KURS PRAKTYCZNY
CHEMJI FIZJOLOGICZNEJ
DLA SŁUCHACZÓW MEDYCYNY PRZYRODNIKÓW I LEKARZY

DRUKARNIA A. GOJAWICZYŃSKIEGO WE LWOWIE.

Przedmowa.

Po wyczerpaniu wydanych w r. 1919 „Wskazówek i objaśnień do ćwiczeń z chemji lekarskiej“, postanowiłem zastąpić „Wskazówki“ przez dziełko obszerniejsze; tak powstała książeczka, którą oddaję do użytku uczących się i pracowników.

„Wskazówki i objaśnienia“ były poniekąd przystosowane do trudnych warunków doby wojennej: „Kurs praktyczny“ ma już odpowiadać nauczaniu znacznie rozszerzonemu, już nie zacieśnionemu brakiem najprostszych odczynników, lecz zastosowanemu do stanowiska chemji w fizjologji i patologji współczesnej.

Ćwiczenia z chemji lekarskiej mają za zadanie obznajomienie praktyczne słuchaczów medycyny z najważniejszemi własnościami chemicznemi i fizycznemi tych ciał, z któremi spotkają się w fizjologji chemicznej, w medycynie wewnętrznej i farmakologji, oraz z najważniejszymi odczynami rozpoznawczymi. Warunki, w jakich odbywają się takie ćwiczenia, wymagają pewnego kompromisu między tem, co się uważa za pożądane, pod względem wyboru materjału a tem, co da się osiągnąć.

Kierunek chemiczny w fizjologji normalnej i patologicznej rozwinął się potężnie: nauki te rozwijają się coraz bardziej w kierunku chemicznym; coraz głębszej i szerszej znajomości chemji i chemji fizjologicznej potrzeba dla ich zrozumienia, a zwłaszcza dla współpracy w ich rozwoju. Można bez przesady twierdzić, że to, czego się student chemji w ciągu czteroletnich studjów nauczy, jest raczej niedostatecznem, niż nadmiernem przygotowaniem do zrozumienia i opanowania fizjologji i patologji chemicznej.

Studjum medycyny jest tak ułożone, że na kursa praktyczne z chemji przypada dla ogółu studentów tylko 210 godzin, na ćwiczenia z chemji lekarskiej 160 godzin. Ćwiczenia trzeba zatem urządzić tak, ażeby słuchacz mógł się w tym krótkim czasie zapoznać z ogólnemi prawami chemicznemi i z chemją nieorganiczną, z chemją organiczną i fizjologiczną. Zastosowanie chemji do celów rozpoznawczych (chemiczne metody badań klinicznych) stanowią dział osobny, blizko z fizjologiczną spokrewniony, ale należący do propedeutyki klinicznej. Trudności, związane z obznajomieniem słuchaczów w krótkim czasie z tak olbrzymim materjałem, są spotęgowane przez napływ młodzieży, brak miejsca i ewentualną konieczność odbywania ćwiczeń grupami; pomimo to uważam za rzecz konieczną, ażeby każdy słuchacz przerabiał wszystkie ćwiczenia sam; przy pracy grupami, które wspólnie mają wykonywać poszczególne zadania, część uczestników do zadania ręki nie przykłada i nie przyjmuje nawet do wiadomości tego, co jeden lub dwu z grupy wykonuje i spostrzega. Każdemu studentowi dajemy przeto możność przerobienia na własną rękę wszystkich ćwiczeń, ale jesteśmy zmuszeni dobrać ćwiczenia tak, aby wystarczały utensylja jak najprostsze; każdy student otrzymuje tuzin probówek, parowniczkę, lejek, tryskawkę, moździerzyk, zlewkę,

pręciki szklane i pipetki; wszystkie odczyny wykonuje się w probówkach lub parowniczkach.

