). Регенерування катіоніту проводять в колонці за допомогою пропускання скрізь неї 200-300 см³ 0,1N розчину соляної кислоти та дистильованої води до нейтральної реакції.

Посуд. Колонка зі смолою КУ-2; колби конічні на 250 см³; циліндри на 50 та 100 см³; піпетки на 10 та 50 см³; бюретка на 25 см³.

Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №2

1. Які йони, що містяться у природних водах, належать до головних (макрокомпоненти)?
2. Яке співвідношення між головними катіонами та аніонами спостерігають у прісній та морській воді?
3. Які форми вираження концентрацій розчинених у воді речовин застосовують у гідрохімічних розрахунках?
4. Які головні аніони містяться у природних водах? Яке їх співвідношення у прісних та солоних водах?
5. Які джерела надходження головних аніонів у природні води?
6. Розрахуйте, скільки води та хлориду натрію треба взяти, щоб отримати 500 см³ 20%-го розчину, густина якого дорівнює 1,133г/см³? Чому дорівнюють титр, моляльна, молярна та нормальна концентрації цього розчину?
7. Скільки грамів CaSO₄ вміщується у 10 см³ розчину, молярна концентрація якого дорівнює 0,2 моль/дм³? Розрахуйте титр та молярну концентрацію еквіваленту (нормальну) цього розчину.
8. Скільки см³ 30%-го розчину KOH треба взяти для приготування 3 дм³ 0,5M розчину? Розрахуйте титр та молярну концентрацію еквіваленту (нормальну) цього розчину. Густина 30%-го розчину KOH = 1,34г/см³.
9. На приготування 500 см³ розчину взяли 2,5г Na₂CO₃. Розрахуйте титр, молярну та нормальну концентрації цього розчину.
10. Розрахуйте, яка маса речовини CaCl₂ міститься в 250 см³ 0,2M розчину CaCl₂. Розрахуйте титр та нормальну концентрації цього розчину.

- 11.** Визначити молярну концентрацію (C_M), молярну концентрацію еквівалента (C_H), моляльну концентрацію (C_m) та титр (T) 25%-го розчину солі сульфат натрію Na_2SO_4 , густина якого $1,2 \text{ г}/\text{см}^3$.
- 12.** Яким чином мінералізація води впливає на форми знаходження головних іонів?
- 13.** Що називають карбонатною системою?
- 14.** Як впливають форми карбонатної системи на pH природної води?
- 15.** Як температура води впливає на значення констант дисоціації карбонової кислоти?
- 16.** Що називають загальною лужністю та вільною (карбонатною) лужністю природної води?
- 17.** З чим пов'язане походження аніонного складу природних вод?
- 18.** Який принцип методу визначення хлорид-іонів у природих водах?
- 19.** Який принцип методу кількісного аналізу вмісту сульфат-іонів у природних водах?
- 20.** У чому полягає якісний метод визначення сульфат-іонів у природних водах?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №3

Тема: «Головні катіони у природних водах. Визначення вмісту йонів кальцію (Ca^{2+}), магнію (Mg^{2+}), натрію та калію (Na^+ + K^+) у природній воді та різних видів твердості води»

Теоретична частина

Кальцій серед лужних та лужноземельних металів має найвищий кларк – 3,6. Кларк – це масовий відсоток вмісту елемента у породах. Кальцієвий вміст у вапняках, мергелях та деяких інших породах може перевищувати 10% (досягати 40%). У живій речовині вміст кальцію становить 0,5%. Цей елемент бере активну участь у біологічних процесах, після відмирання організмів кальцій швидко переходить у мінеральну форму та надходить у ґрунт. Тому ґрутові розчини є переважно кальцієвими, кальцій переважає і у ввібраному комплексі ґрунтів і порід.

Для слабомінералізованих вод характерним є домінуючий вміст кальцію серед катіонів. Гідрокарбонатні кальцієві води мають регіональне поширення у добре дренованих місцевостях. Якщо мінералізація зростає, то відносний вміст кальцію (Ca^{2+}) швидко зменшується, що пояснюється порівняно обмеженою розчинністю сірчанокислих і низькою розчинністю вуглекислих солей кальцію. В результаті, при випаровувальному концентруванні природних вод, яке трапляється в аридних умовах, безперервно виводяться з розчину величезні кількості Ca^{2+} у вигляді $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ і CaCO_3 . Завдяки цьому кількість Ca^{2+} у природних водах майже не перевищує 1 г/дм³. Лише в глибинних хлоридних кальцієвих розсолах вміст кальцію становить десятки г/дм³.

Джерелом надходження Ca^{2+} у природні води є вапняки, доломіти, гіпс, які розчиняються у воді:



Йони кальцію звільняються і надходять у води при вивітрюванні силікатів, які містять кальцій. Йони кальцію потрапляють у воду при фільтруванні її крізь ґрунт.

Магній за своїми хімічними властивостями близький до кальцію (кларк – 2,1), проте характер міграції магнію інший. Біологічна активність його менша, у ввібраному комплексі порід магній зв'язується слабше, ніж кальцій; цей елемент входить до складу вторинних силікатів.

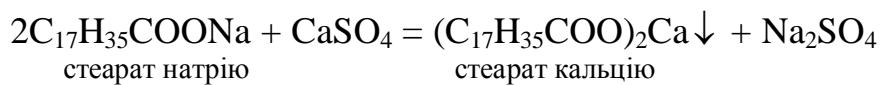
Магній є майже в усіх типах природних вод, проте нечасто домінує серед катіонів. Краща розчинність сульфату й гідрокарбонату магнію порівняно з сульфатом і гідрокарбонатом кальцію сприяє зростанню концентрації Mg^{2+} у природних водах. Концентрація солей магнію

зазвичай не перевищує концентрацію солей кальцію.

Надходження іонів Mg^{2+} пов'язано переважно з розчиненням доломітів, мергелів або продуктів вивітрювання порід.

Магній визначають у питних та поверхневих водах, а іноді й у таких стічних водах, де солі магнію представляють собою частину відходів виробництва. Для визначення вмісту магнію достатньо розрахувати його за результатами визначення загальної твердості води та вмісту кальцію.

Присутність у воді солей кальцію та магнію надають їй особливу властивість – **твердість**. Якщо природна вода містить у розчині велику кількість солей кальцію та магнію, то її називають *твердою водою*, у протилежність *м'якої води*, яка містить малу кількість солей кальцію та магнію, або зовсім не містить їх. Тверда вода непридатна для використання її у господарсько-побутової діяльності та багатьох потреб виробництва: у якості теплоносія, наприклад, для живлення парових котлів, тому що на їхніх стінках можуть утворитися щільні шари накипу, а це приводить до перегріву та швидкого руйнування котлів. В твердій воді інтенсивніше проходять процеси корозії. При використанні твердої води погано розварюються овочі та м'ясо, псується вигляд, смак та якість чаю, перевитрачається мило при пранні, до того ж тканини стають менш еластичними. Тверда вода не дає піни з милом, тому що розчинні солі натрію жирних кислот (пальмітинової та стеаринової) перетворюються у нерозчинні солі кальцію тих же кислот:



М'яка вода потрібна для цілого ряду виробництв – для виготовлення штучного та синтетичного волокна, пластмаси, деяких сортів паперу і т. д.

Розрізняють **карбонатну, некарбонатну та загальну твердість**.

Сумарний вміст солей кальцію та магнію у воді називається її **загальною твердістю**. Вона визначається молярною концентрацією еквівалента йонів Ca^{2+} та Mg^{2+} (ммоль/дм³):

$$T_{\text{заг.}} = n\left(\frac{1}{2}Ca^{2+}\right) + n\left(\frac{1}{2}Mg^{2+}\right),$$

де: n – кількість моль йонів Ca^{2+} та Mg^{2+} , що міститься у 1 дм³ води (ммоль);

або: $T_{\text{заг.}} = \frac{m(Ca^{2+})}{1/2M(Ca^{2+})} + \frac{m(Mg^{2+})}{1/2M(Mg^{2+})} = \frac{m(Ca^{2+})}{20} + \frac{m(Mg^{2+})}{12},$

де: $m(Ca^{2+})$, $m(Mg^{2+})$ – маса йонів, відповідно Ca^{2+} та Mg^{2+} , яка міститься у 1 дм³ води (мг);

Воду, твердість якої менша 4 ммол/дм³, називають м'якою, від 4 до 8 ммол/дм³ – середньою, понад 8 ммол/дм³ – твердою. У нашій країні припустима твердість води для господарсько-побутової діяльності ≤ 7ммоль/дм³.

Природна вода містить розчинний CO₂, тому можливе протікання реакції:

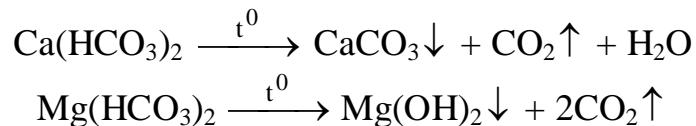


Концентрація йонів Ca²⁺ та Mg²⁺ у воді, яка еквівалентна вмісту йонів HCO₃⁻, визначає карбонатну (або тимчасову) твердість. А концентрація йонів Ca²⁺ та Mg²⁺ у воді, яка еквівалентна вмісту аніонів сильних кислот – сульфатів (SO₄²⁻) і хлоридів (Cl⁻), визначає некарбонатну (постійну) твердість. Сума карбонатної (Тк) та некарбонатної (Тн) твердості складає загальну твердість (Тз):

$$T_z = T_k + T_n.$$

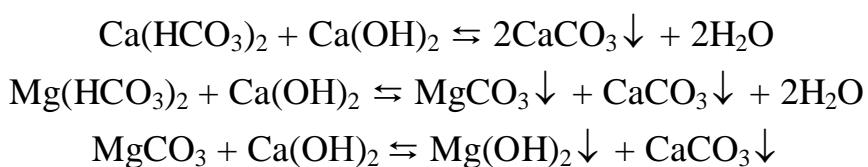
Використання природної води у техніці та господарсько-побутової діяльності вимагає її попередньої очистки, в тому разі й пом'якшення (зниження твердості до певної норми).

Карбонатна (тимчасова) твердість знижується в результаті кип'ятіння:



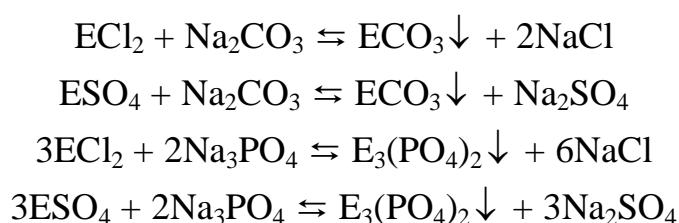
Таким способом можна знизити твердість води до 1 ммол/дм³.

Карбонатну твердість можна усунути додаванням до води вапна (гідроксиду кальцію):



Методом вапнування можна знизити твердість води до 0,35 ÷ 1ммоль/дм³.

Усунення некарбонатної твердості відбувається при додаванні соди та фосфатів за рахунок переходу сульфатів і хлоридів кальцію та магнію у нерозчинні карбонати або фосфати (E = Ca²⁺ та Mg²⁺):



Таким методом хімічної взаємодії солей твердості з содою та фосфатами натрію можна знизити твердість води до $0,035 \div 0,07$ ммол/дм³.

Ефективно очистити воду можна пропусканням її крізь колонку, яка заповнена йонообмінною полімерною смолою. Серед таких йонітів розрізняють катіоніти та аніоніти. Катіоніти R–H або R–Na містять катіони H⁺ або Na⁺, що здатні заміщуватися на катіони Ca²⁺ та Mg²⁺. Аніоніти R–OH вміщують гідроксогрупи (OH⁻), які здатні до обміну на аніони SO₄²⁻ або Cl⁻ (R – радикал, або залишок молекули, яка з'єднана з функціональною групою). При контакті твердої води з йонітами відбувається обмін іонів Ca²⁺ та Mg²⁺ на іони H⁺ або Na⁺, а аніони SO₄²⁻ та Cl⁻ обмінюються на групи OH⁻. Використовуючи йонообмінні полімерні смоли, можна одержати повне знесолення води. Для регенерації H-катіоніту його слід обробити хлоридною або сульфатною кислотою; внаслідок цього іони Ca²⁺ та Mg²⁺ переходят у розчин, а катіоніт знову насичується іонами H⁺. Для регенерації аніоніту слід його обробити розчином лугу; у цьому разі увібраний аніон буде витіснитися у розчин, а аніоніт насичується іонами OH⁻. Метод йонного обміну знижує твердість води до 0,01ммоль/дм³.

Йони натрію серед катіонів найпоширеніші серед відомих катіонів природних вод завдяки добрій розчинності, звичайній рухливості і активній міграційній здатності, за якою він поступається лише Cl⁻. Вони складають більше половини загального вмісту усіх інших катіонів у природній воді. Як і хлоридні іони вони переважають у сильно мінералізованих водах. У маломінералізованих водах вміст Na⁺ знаходиться у межах декількох мг/дм³, але з підвищенням мінералізації концентрація Na⁺ різко підвищується. Його головні властивості – здатність вступати в обмінні реакції з розчинними сполуками і комплексами порід та виводиться з розчину, що і пояснює відставання концентрації Na⁺ від Cl⁻ при зростанні мінералізації води. У морських водах іони натрію складають 80-89 % від суми усіх катіонів, однак зі зниженням мінералізації падає і його концентрація, так в водах річок і озер з низькою мінералізацією вміст іонів натрію переміщується на 3 місце.

Вміст йонів K⁺ зазвичай значно нижче, ніж іонів Na⁺. Найбільший відсоток вмісту іонів K⁺ може досягати десятків та спостерігається у маломінералізованих водах. При підвищенні мінералізації концентрація K⁺ відносно Na⁺ падає до декількох відсотків.

Більший вміст іонів Na⁺ у порівнянні з вмістом іонів K⁺ пояснюється з одного боку кращим поглинанням K⁺ поглинаючим комплексом порід та ґрунтів, а з іншого боку – тим, що K⁺, необхідний для живлення рослин, витягається ними у значно більших кількостях, ніж Na⁺. У глині вміст K⁺ вищий, ніж Na⁺, завдяки більшої його адсорбції. А у морській воді в результаті поглинання K⁺ породами, його вміст значно

менший. Таким чином, незважаючи на меншу розчинність солей натрію, ніж калію, йони Na^+ знаходяться у природних водах у значно більшій концентрації.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

ДОСЛІД 1. ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ЙОНІВ КАЛЬЦІЮ (Ca^{2+}) У ПРИРОДНІЙ ВОДІ ТРИЛОНОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

Мета досліду: визначити вміст йонів кальцію у пробі досліджуваної води та зробити її якісну оцінку.

Принцип методу. Для визначення вмісту йонів кальцію у природних водах застосовують **трилонометричний метод**, що дозволяє визначати від 0,1 мг та вище Ca^{2+} у пробі води. Трилонометричне визначення засновано на утворенні стійкого у сильно лужному середовищі ($\text{pH} = 12\text{-}13$) комплексу йонів кальцію з трилоном Б. Для йонів Ca^{2+} специфічним індикатором є мурексид. Розчин комплексу мурексиду (пурпурату амонію) з кальцієм зафарбований у червоний колір, а вільна форма індикатора – у фіолетовий. Результат визначення виражають у ммоль або у мг кальцію у 1 дм^3 :

$$1 \text{ ммоль } \text{Ca}^{2+} = 20,04 \text{ мг } \text{Ca}^{2+}; 1 \text{ мг } \text{Ca}^{2+} = 0,0499 \text{ ммоль } \text{Ca}^{2+}.$$

Чутливість методу 0,4-0,6 мгСа/дм³, похибка при середніх концентраціях $\pm 1\%$.

Впливи, що можуть заважати визначенню. Кількісному визначення йонів Ca^{2+} у пробі природної води може заважати наявність йонів Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , незважаючи на те, що лише йони Ca^{2+} дають зафарбовану сполуку з мурексидом, а трилон Б вступає у взаємодію з Mg^{2+} , K^+ , Na^+ тільки після повного зв'язування Ca^{2+} . Якщо у 100 см^3 води вміщується більше, ніж 3 мг йонів, крапка переходу становиться менш виразною, тому що відбувається адсорбція частини мурексиду гідроксидом магнію, який утворюється у лужному середовищі. Йони K^+ та Na^+ впливають на чіткість переходу забарвлення тільки при дуже високих концентраціях, чого практично не буває при аналізі природних вод. Вплив йонів Mg^{2+} , K^+ , Na^+ усувається при розбавленні досліджуваної води дистильованою водою. Також заважають визначення Ca^{2+} присутні у природних водах навіть у дуже невеликих концентраціях йони Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Al^{3+} , Cu^{2+} . Одним із способів усунення цього впливу є добавлення 0,5 – 1 см^3 25%-го розчину триетаноламіну. На хід визначення можуть впливати аніони HCO_3^- та CO_3^{2-} , а також присутні у невеликих кількостях PO_4^{3-} та SiO_3^{2-} . Для усунення їхнього впливу слід приступати до титрування відразу же після добавлення NaOH .

