



Fundusze Europejskie  
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita  
Polska

Dofinansowane przez  
Unię Europejską

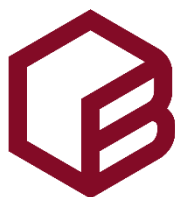


	Nr projektu	FERS.01.05-IP.08-0335/23
	Tytuł projektu	„STUDENCI HIPOKRATESA- kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej”
	Beneficjent:	Politechnika Bydgoska im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

*Projekt pt.: „STUDENCI HIPOKRATESA - kompleksowy program utworzenia i wdrożenia kierunku lekarskiego na Politechnice Bydgoskiej” w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027 współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Plus, nr umowy: FERS.01.05-IP.08-0335/23-00*

# INSTRUKCJE DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH Z BIOCHEMII

*dla kierunku lekarskiego  
Politechniki Bydgoskiej  
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich*



**POLITECHNIKA  
BYDGOSKA**  
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich



## ĆWICZENIE 11

### Barwniki

Barwniki stanowią niejednorodną grupę pod względem budowy chemicznej i w zależności od struktury barwniki naturalne można je podzielić na:

porfirynewe – chlorofile;

izoprenoidowe – karotenoidy;

flawonoidowe – antocyjany;

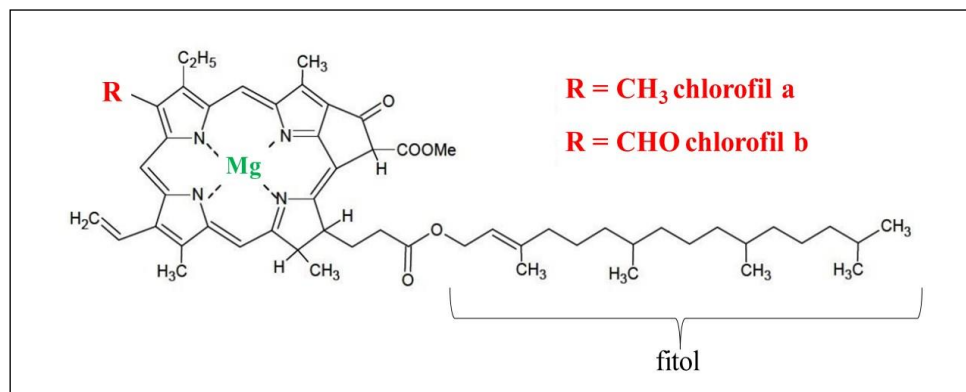
betalainowe – betainy i betaksantyny;

chinoidowe – koszenila;

oraz inne np. ryboflawina, kurkumina.

Rośliny zielone zawierają chlorofil a i b. Chlorofile odgrywają istotną funkcję w procesie fotosyntezy. Występują przeważnie w dwóch formach: niebieskozielony chlorofil a oraz żółtozielony chlorofil b.

Chlorofile są porfirynewymi zawierającymi podstawowy układ tetrapiolowy. Cztery pierścienie pirolowe są połączone z jonem  $Mg^{2+}$ . W czwartym pierścieniu podstawnik jest zestryfikowany hydrofobowym alkoholem diterpenowym – fitolem. Chlorofil a różni się od chlorofilu b jednym z podstawników przy drugim pierścieniu pirolowym: chlorofil a zawiera grupę metylową ( $-CH_3$ ), chlorofil b zawiera grupę aldehydową ( $-CHO$ ).



Budowa chlorofilu



Fundusze Europejskie  
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita  
Polska

Dofinansowane przez  
Unię Europejską



Antocyjany to barwniki roślinne o kolorze czerwonym, niebieskim lub fioletowym. Należą one do szerszej grupy związków zwanej flawonoidami. Mają charakter glikozydów, czyli w ich skład wchodzi część cukrowa pochodząca najczęściej od glukozy. Karotenoidy to grupa około 100 barwników roślinnych (czerwony, pomarańczowy i żółty). To właśnie karotenoidy odpowiadają za kolor marchewki, dyni czy pomidorów. Mają działanie antyoksydacyjne, przez co pełnią bardzo ważną rolę w organizmie.

Chromatografia jest techniką analityczną, która wykorzystuje różnice w zachowaniu się składników mieszanin w układzie dwóch faz. Jedna z faz nie zmienia swego położenia (faza nieruchoma, stacjonarna), druga porusza się względem pierwszej w określonym kierunku (faza ruchoma, roztwór rozwijający) prowadząca do rozdzielenia mieszanin substancji na poszczególne składniki, bądź ich grupy (frakcje).

### **1. Rozdział barwników chloroplastów metodą chromatografii cienkowarstwowej**

W odległości 2,5 cm od dolnej krawędzi płytki nanieść wyciąg eterowy chlorofilu w postaci plamy o średnicy 3-4 mm. Gdy plama wyschnie powtarzać nanoszenie aż do uzyskania plamy o wyraźnym ciemnozielonym zabarwieniu (około 15 kropli). Po wysuszeniu plamy płytkę umieścić w komorze chromatograficznej zawierającej układ rozwijający (eter naftowy – benzen – alkohol metylowy w stosunku 40:15:3 ). Dno komory powinno być pokryte 1,5–2 cm warstwą układu rozwijającego. Rozwijanie chromatogramu prowadzić techniką wstępującą około 1 godziny, aż czoło rozpuszczalnika będzie się znajdowało w odległości 2-3 cm od górnej krawędzi płytki. Po tym czasie wyjąć chromatogram, zaznaczyć czoło układu rozwijającego i wysuszyć w temperaturze pokojowej. Narysować obraz chromatogramu i opisać uzyskane plamy.



