

**XXIV МЕЖДУНАРОДНАЯ ОЛИМПИАДА ШКОЛЬНИКОВ «ТУЙМААДА»**

**XXIV INTERNATIONAL SCHOOL OLYMPIAD «TUYMAADA»**

**ХИМИЯ**

**CHEMISTRY**

****

**II (экспериментальный) этап**

**Second (experimental) round**

**Старшая лига**

**Senior league**

**Yakutsk, 2017**

**Техника безопасности**

При работе в химической лаборатории необходимо соблюдать следующие правила:

* Работа должна быть предварительно спланирована Вами; запрещается проводить любые опыты с оборудованием и реактивами, не прописанные в настоящем комплекте заданий.
* На лабораторном столе во время работы не должно быть посторонних предметов.
* В лаборатории следует работать в лабораторном халате, волосы должны быть убраны.
* Строго запрещается принимать в лаборатории пищу и пить.
* Запрещается пробовать на вкус или нюхать реактивы.
* До и после выполнения работы необходимо вымыть руки.
* Все опыты с ядовитыми и пахучими веществами выполнять в вытяжном шкафу.
* Твердые химические реактивы брать только шпателем или ложечкой (не руками!).
* Неизрасходованные реактивы не высыпать и не выливать обратно в те сосуды, откуда они были взяты.
* При нагревании растворов и веществ в пробирке необходимо использовать держатель.
* Отверстие пробирки должно быть направлено в сторону от себя и других работающих.
* Нельзя наклоняться над сосудом, в котором происходит нагревание или кипячение жидкости.
* При необходимости определить запах выделяющихся при реакции газов нужно легким движением ладони направить струю газа от горла сосуда к себе и осторожно вдохнуть.
* При разбавлении концентрированных кислот и щелочей небольшими порциями приливать кислоту (или концентрированный раствор щелочи) в воду, а не наоборот.
* Опасные продукты реакции сливать только в соответствующие банки в вытяжном шкафу.
* Со всеми возникающими вопросами сразу же обращаться к членам жюри.
* Немедленно сообщать членам жюри или ответственным за лабораторию о любых случаях разлития растворов, несчастных случаях или травмах.

**ВВЕДЕНИЕ**

Молоко - распространенный по всему миру продукт питания, который может быть употреблен как непосредственно, так и входить в состав других продуктов.

Важнейшим компонентом, определяющим высокую ценность молока, являются белки, в основном представляющие собой казеин, который богат всеми восемью незаменимыми аминокислотами. Именно казеин обусловливает полноту вкуса молока и молочных продуктов.

Благодаря высокому содержанию белков молоко ценится за хорошие энтеросорбирующие свойства. Особенно эффективно молоко связывает фенолы и катионы тяжелых металлов. Именно поэтому его рекомендуется ежедневно употреблять лицам, имеющим контакт с вредными химикатами.

В настоящей работе Вам предлагается:

- идентифицировать аминокислоты и фенолы в смеси методом распределительной хроматографии на бумаге (задание 1);

- количественно оценить содержание белков в пробе молока (растворе).

Выбор очередности выполнения заданий остается за Вами.

**РЕАКТИВЫ И ОБОРУДОВАНИЕ**

**Реактивы**

|  |  |
| --- | --- |
| **Реактив** | **Количество, мл** |
| 2% раствор FeCl3­ в 0,5 М HCl | 25 |
| 2% раствор нингидрина в ацетоне | 25 |
| изопропанол:вода:аммиак 25% (20:2:1) | 10 |
| н-бутанол:вода:аммиак 25% (5:1:1) | 10 |
| ацетон:вода (3:2) | 10 |
| Разбавленное молоко | 10 |
| Реактив Фолина-Чокальтеу | 10 |
| Реактив Фелинга | 50 |

**Химическая посуда и оборудование**

|  |  |
| --- | --- |
| **Посуда/оборудование** | **Количество** |
| Химический стакан или колба | 6 |
| Мерные пипетки на 1-2 мл | 1 |
| Мерные пипетки на 5 мл | 2 |
| Кювета для фотометрирования | 1 |
| Химический стакан высотой не менее 12 см | 2 |
| Чашка Петри | 1 |
| Полоска из фильтровальной бумаги | 1 |
| Скрепки (для нанесения растворов) | 3 |
| Пробирки | 3 |
| Мерные пробирки | 6 |
| Маркер по стеклу | на общем столе |
| Сушильный шкаф | 1 в аудитории |
| Фотоколориметр | 1 на 4 чел |

**ЗАДАНИЕ 1**

**ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СМЕСИ АМИНОКИСЛОТ И ФЕНОЛОВ**

Вам выдана смесь четырех различных органических соединений из следующего списка: резорцин, глицин, аланин, α-нафтол, 4-нитрофенол и цистеин.