Хід визначення. В конічну колбу відміряють піпеткою 50 см³ досліджуваної води та доводять об'єм проби бідистильованою водою до 100 см³. Додають 2 см³ 2N розчина NaOH та 10-15 мг сухої суміші індикатора. Потім титрують пробу 0,02N розчином трилону Б при безперервному перемішуванні. Перехід забарвлення від червоного до фіолетового сигналізує про кінець титрування.

Розрахунок. Вміст йонів Ca²⁺ у пробі досліджуваної води розраховують за формулою:

$$[\text{Ca}^{2+}] = 20,04 \times N \times n \times \frac{1000}{V} \quad (\text{мгCa}^{2+}/\text{дм}^3),$$

або $[\text{Ca}^{2+}] = N \times n \times \frac{1000}{V} \quad (\text{ммоль}/\text{дм}^3),$

де: N – нормальність розчину трилону Б;

n – кількість розчину трилону Б, що витратився на титрування, см³;

V – об'єм проби води, см³.

Розчини та реактиви, що застосовують:

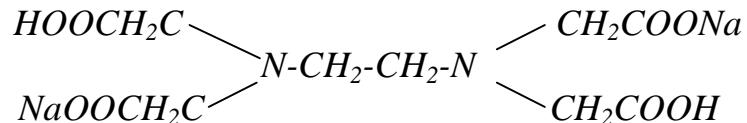
- 0,02N розчин трилону Б.
- розчин хлориду цинку ZnCl₂ для встановлення нормальності трилону Б (готують так же, що й для визначення загальної твердості).
- Суха суміш індикатору: 0,5 г мурексиду та 9,5 г NaCl розтирають у ступці. Суміш слід зберігати у склянці з притертвою пробкою.
- NaCl х.ч.
- 2N розчин NaOH: 80 г х.ч. NaOH розчиняють до 1 дм³ дистильованою водою.
- 25% розчин триетаноламіну.
- Бідистильована вода.

Посуд. Конічні колби на 200-250 см³; бюретка на 25 см³; піпетки на 2, 50 см³; мірна колба на 100 см³.

ДОСЛІД 2. ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОЇ ТВЕРДОСТІ ВОДИ ТРИЛОНОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ.

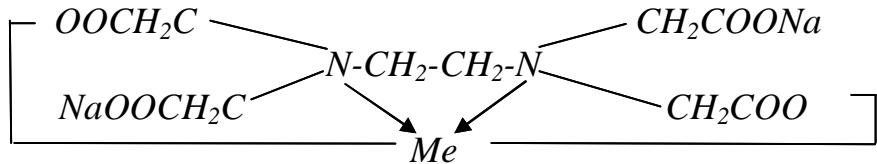
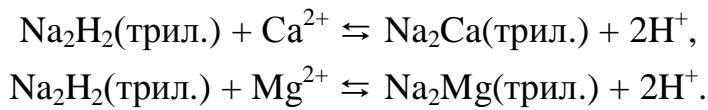
Мета досліду: визначити загальну твердість досліджуваної природної води; розрахувати вміст йонів магнію; зробити якісну оцінку води (для яких цілей можна її застосовувати).

Принцип методу. Для визначення загальної твердості застосовують *трилонометричний метод*. Він заснований на здатності трилону Б (двунатриєва сіль етилендіамінотетраоцтової кислоти)



утворювати з йонами магнію та, особливо, кальцію малодисоційовані

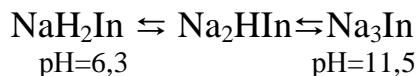
комплекси:



де $\text{Me} - \text{Ca}, \text{Mg}$.

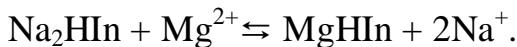
У якості індикатора використовують хромоген чорний (кислотно-лужний індикатор з трьома кольорами переходу забарвлення розчину):

винно-червоний блакитний жовтувато-сірий

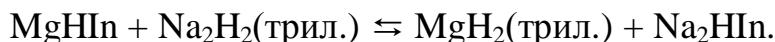


Хромоген чорний утворює з йонами Mg^{2+} малодисоційований комплекс фіолетово-червоного кольору, а при відсутності йонів Mg^{2+} розчин зафарбовується у блакитний колір:

фіолетово-червоний блакитний



Сполука магнію з індикатором більш дисоційована, ніж комплекс магнію з трилоном Б. Тому, при додаванні трилону Б, магній із комплексу з хромогеном переходить у сполуку з трилоном:



Отже, при титруванні трилоном спочатку з ним сполучаються йони Ca^{2+} , а потім йони Mg^{2+} . При переході йонів магнію із комплексу з хромогеном у сполуку з трилоном розчин змінює фіолетово-червоне забарвлення на блакитне.

Оскільки індикатор змінює своє забарвлення не тільки у залежності від вмісту магнію, а й від pH розчину, то у розчині, що титрують, добавляють буфер ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$), який підтримує $\text{pH} \approx 10$.

Трилонометричний метод є найбільш швидкий метод визначення суми кальцію та магнію у воді. Середня похибка методу $\approx 2\%$.

Попередні вказівки. Цей метод застосовують для вод різної мінералізації, але, враховуючи слабо лужну реакцію у розчині при титруванні, не слід мати концентрацію йонів Ca^{2+} та Mg^{2+} у пробі води більше, ніж 0,5 ммоль/дм³. Тому, при відборі води для титрування треба дотримуватися наступних значень:

Ca ²⁺ та Mg ²⁺ (ммоль/дм ³).....	0,5-5	5-10	10-20	20-50
Об'єм води для титрування, (см ³).....	100	50	25	10

Індикатор хромоген чорний, який застосовують для даного методу, є дуже чутливим реагентом на багато важких металів, тому присутність їх катіонів у пробі заважає визначеню, тому що утворює розмитий (не різкий) перехід забарвлення розчину. Так, присутність йонів при вмісті [Fe²⁺] ≥ 20 мг/дм³; [Fe³⁺] ≥ 20 мг/дм³; [Al³⁺] ≥ 20 мг/дм³; [Cu²⁺] ≥ 0,3 мг/дм³ визначеню заважають. Навіть сліди йонів Cu²⁺ можуть зовсім спотворити результати титрування, тому для усунення впливу Cu²⁺ у пробу води додають 1 см³ 2% розчину Na₂S, а у разі присутності йонів Mn²⁺ – 5 крапель 1% розчину солянокислого гідроксиламіну (NH₂OH·HCl). Йони інших важких металів титруються трилоном також, як і Ca²⁺ та Mg²⁺, не заважаючи забарвленню.

Хід визначення. У конічну колбу об'ємом 200 см³ відміряють піпеткою певний об'єм досліджуваної води та додають дистильовану воду до загального об'єму 100 см³, 5 см³ буферного розчину та декілька крапель розчину індикатора. Рідину ретельно перемішують та потім титрують 0,02N розчином трилону Б до переходу забарвлення від фіолетово-червоного до блакитного. Кінець титрування більш помітний, якщо поряд поставити заздалегідь перетитровану пробу, до кольору якої й слід титрувати; при подальшому добавленні трилону інтенсивність його кольору не змінюється.

Розрахунок. Сумарний вміст йонів Ca²⁺ та Mg²⁺ (ммоль/дм³) розраховують за формулою:

$$T_{\text{заг.}} = \frac{n \cdot N \cdot 1000}{V},$$

де: n – кількість розчину трилону Б, витрачена на титрування, см³;

N – нормальність розчину трилону Б, моль/дм³;

V – об'єм води, що брали для визначення, см³.

Розчини та реагенти, що застосовують:

- 0,02N розчин трилону Б (Na₂H₂C₁₀H₁₂O₈N₂·2H₂O): 3,72 г препарату трилону Б розчиняють у дистильованій воді в мірній колбі на 1 дм³ та доводять об'єм до мітки.
- Розчин ZnCl₂: 0,3269 г металевого гранульованого х.ч. цинку (попередньо очищеного концентрованою HCl, промитого водою та висушеною до повного видалення вологи) переносять у мірну колбу на 1 дм³, додають 10-15 см³ бідистильованої води та 3 см³ концентрованої HCl. Після повного розчинення цинку об'єм рідини у колбі доводять бідистильованою водою до мітки – цей розчин точно 0,01N.
- Буферний розчин: 20 г х.ч. NH₄Cl розчиняють у дистильованій воді, додають 100 см³ концентрованого розчину NH₄OH та доводять дистильованою водою об'єм до 1 дм³.

- Розчин індикатору хромогену чорного: 0,5 г х.ч. препарату розчиняють у 10 см³ буферного розчину та доводять до 100 см³ етиловим спиртом.

Визначення нормальності розчину трилону Б: у конічну колбу на 200 см³ додають 10 см³ стандартного розчину хлориду цинку ($ZnCl_2$), дистильовану воду до загального об'єму 100 см³, 5 см³ буферного розчину, декілька крапель розчину індикатору. Рідину ретельно перемішують а потім титрують трилоном Б так же, як при визначенні суми Ca^{2+} та Mg^{2+} . Розрахунок нормальності трилону Б проводять за формулою:

$$N_1 = N_2 \frac{V_2}{V_1},$$

де: N_1 – нормальність трилону, моль/дм³;

N_2 – нормальність стандартного розчину хлориду цинку ($ZnCl_2$), моль/дм³;

V_2 – об'єм стандартного розчину хлориду цинку ($ZnCl_2$), см³;

V_1 – об'єм трилону, що пішов на титрування, см³.

Посуд: бюретка на 25 см³; конічні колби на 200 см³; піпетка на 1 см³; крапельниця для індикатору; циліндр на 100 см³.

РОЗРАХУНОК ВМІСТУ ІОНІВ МАГНІЮ (Mg^{2+}) У ПРИРОДНІЙ ВОДІ.

Розрахунок. Концентрацію магнію розраховують за різницею між витраченими на титрування об'ємами розчину трилону Б на визначення загальної твердості та на визначення вмісту кальцію:

$$[Mg^{2+}] = 0,02 \cdot 1000 \left(\frac{a}{V_1} - \frac{b}{V_2} \right) \text{ (ммоль/дм}^3\text{)},$$

де: a – об'єм 0,02N розчину трилону Б, витраченого на визначення загальної твердості, см³;

b – об'єм 0,02N розчину трилону Б, витраченого на визначення вмісту кальцію, см³;

V_1 – об'єм проби води, що взяли для визначення загальної твердості, см³;

V_2 – об'єм проби води, що взяли для визначення вмісту кальцію, см³.

Або за результатами визначення загальної твердості води та вмісту кальцію:

$$[Mg^{2+}] = T_{\text{заг.}} - [Ca^{2+}] \text{ (ммоль/дм}^3\text{)},$$

$$[Mg^{2+}] = 12,1(T_{\text{заг.}} - [Ca^{2+}]) \text{ (мг/дм}^3\text{)}.$$

Результати визначення виражают у ммоль/дм³:

$$1 \text{ ммоль } Mg^{2+} = 12,1 \text{ мг } Mg^{2+}; 1 \text{ мг } Mg^{2+} = 0,08226 \text{ ммоль } Mg^{2+}.$$

ДОСЛІД 3. ВИЗНАЧЕННЯ КАРБОНАТНОЇ (ТИМЧАСОВОЇ) ТВЕРДОСТІ ВОДИ.

Мета досліду: Визначити карбонатну твердість досліджуваної проби природної води; розрахувати некарбонатну твердість; зробити якісну оцінку даної води; надати рекомендації щодо усунення різних видів твердості. Розрахувати сумарний вміст йонів калію та натрію; розрахувати суму йонів у досліджуваній пробі природної води та визначити її тип за класифікацією О.О. Альокіна.

Принцип методу. Визначення карбонатної твердості води полягає у визначенні концентрації гідрокарбонат-іонів HCO_3^- та еквівалентної їм концентрації йонів Ca^{2+} та Mg^{2+} . Пробу води титрують розчином соляної кислоти у присутності індикатора метилового оранжевого до переходу забарвлення від жовтого до оранжевого. Метиловий оранжевий – це кислотно-основний індикатор, що змінює свій колір від червоного ($\text{pH} < 3,1$) до жовтого ($\text{pH} > 4,4$), при проміжних значеннях $3,1 < \text{pH} < 4,4$ – колір оранжевий.

Аніон HCO_3^- гідролізується у воді:



Тому, якщо карбонатна твердість (Tк) > 0 існує, вода має лужну реакцію середовища, та при додаванні індикатора метилового оранжевого розчин зафарбовується у жовтий колір. При титруванні проби води розчином HCl протікає реакція нейтралізації:



Йони H^+ нейтралізують кількість йонів OH^- , що еквівалентне концентрації іонів HCO_3^- , та розчин змінює колір на оранжевий.

Хід визначення. У конічну колбу на 200 см^3 відміряють 100 см^3 проби досліджуваної води, додають 2-3 краплі індикатора метилового оранжевого та титрують $0,1\text{N}$ розчином HCl до появи стійкого оранжевого забарвлення.

Розрахунок. Карбонатну твердість (Tк) розраховують за формулою:

$$\text{Tк.} = \frac{n \times N \times 1000}{V} (\text{ммоль/дм}^3),$$

де: n – кількість розчину HCl , що пішов на титрування, см^3 ;

N – нормальність розчину HCl , що пішов на титрування, моль/ дм^3 ;

V – об'єм проби досліджуваної води, см^3 .

Розчини та реактиви, що застосовують:

- 0,1N розчин соляної кислоти HCl. Розбавити 8,5 см³ концентрованої HCl ч.д.а. дистильованою водою до 1 дм³. Титр, або поправочний коефіцієнт (k) визначають по 0,1N розчину натрію карбонату (Na₂CO₃).
 - Метиловий оранжевий, 0,05% розчин. Розчиняють 0,05 г натрієвої солі метилового оранжевого у 100 см³ гарячої дистильованої води та після охолодження фільтрують.
- Прилади та посуд:** колби на 200 см³; бюретка на 25 см³; крапельниця для індикатору.

**РОЗРАХУНОК НЕКАРБОНАТНОЇ (ПОСТІЙНОЇ)
ТВЕРДОСТІ ВОДИ.**

Постійна твердість є однією з важливих для технічних цілей характеристик якості води. Некарбонатну твердість характеризує та твердість, що остається після кип'ятіння води. Тому її величина залежить від концентрації іонів кальцію та магнію, що врівноважуються іонами SO₄²⁻ та Cl⁻. Цю частину твердості води легко знайти за різницею між загальною та карбонатною її твердістю.

Після визначення загальної та карбонатної твердості розраховують некарбонатну (постійну) твердість за формулою:

$$T_{\text{н.}} = T_{\text{заг.}} - T_{\text{к.}} \text{ (ммоль/дм}^3\text{)}.$$

**РОЗРАХУНОК ВМІСТУ СУМИ ЙОНІВ
НАТРИЮ (Na⁺) ТА КАЛІЮ (K⁺) У ПРИРОДНІЙ ВОДІ**

Сумарний вміст іонів Na⁺ та K⁺, якщо він не визначається безпосередньо аналітичними методами, оцінюють за різницею між сумою ммоль головних аніонів та сумою ммоль головних катіонів. При цьому враховують тільки іони, вміст яких > 0,1 ммоль. Визначення за допомогою розрахунку є найменш точним, тому що на нього припадають усі похибки окремих визначень. У разі, якщо сума ммоль аніонів виявляється меншою суми ммоль катіонів, то враховують, що іони Na⁺ та K⁺ відсутні. У тому випадку, коли ця розбіжність значно більша 3% по відношенню до суми всіх іонів при загальній мінералізації води > 300 мг/дм³ та більше 5% при загальній мінералізації води < 300 мг/дм³, можна думати, що при аналізі допущені значні помилки.

Для перерахунку отриманого вмісту суми (Na⁺ + K⁺) з (ммоль/дм³) у (мг/дм³) треба отримане значення помножити на емпіричний коефіцієнт, що дорівнює 25 для прісних вод та 24 для мінералізованих (за О.М. Кашинським).

