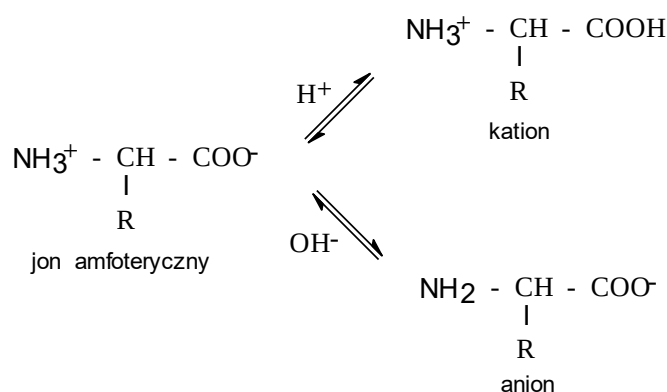


WYZNACZANIE PUNKTU IZOELEKTRYCZNEGO ROZTWORU KOLOIDALNEGO ŻELATYNY

Białka są to naturalne związki wielkocząsteczkowe zbudowane z reszt aminokwasowych połączonych wiązaniami peptydowymi. Makrocząsteczki białek mając polarne wiązania peptydowe oraz posiadając w łańcuchach bocznych grupy polarne np. $-NH_2$, $-COOH$, $-OH$, łatwo ulegają hydratacji w roztworach wodnych wykazując cechy koloidów. Równoczesna obecność w cząsteczkach aminokwasów i białek kwasowej grupy karboksylowej i zasadowej grupy aminowej sprawia, że są one związkami amfoterycznymi, których charakter uzależniony jest od stężenia jonów wodorowych w roztworze.

W środowisku zasadowym następuje dysocjacja grup karboksylowych białka, co powoduje ujemne naładowanie cząsteczek, natomiast w środowisku kwaśnym zachodzi przyłączanie protonów do grup aminowych, w wyniku czego cząsteczki białka stają się naładowane dodatnio



Istnieje takie pH roztworu, przy którym cząsteczki aminokwasów i białek zachowują się tak jak gdyby były obojętne (nie wędrują w polu elektrycznym). W rzeczywistości występują one w postaci jonu amfoterycznego (jonu obojnego), którego ładunek sumaryczny dla całej cząsteczki białka równy jest zeru, czyli ilość ładunków dodatnich jest równa ilości ładunków ujemnych. Takie pH roztworu nosi nazwę punktu izoelektrycznego białka. W tym stanie trwałość koloidu jest najmniejsza i białko ulega koagulacji. Koagulacja jest to proces rozdzielania się faz rozproszonej i rozpraszającej układu koloidalnego. Substancja wytrącająca się z roztworu (zolu) nosi nazwę żelu. Proces odwrotny – przejście

żelu w zol – jest nazywany peptyzacją. Dla hydrofilowych koloidów białkowych przy pH mniejszym od punktu izoelektrycznego cząsteczki nabierają charakteru coraz silniej zjonizowanego kwasu wielokationowego. W roztworach o pH większym od punktu izoelektrycznego cząsteczka białka zachowuje się jak kwas, oddając protony H^+ i stając się coraz silniej zjonizowaną zasadą wieloanionową. Przy wysokim pH wszystkie grupy karboksylowe są zdysocjowane, a grupy aminowe są niesprotonowane, przy niskim zaś pH sytuacja jest odwrotna, cofnięta jest dysocjacja grup kwasowych, a grupy aminowe występują w postaci jonów NH_3^+ . Ładunek cząsteczki białka zależy więc od pH roztworu.

Punkt izoelektryczny dla różnych białek jest inny, np. dla pepsyny wynosi 1,0; dla albuminy z jaj – 4,6; kazeiny – 4,7; globuliny mleka – 5,2; hemoglobiny – 6,8; trypsyny – 10,5. Punkt izoelektryczny białka można wyznaczyć doświadczalnie. Jedną z metod opartą jest na oznaczeniu rozpuszczalności białka w buforze o różnym pH.