Wybór ćwiczeń w kursach chemji fizjologicznej, lub tak zwanej lekarskiej, bywa bardzo rozmaity i najczęściej uwydatnia kierunek preparatywny lub analityczny (Abderhalden, Salkowski); przeprowadzenie takich ćwiczeń dla ogółu studentów jest niemożliwem, gdyż wymagałoby całodziennych lub conajmniej półdziennych codziennych ćwiczeń w ciągu półrocza; przeznaczamy takie ćwiczenia dla tych słuchaczów, którzy przedmiotem bardziej się interesują i poświęcają mu przez dłuższy czas godziny wolne W III. części tej książki zebrane są niektóre metody fizjologiczno-chemiczne dla tych właśnie studentów. Natomiast nie można myśleć nawet o tem, ażeby dwustu słuchaczów, pracujących w ciągu roku, nauczyć choćby tylko wprawnego wykonywania metody Kjeldahla. Dla tego ogółu słuchaczów jest przeznaczony kurs praktyczny (Cz. I i II), obejmujący wyłącznie próby jakościowe. Taki układ ćwiczeń, wprowadzony pierwotnie w pracowni fizjologiczno chemicznej w Strassburgu, może dać wiele korzyści studentowi, przerabiającemu ćwiczenia uważnie i starannie, zastanawiającemu się nad tem, co robi; pozwala mu zaznajomić się z bardzo wielką liczbą ciał, większą niemal niż ta, z którą słuchacz chemji zapoznaje się zwykle w ciągu zajęć w pracowni organicznej. Wyłączamy na razie zupełnie kierunek techniczno-analityczny i preparatywny ograniczając się niemal wyłącznie do poznawania własności ciał badanych.

Z „Wskazówek dla praktycznego nauczania chemji dla studentów medycyny“, mojego nauczyciela, F. Hofmeistra († 1922), przejąłem układ części I., którego myślą przewodnią jest, ażeby pracujący kilkakrotnie z tymi samymi spotykał się odczynami, np. raz z aminokwasami wolnymi, potem z aminokwasami w białku, wreszcie w przetworach trawienia itd.

Objaśnienia mają przypomnieć tym, którzy z przedmiotem są już obznajomieni, nabyte już poprzednio wiadomości. Część, zajmująca się analizą ilościową, jest przeznaczona dla słuchaczów zaawansowanych; zbytnie rozszerzenie tej części uważałem za zbyteczne, gdyż posiadamy w języku polskim podręcznik do badań fizjologiczno-chemicznych Leona Marchlewskiego (1916).

Pomieściłem w niniejszej książeczce niektóre metody nowsze, szczególnie z zakresu analizy chemicznej krwi, ażeby ze względu na wielką doniosłość tych metod — dla celów fizjologji i patologji — uprzystępnić je ogółowi lekarzy. Przy opracowaniu tej części książeczki korzystałem już z piśmiennictwa ostatniej doby, zwłaszcza z angielskiego i amerykańskiego: technika analizy fizjologiczno chemicznej rozwija się w Ameryce szczególnie bujnie. Może ta część książeczki odpowie potrzebom lekarzy i pracowników klinicznych, którzy ją już w poprzedniej, nie dla nich przeznaczonej formie, darzyli sowicie względami. Metody podane tu są osobiście wypróbowane i sprawdzone, w szczegółach często zmienione, jeśli się to wydawało praktycznem.

W sprawie techniki urządzania ćwiczeń przyda się może kilka uwag. Materjały i odczynniki są przygotowane i rozstawione na stołach przez okres czasu, w ciągu ktorego, według ułożonego planu zajęć, uczestnicy winni dane ćwiczenia przerobić. Przez przygotowanie odczynników osiąga się to, że w krótkim czasie można przejść dużą liczbę prób. Wobec trudności, na jakie napotyka obecnie zaopatrzenie pracowni w pewne materjały i naturalnej tendencji do marnowania ich u początkujących, wydaje się odczynniki rzadsze i kosztowniejsze w taki sposób, że służba wydziela pracownikom ilości odczynników, potrzebne do wykonania odczynów. Można w ten sposób przeprowadzić opisane tu ćwiczenia nawet wtedy, jeżeli się rozporządza małemi ilościami odczyn-

ników; np. 5 g arabinozy wystarcza, ażeby 200 uczestników kursu przerobiło po 10 rozmaitych prób na arabinozę.

Na końcu podajemy źródła, względnie sposoby otrzymania niektórych rzadszych chemikaljów.

Panu Drowi Włodzimierzowi Mozołowskiemu, asystentowi Zakładu Chemji lekarskiej Uniwersytetu Jana Kazimierza we Lwowie, dziękuję serdecznie za gorliwą pomoc przy ułożeniu i przy przeprowadzeniu druku tego podręcznika, oraz za ułożenie skorowidza i czytanie korekty.

W kwietniu 1923.