Наприклад. Аналіз води дав наступні результати, мг/дм³:

Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻
50,1	15,2	210,5	24,0	7,1

Переведемо їх у ммоль/дм³:

Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻
2,5	1,25	3,45	0,5	0,2
[Ca ²⁺ + Mg ²⁺] = 3,75; Σаніонів = 4,15				

$$[\text{Na}^+ + \text{K}^+] = \Sigma_{\text{аніонів}} - [\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}] = 4,15 - 3,75 = 0,4 \text{ (ммоль/дм}^3\text{)};$$
$$[\text{Na}^+ + \text{K}^+] = 0,4 \cdot 25 = 10 \text{ (мг/дм}^3\text{)}.$$

РОЗРАХУНОК ЗАГАЛЬНОГО ВМІСТУ ЙОНІВ (\sum_i).

Загальний вміст йонів (мінералізація природної води) розраховують підсумуванням значень, встановлених визначенням концентрацій йонів у природній воді аналітичним та розрахунковим методами:

$$\sum_i = [\text{Ca}^{2+}] + [\text{Mg}^{2+}] + [\text{Na}^+ + \text{K}^+] + [\text{HCO}_3^-] + [\text{SO}_4^{2-}] + [\text{Cl}^-] \text{ (мг/дм}^3\text{)}.$$

Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторних робіт

1. Якими причинами обумовлено походження катіонного складу природних вод?
2. Які форми обробки результатів гідрохімічного аналізу природних вод ви знаєте?
3. Як зображують дані про хімічний склад природних вод за формулою Курлова?
4. Як зображують дані про хімічний склад природних вод за класифікацією О.О. Альокіна?
5. Як зображують дані про хімічний склад та мінералізацію природних вод за іншими класифікаціями? (В.О. Олександров, М.Г. Валяшко, В.О. Сулін) Для яких типів вод їх застосовують?
6. Які типи графічного зображення даних про хімічний склад води ви знаєте?
7. Присутність яких йонів у воді зумовлює її твердість?
8. Які хімічні реакції відбуваються при додаванні до твердої води Na₂CO₃ або Ca(OH)₂?
9. Солі яких металів зумовлюють карбонатну (тимчасову) твердість природної води? Назвіть основні методи усунення тимчасової твердості води.

- 10.** Що називають некарбонатною (постійною) твердістю природної води? Охарактеризуйте основні методи її усунення.
- 11.** Чому тверду воду не можна застосовувати для отримання пари на ТЕС? Який метод зм'якшення води називають термічним? Напишіть хімічні реакції, що протікають при зм'якшенні води цим методом.
- 12.** Як визначають загальну, карбонатну та некарбонатну твердість води?
- 21.** У 1 дм^3 води вміщується 38 мг йонів Mg^{2+} та 108 мг йонів Ca^{2+} . Розрахуйте загальну твердість води та масу натрію карбонату, що необхідно додати у 1 м^3 води для її пом'якшення.
- 22.** В яких одиницях виражається твердість води? Чому дорівнює не карбонатна твердість води, у 10 дм^3 якої міститься 0,5 г MgCl_2 ? Яку масу Na_2CO_3 треба додати, щоб її усунути?
- 23.** Розрахуйте карбонатну твердість, якщо на титрування 100 см^3 води треба було 5 см^3 розчину HCl з концентрацією $0,1 \text{ моль/дм}^3$. Яку масу $\text{Ca}(\text{OH})_2$ необхідно додати у 1 м^3 води для її усунення?
- 24.** Розрахуйте загальну твердість води, якщо на реакцію з солями твердості, які містяться у 100 см^3 води, треба було 4 см^3 розчину трилону Б з концентрацією $0,1 \text{ моль/дм}^3$. Яку масу фосфату натрію Na_3PO_4 необхідно додати у 500 дм^3 води для її усунення?
- 25.** У чому сутність іонітного способу усунення твердості природної води? Через іонітний фільтр пропустили 200 см^3 води, загальна твердість якої 4 ммоль/дм^3 . Скільки моль еквівалентів Mg^{2+} та Ca^{2+} затримано фільтром, якщо твердість води знижена до $0,5 \text{ ммоль/дм}^3$?
- 26.** Які хімічні реакції протікають при кип'ятінні води, яка містить гідрокарбонати кальцію та магнію? Розрахуйте карбонатну твердість води, якщо у 1 дм^3 її міститься по $0,8 \text{ г}$ цих солей.
- 27.** Мінералізована вода містить $0,38 \text{ г/дм}^3$ йонів кальцію та $0,08 \text{ г/дм}^3$ йонів магнію. Розрахуйте загальну твердість води та масу Na_3PO_4 , яку необхідно додати у $5,6 \text{ м}^3$ води для її усунення?

Порядок оформлення результатів лабораторних робіт з частини «Гідрохімія» та формулювання висновків.

Результати проведених дослідів, отримані під час виконання лабораторної роботи, є базою як для безпосереднього аналізу, так і для подальших розрахунків, які підтверджують вірність теоретичних положень.

На основі результатів гідрохімічних досліджень та за допомогою формул, наведених у методичних вказівках, слід розрахувати вміст у природній воді головних розчинних в ній компонентів (макрокомпонентів) та дати висновки про хімічний склад даної проби води, класифікувати її за О.О. Альокінім (тобто віднести до певного класу, групи, типу поверхневих вод), дати результати аналізу у вигляді таблиці та за

формулою Курлова.

Приклад опису даних хімічного складу природної води у вигляді таблиці.

Іони	Місто відбору проби		
	Вміст мг/дм ³	Кількість речовини еквівалента	
		ммоль/дм ³ (мг-екв/дм ³)	%-екв
Аніони: Cl^- SO_4^{2-} HCO_3^- Σаніонів			
Катіони: $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ Mg^{2+} Ca^{2+} Σкатіонів			
Σйонів (мінералізація), г/дм ³			
Формула Курлова			

Обробка результатів гідрохімічного аналізу природних вод

В гідрохімічній практиці звичайно результати аналізу приводяться в трьох формах:

- мг/дм³ (або г/дм³) – міліграмах (або грамах) на 1 дм³;
- ммоль/дм³ (мг-екв/дм³) – мілімолях кількості речовини еквівалента (міліграм-еквівалента) на 1 дм³;
- %-екв – відсотках кількості речовини еквівалента.

Для переходу від масової до молярної концентрації еквівалентів слід числове значення маси поділити на числове значення молярної маси еквівалента. Наприклад: масова концентрація сульфатних іонів $[\text{SO}_4^{2-}] = 0,128 \text{ г/дм}^3$, розрахуємо молярну концентрацію еквівалента цих іонів. Спочатку знайдемо молярну масу еквівалента сульфатних іонів:

$$\text{Мекв } (\text{SO}_4^{2-}) = f \text{ екв} \cdot M = 1/2 \cdot 96 = 48 \text{ г/моль};$$

Тоді молярна концентрація еквівалента:

$$[\text{SO}_4^{2-}] = 0,128/48 = 2,7 \cdot 10^{-3} \text{ моль/дм}^3, \text{ або } 2,7 \text{ ммоль/л (ммоль/дм}^3).$$

При порівнянні складу природних вод слід знати і співвідношення між іонами, які в них містяться. Для цього використовують відносний вміст кількості речовини еквівалентів (КРЕ) від загальної суми іонів у воді. При цьому сума всіх визначених аніонів (Σан.) береться за 100% та сума всіх визначених катіонів (Σкат.) теж береться за 100%. Тоді відносний еквівалентний вміст будь-якого з іонів у %-екв визначають за формулою:

$$[\text{аніона}] = \frac{a \cdot 100}{\sum a} (\%-\text{екв});$$

$$[\text{катіона}] = \frac{\kappa \cdot 100}{\sum \kappa} (\%-\text{екв});$$

де: а – вміст аніона у ммол/дм³;

к – вміст катіона у ммол/дм³;

Σa – сумарний вміст всіх аніонів у ммол/дм³;

$\Sigma \kappa$ – сумарний вміст всіх катіонів у ммол/дм³.

Еквівалентна форма дає змогу розраховувати кількість деяких головних йонів без аналітичного визначення. Наприклад, якщо не потребується окреме точне визначення суми йонів $\text{Na}^+ + \text{K}^+$, то обчислити їх концентрацію можна за різницею сум еквівалентів уже визначених аніонів і катіонів. Сума еквівалентів $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ дорівнюватиме різниці:

$$[\text{Na}^+ + \text{K}^+] = \Sigma(\text{Cl}^- + \text{SO}_4^{2-} + \text{HCO}_3^-) - \Sigma(\text{Mg}^{2+} + \text{Ca}^{2+}).$$

Таке визначення не є досить точним, бо воно включає всі похибки, які накопичились під час визначень окремих йонів. Для переведення молярної концентрації еквівалентів $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ (ммол/дм³) у масову концентрацію (мг/дм³) використовують емпіричний коефіцієнт, який дорівнює (за О.М. Кашинським) для прісних вод 25, а для мінералізованих 24. Цей коефіцієнт відповідає співвідношенню $\text{Na}^+/\text{K}^+ = 7,05$. Оскільки значення наведеного відношення коливається у прісних та маломінералізованих водах у невеликих межах, і концентрації Na^+ та K^+ стосовно інших головних іонів невеликі, то похибкою можна знехтувати. Точність аналізу води не перевищує 1% і тому досить обмежуватися трьома значущими цифрами. Наприклад, замість 2,846 мг/дм³ слід записати 2,85 мг/дм³, або замість 34,57 мг/дм³ записують 34,6 мг/дм³.

Результати аналізу природної води звичайно надають у вигляді таблиці та за формулою Курлова (існують й інші способи надання результатів гідрохімічних аналізів – графічні зображення хімічного складу вод: трикутник Фере, графік-круг Н.І. Толстихіна, графік-квадрат Н.І. Толстихіна, діаграми-прямокутники, т.д.).

До таблиці обов'язково вноситься сума йонів, яка характеризує мінералізацію води. Йони розташовують таким чином: Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , $\text{Na}^+ + \text{K}^+$, Mg^{2+} , Ca^{2+} , згідно з їхньою активністю (крім кальція, який активніше за магній).

Для наочного зображення даних про хімічний склад мінеральних вод було запропоновано формулу Курлова, яку тепер використовують для запису даних й прісних вод. Дані записують у вигляді псевдодробу, в чисельнику якого зліва направо розташовуються аніони (у %-екв) за їх зменшенням; а у знаменнику – катіони (у %-екв) також за їх зменшенням.

Значення концентрацій (у %-екв) округляють до цілих чисел. Зліва від дробу наводиться загальна мінералізація води у г/дм³. Поряд указують вміст газів та деяких мікроелементів. Справа від дробу записують температуру та дебіт води:

$$p, M \frac{\text{аніони (100\%)}}{\text{катіони(100\%)}} T, D,$$

де: p – специфічні компоненти;
 M – мінералізація води, г/дм³;
 Т – температура води, °C;
 Д – дебіт води (для свердловин та джерел), дм³/с або м³/добу.

Таблиця 2.1 – Приклад опису даних хімічного складу природної води у вигляді таблиці.

Іони	Місто відбору проби – р. Дністер, м. Самбір		
	Вміст мг/дм ³	Кількість речовини еквівалента	
		ммоль/дм ³ (мг-екв/дм ³)	%-екв
<u>Аніони:</u>			
Cl ⁻	40,2	1,13	19
SO ₄ ²⁻	55,1	1,15	19
HCO ₃ ⁻	226,2	3,71	62
Σаніонів	321,5	5,99	100
<u>Катіони:</u>			
Na ⁺ +K ⁺	18,1	1,66	28
Mg ²⁺	17,8	1,27	21
Ca ²⁺	61,1	3,06	51
Σкатіонів	97,0	5,99	100
Σіонів (мінералізація), г/дм ³		0,3	
Формула Курлова	$M 0,3 \frac{HCO_3 62 SO_4 19 Cl 19}{Ca 51 (Na + K) 28 Mg 21}$		

РОЗДІЛ 2. БІОХІМІЯ ГІДРОБІОНТІВ

Інструкція з техніки безпеки під час роботи в біохімічній лабораторії

В процесі проведення лабораторних робіт студенти повинні засвоїти великий об'єм фактичного матеріалу і виконати практичні експерименти з основних тем курсу біохімії. Виконання практичних робіт включає класичні біохімічні методики і нові методи біохімічних досліджень, особлива увага надається біохімічним дослідженням гідробіонтів. Практикум дозволяє студентам опанувати методи кількісного і якісного аналізу, які можуть бути використані для виконання курсових і дипломних робіт, а також для роботи з обраної спеціальності.

Студенти повинні почати роботу в лабораторії з вивчення правил техніки безпеки, що може запобігти випадкам травматизму. В зв'язку з цим ми наводимо коротку інструкцію з техніки безпеки, якої повинні суворо дотримуватись студенти. Після ознайомлення з нею, студенти зобов'язані розписатися в спеціальному журналі інструктажу з техніки безпеки.

Хімічні речовини при невмілому і неправильному використанні можуть стати причиною отруєння осіб, які працюють, викликають пожежу, вибух чи хімічний опік.

З метою виключення випадків травматизму при роботі у хімічних лабораторіях необхідно виконувати наступні вимоги:

1. Кожен студент до початку досліду повинен добре ознайомитися з властивостями речовин, з якими прийдеться стикатися і необхідними умовами безпечного проведення роботи з урахуванням можливих побічних реакцій.
2. При роботі у витяжній шафі, з метою більш ефективної дії вентиляції, слід підняти дверцята витяжної шафи на 1/3 – 1/4 її підйому. Після закінчення роботи їх необхідно щільно зачинити.
3. У випадку перерви дії вентиляції всі роботи у витяжних шафах, які пов'язані з виділенням шкідливих газів, парів, треба негайно припинити.
4. Не залишати ніяких речовин у посуді без етикеток. Не виконувати ніяких дослідів у нечистому посуді. Посуд мити одразу після досліду.
5. Не залишати увімкнених нагрівальних пристрій, пальників, що горять, відкритих газових і водопровідних кранів.
6. При роботі з горючими і легкозаймистими рідинами (сірковуглець, ефір, бензол і т.д.) необхідно виконувати такі правила:
 - а) не користуватись відкритим полум'ям для нагрівання;
 - б) не тримати ці сполуки на столах у великих кількостях;
 - в) переливати у віддаленні від вогню, а при переливанні великих кількостей всі нагрівачі (газові та інші пальники) у приміщенні

загасити.

7. У випадку займання горючих рідин:
 - а) треба негайно загасити всі пальники, вимкнути електронагрівальні прилади;
 - б) відставити посуд з вогненебезпечними речовинами;
 - в) прикрити полум'я мокрою ковдрою, а при потребі засипати піском;
 - г) увімкнути вентиляційні установки;
 - д) при необхідності використовувати вуглекислотний вогнегасник; терміново повідомити пожежну охорону.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

Тема: «Методика відбору зразків тканин і крові у риб для біохімічних досліджень. Властивості білків»

Мета: 1. Вивчити правила техніки безпеки в біохімічній лабораторії, правила зважування на аналітичних терезах, правила роботи на фотоелектроколориметрі, ознайомитися з правилами відбору зразків у гідробіонтів для біохімічного аналізу

2. Навчитися виявляти вільні амінокислоти та білки за допомогою якісних реакцій; проводити та відрізняти висолювання і осадження білків при нагріванні, дії неорганічних та органічних кислот, солей важких металів, фенолів, альдегідів, спиртів, з'ясувати механізм зворотного і незворотного осадження білків.

Теоретична частина

Білки – це високомолекулярні органічні азотовмісні сполуки, що розщеплюються при гідролізі з утворенням амінокислот. Крім азоту до складу всіх білків входять вуглець, водень і кисень, а також сірка. Деякі білки містять фосфор, залізо, мідь і цинк. Молекулярна маса білків коливається в широких межах – від декількох тисяч до сотень мільйонів одиниць. Так, молекулярна маса міоглобіну м'язової тканини становить 16900, у той час як білок вірусів грипу має молекулярну масу 332 млн.

Білки виконують багато різних функцій. Найбільшу і найважливішу за своїм біологічним значенням групу білків становлять ферменти. На цей час відомо більше тисячі різних ферментів, кожний з яких каталізує певний тип хімічної реакції. Білки є основними структурними елементами живих організмів. Вони входять до складу сполучної і кісткової тканин. До числа найбільш поширеніх клітинних білків належать білки мембрани, які разом з ліпідами утворюють основу клітин.

Слід підкреслити, що всі білки, які виконують найрізноманітніші

функції, у тому числі і білки, яким властива висока біологічна активність або токсична дія, містять один і той же набір з 20 амінокислот. У білковій молекулі амінокислоти з'єднанні пептидними зв'язками. При утворенні пептидного зв'язку карбоксильна група однієї амінокислоти взаємодіє з амінною групою іншої, при цьому виділяється молекула води. А.Я. Данілевський (1888 р.) виявив біурет при взаємодії двох молекул сечовини ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$), а потім Е. Фішер (1902 р.) створив поліпептидну теорію будови білкових молекул за рахунок пептидних зв'язків.

