

**Учреждение образования
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»**

Кафедра химии

ХИМИЯ

Лабораторный практикум

**Лабораторная работа
Обмен минеральных веществ.**

Лабораторная работа

В организме животных и сельскохозяйственной птицы содержится до 70 химических элементов, что составляет 2-5% от массы тела. Поступают они в организм в составе пищи и потребляемых жидкостей. В процессе пищеварения минеральные вещества усваиваются в основном в тонком отделе кишечника, часть может всасываться в желудке (преджелудках) и толстом отделе кишечника. Путем пассивной диффузии всасывается небольшая доля ионов, основная масса солей в виде ионов и катионов переносится активно с затратой энергии и контролируется нейрогуморальным путем.

В организме минеральные вещества избирательно откладываются в различных органах и тканях и извлекаются по мере необходимости, благодаря чему регулируется и поддерживается относительно постоянный состав тканей и жидкостей организма. Так в костной ткани сосредоточено до 99 % всех минеральных веществ организма прежде всего это катионы кальция и магния в виде апатитов, фосфатов, карбонатов, а также фтор, стронций, цезий, алюминий, свинец, олово и др. микроэлементы. В печени концентрируется железо, медь, кобальт, марганец, никель, молибден, селен. Кожа и мышцы накапливают натрий и калий.

В зависимости от содержания в организме различают группу макроэлементов и микроэлементов. К макроэлементам относят элементы, содержание которых превышает сотые доли процента (фосфор, кальций, калий, магний, сера, хлор, натрий). Содержание микроэлементов в организме исчисляется тысячными и десятитысячными долями процентов (железо, кобальт, цинк, марганец, йод, бром, никель и др.). Как правило в организме больше тех элементов, которые образуют в воде растворимые соединения, чем тех, что не образуют в воде растворимых соединений.

Минеральные вещества присутствуют в организме в различных формах:

- 1) прочно связанные с органическими веществами (S - в составе белка, P – в нуклеиновых кислотах, Fe – в гемоглобине, Zn и Cu – в молекулах ферментов);
- 2) в форме нерастворимых отложений (Ca и P в костной ткани);
- 3) в растворенном состоянии в биологических жидкостях и цитозоле клеток (катионы K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , анионы Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-}).

Основная роль минеральных веществ в организме заключается в регуляции кислотно-щелочного равновесия, проницаемости мембран, поддержании на постоянном уровне осмотического давления клеток, крови, лимфы. Минеральные вещества участвуют в построении и формировании молекул белка и других соединений, изменяют активность ферментов, отвечают за передачу нервного импульса.

Характерной особенностью обмена минеральных элементов является антагонизм, синергизм их действия и взаимозаменяемость. Так, там, где ионы K^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} выступают активаторами ферментов, ионы Na^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu соответственно – ингибиторами. Изменения степени окисления элемента в процессе его обмена сопровождается резкой сменой его физиологической активности. Так Cr^{2+} стимулирует белковый, углеводный и жировой обмен в организме, а Cr^{6+} блокирует окислительное фосфорилирование. Всасывание Fe^{2+} происходит легче, чем Fe^{3+} .

Минеральные вещества в организме, как и все другие вещества, постоянно обновляются, часть выводится в составе продукции (с 1 литром молока выводится 1 г Ca , с одним яйцом весом 56 г выводится 2 г кальция и 0,12 г фосфора).

Для организма важно не только количество поступающих отдельных химических элементов, но и их соотношения (кальций и фосфор 2:1, натрий : калий : кальций 1:1:1,5). Нарушение поступления количества и соотношения отдельных элементов в кормах приведет к дисбалансу этих элементов в организме и проявится различными заболеваниями.

Цель занятия. Познакомиться с методами исследования минерального обмена. Изучить роль отдельных химических элементов в обмене веществ.

Материалы и оборудование. $NaOH$, 10 % раствор; мурексид, 1 % раствор; трилон Б, 0,005М раствор (1,84 г сухого вещества доведенного дистиллированной водой до 1 л); ТХУ, 10 % раствор; молибдат аммония (5г молибденово-кислого аммония доводят до 100 мл 5 н серной кислотой); 1% раствор аскорбиновой кислоты в 0,1 н растворе HCl ; стандартные растворы фосфора: а) основной – 4,394 KH_2PO_4 , высушенного до постоянного веса и доведенного дистиллированной водой до 1 л, в 1 мл такого раствора содержится 1 мг фосфора, б) рабочий – 1 мл основного стандартного раствора доводят до 50 мл, в 1 мл данного раствора содержится 0,02 мг фосфора; хлорид натрия, 0,4 % раствор; ализариновый красный, 1% раствор водный; HCl , 0,01 н раствор из

фиксаналя; сыворотка крови; колбочки, цилиндры, пробирки, центрифужные пробирки, стеклянные палочки, центрифуга, фотоэлектроколориметр.