Uwagi wstępne.

Odczyny wykonuje się w probówkach, które można ogrzewać bezpośrednio na płomieniu gazowym. Przy ogrzewaniu trzeba probówkę poruszać lub wstrząsać nią. Czystość probówki jest pierwszym warunkiem udawania się odczynów. Wszystkie przepisy, podane w tym podręczniku, są wypróbowane i muszą się udać, jeżeli pracujący ściśle do przepisów się stosują. Najczęściej popełnianym błędem jest używanie niewłaściwych, zwłaszcza nadmiernych ilości odczynników; wszystkie dane co do ilości odczynników należy brać dosłownie: jest rzeczą jasną, że np. w próbie I. 15 b. ilość wodorotlenku potasowego, wystarczająca na zmydlenie kropelki oliwy, nie może wystarczyć na 1 cm^3 oliwy, a jednak często widać, jak pracujący bezmyślnie biorą do tej próby po kilka cm^3 oliwy. Przy wykonywaniu odczynów należy powoli dodawać odczynniku, który reakcję wywołuje, żeby móc spostrzegać stopniowe występowanie i wzmacnianie się odczynu; wszędzie, gdzie odczynnik ma być odrazu dodany lub mieszanina reagu-

jących ciał szybko ogrzana, zaznaczono to w przepisie. Jak najczęściej należy posługiwać się próbami ślepemi, które umożliwiają często zauważenie charakterystycznych cech odczynu. Jeżeli odczyn się nie uda, należy przedewszystkiem przekonać się, czy się użyło właściwych odczynników (pomyłki zachodzą bardzo często!), ewentualnie sprawdzić odczynniki; nigdy nie należy odkładać próby, lecz raczej zwrócić się z zapytaniem do personelu nauczającego. Błędy, robione przy wykonywaniu poszczególnych reakcyj, są tak jednostajne, że najczęściej odrazu można objaśnić, na czem polegają. Wykonywanie odczynów bez zastanawiania się jest rzeczą zupełnie bezużyteczną: przed wykonaniem każdego odczynu należy zastanowić się nad jego istotą i nad własnościami użytych odczynników. Odczyny, których chemiczny przebieg jest znany, są objaśnione w tekście. Wielka liczba odczynów, służących do ważnych celow rozpoznawczych, nie daje się objaśnić wystarczająco.

Spis rzeczy.

Dostrzeżone omyłki druku:

Str.	Wiersz	Zamiast:	Ma być:
6.	15 od góry	H_2SO_2	H_2SO_4
22.	16 „ „	CN	Zn
33.	15 „ „	miedziawym	miedziowym
35.	2 od dołu	osad	osad,
46.	2 „ „	tsępuje	stępuje
53.	13 od góry	nasstę-	nastę-
59.	3 od dołu	61	62
60.	7 od góry	62	63
61.	1 „ „	63	64.
65.	3 „ „		po słowie: „arginine" dopisać: „Lizyna czyli kwas ε-d-dwuaminokapronowy"
67.	2 „ „	Piotrkowskiego	Piotrowskiego
71.	3 od dołu	skłaoa	składa
74,	10 „ „	iirmę	firmę
76.	7 od góry	żelazocjanek	żelazicjanek
76.	Schemat	brak strzałki	strzałka na lewo w dół od słowa „oksyhemoglobina"
76.	Schemat	hematyna	Hematyna
93.	5 od dołu	czerwoym	czerwonym
108.	11 od góry	moccu	moczu
112.	1 od góry	V.	VI.
138.	rycina	D	B
138.	„	B	D
146.	11 od dołu	krw	krwi.

CZĘŚĆ I.

1. Wykrywanie pierwiastków w związkach organicznych.

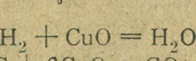
Ażeby stwierdzić, czy ciało badane jest związkiem organicznym, należy wykazać, że zawiera węgiel i wodór. Ważnymi składnikami ciał, wchodzących w zakres chemji fizjologicznej, są, oprócz węgla, wodoru i tlenu: azot, siarka, fosfór, chlorowce i żelazo.