Розмаїтість, специфічність існуючих у природі білків залежить від особливостей амінокислотного складу і порядку розташування амінокислот у поліпептидному ланцюзі. Амінокислотний склад і порядок чергування амінокислот визначають структуру білка.

У структурі білка велике значення має також просторова конфігурація поліпептидного ланцюга, що має назву вторинної (наприклад, визначена спіралізованість поліпептидного ланцюга), третинної (визначене укладання спіралізованого поліпептиду у просторі) і четвертинної (асоціація декількох поліпептидних ланцюгів-субодиниць) структури. З двадцяти перерахованих амінокислот десять не синтезуються в організмі людини і повинні надходити разом з їжею. Вони називаються *незамінними*. Наявність в їжі інших амінокислот не обов'язкова, оскільки організм здатний їх синтезувати. Такі амінокислоти називають *замінними*.

Замінні амінокислоти:

Гліцин, аланін, цистеїн, глутамінова й аспарагінова кислоти, тирозин, пролін, серин, глутамін і аспарагін.

Незамінні амінокислоти:

Валін, лейцин, ізолейцин, треонін, метіонін, фенілаланін, триптофан, лізин, гістидин, аргінін.

Харчовий білок, що містить усі незамінні амінокислоти, називається повноцінним. Амінокислоти мають велике біологічне значення. Вони не тільки виконують роль «будівельних блоків», з яких побудована молекула білка, але і є попередниками багатьох біологічно активних сполук - гормонів, медіаторів нервової системи і т. п. Okremi амінокислоти виконують регуляторну роль - між ними спостерігаються явища взаємної активації і пригнічення при включені до складу білкової молекули. У деяких випадках вони служать енергетичним матеріалом або лікарською речовиною.

Складна структурна організація пояснює високу специфічність білків. У просторовій конфігурації білкової молекули мають значення різні типи зв'язків: водневі, гідрофобні, іонні, дисульфідні, амінні та ін.

Білки відрізняються за розчинністю. Розчини білків мають амфотерні властивості, оскільки містять одночасно карбоксильні й амінні групи. При дисоціації карбоксильних й амінних груп вони здобувають електричні заряди. При дисоціації карбоксильних і амінних груп вони здобувають

заряди. Значення рН, при якому сума негативних та позитивних зарядів білкової частки дорівнює нулю, називається ізоелектричною характеристикою.

Структура білків дуже лабільна і легко руйнується під впливом різних хімічних і фізичних впливів; при цьому змінюються біологічні і фізико-хімічні властивості білків

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Дослід 1. Методика відбору зразків крові у гідробіонтів для біохімічних досліджень.

Кров у риб для досліджень беруть різними способами: з серця, хвостової й зябрової артерії, за допомогою пастерівської піпетки або шприця, які попередньо промиті розчином гепарину, лимоннокислого натрію, оксалата натрію, фторид натрію (найкращий антикоагулянт – гепарин 1000 ед/см³).

Кров беруть від голодної риби, яка витримана в добре аерованому водному середовищі протягом 5-10 хвилин після відлову. Якщо це неможливо, то рибу слід помістити у відро з водою з водоймища у співвідношенні 1:10, що містить релаксуючу концентрацію одного з анестетиків: пропаксат (0,6-0,8 мг/дм³), хінальдин (25-30 мг/дм³), сірчистий ефір (1-1,5%) та ін. Вода, в якій знаходиться анестезована риба, повинна постійно аеруватися.

В залежності від розмірів об'єкта і необхідної кількості крові її беруть різними способами: з серця, зябрової артерії, відсіканням хвоста і з хвостової артерії. Наприклад, у форелі місце взяття крові з серця знаходиться в середині відрізу між правим і лівим плавниками; у коропа – трохи вище цієї точки. В місці прокола видаляють слиз сухим ватним тампоном, потім протирають спиртом.

Місце взяття крові не треба стискати, щоб не потрапила тканинна рідина. Повторно брати кров з одного місця не рекомендується. Кров, що аналізується, повинна бути свіжою і рідкою. Для запобігання руйнування еритроцитів (гемоліз) кров беруть у підготовленні з антикоагулянтом пробірки (або часове скло), зливаючи обережно по стінці. Під час роботи з плазмою або сироваткою їх відділення повинно проводитись швидко (не довше 1 години) щоб уникнути зсідання крові; кров повинна бути оброблена в короткий термін.

Для реєстрації процесу утворення ниток фібрину (при зсіданні крові) краплину крові зонduють препарувальною голкою та спостерігають (проводять голкою з одного боку в інший). Дослід виконують при температурі 20-25 °C на протязі 10-90 с до утворення згустку крові.

Записати спостереження, визначити антикоагулянти, умови для зсідання крові.

Дослід 2. Нейтралізація води.

Дуже важливу роль в біохімічних дослідженнях виконує pH води. Використовувати необхідно тільки дистильовану, нейтралізовану воду. Звичайно дистильована вода має слабкокислу реакцію. Грубими методами (за допомогою лакмусового папірця) це встановити не можливо, тому необхідно використовувати pH-метр. Можна використовувати крупинки гематоксиліну. Для цього беруть в два стакана наливають дистильовану воду: в один – декілька крупинок гематоксиліну і збовтують; якщо через 5 хвилин вода стає рожево-фіолетовою, то вона нейтральна. Якщо вода кисла, то вона не забарвлюється; якщо лужна, то вона набуває рожево-фіолетового відтінку раніше ніж за 1 хвилину. В кислу воду додають розчин вуглекислого натрію (декілька краплин), в лужну – розчин оцтової кислоти.

Найчастіше використовують буферні розчини. Для цього в дистильовану воду додають суміш двохосновного фосфату натрію $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (17,814 г на 1 dm^3 – pH 8,302) й одноосновний фосфат калію KH_2PO_4 (13,638 г на 1 dm^3 – pH 4,529). Для того, щоб одержати необхідну суміш, необхідно змішати розчини в різних пропорціях згідно з розрахунками, що наведені в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1 – Приготування буферних розчинів

Буферний розчин з концентрацією йонів, pH	Кількість розчинів фосфатів на 1 dm^3 води, см 3	
	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	KH_2PO_4
4,976	0,1	9,9
5,600	0,5	9,5
6,239	2,0	8,0
6,813	5,0	5,0
6,976	6,0	4,0
7,146	7,0	3,0
7,346	8,0	2,0
7,648	9,0	1,0
7,863	9,5	0,5
8,171	9,9	0,1
8,302	10,0	-

Хід роботи

Зважити на аналітичних терезах необхідну кількість фосфатів для одержання буферного розчину, якщо об'єм буферного розчину дорівнює 100 або 200, 300 см³, а значення водневого показника води відповідно – pH = 4,976; pH = 6,976; pH = 7,648. Перевірити одержані розчини за допомогою лакмусового папірця та pH-метру на відповідність значень pH, визначити яке це буде середовище. Записати розрахунки, зробити висновки.

Дослід 3. Якісні реакції визначення амінокислот та білків.

Біуретова реакція (Піотровського) – це процес виникнення мідного комплексу, забарвлених в рожево-фіолетовий або синьо-фіолетовий колір, при взаємодії пептидів і білків з Купрум сульфідом у лужному середовищі. Реакція обумовлена присутністю в білку пептидних зв'язків, що з іонами міді утворюють забарвлені комплексні сполуки. Ця реакція не є специфічною, бо подібний комплекс утворюють не тільки пептиди і білки, а й біурет. Саме тому реакція отримала назву біуретової. Правильно було б сказати, що це реакція утворення пептидами і білками мідного комплексу – також, як і біуретом. Забарвлення біуретового комплексу залежить від кількості мідної солі і від структури речовини, з яким зв'язується координаційно йон міді. Біуретову реакцію дають білки, продукти розпаду білка – пептони і поліпептиди, які мають не менше двох пептидних зв'язків.

Хід роботи

До 1-2 см³ розведеного розчину білка додають подвійний об'єм розчину натрій гідроксиду ($\omega = 30\%$), добре перемішують і вносять за допомогою скляної палички декілька крапель розчину Купрум сульфату ($\omega = 1\%$). Знову ретельно перемішують. З'являється рожево-фіолетове забарвлення. Якщо було внесено велику кількість розчину Купрум сульфату, то надлишок Купрум гідроксиду, що при цьому утвориться, маскуватиме рожево-фіолетове забарвлення мідного комплексу білка, весь розчин набуде синього кольору. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

Дослід 4. Нінгідринова реакція

Нінгідринова реакція – це реакція ароматичного трикетону нінгідрину з речовинами, що мають вільні аміногрупи. Амінокислоти, пептиди і білки мають такі вільні аміногрупи і при взаємодії з нінгідрином

утворюють барвник Руемана синьо-фіолетового кольору. Як і біуретова, нінгідринова реакція не є специфічною на амінокислоти, пептиди і білки. Будь-які речовини, що містять вільну аміногрупу, і навіть амоніак, дають позитивну реакцію. У нуклеїнових кислотах теж така реакція. Тому говорять про нінгідринпозитивні речовини.

При взаємодії нінгідрину з α -амінокислотами вони окислюються і розпадаються з утворенням аміаку, альдегіду і вугільної кислоти. Нінгідрин відновлюється і конденсується з іншою часткою нінгідрину й аміаком. У результаті утворюється складна сполука мурексидного типу, забарвлена в синій колір.

Хід роботи

До 2-3 см³ розведеного розчину білка додають розчину нінгідрину ($\omega = 1\%$) в ацетоні ($\omega = 95\%$). Перемішують і нагрівають на киплячій водяній бані при 70 °C 15-20 хвилин. Розвиваються рожеве, червоне, а потім синьо-фіолетове забарвлення. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

Дослід 5. Ксантопротеїнова реакція

Ксантопротеїнова реакція – це реакція нітрування ароматичних амінокислот у складі пептидів і білків, у результаті якої утворюються нітропохідні жовтого кольору. Реакція не специфічна, бо нітропохідні вільних ароматичних вуглеводнів теж мають таке забарвлення. При нагріванні розчинів більшості білків з концентрованою нітратною кислотою рідина забарвлюється в лимонно-жовтий колір, який переходить у лужному середовищі в жовто - гарячий.

Реакція обумовлена присутністю в білку циклічних амінокислот – фенілаланіну, тирозину і триптофану, які при взаємодії з концентрованою нітратною кислотою утворюють нітропохідні жовтого кольору (реакція нітрування). Останні при додаванні лугу перетворюються в солі хіноїдної структури, забарвлені в жовтогарячий колір. Білки, у яких циклічні амінокислоти відсутні, не дають ксантопротеїнової реакції. До таких білків відносяться: желатина, клупейн, сальмін та ін.

Хід роботи

До 1-2 см³ розчину білка додають 5-6 крапель концентрованої нітратної кислоти до появи білого осаду або помутніння, нагрівають на киплячій водяній бані. При цьому осад і розчин забарвлюються у жовтий колір, осад потім майже повністю розчиняється.

Охолоджують суміш і, не перемішуючи, додають краплинами до

кислого розчину надлишок концентрованого розчину амоніаку або лугу до лужної реакції середовища. Вміст забарвлюється в яскравий жовтогарячий колір, що обумовлено виникненням у лужному середовищі хромофорної групи. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки

Дослід 6. Реакція Паулі

Реакція Паулі – це реакція нітросполучення *n*-сульфофенілдіазоній хлориду з ароматичними амінокислотами – як вільними, так і в складі пептидів і білків. Спочатку проводять на холоді діазотування сульфанілової кислоти, а потім реакцію нітро-сполучення з ароматичними амінокислотами у складі білків. З'являється оранжево-червоне забарвлення в результаті утворення азобарвника.

Хід роботи

До 1-2 см³ розчину сульфанілової кислоти ($\omega = 1 \%$) в розчині хлоридної кислоти ($\omega = 5 \%$) додають 2 см³ розчину натрій нітрату (ІІ), ($\omega = 0,5 \%$), ретельно перемішують і додають спочатку 2 см³ розведеного розчину білка, а потім (після перемішування вмісту пробірки) 6 см³ розчину натрій карбонату ($\omega = 10 \%$), знову перемішують. З'являється вишнево-червоне забарвлення. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

Дослід 7. Нітропрусидна реакція

Нітропрусидна реакція – це реакція на амінокислоту цистеїн, що містить сульфгідрильну групу $-SH$. При взаємодії натрій нітропрусиду зі сполуками, що містять $-SH$ -групу або S^{2-} , з'являється пурпурове забарвлення. Ця реакція на білки теж не специфічна.

Хід роботи

У пробірку вносять 1-2 см³ розведеного білка, додають рівний об'єм насиченого розчину амоній сульфату і 2-3 краплинни розчину натрій нітропрусиду ($\omega = 5 \%$). Потім вносять декілька крапель концентрованого розчину амоніаку.

Якщо в білку є цистеїн, то відбувається реакція, у результаті якої з'являється пурпурове забарвлення. Загалом слід зазначити, що специфічних реакцій на білки немає, і тому для ідентифікації білків застосовується декілька реакцій. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

Дослід 8. Висолювання білків

Висолювання білків – це процес виділення білків з водних розчинів розчинами концентрованих солей $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; MgSO_4 ; Na_2SO_4 ; NaCl та ін. У водному розчині білкові молекули заряджені і гідратовані, що забезпечує стійкість білкових розчинів. При високій концентрації солей, йони яких теж гідратовані, відбувається руйнування водних оболонок білкових молекул у результаті конкуренції за воду йонів солей. Крім того, йони солей адсорбуються на поверхні білкової молекули, унаслідок чого зменшується заряд молекули білка, частини білка менше відштовхуються, злипаються, випадають в осад. Різні білки осаджуються при різних концентраціях солей.

Амоній сульфат має різко виражену висолюючу здатність і осаджує білки в нейтральному середовищі, а ще краще – у слабо кислому. Інші солі, наприклад, натрій хлорид, осаджують білки лише при підкисленні розчину.

Для висолювання різних білків потрібна різна концентрація одних і тих же солей. Отже, білки можна висолювати фракційно. Так, глобуліни випадають в осад при напівнасиченні розчину амоній сульфатом, а альбуміни осаджуються при повному насиченні.

Хід роботи

Наливають у пробірку $1,5\text{-}2,0 \text{ см}^3$ розчину білка, додають рівний об'єм насиченого розчину амоній сульфату і струшують суміш. З'являється помутніння від утворення осаду глобулінів. Слід звернути увагу на те, щоб розчин амоній сульфату був дійсно насичений, тобто на дні посудини з розчином був осад.

Мутну рідину фільтрують крізь складчастий фільтр. Частину прозорого фільтрату нагрівають до кипіння і спостерігають згортання альбумінів, що знаходились у розчині. До іншої частини фільтрату додають при перемішуванні надлишок амоній сульфату у вигляді порошку до припинення його розчинення. З'являється помутніння, альбуміни випадають в осад.

Осадження білків солями лужних металів і амонію є оборотним процесом. При додаванні води білки знову розчиняються. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

Дослід 9. Згортання білків при нагріванні.

У чотири пробірки наливають по 2 см^3 розчину білка. Дослід виконують за схемою:

1. Нагрівають вміст першої пробірки. Осад білка з'являється ще до

того, як рідина закипить.

2. Додають до другої пробірки одну краплину розчину оцтової кислоти ($\omega = 1 \%$), і нагрівають. Осад випадає швидше, внаслідок того, що при підкисленні pH розчину наближається до ізоелектричної точки білка.

3. У третю пробірку додають близько $0,5 \text{ см}^3$ розчину оцтової кислоти ($\omega = 10 \%$) і нагрівають. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні. У даному випадку надлишок оцтової кислоти призводить до перезарядки молекул білка, молекули одержують позитивний заряд, взаємно відштовхуються, і осад не утворюється.

4. У четверту пробірку додають $0,5 \text{ см}^3$ розчину оцтової кислоти ($\omega = 10 \%$), декілька крапель насиченого розчину натрій хлориду і нагрівають. Утворюється осад білку. Записати рівняння реакцій, записати спостереження в таблицю 4.2. і зробити висновки.

Таблиця 4.2 – Результати спостережень

<i>№ пробірки</i>	<i>Умови нагрівання</i>	<i>Спостереження</i>	<i>Висновки</i>
1			
2			
3			
4			

Дослід 10. Осадження білків концентрованими мінеральними кислотами.

