## Занятие 7.2 Высокомолекулярные соединения (ВМС)

**Цели занятия:**

1. Научиться получать растворы ВМС.
2. На примере растворов желатина и казеина изучить свойства ВМС.
3. Познакомиться с методами определения ИЭТ.

**Основные понятия, необходимые для изучения темы:**

1. Закон Вант-Гоффа и его применение для растворов электролитов.
2. Понятие электрофореза и его применение
3. Осмотическое давление.

**Структура занятия:**

I. Входной контроль (оценка исходного уровня знаний – письменный опрос)

II. Основная часть (изучение нового материала)

III. Выполнение лабораторной работы

**Вопросы для самоподготовки к занятию**

1. ВМС и их отличия от низкомолекулярных веществ.
2. Набухание полимеров: механизм, степень набухания, экспериментальное определение. Ограниченное и неограниченное набухание.
3. Влияние различных факторов (рН, соли, t0) на скорость и степень набухания.
4. Термодинамика набухания и растворения ВМС
5. Общая характеристика растворов ВМС (общие и отличающиеся свойства с истинными растворами и лиофобными золями). Межмолекулярные связи в растворах ВМС.
6. Устойчивость растворов ВМС; факторы устойчивости. Высаливание биополимеров из растворов; пороги высаливания; условия, способствующие высаливанию. Коацервация и ее роль в биологических системах.
7. Осмотическое давление растворов полимерных неэлектролитов. Отклонение от закона Вант-Гоффа. Уравнение Галлера.
8. Полиэлектролиты, примеры. Их состояние в растворах. Осмотическое давление их растворов. Мембранное равновесие Доннана, основные выводы. Потенциал мембраны Доннана. Онкотическое давление, методы его определения и биологическая роль.
9. ИЭТ – изоэлектрическая точка и изоэлектрическое состояние белков (характеристика). Прямые и косвенные методы определения ИЭТ белков.

**Лабораторная работа 1. Влияние pH на набухание ВМС**

Ход работы

В три мерные пробирки вносят по 0,5г порошка желатина (высота осадка 1см). В одну пробирку наливают 8мл 0,1н соляной кислоты, в другую – такое же количество 0,1н раствора щелочи, а в третью – 4мл 0,5н раствора ацетата натрия. Содержимое пробирок перемешивают и оставляют на 1 час (в течение этого времени растворы периодически перемешивают). По истечении часа замеряют высоту набухшего геля.

Объясните наблюдаемую зависимость степени набухания желатина от рН среды

**Наблюдаемый эффект:**

**Вывод:**

**Лабораторная работа 2. Устойчивость растворов ВМС к электролитам**

Ход работы

В четыре пробирки насыпают по 0,5 г порошка желатина (высота осадка 1см). В пробирки соответственно наливают по 8 мл 0,5М растворов: сульфата калия, бромида калия, хлорида калия, роданида калия. Содержимое пробирок оставляют на 1 час, в течение которого проводят периодическое помешивание. Через час измеряют высоту набухшего желатина.

Объясните различное влияние анионов на процесс набухания.

**Наблюдаемый эффект:**

**Вывод:**

**Лабораторная работа 3. Определение ИЭТ желатина по максимуму помутнения**

Ход работы

В пяти пробирках готовят буферные смеси (по таблице), в каждую прибавляют по 1мл 0,5% раствора желатина и перемешивают. Затем прибавляют по 4мл этилового спирта и немедленно вновь перемешивают.

Через 5 минут оценивают по пятибалльной системе степень мутности каждой системы, записывают результаты в таблицу.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № | Состав буферной смеси, мл | | рН | 0,5% р-р желатина | Этиловый спирт, мл | Степень мутности |
| 0,1н CH3COOH | 0,1н CH3COONa |
| 1 | 1,8 | 0,2 | 3,8 | 1 | 4 |  |
| 2 | 1,4 | 0,6 | 4,4 | 1 | 4 |  |
| 3 | 1,0 | 1,0 | 4,7 | 1 | 4 |  |
| 4 | 0,6 | 1,4 | 5,1 | 1 | 4 |  |
| 5 | 0,2 | 1,8 | 5,7 | 1 | 4 |  |

**Наблюдаемый эффект:**

**Вывод:**

**Задачи для самоконтроля к занятию**

1. ИЭТ казеина 4,7. Каков заряд молекул казеина, растворенного в буферном растворе, приготовленном из 550 мл 0,1М раствора СН3СООН и 250 мл 0,1 М раствора СН3СООН? К(СН3СООН)=1,8·10-5.
2. В случае электрофореза молекула белка перемещается к аноду. В какой среде, в отличие от ИЭТ, находится белок? Ответ поясните.
3. Константы диссоциации белка равны Ка = 1,8·10-10, Кв = 2·10-6.Определить направление движения молекул белка в случае электрофореза при их нахождении в смеси из 20 мл 0,1н раствора дигидрофосфата натрия. Константа диссоциации К-(Н2РО4) = 6,2·10-8

**При решении проблемно-ситуационной задачи воспользуйтесь предложенным алгоритмом решения:**

1.Раствор, содержащий белки: альбумин (p*I*= 4,7), и глобулин (p*I*= 6,4) имеет pH = 8,0. Какие по знаку заряды имеют данные белки в этом растворе и к какому электроду (катоду или аноду) они будут перемещаться при электрофорезе? Какой белок будет перемещаться быстрее (считать, что радиусы сольватированных белков одинаковы)?

**Решение:**

R R

| pH>7 |

CH –NH2 CH−NH2

| |

COOH COO¯

В щелочной среде (рН>7) протонов Н+ очень мало, и их не хватает для протонирования аминогруппы.

R R

| pH=7 |

CH –NH2 CH−NH3+

| |

COOH COO¯

В физиологических условиях (pH=7) и аминогруппа, и карбоксильная группа находятся в диссоциированном состоянии.

R R

| pH<7 |

CH –NH2 CH−NH3+

| |

COOH COOН

альбумин (p*I*= 4,7) при pH = 8,0 будут заряжены отрицательно, глобулин (p*I*= 6,4) тоже отрицательно, при pH = 8,0при электрофорезе будут перемещаться к аноду, альбумины будет перемещаться быстрее, так меньше молекулярная масса и больше заряд

1. При каком из указанных значений pH раствора белка миоглобина (p*I=*8,2) он будет обладать максимальной электрофоретической подвижностью:

а) 5,3; б) 7,1; в) 8,3?

**Решение:**

R R

| pH=8,2 |

CH –NH2 CH−NH3+

| |

COOH COO¯

R R

| pH>8,2 |

CH –NH2 CH−NH2

| |

COOH COO¯

R R

| pH<8,2 |

CH –NH2 CH−NH3+

| |

COOH COOН

Раствора белка миоглобина при рН= 5,3 – заряжен положительно; при рН= 7,1– заряжен положительно; при рН= 8,3 – отрицательно. При рН= 5,2 будет обладать максимальной электрофоретической подвижностью.