A. Próby na węgiel.

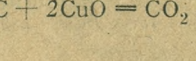
a) Ziarenko substancji suchej lub kroplę płynu ogrzewamy ostrożnie na blaszce niklowej albo platynowej; związki, zawierające węgiel spalają się albo zwęglają; węgiel powstały spala się łatwiej lub trudniej, a nielotne substancje nieorganiczne tworzą popiół. Jeżeli w skład badanej substancji wchodziły tylko metale alkaliczne lub ziem alkalicznych, to otrzymamy po spaleniu popiół biały. Niektóre substancje organiczne sublimują, nie spalając się wcale na blaszce, np. kwas będźwinowy lub salicylowy; inne znowu, bardzo blizkie ostatecznych przetworów utlenienia węgla, jak kwas szczawiowy, zamieniają się w dwutlenek węgla i wodę bez uprzedniego zwęglenia.

B. Próby na wodór.

a) Ponieważ wszystkie substancje organiczne zawierają wodór, przeto poszukiwanie wodoru po wykazaniu węgla jest naogół zbyteczne. Jeżeli się jednak ma takie wykonać, to miesza się substancję badaną z tlenkiem miedzi i żarzy mieszaninę w suchej probówce; woda skrapla się w górnych częściach probówki, tlenek miedzi odtlenia się, dając czerwoną miedź metaliczną. Do tej próby zarówno substancja badana, jako też tlenek miedzi i probówka muszą być bezwzględnie suche; tlenek miedzi, nawet przechowywany w zamkniętych flaszkach zawiera zwykle wodę. Tą samą próbą można wykazać obecność węgla: pod działaniem rozżarzonego tlenku miedzi spala się na dwutlenek węgla, który wykryć można za pomocą wody barytowej lub wapiennej.



$$H_2 + CuO = H_2O + Cu$$



$$C + 2CuO = CO_2 + 2Cu$$

C. Próby na azot.

a) Próba *Lassaigne'a*. Związki organiczne, zawierające azot, żarzymy z potasem; wtedy z azotu, węgla i potasu tworzy się cjanek potasu (KCN).

Na dnie rurki długości 8 cm, o świetle 5 mm, wyciągniętej spiczasto, umieszczamy parę mg badanego ciała; nad nią — kawałeczek potasu metalicznego tak wielki, aby po stopieniu nie wypełnił całkowicie światła probówki. Ogrzewamy ostrożnie, poczynając od góry tak, ażeby wpierw stopić metal, potem żarzymy substancję organiczną, która wchodzi w żywą reakcję z potasem. Rozżarzoną rurkę wrzucamy do probówki, zawierającej 4 cm^3 wody; rureczka pęka; poruszamy probówką tak, ażeby zawartość

rureczki uległa rozpuszczeniu, poczem sączymy otrzymany roztwór. Do przesączu dodajemy kroplę rozcieńczonego roztworu siarczanu żelazawego[1]), gotujemy, dodajemy kroplę rozcieńczonego chlorku żelazowego, poczem zakwaszamy kwasem solnym. Jeżeli badana substancja zawiera azot, to wystąpi niebieskie zabarwienie lub niebieski osad błękitu pruskiego.

b) Mieszamy sproszkowaną substancję dokładnie z wapnem sodowanem[2]) i ogrzewamy w probówce, z wielu substancyj, zawierających azot, odszczepia się amoniak, który wykazujemy u wylotu probówki przez zniebieszczenie wilgotnego papierka lakmusowego.

D. Próby na siarkę.

a) Rozcieramy substancję z podwójną ilością sody i saletry i wprowadzamy do miseczki niklowej lub srebrnej (w braku takich, porcelanowej), w której uprzednio stopiliśmy nieco saletry; ogrzewamy mieszaninę dopóty, aż węgiel zniknie; rozpuszczamy stop po ochłodzeniu w wodzie, zakwaszamy silnie kwasem solnym i wykazujemy jon siarczanowy (SO_4'') chlorkiem barowym.

E. Próby na fosfór.

a) Postępujemy jak przy wykazywaniu siarki, ale z tą różnicą, że roztwór stopu zakwaszamy kwasem azotowym i dodajemy na gorąco molibdenianu amonowego. Żółty osad wykazuje obecność kwasu fosforowego.

---

[1]) Świeżo przyrządzonego z kryształku.

[2]) T. j. wapnem palonem, gaszonem roztworem wodorotlenku sodowego.