У три пробірки наливають по $1\text{-}2 \text{ см}^3$ концентрованих нітратної, сульфатної і хлоридної кислот. Потім, нахиливши кожну пробірку, по стінці доливають до неї з піпетки по $0,5 \text{ см}^3$ досліджуваного розчину білка так, щоб він не змішувався з кислотою. На межі двох рідин з'являється білий аморфний осад білка. При струшуванні осад, що утворився при дії хлоридної і сульфатної кислот, розчиняється у їх надлишку. Розчинення осаду білка у надлишку хлоридної кислоти пояснюється тим, що відбувається перезарядка білкової молекули і перехід із ізоелектричного стану у стан з позитивним зарядом білкової молекули.

Таблиця 4.3 – Результати спостережень

<i>№ пробірки</i>	<i>Додана кислота</i>	<i>Спостереження</i>
1		
2		
3		

Збільшення осаду білка в надлишку нітратної кислоти відбувається внаслідок процесів нітрування ароматичних амінокислот білка і зшивання поліпептидних ланцюгів за рахунок продуктів реакції. У надлишку концентрованої сульфатної кислоти руйнуються молекули білка до найпростіших низькомолекулярних сполук, які не дають осаду. Записати рівняння реакцій, записати спостереження в таблицю 4.3 і зробити висновки.

Дослід 11. Осадження білків

а) Осадження білків органічними кислотами. У дві пробірки наливають по 2-3 см³ розчину білка і додають в одну з них декілька крапель розчину трихлороцтової кислоти ($\omega = 5\%$), у другу – декілька крапель розчину сульфосаліцилової кислоти ($\omega = 20\%$). В обох випадках випадають осади білка.

Сульфосаліцилова і трихлороцтова кислоти є чутливими й специфічними реактивами на білок. Трихлороцтова кислота осаджує тільки білки і не осаджує продуктів розпаду білка і амінокислоти, нею користуються для повного вилучення білків з біологічних рідин.

б) Осадження білків солями важких металів. У дві пробірки наливають по 1-2 см³ досліджуваного розчину білка і повільно, краплинами при струшуванні додають в одну з них розчин Купрум сульфату(CuSO₄), а в іншу – розчин плюмбум ацетату (Pb(CH₃COO)₂). Випадають пластівчасті осади із сіллю Купруму – блакитного кольору, із сіллю Плюмбуму – білого кольору

Солі важких металів необоротно осаджують білки внаслідок зшивання поліпептидних ланцюгів багатовалентними атомами металів. Тому білки застосовують при отруєнні солями важких металів. Деякі з таких осадів (наприклад, із солями Купруму, Плюмбуму, Цинку) розчиняються в надлишку солі внаслідок адсорбції іонів цих металів на поверхні білкових частинок, у результаті цього білкові частинки набувають заряд і переходят у розчин. Розчинення осадів денатурованих білків у надлишку солі важких металів називається адсорбційною пептизацією. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

Дослід 12. Кількісне визначення вмісту білка біуретовим методом.

Хід роботи

З кожної пробірки із розведеним стандартним розчином білка – альбуміна беруть по 0,1 см³ розчину і додають по 5 см³ біуретового реактиву, перемішують або струшують. Через 30 хвилин вимірюють

екстинцію кожної проби на ФЕК проти контрольного розчину ($0,1 \text{ см}^3$ 0,9 % розчина хлориду натрію + $5,0 \text{ см}^3$ біуретового реактиву) в кюветі товщиною 10 мм, довжина хвилі 540-560 нм – зелений фільтр).

За одержаними даними будують калібрувальний графік, де на осі ординат – екстинція, на осі абсцис – концентрація.

Для побудови калібрувального графіку з калібрувального розчину білка готують ряд розведень, відповідно таблиці 4.4:

Таблиця 4.4 – Дані для побудови калібрувального графіку

Калібр. точки	Розчин білка, см^3	Фіз. розчин, см^3	Концентрація білка
1	0,4	0,6	40
2	0,6	0,4	60
3	0,8	0,2	80
4	1,0	-	100

Одержані розчини обробляють і будують калібрувальний графік на міліметровому папері за калібрувальними точками.

Беруть 2 пробірки – в одну наливають $0,1 \text{ см}^3$ сироватки, що досліджується, в другу (контрольну) – $0,1 \text{ см}^3$ розчину хлориду натрію. В обидві пробірки додають по 5 см^3 біуретового реактиву і струшують.

Через 30 хвилин вимірюють екстинцію (оптичну густину) розчину, що досліджується, на ФЕК в кюветі товщиною 10 мм, фільтр – зелений, проти контрольного розчину. Вміст білка у сироватці крові знаходять за калібрувальним графіком. Зробити необхідні розрахунки, графік, спостереження, висновки.

Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №4

1. Що таке біохімія? Які задачі вона виконує
2. Методи біохімічних досліджень.
3. Методи відбору біологічних зразків у гідробіонтів.
4. Як визначають кислотність середовища? Що таке pH?
5. Які правила техніки безпеки в біохімічній лабораторії?
6. Як необхідно виконувати зважування на аналітичних терезах?
7. Що таке буферний розчин?
8. Властивості крові, про що можуть свідчити аналізи крові?
9. Методи одержання гомогенату.
10. З яких хімічних елементів складаються біологічні об'єкти?
11. Які ви знаєте антикоагулянти?
12. Що таке зсідання крові? Від яких факторів залежить цей процес?

- 13.** З яких компонентів складається кров гідробіонтів?
- 14.** Яких правил треба дотримуватись при роботі з фотоелектроколориметром?
- 15.** Що таке висолювання білків?
- 16.** Чим відрізняється висолювання білків від денатурації?
- 17.** Що таке ізоелектрична точка?
- 18.** Що забезпечує стійкість білкових молекул в водному розчині?
- 19.** Напишіть структурну формулу пептиду, який складається з амінокислот: аланіну, цистеїну, лізину. Який заряд має молекула цього пептиду у водному розчині?
- 20.** Напишіть хімічні формули гетероциклічних білкових амінокислот, наведіть їх назви за міжнародною номенклатурою.
- 21.** Лізин містить 19,17% Нітрогену. Розрахуйте відносну молекулярну масу лізину, якщо відомо, що в молекулі лізину міститься два атоми Нітрогену.
- 22.** Чим обумовлені кольорові реакції на білки й амінокислоти?
- 23.** Яке практичне значення якісних реакцій на білки?
- 24.** Як ведуть себе білки у водному розчині в присутності надлишку кислоти або лугу?
- 25.** Чим обумовлені реакції осадження білків?
- 26.** Якими ознаками характеризується денатурація?
- 27.** Яка концентрація білка в крові гідробіонтів? Від чого вона залежить?
- 28.** Що таке пептидний зв'язок? Як він утворюється та визначається якісно?
- 29.** Напишіть рівняння реакцій утворення можливих дипептидів і трипептидів з амінокислот: аланіну, гліцину, треоніну, цистеїну, лізин.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

Тема: «Обмін ліпідів. Визначення складу та властивостей ліпідів»

Мета: вивчити властивості нейтральних жирів: дослідити розчинність жирів у воді та органічних розчинниках, встановити вплив різних речовин на стійкість жирових емульсій; провести гідроліз жиру та дослідити продукти їх розпаду.

Теоретична частина

Ліпіди (жири) – це низькомолекулярні сполуки з гідрофобними (водовідштовхуючими) властивостями. До їх складу входять вищі жирні кислоти, спирти, альдегіди, азотисті основи, амінокислоти, вуглеводи, фосфорна кислота тощо. Компоненти ліпідів мають різну довжину ланцюга, різний ступінь ненасиченості, різні функціональні групи, тому чітка класифікація ліпідів – відсутня, умовно вони поділяються на нейтральні, гліцерофосфоліпіди, сфінголіпіди. Наприклад, такі нейтральні жири як гліцериди, що утворюються під час етерифікації жирними кислотами гліцерину, їх найважливіші представники – холестерин та гліколіпіди, які накопичуються в жировій тканині.

Фосфоліпіди – це найбільша частина ліпідів, що входить у склад мембрани. Головні представники фосфоліпідів – фосфогліцириди й фосфатидні кислоти, які не відіграють значної структурної ролі, але виступають як вихідний продукт для синтезу інших фосфоліпідів. Сфінголіпіди – ациклічні аміноспирти з різною довжиною та конфігурацією вуглеводневих ланцюгів, а також різною кількістю подвійних зв'язків та гідроксильних груп (цераміди й сфінгозини).

Нейтральні жири відносять поряд з жироподібними речовинами (ліпоїдами) до класу ліпідів. До ліпідів відносять різні по своїй хімічній природі речовини, що мають загальну фізичну властивість: вони нерозчинні в воді, але розчиняються в органічних розчинниках (ефірі, хлороформі, ацетоні, толуолі і т. д.).

У воді ліпіди утворюють емульсії. Для цього їм необхідні емульгатори – речовини, гідрофобна частина молекул яких розчиняється в жирі, а гідрофільна – в воді, що протидіє (1) злипанню найдрібніших жирових крапель, які знаходяться в воді, і (2) розділенню водної і жирової фаз. Емульгаторами можуть бути солі жирних кислот (мила), жовчні кислоти і інші речовини.

Фізико-хімічні властивості жирів залежать від виду жирних кислот в їх складі. Чим більше в складі жирів ненасичених жирних кислот, тим нижчі їх $t_{\text{кип.}}$ і $t_{\text{плав.}}$. Такі жири відносяться до масел. Залишки ненасичених жирних кислот в складі жирів здатні до реакцій приєднання (H_2 , Br_2 , I_2)

галогенів.

Реакція приєдання галогенів використовується для відкриття ненасичених жирних кислот в складі жиру і для кількісного визначення наявних в них подвійних зв'язків.

Жири підлягають гідролітичному розщепленню з утворенням гліцерину і вільних жирних кислот. В організмі гідроліз жирів відбувається під впливом ферментів ліпаз, а поза організмом – за допомогою мінеральних кислот і лугів при нагріванні.

Жири – цінні продукти харчування оскільки виконують ряд життєво важливих функцій. Вони є найважливішим джерелом хімічної енергії. (при окисненні 1 г жиру виділяється 39 кДж енергії) і ендогенної води (при окисненні 100 г жиру утворюється 107,1 г води), що особливо важливо для тварин, які живуть у пустелях, або для гідробіонтів, що впадають у сплячку.

Ліпіди беруть участь в терморегуляції організму і захищають його від механічних ушкоджень. Вони є також добрими розчинниками багатьох органічних сполук, особливо жиророзчинних вітамінів А, Д, Е, К. Жири, які одержують з печінки тріскових риб, застосовують у медицині, як джерело вітамінів Д і А.

При фізіологічних умовах збільшення вмісту ліпідів у крові риб (гіперліпемія) спостерігається через 1-4 години після годування багатою жирами їжею. Під час голодування рівень загальних ліпідів знижується (гіполіпемія).

Гіперліпемія виявляється при багатьох патологічних станах гідробіонтів: при захворюваннях нирок (ліпоїдному нефрозі), при ураженні печінки (цирозі печінки і гострому гепатиті), при ожирінні.

Ряд складних ліпідів утворюють комплекси з білками, вуглеводами та іншими речовинами і таким чином входять до складу організму як пластичний матеріал. У процесі обміну речовин із ліпідів утворюються різні біологічно активні речовини: чоловічі і жіночі статеві гормони, жовчні пігменти.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Дослід 1. Розчинність жирів та утворення їх емульсій.

Хід роботи

В 6 пробірок приливають 2 краплі риб'ячого жиру або соняшникової олії і розчинів різних речовин об'ємом 1-2 см³ за схемою, яка наведена у таблиці 5.1:

Таблиця 5.1 – Схема досліду

Пробірки	1	2	3	4	5	6
Розчини:	бензол	хлороформ	KOH	Na ₂ CO ₃	мило	спирт
Результати: розвинні утворюють емульсії						

Розчини перемішують і спостерігають за розчинністю жиру та утворенням стійких емульсій. Результати досліду записують і роблять висновки.

Дослід 2. Відкриття ненасичених жирних кислот в жирі.

Хід роботи

В 2 пробірки приливають бромну воду об'ємом 1 см³. В першу додають 1-2 краплі риб'ячого або рослинного жиру, перемішують. Спостерігають за змінами. Друга пробірка слугує контролем. Результати досліду, рівняння реакції і висновок записують.

Дослід 3. Гідроліз жиру.

Хід роботи

В пробірку наливають риб'ячого жиру або рослинної олії об'ємом 2 см³ і рівний об'єм спиртового розчину з масовою часткою KOH 40%. Пробірку закривають пробкою з холодильником ставлять в кип'ячу водяну баню і тримають там до утворення однорідного розчину.

Результати досліду і рівняння реакції записують. В пробірку приливають 8-10 см³ води, збовтують і одержаний розчин використовують для визначення складових частин жиру.

Дослід 4. Відкриття в гідролізаті складових частин жиру.

Хід роботи.

A) Відкриття жирних кислот реакцією гідролізу.

В пробірку приливають 2 см³ розчину, отриманого в досліді 3, добавляють рівний об'єм сульфатної кислоти з масовою часткою 10% і опускають в водяну баню ($t = 100^{\circ}\text{C}$). Спостерігають за змінами.

Б) Відкриття гліцерину.

До 2 см³ гідролізату (дослід 4А) добавляють 10 крапель розчину з $\omega(\text{NaOH}) = 10\%$ і 1-2 краплі розчину з $\omega(\text{CuSO}_4) = 2\%$.

Записують рівняння реакції, спостереження і висновки.

**Питання для самостійної перевірки студентів
та завдання для захисту лабораторної роботи №5**

1. Які з перелічених тригліцеридів будуть знебарвлювати бромну воду: триолеїн, тристерин?
2. Напишіть формули слідуючих тригліцеридів:
 - а) тристеарина; б) трипальмітина; в) триолеїна.
3. Молекули нейтральних жирів можуть містити три різні жирні кислоти. Напишіть формули двох таких тригліцеридів.
4. Під впливом каталізатора (Ni) залишки ненасичених кислот, що в складі жиру приєднують водень в результаті такої гідрогенізації рідкі жири стають твердими. Напишіть рівняння гідрування:
 - а) олеодистеарина; б) диолеопальмітина.
5. Напишіть рівняння реакції гідролізу тристеарина в лабораторії під впливом мінеральних кислот і в організмі.
6. Обґрунтуйте фізіологічну роль ліпідів в життєдіяльності організму.
7. Як відбувається біосинтез жирних кислот в організмі?
8. Якою є будова холестеролу і його біологічна роль?
9. Як відбувається синтез холестеролу в організмі?
10. Опишіть зв'язок між обміном білків, ліпідів і вуглеводів.
11. Класифікація ліпідів.
12. Будова і властивості гліцеридів.
13. Перетравлення жирів і роль жовчі в цьому процесі.
14. Жовчні кислоти їх будова і біологічна роль.
15. Будова і властивості фосфатидів.
16. В яких розчинниках розчиняються ліпіди (вода, бензол, кислоти).
17. Який процес називають омиленням жирів?
18. Який показник характеризує ступінь ненасиченості жирних кислот?
19. Який показник характеризує вміст вільних жирних кислот в нейтральних жирах?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №6

Тема: «Обмін вуглеводів. Визначення глюкози в крові. Дослідження властивостей вуглеводів у гідробіонтів»

Мета: навчитися якісно розпізнавати вуглеводи, що належать до різних класів, опираючись на їх властивості; використовувати якісні реакції для їх розпізнавання та розділення; навчитися кількісно визначати вміст глюкози в крові; виявляти дію різних органічних та неорганічних речовин на вуглеводи.

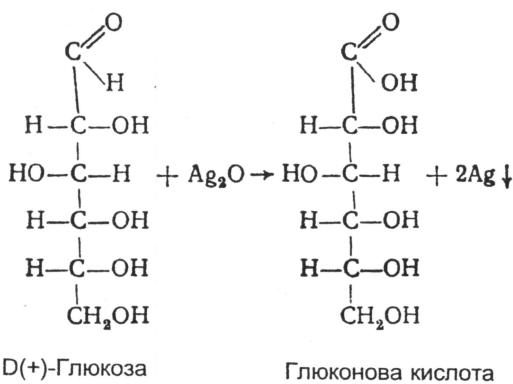
Теоретична частина

До вуглеводів відносять групу органічних сполук, що містять альдегідну або кетонну: групи та декілька спиртових груп. Загальна формула для всіх вуглеводів має вигляд $C_nH_{2n}O_n$. В залежності від складу, будови і властивостей вуглеводи поділяються на дві групи: прості і складні. Прості вуглеводи не піддаються гідролізу і їх відносять до моносахаридів. Складні вуглеводи при гідролізі розпадаються з утворенням простих вуглеводів. В залежності від числа моносахаридів, що входять в молекулу, вони розподіляються на олігосахариди і вищі полісахариди.