Опыт 1. Комплексонометрический метод определения кальция в сыворотке крови. Кальций составляет почти треть всех минеральных веществ в организме. Около 97 % кальция сосредоточено в костной ткани в виде фосфатов и карбонатов, 1 % кальция находится в ионизированном состоянии.

Содержание кальция в сыворотке крови зависит от вида, возраста и физиологического состава животного и в норме составляет в среднем:

	мг%	моль/л
коровы	11,0-13,0	2,74-3,24
телята	11,0-12,0	2,74-2,99
свины	11,0-13,0	2,74-3,24
куры	13,0-20,0	3,24-4,99
лошади	12-14	2,74-4,03

Снижение концентрации кальция в крови (гипокальцемия) наблюдается при неполноценном кормлении, рахите, остеомаляции, нефрите, неврозах, родильном парезе, а повышение (гиперкальцемия) – при гипервитаминозе витамина D, гиперфункции передней доли гипофиза, метаболическом ацидозе, острой атрофии костей. Определение концентрации кальция в сыворотке крови позволяет диагностировать эти заболевания, а также установить кальций-фосфорное соотношение.

Кальций образует с мурексидом (пурпутат аммония) комплексное соединение розового цвета. Под действием более сильного комплексобразователя трилона Б (ЭДТА или динатриевая соль этилендиаминтетраацетата) мурексидокальциевый комплекс разрушается и образуется новый трилонкальциевый комплекс. Освобождающийся мурексид окрашивает раствор в сине-фиолетовый цвет. По количеству израсходованного на титрование трилона Б рассчитывают концентрацию кальция в крови.

В две колбочки при помощи цилиндра вносят по 25 мл дистиллированной воды, по 1 мл 10 % раствора NaOH и по 10 капель 1 % раствора мурексида. Раствор в колбочках приобретает сине-фиолетовую окраску. Одну колбочку оставляют для контроля цвета. Во вторую колбочку добавляют 1 мл сыворотки крови, при этом сине-фиолетовая окраска меняется на розовую. Содержимое второй колбочки оттитровывают 0,005 М раствором трилона Б до появления сине-фиолетовой

окраски как в контроле.

Содержание кальция в сыворотке крови рассчитывают по формуле:

$$X=n \cdot 0,2 \cdot 100,$$

где X – концентрация кальция в сыворотке крови, мг%;

n – количество мл 0,005 М раствора трилона Б, израсходованного на титрование опытной пробы;

0,2 – количество кальция, которое соответствует 1 мл 0,005 М раствора трилона Б;

100 – коэффициент пересчета количества кальция на 100 мл сыворотки крови.

Для пересчета мг% в моль/л (единицы СИ) результат умножают на 0,25 ($10:40=0,25$).

Вывод. Концентрация кальция в исследуемой крови составляет ... мг% или ... ммоль/л.

Опыт 2. Определение неорганического фосфора в сыворотке крови. В крови содержится фосфор, связанный с органическими соединениями (форменные элементы крови), в сыворотке в основном содержатся неорганические фосфаты. Содержание неорганического фосфора в сыворотке крови зависит от вида, возраста и физиологического состояния организма. В норме содержание фосфора в сыворотке крови находится в пределах 3-7 мг% или 0,97-2,26 ммоль/л. Повышение концентрации неорганического фосфора в крови (гиперфосфатемия) наблюдается при высоком уровне концентратов в рационе, при гипервитаминозе D, интенсивной мышечной работе, почечной недостаточности, лейкозах, в период заживления костной ткани.

Пониженное содержание фосфора в сыворотке (гипофосфатемия) имеет место при рахите, остеомаляции, избытке кальция в рационе, при нарушении всасывания фосфатов в кишечнике.

Определение неорганического фосфора в крови, помимо диагностирования ряда заболеваний, позволяет контролировать кальций-фосфорное соотношение. У здоровых животных в норме оно должно состоять 1,6:2. Изменение этого соотношения говорит о нарушении кальций-фосфорного обмена. Неорганический фосфор реагирует с молибденовой кислотой с образованием фосфомолибденовой кислоты, которая восстанавливается аскорбиновой кислотой до фосфомолибденового комплекса, окрашенного в синий цвет. Интенсивность окраски пропорциональна количеству неорганического фосфора. Белки сыворотки предварительно осаждают трихлоруксусной кислотой.