**Задания**

1. Напишите структурные формулы резорцина, глицина, аланина, α-нафтола, 4-нитрофенола и цистеина.

2. Проведите разделение выданной Вам смеси при помощи распределительной бумажной хроматографии и проведите идентификацию индивидуальных компонентов.

Для каждого класса органических соединений проводится индивидуальное обнаружение и разделение согласно пп. 1.1 - 1.3. В целях экономии времени рекомендуем проводить опыты ***параллельно***.

**1.1. Разделение и определение α-нафтола и 4-нитрофенола**:

a) Возьмите полоску фильтровальной бумаги (синяя лента) размером 2,5 х 10 см. Убедитесь, что карандашом на них проведены линия старта на расстоянии 1 см от одного края и линия финиша на расстоянии 0,5 см от другого края.

b) Перенесите фильтровальную бумагу на чашку Петри. Кончиком скрепки аккуратно нанесите каплю анализируемой смеси на линию старта так, чтобы она растеклась в виде круга диаметром не более 3-4 мм. Обрежьте левый и правый угол нижнего края для равномерного поднятия жидкости по фильтровальной бумаге.

c) Возьмите систему из изопропилового спирта, воды и 25% раствора аммиака в соотношении 20:2:1 (по объему) и осторожно, не замачивая стенок посуды, отлейте в мерный стакан так, чтобы толщина слоя растворителя не превышала 1 см.

d) Полоску фильтровальной бумаги с нанесенной каплей анализируемой смеси опустите вертикально в стакан и закройте его чашкой Петри. *Следите за тем, чтобы элюент поднимался по фильтровальной бумаге равномерно и строго вертикально! Пятно анализируемой смеси не должно погружаться в растворитель!*

e) Время хроматографирования составляет 30-40 мин. Процесс прекращают после того, как растворитель достигнет линии финиша. После этого аккуратно достаньте бумагу из стакана и подсушите на воздухе. Из-за частичного окисления α-нафтола и 4-нитрофенола, их пятна на воздухе становятся желтыми. Обведите карандашом полученные пятна и измерьте высоту их подъема - расстояние между центром пятна и линией старта. Определите коэффициенты распределения Rf для пятен по формуле:

$$R\_{f}=\frac{l}{L}$$

где l – расстояние, пройденное веществом (пятном);

L – расстояние, пройденное растворителем

(расстояние от линии старта до линии финиша).

f) Сравните экспериментально полученные значения Rf c табличными значениями и сделайте вывод о наличии α-нафтола и 4-нитрофенола в выданной вам смеси.

g) Оцените значение коэффициента удержания для каждого пятна и сравните с коэффициентами удержания, приведенными в таблице:

|  |  |
| --- | --- |
| Коэффициент удержания Rf | Вещество |
| 0,87 | *п*-нитрофенол  |
| 0,98 | *α*-нафтол |

**1.2. Определение резорцина**

Повторите пункты a)-e) из п. 1.1 в системе из н-бутанола, воды и аммиака в соотношении 5:1:1 (по объему). Полоску фильтровальной бумаги после хроматографирования поместите в чашке Петри в сушильный шкаф на 7-8 минут для полного удаления растворителя. Куском ваты аккуратно нанесите равномерным слоем 2% раствор хлорида железа (III) в 0,5 моль/л растворе HCl и снова поместите в чашке Петри в сушильный шкаф до полного высыхания. Если в анализируемой смеси содержится резорцин, на хроматограмме появится фиолетовое пятно с *Rf*  = 0,82.