Моносахариди за хімічними властивостями можуть бути охарактеризовані як поліоксиальдегіди або поліоксикетони. В розчині вони існують як в циклічній, так і ациклічній формах, що переходят одна в одну. Хімічні властивості моносахаридів визначаються вільними карбонільними (альдегідною чи кетонною) і спиртовими групами, а також властивостями продукту їх взаємодії – напівацетального гідроксиду.

Олігосахариди, що розпадаються при гідролізі на два моносахариди, називаються дисахаридами. За будовою молекул всі дисахариди – це прості ефіри моносахаридів, що мають загальну емпіричну формулу $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Для всіх дисахаридів характерна реакція гідролізу. В розчинах вони проявляють властивості багатоатомних спиртів. Лактоза і мальтоза можуть існувати в циклічній і напівциклічній формах в розчині з вільною альдегідною групою, тому вони легко вступають в реакцію окиснення і відновлення. Сахароза існує тільки в циклічній формі і не вступає в реакції, що властиві альдегідній чи кетонній групам. Полісахариди – високомолекулярні органічні речовини, які побудовані із сотень-тисяч залишків моносахаридів або їх похідних, які пов'язані між собою. Розрізняють гомо- і гетерополісахариди. З перших найбільш важливе біологічне значення мають крохмаль, глікоген та клітковина. Вони побудовані з моносахаридних залишків одного виду (залишків глюкози).



До гетерополісахаридів відносять сполуки, що мають в своєму складі залишки різних моносахаридів. Вони входять до складу тканин і секретів організму. Найбільше значення для організму з цієї групи мають гепарин, гіалуррова кислота та хондроітінсірчана кислота. Основна роль вуглеводів в організмі – енергетична. При окисненні вуглеводів масою 10 г вивільнюється близько 41 кДж енергії. Однією з основних хімічних властивостей моносахаридів є їх здатність легко окиснюватись. При цьому вони відновлюють навіть такі дуже слабкі окиснювачі, як Ag_2O і $\text{Cu}(\text{OH})_2$. При окисненні альдегідної групи моносахаридів утворюються *альдонові кислоти*: При більш енергійному окисненні, коли окиснюється і первинна спиртова група, утворюються двоосновні оксикислоти, які мають загальну назву *альдарових кислот*. При такому окисненні глукоза перетворюється в глукарову (цукрову), галактоза – у галактарову (слизову) і маноза – у манонову (маносахарну) кислоти:

Моносахариди вступають у реакцію з кислотами, утворюючи складні ефіри. Деякі з них відіграють дуже важливу роль в обміні речовин. Особливо велике значення мають ефіри цукрів із фосфатною кислотою, так звані сахарофосфати, або фосфорні ефіри цукрів. Такі найважливіші процеси обміну речовин, як дихання, бродіння, синтез глікогену, крохмалю і багато інших, відбуваються за участі фосфорних ефірів цукрів. Найбільше значення мають фосфорні ефіри глукози, фруктози і рибози.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Дослід 1. Загальна реакція на вуглеводи з α -нафтоловом.

Хід роботи

Реакція з α -нафтоловом є чутливою реакцією на вуглеводи. Останні під впливом концентрованого розчину сульфатної кислоти (H_2SO_4) і спиртового розчину α -нафтолову утворюють забарвлений хіноїдну сполуку.

В 4 пробірки беруть по 1 см³ досліджуваних розчинів (глукози,

сахарози, мальтози, крохмалю), добавляють 2 краплі спиртового розчину з масовою часткою α -нафттолу, що дорівнює 10%, і дуже обережно, по стінці пробірки, не струшуючи, концентрованої сульфатної кислоти об'ємом 2 см³. Аналогічну реакцію проводять з розчином білка чи іншої сполуки.

Записати спостереження та висновки.

Дослід 2. Реакція з Фелінговою рідиною.

Цю реакцію використовують для ідентифікації відновлюючих цукрів: моносахаридів та деяких дисахаридів, молекули яких містять вільну карбонільну групу. Окислюючись в лужному середовищі, ці молекули відновлюють мідь (ІІ) в сполуках до міді (І) із зміною забарвлення.

Хід роботи

До розчинів глюкози, мальтози, сахарози, крохмалю об'ємом 1 см³ в окремих пробірках приливають по 1 см³ розчину Фелінга (мідний купорос перекристалізують і висушують: в І колбу на 1 дм³ беруть – 200 г сегнетової солі, 150 г гідроксиду натрію; в ІІ колбу на 1 дм³ беруть – 40 г мідного купоросу, потім однакові об'єми розчинів змішують перед роботою). Пробірки з розчинами нагрівають до початку кипіння.

Записати спостереження та висновки.

Дослід 3. Реакція Барфеда.

Дозволяє відкрити відновлюючі моносахариди при наявності відновлюючих дисахаридів. Реакцію слід проводити в середовищі, близькому до нейтрального, і уникати довгого кип'ятіння.

Хід роботи

До реактиву Барфеда (13,3 г ацетату міді розчиняють у 200 см³ гарячої води, фільтрують і додають 1,9 см³ льодяної оцтової кислоти) об'ємом 5 см³ в 3 пробірках добавляємо по 1 см³ розчинів глюкози, фруктози і мальтози. Пробірки з розчинами нагрівають на водяній бані на протязі 10 хвилин.

Записати спостереження та висновки.

Дослід 4. Реакція крохмалю і глікогену з йодом.

Комплекси йод-крохмалю і йод-глікогену в результаті відмінності в структурах останніх, мають різне забарвлення.

Хід роботи

До 2 пробірок з розчинами крохмалю і глікогену об'ємами по 3 см³ додаємо 1-2 краплі розчину Люголя (1 г йоду, 2 г йодиду калія розчиняють в 15 см³ води, потім доводять водою до 300 см³).

Спостереження. Висновки.

Дослід 5. Кількісне визначення глюкози у сироватці крові уніфікованим глюкозооксидазним методом

Глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню, який у присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназолом з утворенням хіононіміна червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично.

Хід роботи

З кожної пробірки із розведеним стандартним розчином глюкозооксидази беруть по 0,2 см³ розчину і додають по 2 см³ буферного розчину, перемішують або струшують. Витримують 12 хв. у термостаті або 20 хв. при температурі 20 °C. Через 20 хвилин вимірюють екстинцію кожної проби на ФЕК проти контрольного розчину (0,1 см³ 0,9% розчину хлориду натрію + 2,0 см³ буферного розчину) в кюветі товщиною 10 мм, довжина хвилі 540 нм – зелений фільтр).

За одержаними даними будують калібрувальний графік, де на вісі ординат – екстинція, на вісі абсцис – концентрація.

Беруть 2 пробірки – в одну наливають 0,1 см³ сироватки, що досліджується, в другу (контрольну) – 0,1 см³ розчину хлориду натрію. В обидві пробірки додають по 2 см³ буферного реактиву і струшують.

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою:

Відміряти в пробірку, см ³	Дослідна проба	
Розчин, що аналізують	0,04 (макро)	0,02(мікро)
Буферний розчин	4,00 (макро)	2,00 (мікро)

Через 20 хвилин вимірюють екстинцію (оптичну густину) розчину, що досліджується, на фотоелектроколориметрі в кюветі товщиною 10 мм, фільтр – зелений, проти контрольного розчину. Вміст глюкози у сироватці крові знаходять за калібрувальним графіком. Зробити необхідні розрахунки, побудувати графік, записати спостереження, зробити висновки.

**Питання для самостійної перевірки студентів
та завдання для захисту лабораторної роботи №6**

1. Напишіть реакції гідролізу сахарози і малтози, користуючись структурними формулами.
2. Якою буде реакція Феллінга з крохмалем і глікогеном?
3. Яку реакцію слід запропонувати для того, щоб пересвідчитись в повному гідролізі крохмалю до глюкози?
4. Які полісахариди є найбільш важливими для життєдіяльності людини і тварин?
5. Важливу роль в обміні вуглеводів відіграють фосфорні ефіри глюкози. Напишіть в циклічній формі формули:
 - а) глюкозо-1-фосфата, б) глюкозо-6-фосфата.
6. При бродінні дріжджового соку накопичується ефір фруктозо-1-фосфату, який є обов'язковим продуктом розкладу глюкози. Напишіть його формулу.
7. Напишіть фрагмент молекули крохмалю (4-5 ланцюга) і рівняння гідролізу до малтози.
8. Напишіть фрагмент (4-5 груп) молекул амілози, амілопектину і глікогену.
9. Яку класифікацію мають вуглеводи?
10. Біологічна роль вуглеводів в організмі гідробіонтів.
11. Вкажіть метод кількісного визначення глюкози в крові гідробіонтів.
12. Якісні реакції на вуглеводи.
13. Основні властивості вуглеводів.
14. Вплив на вуглеводи а-нафттолу, кислот, солей, йоду.
15. Які вуглеводи мають найбільше значення для організму?
16. Як впливає недостача вуглеводів на життєдіяльність гідробіонтів?
17. Які ви знаєте продукти окиснення вуглеводів?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №7

Тема: «Визначення загальних властивостей ферментів»

Мета: вивчити властивості ферментів: відношення ферментів до нагрівання, специфічність їх дії та вплив інгібіторів і катализаторів на активність ферментів.

Теоретична частина

Ферменти є високоспеціалізованим класом речовин білкової природи, що виконують функцію біологічних катализаторів. Завдяки ферментам обмін речовин у живому організмі протікає з великою швидкістю при звичайній температурі тіла і без участі сильнодіючих хімічних реагентів. Вони є основою молекулярних механізмів процесу обміну речовин – важливої властивості живого організму. Механізм дії ферментів зводиться до зниження енергетичного бар'єру, зменшення енергії активації, завдяки чому швидкість хімічної реакції значно прискорюється.

Характерними властивостями ферментів є:

- 1) термолабільність, температурний оптимум дії;
- 2) залежність активності від значення pH;
- 3) специфічність дії (абсолютна і відносна);
- 4) зміна активності під дією активаторів і інгібіторів.

Ферменти – термолабільні сполуки. Це означає, що під дією високих температур вони як і білки денатурують. Спочатку при підвищенні температури активність їх різко знижується, потім зовсім припиняється. При 80 °C ферменти руйнуються. Виняток становлять лише окремі ферменти, що витримують температуру 100 °C і при цьому не руйнуються. За низьких температур (нижче 0 °C) ферменти припиняють свою дію, але не руйнуються. Для більшості ферментів людини і ссавців оптимальною температурою дії є 37-40 °C, для риб 20-20 °C.

Таким чином, чутливість до температури – характерна властивість ферментів, що пояснюється їх білковою природою.

Кожний фермент проявляє свою максимальну дію при відповідній концентрації водневих іонів, тобто при певному значенні pH, яке одержало назву *pH-оптимуму*. Для більшості ферментів людини і ссавців оптимальне значення pH знаходиться в слабо-кислому або слаболужному середовищі. Проте відомі ферменти, що проявляють максимальну активність при pH = 1,5 – 2,5 (наприклад, пепсин шлункового соку) і при pH = 8,00 (наприклад, хімо-трипсин дванадцятипалої кишki).

Зміна каталітичної активності ферменту за різних значень pH пояснюється в першу чергу зміною тієї просторової конфігурації, за якої

проявляються його каталітичні властивості.

Однією з найважливіших особливостей, що відрізняє ферменти від інших каталізаторів, є висока *специфічність* їх дії. Вона полягає в тому, що кожний фермент діє на певну речовину (субстрат) або на декілька близьких за своєю хімічною структурою речовин. Залежно від того, може фермент каталізувати одну реакцію (діяти тільки на одну речовину) чи декілька (діяти на групу близьких за будовою речовин), розрізняють *абсолютну і відносну специфічність*. Прикладом абсолютно специфічного ферменту може бути фермент уреаза, який розщеплює сечовину на вуглекислий газ та амоніак. Навіть на таку близьку до сечовини речовину, як тіосечовина, уреаза вже не діє. Більшість ферментів має відносну специфічність. До таких ферментів належать естерази, які розщеплюють ефірні зв'язки, протеолітичні ферменти травного каналу, що розщеплюють пептидні зв'язки в білкових молекулах, ліпази та ін.

Ферменти прискорюють перебіг хімічних реакцій як убік розщеплення якоїсь речовини, так і вбік її синтезу, тобто діють в обох напрямках.

Крім температури і значення pH, на активність ферментів впливає ще цілий ряд чинників, серед яких велике значення має концентрація субстрату. За малих концентрацій субстрату реакція відбувається з малою швидкістю, з підвищеннем концентрації швидкість реакції поступово зростає і за певних значень стає постійною. Відбувається процес так званого насичення ферменту субстратом. Подальше збільшення концентрації субстрату призводить до уповільнення реакції. Велике значення для швидкості реакції має і концентрація самого ферменту. За оптимальної концентрації речовини швидкість реакції прямо пропорційна концентрації ферменту в розчині.

На активність ферментів впливають хімічні сполуки, що знаходяться в реакційній системі. Одні з них підвищують активність ферментів і називаються *активаторами*. Ними можуть бути катіони металів і аніони кислот: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cl^- і ін. Активаторами ферментів можуть бути також органічні речовини. Наприклад, ліпаза підшлункової залози, яка розщеплює жири, активується жовчними кислотами. Відомі випадки, коли активність ферментів підвищується при додаванні до розчину невеликих кількостей білків, які самі по собі не мають властивостей ферментів.

Речовини, що знижують активність ферментів, називаються *інгібіторами*. До них відносять, наприклад, катіони важких металів.

За єдиною класифікацією і номенклатурою розрізняють 6 класів ферментів. В основі класифікації – типи хімічних реакцій, які відбуваються в організмі і які вони каталізують.

Класи ферментів: 1. Оксидоредуктази (каталізують окисно-відновні процеси). 2. Трансферази (прискорюють реакції перенесення окремих

атомів і груп атомів від одних субстратів до інших). **3.** Гідролази (кatalізують гідролітичні реакції). **4.** Ліази. **5.** Ізомерази. **6.** Лігази.

В період онтогенезу ферментативна активність може підвищуватися чи падати. Ферменти адаптуються до особливостей обміну речовин і функцій організму в різні періоди життя. Ця здатність ферментів лежить в основі пристосування реакцій організму на дію різних факторів.

Ферментативні системи в організмі здатні до адаптації. Під впливом активних фізичних навантажень збільшується, зокрема, активність і вміст оксидоредуктаз і лігаз.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Дослід 1. Термолабільність ферментів.

Ферменти відрізняються від неорганічних катализаторів здатністю руйнуватись при нагріванні. Це явище зберігати активність лише в певному інтервалі температур носить назву термолабільності.

Хід роботи

В 2 пробірки налити по 15 крапель слизу (джерело ферменту амілази), розведеної в 5 раз водою. В одній пробірці розчин слизу прокип'ятити на протязі 2-3 хвилин і охолодити під струменем холодної води, а в іншій залишити без змін. В обидві пробірки додати по 10 крапель розчину крохмалю (1%), перемішати і залишити при кімнатній температурі. Через 5 хвилин провести реакцію, характерну на крохмаль. Спостерігати за змінами. Написати рівняння реакції і зробити висновок.

Дослід 2. Специфічність дії ферментів.

Хід роботи

В одну пробірку внести 10 крапель розчину крохмалю (1%), а в іншу – 10 крапель розчину сахарози (1%). В обидві пробірки внести по 5 крапель розведеної в 5 раз слизу. Пробірки поставити на 10 хвилин в термостат ($t = 40^{\circ}\text{C}$). Після цього в обох пробірках проробити реакції Феллінга із реагентом Люголя і переконатись, в якій з пробірок відбулося розщеплення крохмалю.

Спостереження записати в таблицю 7.1. Зробити висновки.

Таблиця 7.1 – Результати спостережень

№ пробірок	№ 1	№ 2
Вміст пробірок	крохмаль слина	сахароза слина
Реактив Феллінга		
Реактив Люголя		

Дослід 3. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази сини.

Виконати дослід за схемою. Записати спостереження у таблицю 7.2. та зробити висновки.

Таблиця 7.2 – Схема досліду

Реактиви	Пробірка			примітки
	1	2	3	
$\text{H}_2\text{O}_{\text{дист.}}, \text{ см}^3$	10	8	8	
(NaCl , H_2O), 1%, см^3	-	2	-	
(CuSO_4 , H_2O), 1%, см^3	-	-	2	
Розчин сини, см^3	10	10	10	перемішати
Розчин крохмалю, 1%, см^3	5	5	5	перемішати, тримати 5 хв.
Розчин йоду, краплі	1-2	1-2	1-2	

Дослід 4. Кількісне визначення амілази сини за Вольтгеймутом.

Цей метод ґрунтуються на визначенні мінімальної кількості ферментів, що здатна за певних умов (38°C , 30 хвилин) розщепити певну кількість крохмалю. Активність амілази виражают у кількості субстрату (крохмалю), що розщеплюється 1 см^3 сини за певний проміжок часу (30 хвилин).