F. Próby na chlorowce.

a) Sproszkowane ciało mieszamy w miseczce ze stężonym roztworem sody żrącej, *który nie zawiera chloru;* ogrzewamy ostrożnie aż do zwęglenia substancji organicznej i dodajemy po usunięciu płomienia drobną ilość sproszkowanej saletry, ażeby węgiel całkowicie spalić. Po ochłodzeniu rozpuszczamy stop w wodzie, zakwaszamy kwasem azotowym i badamy na chlorowodór, bromowodór, jodowodór.

G. Próby na żelazo.

a) Żarzymy substancję w tygielku porcelanowym, ustawionym dla lepszego dostępu powietrza ukośnie, dopóki węgiel nie zniknie; rozpuszczamy popiół w czystym kwasie solnym i wykonujemy próbę na jon żelazowy przez dodanie żelazocjanku $[K_4Fe(CN)_6]$ potasowego.

Próby na węgiel, wodór, azot, fosfór wykonujemy na kazeinie, próby na siarkę na albuminie jaja kurzego, próby na żelazo — na zaschłej krwi lub hemoglobinie; próby na związane organicznie chlorowce (J) można wykonać na preparatach tarczycowych lub białkach jodowanych, wytwarzanych do celów leczniczych.

2. Odczyny ciał organicznych.

1. Rozdział. Szereg tłuszczowy.

1. Alkohol etylowy (C_2H_5OH).

Alkohole są zbudowane z grupy alkilowej (CH_3, C_2H_5, C_3H_7 i t. d.) i rodnika wodorotlenowego: ogólne odczyny alkoholów są odczynami wodorotlenu, związanego z resztą organiczną; w szczególności związanego tak, że atom węgla, dźwigający wodorotlen, nie jest już związany z dru-

gim atomem tlenu. Zależnie od tego, czy atom węgla, związanego z wodorotlenem, jest związany z jednym, dwoma lub trzema innymi atomami węgla, rozróżniamy alkohole pierwszorzędowe, drugorzędowe, trzeciorzędowe.

a) Alkohole przechodzą pod działaniem kwasów w estry, z rodników wodorotlenowych kwasu i alkoholu występuje przytem cząsteczka wody.

$$C_2H_5OH + CH_3COOH = CH_3COOC_2H_5 + H_2O$$

Alkohol etylowy; Kw. octowy; Ester etylowy kw. octowego;

10 kropli alkoholu etylowego zmieszać ze szczyptą octanu sodowego i 20 kroplami stężonego kwasu siarkowego; przy ogrzaniu występuje zapach estru octowego. W odczynie tym kwas siarkowy służy jako katalizator reakcji i jako substancja, wiążąca wodę wytworzoną.

b) Chlorki kwasów tworzą z alkoholami również estry kwasów, przyczem odszczepia się chlorowodór. Dla związania chlorowodoru wykonujemy tę reakcję w obecności sody żrącej.

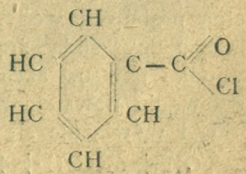
Kilka kropli alkoholu wstrząsamy długo z równą ilością kropli chlorku benzoilowego i kilku centymetrami sześciennymi stężonego roztworu sody żrącej. Ostra woń chlorku benzoilowego znika, a występuje natomiast aromatyczny zapach estru etylowego kwasu będźwinowego.

$$C_2H_5OH + C_6H_5COCl + NaOH = C_6H_5COOC_2H_5 + NaCl + H_2O.$$

c) Powstawanie estrów kwasów nieorganicznych wykazujemy na kwasie etylo-siarkowym.

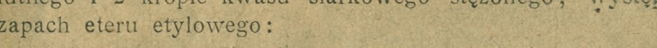
10 kropli alkoholu ogrzewamy z 5 kroplami kwasu siarkowego stężonego:

$$C_2H_5OH + H_2SO_4 = C_2H_5OSO_2OH + H_2O;$$



Chlorek benzoilowy.

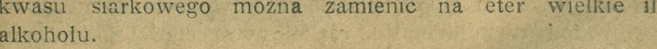
zobojętniamy sodą żrącą, poczem dodajemy chlorku barowego, który strąci całkowicie siarczany wolne, a pozostawi w roztworze kwas etylosiarkowy $C_2H_5OSO_2OH$, który w przesączonym płynie można wykazać, gotując przez 2 minuty, po dodaniu połowy objętości stężonego kwasu solnego:



$$C_2H_5OSO_2OH + H_2O = C_2H_5OH + H_2SO_4.$$

Kwas solny działa w tej reakcji jedynie jako katalizator. Jeżeli roztwór, gotowany z kwasem solnym zawiera jeszcze nadmiar chlorku barowego, to odszczepiony kwas siarkowy wytworzy ponownie osad siarczanu barowego.