В центрифужную пробирку последовательно вносят 3 мл дистил-

лированной воды, 1 мл сыворотки крови, 1 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты. Содержимое пробирки перемешивают стеклянной палочкой и через 5 минут центрифугируют при 2500-3000 об/сек в течение 15-20 мин.

В опытную пробирку (0) последовательно вносят 2,5 мл центрифугата крови (что соответствует 0,5 мл сыворотки крови), добавляют 0,5 мл раствора молибдата аммония, 0,5 мл 1% раствора аскорбиновой кислоты и 6,5 мл дистиллированной воды. Перемешивают путем переливания из одной пробирки в другую.

Одновременно готовят стандартную пробу (С). В пробирку вносят 1 мл рабочего стандартного раствора фосфора: 0,5 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты, 0,5 мл молибдата аммония, 0,5 мл 1% раствора аскорбиновой кислоты и 7,5 мл дистиллированной воды. Через 10 мин опытную и стандартную пробы колориметрируют на фотоэлектроколориметре с красным светофильтром при длине волны 660-680 нм в кювете на 10 мм против дистиллированной воды.

Количество неорганического фосфора в крови находят по формуле:

$$X = \frac{E_0 \cdot 0,02 \cdot 100}{E_c \cdot 0,05}, \text{ где}$$

X – количество неорганического фосфора в исследуемой сыворотке крови, мг%;

E_0 – экстинкция опытной пробы (показания фотоэлектроколориметра при исследовании опытной пробы);

E_c – экстинкция стандартной пробы;

0,02 – количество фосфора в 1 мл рабочего стандартного раствора фосфора, мг;

0,5 – количество мл сыворотки крови, взятой для конечного определения;

100 – коэффициент пересчета количества фосфора на 100 мл сыворотки крови.

При пересчете мг% в моль/л результат нужно умножить на коэффициент 0,323 (10:31).

Оформить работу и вывод записать в тетрадь.

Вывод. В результате биохимического анализа установлено, что в сыворотке крови исследуемого животного содержится _____ ммоль/л неорганического фосфора.

Опыт 3. Определение резервной щелочности крови по методу Раевского. Резервная щелочность крови представляет собой запас

основных катионов, необходимых для поддержания слабощелочной реакции крови и характеризует состояние кислотно-щелочного баланса в организме. Нарушение кислотно-щелочного баланса проявляется в виде ацидоза (увеличение в крови кислот) и алкалоза (увеличение в крови оснований). Ацидоз и алкалоз, протекающие без изменения рН крови, называют компенсированными, а сопровождающиеся изменением рН – декомпенсированными.

Как правило, у животных говорят о метаболическом ацидозе и алкалозе. Это состояние возникает при избыточном поступлении в кровь отдельных промежуточных метаболитов обмена веществ. При хроническом нефрите, отравлениях, нарушениях функции печени, микроэлементах в кровь начинают поступать органические кислоты, и в крови наблюдается дефицит анионов HCO_3^- . Алкалоз наблюдается реже при ожогах, избыточной потере калия и хлора через ЖКТ, поражениях тканей.

У КРС может наблюдаться компенсированный ацидоз при избытке в рационах кислых и недоброкачественных кормов (жом, барда, силос), концентратов, при недостатке в рационе калия и натрия, кальция, магния, особенно в стойловый период.

В норме резервная щелочность крови сельскохозяйственных животных находится в пределах 400-800 мг%, что соответствует 100-200 ммоль/л гидроксида натрия (коэффициент пересчета 0,25 или 10:40).

При определении резервной щелочности щелочные продукты крови нейтрализуют кислотой и учитывают в расчете на кристаллический едкий натр.

В две пробирки отмеряют по 2 мл 0,4% раствора хлорида натрия и по 2 капли 1% раствора ализаринового красного. Жидкость в пробирках приобретает одинаковый вишнево-красный цвет. В одну пробирку добавляют 0,2 мл сыворотки крови (опытная проба), а во вторую – 2 капли 0,01 н раствора соляной кислоты (контрольная проба). Содержимое опытной пробы оттитровывают 0,01 н раствором соляной кислоты до перехода вишнево-красного цвета в желтый, соответствующий цвету жидкости контрольной пробы.

Резервную щелочность крови в мг% в пересчете на кристаллический едкий натр находят по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 0,4 \cdot 100}{0,2}, \text{ где}$$

X – резервная щелочность, мг% NaOH;

a – количество 0,01 н HCl, израсходованной на титрование;

0,4 – количество мг NaOH, соответствующее 1 мл 0,01 н HCl;
0,2 – количество мл сыворотки крови, взятой для исследования;
100 – коэффициент пересчета, мг%.