**1.3. Разделение и определение аминокислот**

Повторите пункты a)-e) из п. 1.1 в системе из ацетона и воды в соотношении 3:2. Полоску фильтровальной бумаги после хроматографирования поместите в чашке Петри в сушильный шкаф на 4-5 минут для полного удаления растворителя. После этого кусочком ваты аккуратно нанесите на высушенную полоску равномерным слоем 2% раствор нингидрина в ацетоне и снова поместите в чашке Петри в сушильный шкаф до полного высыхания. Оцените значение коэффициента удержания для каждого пятна и сравните с коэффициентами удержания, приведенными в таблице:

|  |  |
| --- | --- |
| Коэффициент удержания Rf | Вещество |
| 0,72 | глицин  |
| 0,84 | α-аланин |
| 0,98 | цистеин |

**ЗАДАНИЕ 2**

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕЛКА В МОЛОКЕ ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ ЛОУРИ**

**2.1. Приготовление градуированных растворов**

В 4 пронумерованные мерные пробирки с помощью мерной пипетки перенесите 0,08% раствор казеина и дистиллированную воду в соответствии с таблицей:

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ***Номер пробирки*** | ***1*** | ***2*** | ***3*** | ***4*** |
| *Объем раствора казеина* | 1,25 | 2,50 | 5,00 | 10,00 |
| *Объем дистиллированной воды* | 8,75 | 7,50 | 5,00 | 0 |

Заткните пробирки пробками и тщательно перемешайте растворы. Из полученных растворов отберите с помощью мерной пипетки по 1,00 мл и перенесите в предварительно пронумерованные от 1 до 4 химические стаканы (или колбы).

**2.2. Приготовление раствора сравнения**

Для приготовления раствора сравнения один из стаканов (или колб) подпишите цифрой «0» и перенесите туда 1,00 мл дистиллированной воды.

**2.3. Подготовка исследуемого раствора**

Подпишите химический стакан (или колбу) буквой «M» и перенесите туда с помощью мерной пипетки 1,00 мл разбавленного молока.

**2.4. Фотометрия**

Выполните следующие операции:

a) добавьте в каждый из стаканов (или колб) 0-4 и в «М» с помощью мерной пипетки 8 мл реактива Фелинга, перемешайте и оставьте на 10 мин;

b) добавьте в каждый из стаканов (или колб) 0-4 и в «М» с помощью мерной пипетки 0,8 мл реактива Фолина-Чокальтеу, перемешайте и оставьте смесь еще на 30 мин.

c) раствор «0» (раствор сравнения) перенесите в кювету для фотометрирования. Кювету следует держать за боковые грани во избежание нанесения загрязнений с пальцев и повреждения прозрачных стенок.

d) откройте крышку кюветного отделения фотометра и установите кювету таким образом, чтобы прозрачные стенки были расположены вертикально относительно надписей на корпусе фотометра. Закройте крышку кюветного отделения.

e) убедившись, что фотометр настроен на длину волны 635 нм, нажмите на кнопку «CAL». На экране после нажатия должна отображаться величина ***0,000***. После этого откройте крышку кюветного отделения и полностью слейте в емкость для отходов раствор сравнения из кюветы.

f) Заполните кювету раствором «1» на треть, тщательно ополосните им внутренние стенки кюветы и слейте раствор в емкость для отходов. Снова заполните оставшимся раствором «1» кювету, установите кювету в кюветное отделение и закройте крышку кюветного отделения.

g) Запишите величину оптической плотности, которую показывает прибор. После извлеките из кюветного отделения свою кювету, слейте исследуемый раствор в емкость для отходов.

Повторите действия f)-g) c растворами 2-4 и «М».

После окончания работы на фотометре кювету тщательно промойте водой.

**Задания**

1. По экспериментальным данным постройте градуировочную прямую в координатах «концентрация - оптическая плотность».

2. Используя градуировочную прямую, определите концентрацию белка в исследуемом молоке в %, если известно, что «разбавленное молоко» было получено путем стократного разбавления молока.

3. Реактив Фелинга готовят путем растворения CuSO4 в разбавленном растворе, содержащем тартрат натрия и NaOH. Реактив Фолина-Чокальтеу представляет собой раствор смеси фосфорномолибденовой H7[P(Mo2O7)6] и фосфорновольфрамовой H7[P(W2O7)6] кислот. Объясните процессы, приводящие к изменению окраски раствора белка после добавления реактивов. По возможности подкрепите объяснения уравнениями реакций.

4. Какие еще компоненты молока, кроме белка, могут оказать влияние на результаты эксперимента?