Punkt izoelektryczny [pI, pH(I)] – wartość pH, przy której populacja cząsteczek amfolytycznych, tj. posiadających kationowe i anionowe grupy funkcyjne (np. aminokwasy białkowe), zawiera średnio tyle samo ładunków dodatnich co ujemnych, na skutek czego ładunek całkowity całej populacji wynosi zero. Stężenie jonu obojnego przyjmuje wtedy maksymalną wartość, a stężenia form anionowej i kationowej mają jednakowe, minimalne stężenie. W przypadku związków słabo rozpuszczalnych występują wtedy też niezdisocjowane cząsteczki.

Sytuacja taka może mieć miejsce w dwóch przypadkach:

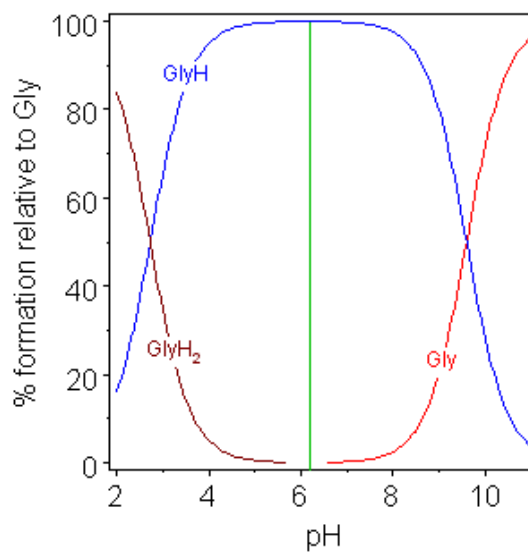
- ❖ w roztworze istnieją wyłącznie jony obojne (tzw. zwitterjony)
- ❖ w roztworze istnieje taka sama liczba anionów i kationów

Populacje różnych form glicyny w zależności od pH roztworu. Zielona linia wskazuje punkt izoelektryczny.

GlyH₂: $H_3N^+CH_2COOH$

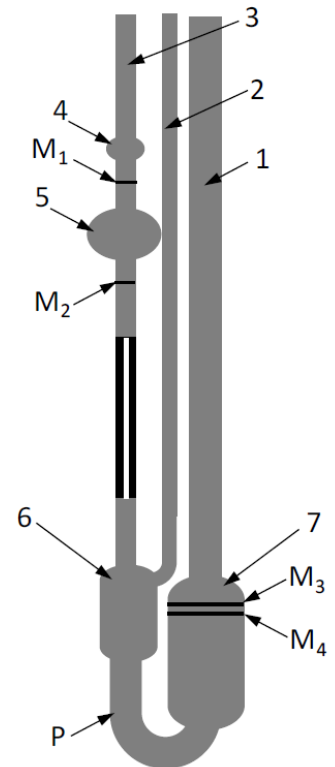
GlyH: $H_3N^+CH_2COO^-$

Gly: $H_2NCHCOO^-$



Pomiar lepkości kinematycznej – bardzo ostrożnie !!!!

- czysty i suchy lepkościomierz napełnić próbką przez rurkę nr 1 (unikając tworzenia się pęcherzyków powietrza) w taki sposób, aby po ustawieniu przyrządu w pozycji pionowej poziom menisku cieczy znajdował się pomiędzy kreskami M3 i M4
- napełniony lepkościomierz umieścić w termostacie do czasu osiągnięcia temperatury oznaczania (40 °C); ok. 30 min
- po tym czasie zassać próbkę do wysokości zbiornika nr 4, przy ściśle zamkniętej palcem rurce nr 2 zassać badaną ciecz (w tym celu należy na rurkę nr 3 nałożyć wąż gumowy i połączyć go z pompką wodną)
- następnie odłączyć od próżni rurkę nr 3 i otworzyć rurkę nr 2, a kiedy ciecz zacznie spływać zmierzyć czas, w którym menisk cieczy przesunie się od kreski M1 do M2. pomiar czasu przepływu próbki powtarzać do otrzymania porównywalnych wyników



Lepkość kinematyczną:

$$\nu = c \cdot \tau$$

gdzie: ν – lepkość kinematyczną, c – stała kapilary mm^2/s^2 , τ – średnia arytmetyczna czasu przepływu badanego produktu, s