Хід роботи.

В десять пронумерованих пробірок налити по 1 см^3 0,85% хлориду натрію: в першу – додають 1 см^3 сини, розведеної в 10 разів водою. Перемішують вміст першої пробірки шляхом трикратного втягування піпеткою рідини з пробірки і наступного випускання з піпетки, 1 см^3 отриманого розчину переносять з першої пробірки в другу. Перемішують у такий же спосіб вміст другої пробірки і переносять 1 см^3 із другої пробірки в третю і т. п. З десятої пробірки 1 см^3 рідини виливають як зайвий.

Далі наливають в усі 10 пробірок (починаючи з десятої) – по 2 см³ 0,1% розчину крохмалю і перемішують вміст кожної пробірки. Одночасно поміщають кожну пробірку в нагріту до 45 °С водяну баню. Через 15 хвилин виймають пробірки з бані, швидко охолоджують їх струменем холодної води, перемішують вміст кожної пробірки і ставлять їх в штатив.

Додають у кожну пробірку по 2 краплини йоду, перемішують і відзначають ту пробірку, у якій немає синього відтінку.

Питання для самостійної перевірки студентів та завдання для захисту лабораторної роботи №7

1. Наведіть приклади абсолютної та відносної специфічності ферменту.
2. Яку дію мають на ферменти солі важких металів і міцні мінеральні кислоти?
3. Напишіть схему дегідрування молочної кислоти в присутності ферментів класу оксидоредуктаз (лактатдегідрогенази).
4. Ферменти гексокінази каталізують перенос фосфатної групи, напишіть повне рівняння реакції:



5. Фермент уреаза гідролізує сечовину, утворюючи CO₂ і NH₃. Напишіть рівняння цієї реакції.
6. Фермент амінопептидаза гідролізує ди- і три- пептиди, відщеплюючи N-кінцевий залишок. Напишіть формулу будь-якого трипептида і реакцію його гідролізу.
7. Напишіть рівняння реакції гідролізу крохмалю.

8. Фермент фосфофруктокіназа каталізуює перетворення:

Фруктозо-1-фосфат + АТФ → фруктозо-1,6-дисфосфат + АДФ;
напишіть повне рівняння реакції.

9. Класифікація ферментів.
10. Як виділяють і очищують ферменти?
11. Які методи класичного визначення ферментів ви знаєте?
12. Які ферменти відносяться до групи окислюально-відновних?
13. Який оптимум pH має фермент пепсин (1-2, або 4-5, або 6-7)?
14. Який оптимум pH має фермент амілаза (1-2, або 7-8, або 4-5)?
15. При якій температурі ферменти денатурують?
16. В чому полягає специфічність дії ферментів?
17. Що таке термолабільність ферментів?
18. Як визначають кількість амілази ?
19. Які умови є оптимальними для ферментів?
20. Що покладено в основу класифікації ферментів? Наведіть приклад.

Порядок оформлення результатів лабораторних робіт з розділу «Біохімія гідробіонтів» та формулювання висновків.

Результати проведених дослідів, отримані під час виконання лабораторної роботи, є базою як для безпосереднього аналізу, так і для подальших розрахунків, які підтверджують вірність теоретичних положень.

Порядок оформлення звіту, його представлення і захист.

- Найменування лабораторної роботи;
- Мета лабораторної роботи;
- Короткий опис принципу методу дослідження з приведенням хімічних рівнянь;
- Реактиви, хімічний посуд та прилади, що застосовують;
- Короткий опис ходу виконання дослідження;
- Розрахунок;
- Висновок.

Для захисту лабораторної роботи необхідно вміти відповідати на контрольні запитання та вирішувати завдання, наведені у методичних вказівках в кінці кожного розділу.

Виконавши лабораторну роботу та самостійно попрацювавши над «контролюючою програмою», студент, з одного боку, ознайомиться з характером питань по даній темі, з іншого боку – добре підготується до модульної контрольної роботи із цього розділу.

ЛІТЕРАТУРА

Основна

1. Пелешенко В.І., Хільчевський В.К. Загальна гідрохімія: підручник / К.: Либідь, 1997. 384 с.
2. Алекин О.А. Основы гидрохимии. / Л., 1970. 307 с.
3. Горєв Л.М. та інш. Гідрохімія України: підручник. / Київ.: Вища школа, 1995. 267 с.
4. Алекин О.А., А.Д. Семенов, Б.А. Скопинцев. Руководство по химическому анализу вод суши. / Л.: Гидрометеоиздат. 1973. 270 с.
5. Унифицированные методы анализа вод. Под общей редакцией д.х.н., проф. Ю.Ю. Лурье. / М.: 1973. 375 с.
6. Березов Т.Т. Биологическая химия. / М.: Высшая школа, 1982. 275 с.
7. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: учебное пособие для вузов. / М.: Медицина, 1998. 704 с.
8. Кизеветтер Н.В. Биохимия сырья водного происхождения. / М.: Пищ. Пром-ть, 1978. 422 с.
9. Кнорре Д.Г., Музина С.Д. Биологическая химия. Учебник. / М.: Высшая школа., 2003. 279 с.
10. Склярів О.Я. Практикум з біологічної хімії. / К.: Здоров'я, 2002. 297 с.
11. Шевряков М.В., Яковенко Б.В., Явоненко О.Ф. Практикум з біологічної хімії. Навчально-методичний посібник. / Суми: ВТД «Університетська книга», 2003. 204 с.
12. Сайт бібліотеки ОДЕКУ: www.library-odeku.16mb.com

Додаткова

13. Никаноров А.М. Гидрохимия: учебник. / Л., Гидрометеоиздат, 1989. 351 с.
14. Глинка Н.Л. Общая химия (Раздел «Вода. Растворы»). / М: КНОРУС, 2011. 752 с.
15. Глинка Н.Л. Задачи и упражнения по общей химии (Раздел «Растворы»). / Л.: Химия, 1988. 264 с.
16. Федорова Г.В. Конспект лекцій «Гідрохімія і методи гідрохімічних досліджень». / Дніпропетровськ: «Економіка», 2006. 79 с.
17. Справочник по гидрохимии. Под ред. А.М. Никанорова. / Л.: 1989. 391 с.
18. Біологічна хімія з основами фізичної і колоїдної хімії /Лабораторно-практичні заняття. /Д.О.Мельничук, П.В.Усатюк, М.І. Цвіліховський. / К: 1998. 147 с.
19. Боєчко Ф.Ф. Біологічна хімія. / К.: Вища школа, 1989. 407 с.
20. Горячковский А.И.Справочное пособие по клинической биохимии. / Одеса: ОКФА, 1994. 415 с.
21. Губський Ю.І. Біологічна хімія. Підручник. / Київ-Тернопіль:

- Укрмедкнига, 2000. 508 с.
- 22. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. / М.: Просвещение, 1987. 815 с.
 - 23. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии /Под ред. Т.Т.Березова. / М.: Медицина, 1976. 294 с.

Додаток 1 – Константи дисоціації деяких слабких електролітів (T = 298)

Назва	Формула	K _д	pK = - lg K _д	
Нітритна кислота	HNO ₂	6,9·10 ⁻⁴	3,16	
Борна кислота	H ₃ BO ₃	7,1·10 ⁻¹⁰	9,15	
Германієва кислота	K ₁	7,9·10 ⁻¹⁰	9,10	
	K ₂	2,0·10 ⁻¹³	12,7	
Селенідна кислота	K ₁	1,3·10 ⁻⁴	3,89	
	K ₂	1,0·10 ⁻¹¹	11,0	
Сульфітна кислота	K ₁	1,4·10 ⁻²	1,85	
	K ₂	6,2·10 ⁻⁸	7,20	
Сульфідна кислота	K ₁	1,0·10 ⁻⁷	6,99	
	K ₂	2,5·10 ⁻¹³	12,60	
Карбонатна кислота	K ₁	4,5·10 ⁻⁷	6,35	
	K ₂	4,8·10 ⁻¹¹	10,32	
Оцтова кислота	CH ₃ COOH	1,74·10 ⁻⁵	4,76	
Метафосфатна кислота	K ₁	3,1·10 ⁻²	1,51	
	K ₂	1,6·10 ⁻⁷	6,79	
Ортофосфатна кислота	K ₁	7,5·10 ⁻³	2,12	
	K ₂	6,3·10 ⁻⁸	7,20	
	K ₃	1,3·10 ⁻¹²	11,89	
Силікатна кислота	K ₁	2,2·10 ⁻¹⁰	9,66	
	K ₂	1,6·10 ⁻¹²	11,80	
Гіпохлоритна кислота	HClO	2,95·10 ⁻⁸	7,53	
Ціанідна кислота	HCN	5,0·10 ⁻¹⁰	9,30	
Фторидна кислота	HF	6,6·10 ⁻⁴	3,18	
Алюмінію гідроксид	K ₃	Al(OH) ₃	1,38·10 ⁻⁹	8,86
Амоніаку розчин (амонію гідроксид)		H ₃ N + H ₂ O NH ₄ OH	1,76·10 ⁻⁵	4,755
Феруму (II) гідроксид	K ₂	Fe(OH) ₂	1,3·10 ⁻⁴	3,89
Феруму (III) гідроксид	K ₂	Fe(OH) ₃	1,82·10 ⁻¹¹	10,74
	K ₃		1,35·10 ⁻¹²	11,87
Магнію гідроксид	K ₂	Mg(OH) ₂	2,5·10 ⁻³	2,6
Мангану (II) гідроксид	K ₂	Mn(OH) ₂	5,0·10 ⁻⁴	3,30
Плюмбуму (II) гідроксид	K ₁	Pb(OH) ₂	9,55·10 ⁻⁴	3,02
	K ₂		3,0·10 ⁻⁸	7,52
Аргентуму гідроксид		AgOH	5,0·10 ⁻³	2,30
Цинку гідроксид	K ₂	Zn(OH) ₂	4,0·10 ⁻⁵	4,4

**Додаток 2 – Константи дисоціації деяких сильних електролітів
(для T = 298 K)**

Назва	Формула	Константа дисоціації
Нітратна кислота	HNO ₃	43,6
Бромидна кислота	HBr	10 ⁹
Йодидна кислота	HI	10 ¹¹
Хлоридна кислота	HCl	10 ⁷
Сульфатна кислота	H ₂ SO ₄	K _{d1} =10 ³ ; K _{d2} =10 ⁻²
Перманганатна кислота	HMnO ₄	10 ⁷

Додаток 3 – Константи дисоціації та pH деяких кислот

Кислота (донор протона)	K_d, M	pH
HCOOH (мурашина кислота)	1,78·10 ⁻⁴	3,75
CH ₃ COOH (оцтова кислота)	1,74·10 ⁻⁵	4,76
CH ₃ CH ₂ COOH (пропіонова кислота)	1,35·10 ⁻⁵	4,87
CH ₃ CH(OH)COOH (молочна кислота)	1,38·10 ⁻⁴	3,86
H ₃ PO ₄ (фосфатна кислота)	7,25·10 ⁻³	2,14
H ₂ PO ₄ ⁻ (дигідрофосфат-іон)	1,38·10 ⁻⁴	6,87
HPO ₄ ²⁻ (гідрофосфат-іон)	3,98·10 ⁻¹³	12,4
H ₂ CO ₃ (карбонатна кислота)	1,7·10 ⁻⁴	3,77
HCO ₃ ⁻ (гідрокарбонат-іон)	6,31·10 ⁻¹¹	10,2

Додаток 4 - Добуток розчинності деяких малорозчинних електролітів при 25°C

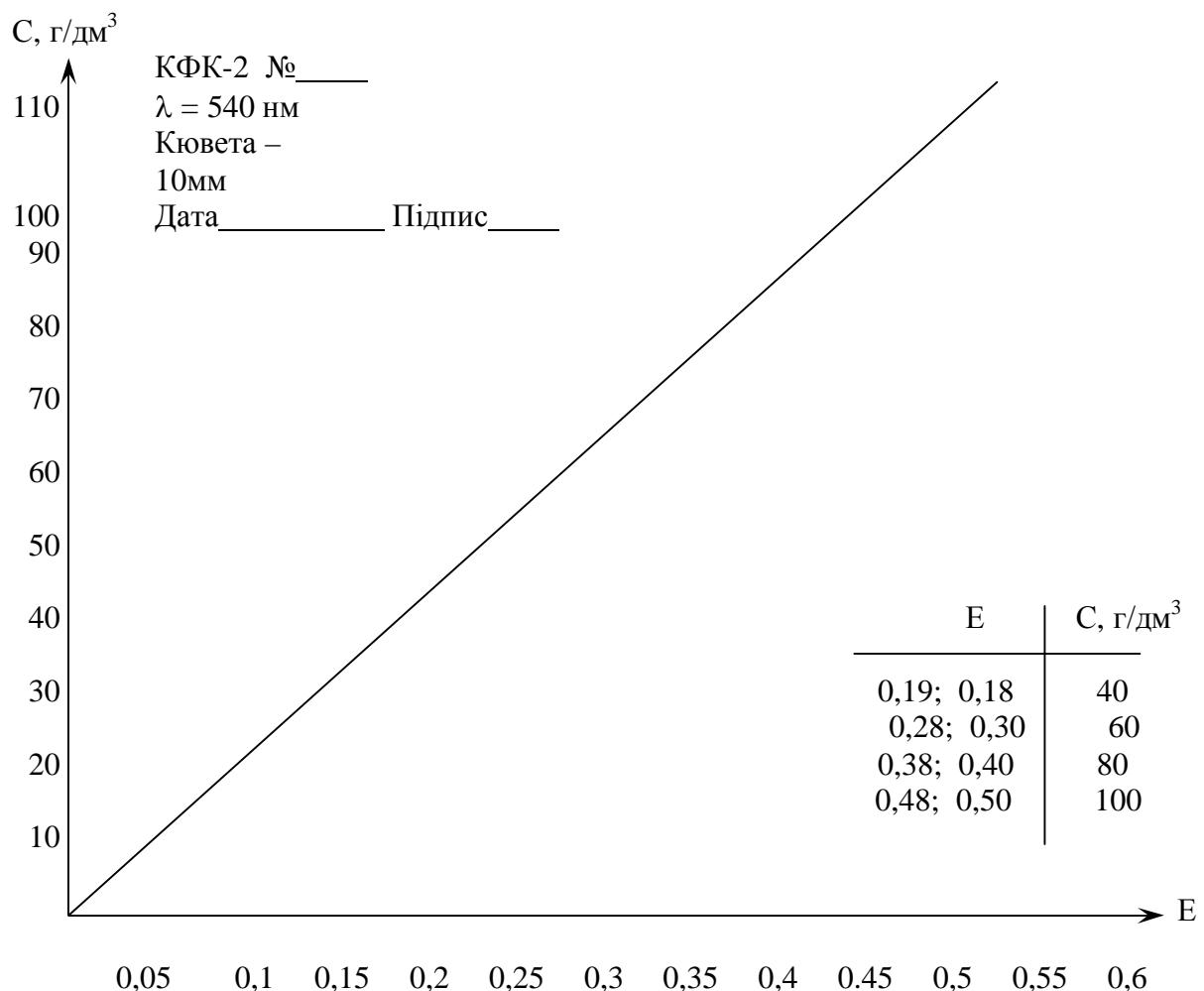
Формула електроліту	ДР	Формула електроліту	ДР
AgBr	6×10^{-13}	Cu(OH) ₂	$2,2 \times 10^{-20}$
AgCl	$1,8 \times 10^{-10}$	CuS	6×10^{-36}
Ag ₂ CrO ₄	4×10^{-12}	Fe(OH) ₂	1×10^{-15}
AgI	$1,1 \times 10^{-16}$	Fe(OH) ₃	$3,8 \times 10^{-38}$
Ag ₂ S	6×10^{-50}	FeS	5×10^{-18}
Ag ₂ SO ₄	2×10^{-5}	HgS	$1,6 \times 10^{-52}$
BaCO ₃	5×10^{-9}	MnS	$2,5 \times 10^{-10}$
BaCrO ₄	$1,6 \times 10^{-10}$	PbBr ₂	$9,1 \times 10^{-6}$
BaSO ₄	$1,1 \times 10^{-10}$	PbCl ₂	2×10^{-5}
CaCO ₃	5×10^{-9}	PbCrO ₄	$1,8 \times 10^{-14}$
CaC ₂ O ₄	2×10^{-9}	PbI ₂	8×10^{-9}
CaF ₂	4×10^{-11}	PbS	1×10^{-27}
CaSO ₄	$1,3 \times 10^{-4}$	PbSO ₄	$1,6 \times 10^{-8}$
Ca ₃ (PO ₄) ₂	1×10^{-29}	SrSO ₄	$3,2 \times 10^{-7}$
Cd(OH) ₂	2×10^{-14}	Zn(OH) ₂	1×10^{-17}
CdS	$7,9 \times 10^{-27}$	ZnS	$1,6 \times 10^{-24}$

Додаток 5 - Класи органічних сполук та характерні для них функціональні групи (R₁ і R₂ – вуглеводневі ланцюги, до яких приєднані функціональні групи)

Сімейство	Будова	Функціональна група
Спирти	$R_1-\boxed{OH}$	гідроксильна
Альдегіди	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C} \\ \diagup \\ \text{H} \end{array}}$	альдегідна
Кетони	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C} \\ \diagup \\ \text{O} \\ \diagdown \\ \text{R}_2 \end{array}}$	карбонільна
Кислоти	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C} \\ \diagup \\ \text{OH} \\ \diagdown \end{array}}$	карбоксильна
Аміни	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{N} \\ \diagup \\ \text{H} \\ \diagdown \\ \text{H} \end{array}}$	аміногрупа
Аміди	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C} \\ \diagup \\ \text{NH}_2 \end{array}}$	амідогрупа
Прості ефіри	$R_1-\boxed{O}-R_2$	ефірна
Складні ефіри	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C} \\ \diagup \\ \text{O} \\ \diagdown \\ \text{O} \end{array}}-R_2$	складноефірна

Додаток 6 – Калібрувальний графік

Визначення загального білка крові біуретовим методом.