Вывод. Биохимический анализ показал, что резервная щелочность крови исследуемого животного составила ... м моль/л NaOH.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Барковский, Е. В. Введение в химию биогенных элементов и химический анализ: учеб. пособие / Е. В. Барковский, С. В. Ткачев, Г. Э. Атрахимович и др. – М.: Высшая школа, 1997. – 126 с.
2. Биохимия животных: Учебник для студ. зооинженер. и ветеринарн. ф-тов с/х вузов / А.В. Четкин, И.Д. Головацкий, П.А. Калиман, В.И. Воронянский /Под ред. проф. А.В.Четкина. – М., Высш. школа, 1982. – 511 с.
3. Грандберг, И.И. Органическая химия: Учебник для студентов вузов обучающихся по агрономическим специальностям 6-ое изд, стереотипное. – Дрофа:– 2004. – 672 с.
4. Князев Д. А. Неорганическая химия/ Д. А. Князев, С. Н. Смарицын. – М.: Высш. шк., 1990. - 425 с.
5. Кононский, А.И. Биохимия животных: учебник пособие для вузов/ А. И. Кононский. – Киев: Вища школа. Головное изд-во, 1980. – 432 с.
6. Химия. Лабораторный практикум: учеб. пособие/А. Р. Цыганов, О. В. Поддубная, И. В. Ковалева, Т. В. Булак.–Минск: ИВЦ Минфина, 2015. – 320 с.
7. Химия. Общая химия с основами аналитической : учебно-методическое пособие / А. Р. Цыганов [и др.]. – Горки : БГСХА, 2012. – 204 с. ISBN 978-985-467-393-6.
8. Цыганов, А.Р. Биохимия практикум: учебное пособие / А.Р. Цыганов, И.В. Сучкова, И.В. Ковалева. – Минск: ИВЦ Минфина, 2007. – 150 с.
9. Цыганов, А. Р. Сборник задач и упражнений по химии : учеб. пособие / А. Р. Цыганов, О. В. Поддубная. – Минск : ИВЦ Минфина, 2013. – 234 с.

Дополнительная

1. Алешин, В.А. и др. Практикум по неорганической химии - М.: Издат. Центр "академия", 2004. – 384 с.
2. Березов, Т.Т. Биологическая химия: учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 1998. - 704 с.
3. Белясова, Н.А. Биохимия и молекулярная биология: учеб. пособие. – Минск: Книжный дом, 2004. – 416 с.
4. Введение в лабораторный практикум по неорганической химии: Учеб. пособие / В.В. Свиридов, Г.А.Попкович и др. – Мн: Выш. шк., 2003. – 96с.
5. Зайцев, С.Ю. Биохимия животных. – Санкт-Петербург: Изд-во «Лань», 2004.- 382с.
6. Кудряшов Л. С. Физико-химические и биохимические основы производства мяса и мясных продуктов. - М.: ДеЛи принт, 2008. - 160 с.
7. Ленский, А. С. Введение в бионеорганическую и биофизическую химию / А. С. Ленский. – М.: Высшая школа, 1989.
8. Метревели, Т.В. Биохимия животных. Санкт-Петербург: Изд-во «Лань», 2004.- 295с.
9. Микробиологический анализ мяса, птицы и яйцепродуктов. /Под ред. Дж. К.Мида; пер. с англ. И.С.Горожанкиной.- М.: Профессия, 2009. - 384с.
10. Николаев, А.Я. Биологическая химия: учебник / А.Я. Николаев. – М.: Мед. информ. агенство, 2004. - 566 с.
11. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов: учебник для вузов/ Ю.А. Ершов, В.А. Попков и др. 6-е изд.,стер. М.: Высш. шк., 2007. – 560с.
12. Слесарев, В. И. Химия: основы химии живого: учебник для вузов / В. И. Слесарев. – СПб: Химиздат, 2001.
13. Угай, Я. А. Общая и неорганическая химия: учеб. для вузов. 4-е изд. - М.: Высш. шк., 2004. – 440 с.

14. Хазипов, Н.З. Биохимия животных: учебник / Н.З. Хазипов, А.Н. Аскарова. – Казань: КГАВМ, 2003. – 312 с.

Справочники

1. Кольман, Я., Рем, К.-Г. Наглядная биохимия: Пер. с нем. — М.: Мир, 2000. - 469 с.

2. Лидин, Р.А. Химические свойства неорганических веществ/ Под ред. Р.А. Лидина. – 5-е изд., стер. – М.: КолосС, 2008, - 480 с.: ил.

Составители

Поддубная Ольга Владимировна

Ковалева Ирина Владимировна

Мохова Елена Владимировна