Lepkość dynamiczna:

$$\nu = \eta / \rho$$

gdzie: ν – lepkość kinematyczną, η – lepkość dynamiczna, ρ – gęstość

SPRZĘT I ODCZYNNIKI

- wiskozymetr Ubbelohde'a,
- stoper,
- pehametr,
- elektroda zespolona,
- zlewka 50 cm^3 - 1 szt.,
- zlewka 250 cm^3 - 1 szt.,
- kolba Erlenmayera 200 cm^3 - 1 szt.,
- pipeta wielomiarowa 10 cm^3 - 4 szt.,
- pipeta jednomiarowa 25 cm^3 - 1 szt.,
- żelatyna,
- CH_3COOH 0.1 mol/dm^3 ,
- CH_3COONa 0.1 mol/dm^3 ,
- NaH_2PO_4 0.1 mol/dm^3 ,
- Na_2HPO_4 0.1 mol/dm^3 ,

WYKONANIE POMIARÓW

Przygotowanie roztworu żelatyny

1. Odważyć 4 gramy żelatyny, umieścić ją w kolbce Erlenmayera i dodać 200 cm³ wody.
2. Umieścić kolbkę w gorącej wodzie i rozpuścić żelatynę.
3. Ostudzić roztwór żelatyny.

Przygotowanie roztworu żelatyny w buforze i pomiary pH

4. Przygotować w zlewce o pojemności 50 cm³ roztwór buforowy o składzie podanym w tabeli 1.
5. Zmierzyć pH przygotowanego roztworu buforowego.
6. Do roztworu buforowego dodać 25 cm³ roztworu żelatyny.

Pomiary lepkości wiskozymetrem Ubbelohde'a

7. W wiskozymetrze Ubbelohde'a umieścić przygotowany buforowany roztwór żelatyny
8. Dwukrotnie zmierzyć lepkość za pomocą wiskozymetru
9. Czynności z punktów 4-8 powtórzyć dla kolejnych roztworów buforowych o składzie podanym w tabeli 1.

Tabela 1. Skład roztworów buforowych.

Nr buforu	Roztwór 1	Roztwór 2
1	CH ₃ COOH 23 cm ³	CH ₃ COONa 2 cm ³
2	CH ₃ COOH 20 cm ³	CH ₃ COONa 5 cm ³
3	CH ₃ COOH 12 cm ³	CH ₃ COONa 13 cm ³
4	CH ₃ COOH 7 cm ³	CH ₃ COONa 18 cm ³
5	CH ₃ COOH 2 cm ³	CH ₃ COONa 23 cm ³
6	NaH ₂ PO ₄ 20 cm ³	Na ₂ HPO ₄ 5 cm ³
7	NaH ₂ PO ₄ 8 cm ³	Na ₂ HPO ₄ 17 cm ³

OPRACOWANIE WYNIKÓW

1. Obliczyć średnie wartości lepkości z wiskozymetru.

2. Wyniki umieścić w tabeli 2:

Tabela 2. Wyniki pomiarów i obliczeń.

Nr roztworu	pH roztworu [-]	Lepkość roztworu [Pa·s]
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		

4. Narysować wykres zależności lepkości koloidu od pH roztworu $\eta=f(\text{pH})$.

5. Z minimalnej wartości na krzywej na wykresie odczytać wartość pH punktu izoelektrycznego dla roztworu koloidalnego żelatyny.

6. Wyjaśnić przyczyny wpływu wartości pH na lepkość roztworów koloidalnych. Napisać reakcje dysocjacji grup kwasowo-zasadowych występujących w cząsteczkach białek.

7. Na podstawie literatury napisać pełną charakterystykę żelatyny jako koloidu.

ZAGADNIENIA TEORETYCZNE

- charakterystyka i rodzaje koloidów,
- budowa cząstek koloidalnych,

- metody otrzymywania koloidów,
- właściwości elektryczne koloidów,
- właściwości optyczne koloidów,
- koagulacja koloidów,
- właściwości ochronne koloidów,
- żele i ich właściwości,
- metody pomiaru lepkości cieczy,
- punkt izoelektryczny,
- źródła ładunku elektrycznego koloidów.