Занятие 7

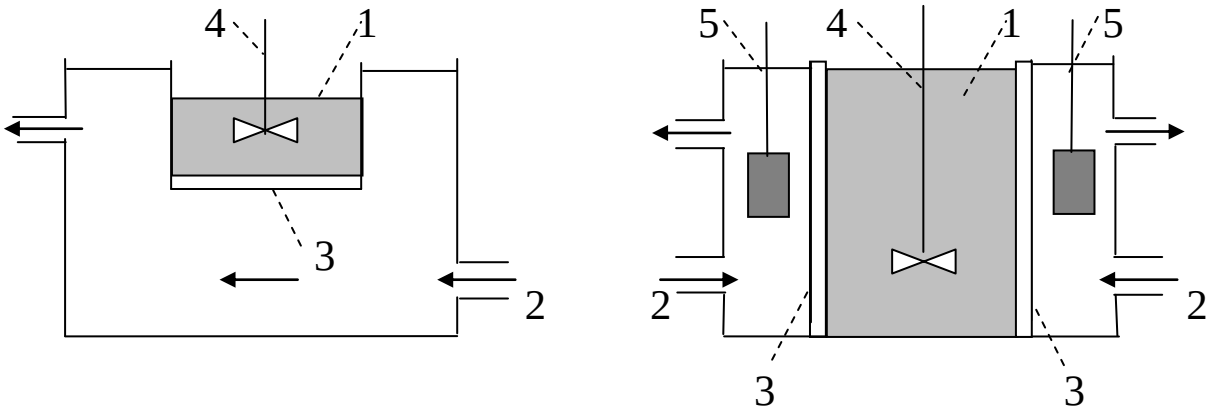
Методы очистки ВМС

Очистка растворов можно проводить методом диализа или ультрафильтрации.

Диализ заключается в выведении из золей низкомолекулярных веществ чистым растворителем с помощью мембраны. Заменяя растворитель в диализаторе, можно практически полностью выделить примеси электролитов и низкомолекулярных неэлектролитов. Но этот процесс достаточно длительный.

Электродиализ - это процесс ускорения диализа с использованием электрического тока. Прибор для его осуществления называется Электродиализатор. Под действием электрического тока происходит перенос ионов из средней камеры в анодной и катодной, который погружены соответствующие электроды. Золь в средней камере в течение короткого времени (минуты, часы) может быть очищенным от растворенных солей.

Установки для диализа, электродиализаторы, обычно представляют собой аппараты непрерывного действия, с постоянной подачей исходного раствора и сливом разделенных концентрата и дилуата.



а) *б)*

Рис 1. Схема диализатора (а) и электродиализатора (б):
1 - диализируемый раствор; 2 - поток растворителя;
3 - диализная мембрана; 4 - мешалка; 5 - электроды.

Компенсационный диализ и вивидиализ - методы, разработанные для исследования биологических жидкостей - коллоидов. Принцип метода

компенсационного диализа состоит в том, что в диализаторе вместо чистого растворителя применяют растворы различной концентрации вещества, нужно определить. Например, для определения свободного сахара в сыворотке крови проводят ее диализ против изотонического солевого раствора, содержащего различные количества сахара. В этом растворе, где концентрация сахара равна концентрации свободного сахара в сыворотке крови, при диализа концентрация сахара не меняется.

К этому методу близок метод вивидиализ (диализ при жизни), которым пользуются для определения в крови низкомолекулярных веществ.

Принцип компенсационного вивидиализ был использован при создании аппарата «искусственной почки», который позволяет очистить кровь от продуктов обмена веществ.

Ультрафильтрация - это фильтрация коллоидного раствора через полупроницаемую мембрану, которая пропускает дисперсную среду с низкомолекулярными примесями и задерживает частицы дисперсной фазы или макромолекулы. Для ускорения процесса ультрафильтрацию проводят при перепаде давления по обе стороны мембраны, обеспечивается присоединением прибора к вакуум-насосу. Мембрана изготавливают из пергамента, целлофана, асбеста, керамики и других материалов.

Ультрацентрифугирование. Идея этого метода впервые была высказана еще в 1913 г. А. В. Думанским, который применил центрифугу для осаждения коллоидных частиц. За последние годы, с изобретением шведским ученым Сведбергом ультрацентрифуги, этот метод получил исключительно широкое применение в коллоидной химии. Современная ультрацентрифуга (рис. 1) представляет собой сложный аппарат, в котором ротор вращается в толстостенном металлическом корпусе в вакууме или в атмосфере водорода (для улучшения теплоотдачи) со скоростью до 60 000 об/мин и выше.

В современных мощных ультрацентрифугах оседают не только коллоидные частицы гидрофобных коллоидов, но и молекулы белков и других высокомолекулярных соединений. Помимо очистки, метод ультрацентрифугирования широко применяется в настоящее время для

определения среднего радиуса коллоидных частиц, а также для вычисления молекулярной массы высокомолекулярных соединений. Практически все выдающиеся достижения молекулярной биологии обязаны этому методу.

Очистка белков от низкомолекулярных примесей методом диализа

Принцип метода основан на неспособности молекул белка (коллоидных частиц) проникать через полупроницаемую мембрану (пергамент, целлофан, колодий и др.), в то время как низкомолекулярные примеси легко проходят через поры этих мембран. Метод диализа широко используется для разделения и очистки белков и других биополимеров от примесей солей и низкомолекулярных органических соединений. Основанный на этом же принципе метод гемодиализа (вивидиффузия), применяется для лечения больных с почечной недостаточностью (аппарат «искусственная почка»).

Пример проведения лабораторной работы. В подготовленный колодиевый или целлофановый мешочек поместить 1 мл сыворотки раствора яичного белка и 3-4 мл 6% раствора хлористого натрия, аккуратно поместить их в стакан с дистиллированной водой. Через 30-60 минут с небольшими порциями диализируемого раствора белка (содержимое мешочка) и диализата (наружная жидкость) провести пробы на хлориды и белок, чтоб удостовериться в том, что соль диффундировала, а белок остался в мешочке.

Для обнаружения белка провести биуретовую реакцию.

Принцип метода. Реакция основана на способности пептидной группы белков и полипептидов образовывать с ионами меди в щелочной среде комплексные соединения фиолетового цвета. Реакция позволяет обнаружить наличие пептидной связи в исследуемом веществе и, следовательно, является универсальной реакцией для обнаружения веществ белковой природы. Свое название реакция получила от производного мочевины биурета, который дает в данных условиях то же окрашивание, что и белок.

Техника проведения работы. В пробирку добавить 5 капель раствора белка, 10 капель раствора едкого натра и 1 каплю раствора сульфата меди. Отметить появление красно-фиолетового окрашивания.

Для обнаружения хлоридов к 0,5-1 мл раствора добавить 1-2 капли 1% раствора азотной кислоты и 1-2 капли 1% раствора азотнокислого серебра и отметить выпадение творожистого осадка.