Додаток 7 – АМІНОКИСЛОТИ

1. АЛІФАТИЧНІ АМІНОКИСЛОТИ:

А) МОНОАМІНОКАРБОНОВІ КИСЛОТИ

ГЛІЦИН –	NH ₂ –CH ₂ –COOH
АЛАНІН –	CH ₃ –CH(NH ₂)–COOH
СЕРИН –	CH ₂ OH–CH(NH ₂)–COOH
ЦИСТЕЇН –	CH ₂ (SH)–CH(NH ₂)–COOH
ЦИСТИН –	S ₂ [CH ₂ CH(NH ₂)–COOH] ₂
МЕТИОНІН –	CH ₂ (SCH ₃)–CH ₂ –CH–(NH ₂)–COOH
ТРЕОНІН –	CH ₃ –CH–(OH)CH(NH ₂)–COOH
ВАЛІН –	(CH ₃) ₂ –CH=CH–(NH ₂)–COOH
НОРВАЛІН –	CH ₃ –CH ₂ –CH ₂ –CH(NH ₂)–COOH
ЛЕЙЦИН –	(CH ₃) ₂ –CH–CH ₂ –CH(NH ₂)–COOH
ІЗОЛЕЙЦИН –	CH ₃ –CH ₂ –CH(CH ₃)–CH(NH ₂)–COOH
НОРЛЕЙЦИН –	CH ₃ –(CH ₂) ₃ –CH(NH ₂)–COOH

Б) МОНОАМІНОДИКАРБОНОВІ КИСЛОТИ

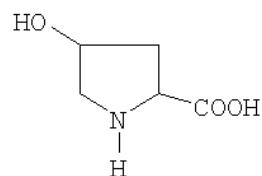
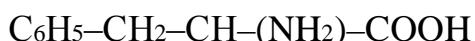
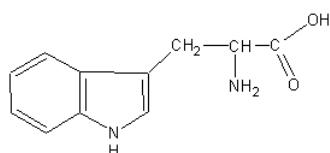
АСПАРАГІНОВА –	HOOC–CH ₂ –CH(NH ₂)–COOH
ГЛУТАМИНОВА –	HOOC–(CH ₂) ₃ –CH(NH ₂)–COOH

В) ДІАМІНОКАРБОНОВІ КИСЛОТИ

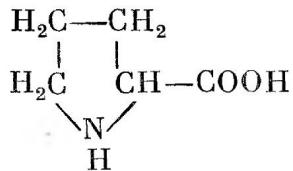
ЛІЗИН –	H ₂ N–CH ₂ –(CH ₂) ₃ –CH–NH ₂ –COOH
АРГІНІН –	H ₂ NS(=NH)–NH(CH ₂) ₃ –CH(NH ₂)–COOH
ОРНІТИН –	H ₂ N–CH ₂ (CH ₂) ₂ –CH(NH ₂)–COOH
ЦИТРУЛІН –	H ₂ NC(=O)NH(CH ₂) ₃ CH(NH ₂)–COOH

2. ЦИКЛІЧНІ АМІНОКИСЛОТИ

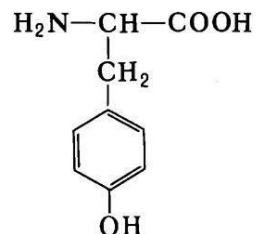
А) ФЕНІЛАЛАНІН



Б) ТРИПТОФАН



В) ГІСТИДИН

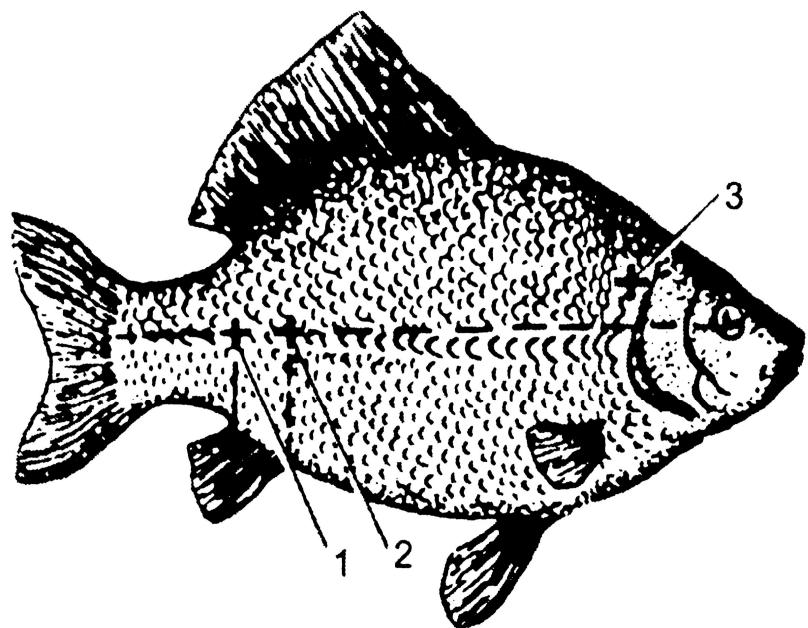


Г) ОКСИПРОЛІН

Д) ПРОЛІН

Е) ТИРОЗИН

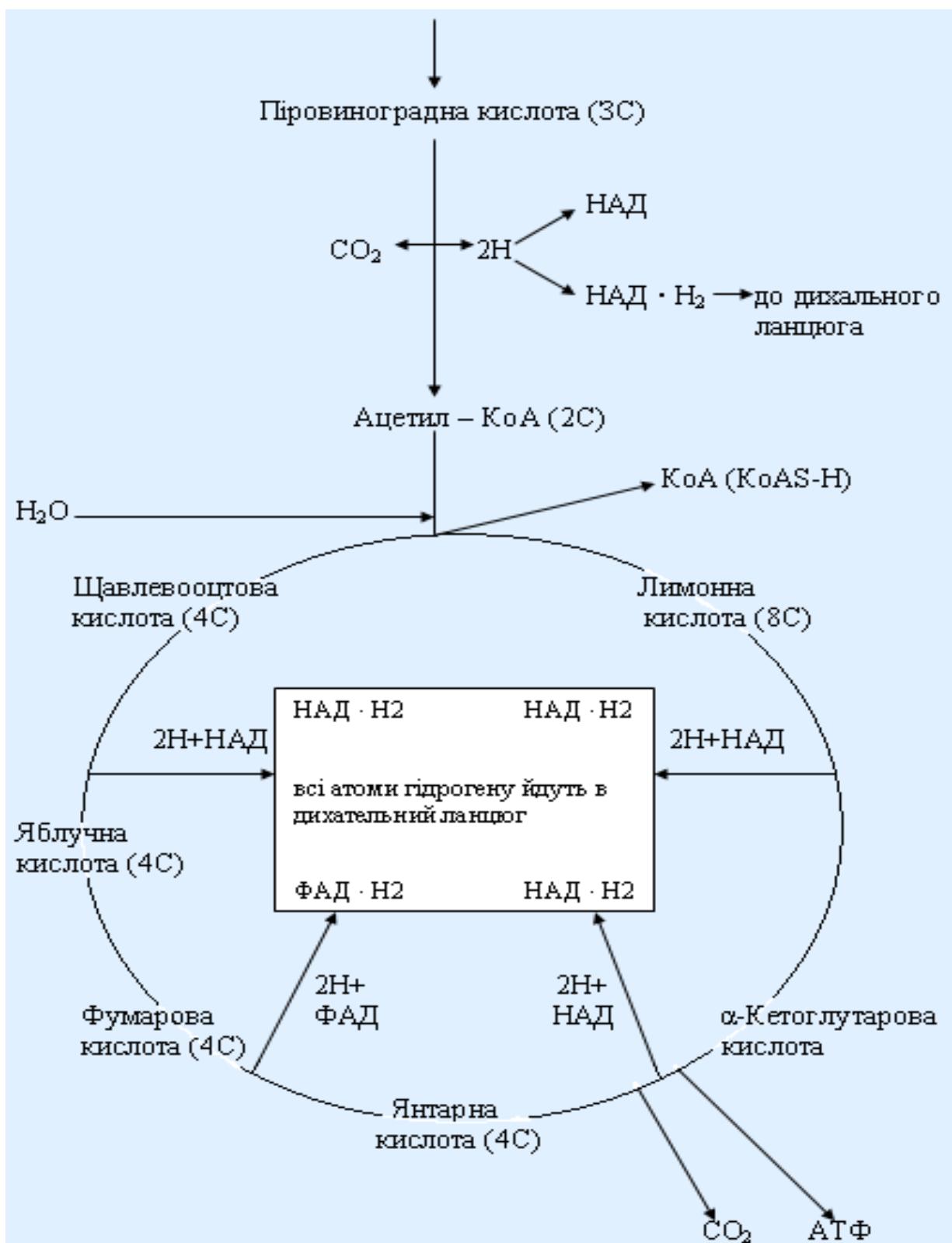
Додаток 8 – Методика взяття крові



Місця взяття крові у риб:

1, 2 - з хвостової артерії; 3 - із зябрової артерії

Додаток 9 – Спрощена схема циклу Кребса



Додаток 10

ПЕРІОДИЧНА СИСТЕМА ЕЛЕМЕНТІВ Д.І. МЕНДЕЛЕЄВА

ПЕРІОД	І	ІІ	ІІІ	ІV	V	VI	VII	ІІІ	ІІІІ	ІІІІІ	ІІІІІІ
1	H 1 Гідроген Водень										
2	Li 3 Літій	Be 4 Берилій	B 5 Бор	C 6 Карбон Вуглець	N 7 Нітроген Азот	O 8 Оксиген Кисень	F 9 Флуор Фтор	Ne 10 Неон	Fe 26 Ферум Залозо	He 4,0026 Гелій	Протонне число (порядковий номер)
3	Na 11 Натрій	Mg 12 Магній	Al 13 Алюміній	Si 14 Сіліций	P 15 Фосфор	S 16 Сульфур Сірка	Cl 17 Хлор	Ar 18 Аргон	Ar 26 Ферум Залозо	Хімічний символ	Транспільна назва простої речовини
4	K 19 Калій	Ca 20 Кальцій	Sc 21 Скандій	Ti 23 Титан	V 24 Ванадій	Cr 25 Хром	Mn 26 Манган	Fe 27 Ферум Залозо	Co 28 Кобальт	He 4,0026 Гелій	Назва елемента
5	Cu 30 Купрум Мідь	Zn 31 Цинк	Ga 32 Германій	Ge 33 Германій	As 33 Арсен	Se 34 Селен	Br 35 Бром	Kr 36 Криптон	Ru 45 Родій	Rh 46 Родій	Pd 106,42 Паладій
6	Rb 37 Рубій	Sr 38 Строній	Y 39 Ітрій	Zr 41 Цирконій	Nb 42 Ніобій	Mo 43 Молібден	Tc 44 Технецій	Ru 45 Рутений	Os 77 Оsmій	Ir 78 Іridій	Pt 195,08 Платина
7	Ag 48 Аретум Срібло	Cd 49 Кадмій	In 50 Станум Олов'я, ціна	Sn 50 Стибій	Hf 51 Гафній	Te 52 Телур	I 53 Іод Йод	Xe 54 Ксенон	Rh 86 Радон	Rn 86 Радон	
8	Cs 55 Цезій	Ba 56 Барій	*La 57 Лантан	Hf 72 Лантан	Ta 73 Тантал	W 75 Вольфрам	Re 76 Реній	Os 77 Реній	Hn 109 Ганій	Mt 110 Майтнерій	UuU 58,69 Унунуній
9	Au 80 Аурум Золото	Hg 81 Меркурій Ртуть	Tl 82 Талій	Pb 82 Піномбум Свинець, оліво	Bi 83 Бісмут	Po 84 Полоній	At 85 Астат	Rn 86 Радон			
10	Fr 87 Францій	Ra 88 Радій	**Ac 104 Актиній	Db 105 Дубній	Jl 106 Джолготій	Rf 107 Резерфордій	Bh 108 Борній	Hn 109 Ганій	Mt 109 Майтнерій	UuU 58,69 Унунуній	
11	Ce 59 Церій	Pr 60 Прасеодієм	Nd 61 Неодім	Pm 62 Прометій	Sm 63 Самарій	Eu 64 Европій	Dy 66 Гадолій	Tb 66 Тербій	Er 68 Ербій	Yb 71 Ітербій	Lu 71 Люсій
12	Th 91 Торій	Pa 92 Протактій	U 93 Уран	Np 94 Нептуній	Pu 95 Плутоній	Am 96 Амерітій	Cm 97 Кюрій	Bk 98 Беркелій	Fm 100 Фермій	Md 102 Мендельєвій	Lr 103 Люренсій

Додаток 11

Таблиця 1 – Розчинність солей та основ у воді

О. А Н І ІІ ІІІ ІІІІ	K ⁺	Катіони																			
		Na ⁺	NH ₄ ⁺	Ba ²⁺	Sr ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	Cr ³⁺	Fe ³⁺	Mn ²⁺	Zn ²⁺	Ni ²⁺	Co ²⁺	Ag ⁺	Hg ²⁺	Cu ²⁺	Cd ²⁺	Pb ²⁺	Bi ³⁺	Sn ²⁺
OH ⁻	P	P	P	P	P	P	P	H	H	H	H	BP	H	H	H	H	H	H	H	H	H
F ⁻	P	P	P	BP	BP	BP	BP	H	BP	BP	BP	P	P	P	-	BP	BP	H	H	P	
Cl ⁻	P	P	P	P	P	P	P	BP	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	BP	-	P
Br ⁻	P	P	P	P	P	P	P	BP	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	BP	-	P
I ⁻	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	BP	H	P
S ²⁻	P	P	P	P	P	P	P	BP	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
SO ₃ ²⁻	P	P	P	H	H	H	BP	-	-	H	-	H	H	-	H	-	H	H	-	H	-
SO ₄ ²⁻	P	P	P	H	BP	BP	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	BP	P	P	
PO ₄ ³⁻	P	P	P	H	H	H	BP	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-
CrO ₄ ²⁻	P	P	P	H	BP	P	P	-	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
CO ₃ ²⁻	P	P	P	H	H	H	-	-	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	-
NO ₃ ⁻	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	-
NO ₂ ⁻	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	-
CH ₃ COO ⁻	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	-
SiO ₃ ²⁻	P	P	-	H	H	H	-	H	H	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітка: Р – розчинні у воді; ВР – важкорозчинні (малорозчинні); Н – практично нерозчинні; “–“ риска означає, що речовина не існує або розкладається водою.

ЗБІРНИК МЕТОДИЧНИХ ВКАЗІВОК
до лабораторних робіт

з дисципліни «Гідрохімія та біохімія гідробіонтів»
для студентів ІІ-го курсу природоохоронного факультету
Спеціальність «Водні біоресурси та аквакультура»

Укладачі: Васильєва М.Г., старший викладач кафедри хімії
навколишнього середовища ОДЕКУ; Шевченко С.В., старший викладач
кафедри хімії навколишнього середовища.

Підп. до друку
Умовн.друк.арк.

Формат
Тираж

Папір
Зам.№

Надруковано з нового оригінал-макета

Одесський державний екологічний університет
65016, Одеса, вул. Львівська, 15