Fundusze Europejskie  
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita  
Polska

Dofinansowane przez  
Unię Europejską



## 2. Wpływ pH na barwę antocyjanów

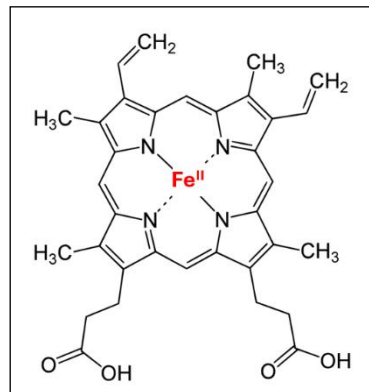
- a) Do dwóch probówek pobrać po 2 ml wyciągów antocyjanowych czerwonej kapusty. Do pierwszej probówki dodać 2-3 krople 2 M HCl (fioletowy antocyjan zabarwia się na czerwono); do drugiej probówki dodać kroplami 2 N NaOH. Ćwiczenie wykonać analogicznie z wyciągiem antocyjanowym buraka.
- b) Dwa paski bibuły nasyczone roztworami wyciągami antocyjanowymi kapusty i buraka umieścić u wylotu probówki zawierającej kilka ml amoniaku. Probówkę lekko podgrzać w łaźni wodnej.
- c) 1 ml rozcieńczonego roztworu antocyjanów czerwonej kapusty zadać 5 ml wody destylowanej (pH ok. 5,0); a w drugą probówkę z roztworem antocyjanów zadać wodą wodociągową (pH ok. 7,0).

## 3. Chemiczne reakcje betocyjanów.

- a) 2 ml roztworów antocyjanów buraka i kapusty zadać kroplą octanu ołowiu (II).
- b) Do 5 ml roztworów antocyjanów kapusty i buraka dodać szczyptę krystalicznego chlorku glinu.
- c) Do 5 ml roztworów antocyjanów dodać po kropli 5% roztworu chlorku żelazawego.

## 4. Hemoglobina

Hemoglobina (Hb) jest białkiem znajdującym się w krwinkach czerwonych (erytrocytach). Należy do białek złożonych – metaloprotein. Bierze ona udział w transporcie tlenu z płuc do tkanek i narządów. Hemoglobina jest hemoproteiną, zbudowaną z czterech, parami jednakowych, podjednostek  $\alpha$  i  $\beta$ . Każda z podjednostek zawiera cząsteczkę hemu z jonem żelaza  $Fe^{2+}$ , zdolnym do wiązania 1 cząsteczki tlenu. Związanie tlenu (utlenowanie hemoglobiny) nie zmienia stopnia utlenienia żelaza.



Budowa hemoglobiny

Pochodne hemoglobiny to:

-**Oksyhemoglobina** HbO<sub>2</sub> (hemoglobina utlenowana) - wiąże tlen i przenosi go do tkanek, bez zmiany wartościowości żelaza.

-**Karbo-** lub **karbaminohemoglobina** HbCO<sub>2</sub> (hemoglobina odtlenowana) – przenosi dwutlenek węgla, który jest usuwany z krążenia

**Karboksyhemoglobina** HbCO (hemoglobina tlenkowęgłowa) powstaje na skutek połączenia hemoglobiny z tlenkiem węgla CO (potocznie nazywanym czadem) - bezwonny, bezbarwny i niedrażniący gaz. Powinowactwo CO do Hb jest około 200 razy większe niż O<sub>2</sub>

**Methemoglobina** MetHb powstaje w wyniku utlenienia Fe<sup>2+</sup> hemoglobiny (np. żelazocyjankiem potasu) do Fe<sup>3+</sup>. Nie następuje denaturacja białka. Nie odgrywa roli w oddychaniu, ponieważ nie łączy się z tlenem.

**Cyjanomethemoglobina** Cyjan-Met-Hb jest ona pochodną methemoglobiny. Powstaje w wyniku jej połączenia z jonami cyjankowymi.

**Sulfhemoglobina** SHb jest pochodną Hb, powstającą w wyniku reakcji oksyhemoglobiny z siarkowodorem, siarczkami lub siarczanami.

**Mioglobina** jest barwnikiem oddechowym tkanki mięśniowej. Jest monomerem, dzięki czemu wiąże tlen znacznie mocniej niż hemoglobina, tworząc związek zwany oksymoglobina

#### a) Wykrywanie hemoglobiny

##### Wykonanie

Do probówki nalać 2 ml wody destylowanej, kroplę krwi, dokładnie wymieszać po czym dodać parę kropli roztworu pirogalolu oraz parę kropli 3% roztworu nadtlenku wodoru.

#### b) Wykrywanie żelaza w hemoglobinie

##### Wykonanie



Fundusze Europejskie  
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita  
Polska

Dofinansowane przez  
Unię Europejską



Do kilku kropli krwi dodać 2 ml stężonego kwasu siarkowego (VI) i 1 ml stężonego kwasu azotowego (V). Po zmineralizowaniu próby pod wyciągiem i ostudzeniu, do klarownego roztworu dodać wody destylowanej i kilka kropli 1,5 % roztworu rodanku amonu.

### c) Wpływ kwasów i zasad na hemoglobinę i jej pochodne

#### Wykonanie

A. Do 2 ml rozcieńczonej w stosunku 1:20 krwi dodać 2 krople 5 % NaOH.

Zamieszać i łagodnie ogrzać. Zanotować zmianę zabarwienia. Następnie dodać kilka kryształków podsiarczanu sodu. Zanotować zmianę zabarwienia.

B. Do 2 ml rozcieńczonej w stosunku 1:20 krwi dodać po kropli 0,2 N HCl .

C. Do 1 ml stężonego kwasu siarkowego (VI) dodać kroplę krwi i zamieszać.