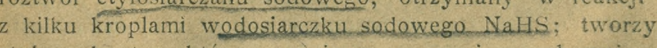
d) Ogrzewamy do wrzenia 3 krople alkoholu absolutnego i 2 krople kwasu siarkowego stężonego; występuje zapach eteru etylowego:



$$C_2H_5OSO_2OH + C_2H_5OH = C_2H_5OC_2H_5 + H_2SO_2.$$

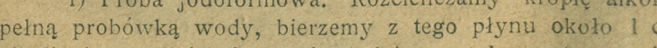
Przykład reakcji katalitycznej, w której drobną ilością kwasu siarkowego można zamienić na eter wielkie ilości alkoholu.

e) Rodnik wodorotlenowy alkoholu można zastąpić przez rodnik siarkowodorowy (SH); ogrzewamy zasadowy roztwór etylosiarczanu sodowego, otrzymany w reakcji (c) z kilku kroplami wodosiarczku sodowego NaHS; tworzy się etylomerkaptan, który poznajemy po woni czosnkowej:



$$C_2H_5OSO_2ONa + NaSH = C_2H_5SH + Na_2SO_4.$$

f) Próba jodoformowa. Rozcieńczamy kroplę alkoholu pełną probówką wody, bierzemy z tego płynu około 1 cm^3, alkalizujemy sodą żrącą i dodajemy tyle roztworu jodu w jodku potasu, ażeby płyn zabarwił się na żółto. Przy ogrzewaniu powstaje krystaliczny żółty osad jodoformu CHJ_3 i wywiązuje się swoista woń:



$$C_2H_5OH + 6NaOH + 4J_2 = CHJ_3 + HCOONa + 5NaJ + 5H_2O.$$

Mrówczan sodowy.

Ważny odczyn rozpoznawczy, który dają również aceton i kwas mlekowy.

2. Alkohol metylowy. (CH_3OH).

a) Wykazujemy alkohol metylowy przez zamienienie go w aldehid mrówczany. Kilka kropli alkoholu metylowego mieszamy z roztworem dwuchromianu potasowego i kwasem siarkowym i ogrzewamy; wywiązują się pary aldehidu mrówczanego; pary zawierają kwas mrówczany i oddziaływują kwaśno:

$$CH_3OH + O = H_2CO + H_2O$$
$$H_2CO + O = HCOOH.$$

b) Zanurza się rozżarzoną spiralkę z drutu miedzianego kilkakrotnie do płynu, zawierającego alkohol metylowy. Do ochłodzonego płynu dodaje się nieco mleka i stężonego kwasu siarkowego, zawierającego nieco jonu żelazowego [1]): występuje fijołkowe zabarwienie. Uwaga: wykrywanie alkoholu metylowego może być zadaniem toksykologicznem, ponieważ alkohol metylowy służy niekiedy jako niebezpieczna domieszka do wódek.

3. Aldehid octowy. (CH_3CHO).

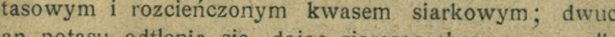
Aldehidy powstają przez utlenienie alkoholów pierwszorzędowych, charakterystyczną dla nich grupą jest $R - C \begin{matrix} O \\ \diagdown \\ \diagup \\ H \end{matrix}$ albo $R - C \begin{matrix} \diagup OH \\ \diagdown H \end{matrix} - OH$. Tylko w niektórych aldehidach, (n. p.

---

[1]) Wystarczy dodać na 100 cm^3 H_2SO_4 2 krople roztworu $FeCl_3$ 10%-towego.

chloralu $CCl_3 - C\begin{cases} OH \\ OH \\ H \end{cases}$ może odmiana wodzianowa być trwałą. Grupa karbonilowa $C = O$ albo $C\begin{cases} OH \\ OH \end{cases}$ nadaje aldehidom wielką ruchliwość chemiczną. Uwodorowanie zamienia je w alkohole, odwodorowanie wodzianu w kwasy. Z amoniakiem dają iminy $R - C\begin{cases} H \\ NH \end{cases}$, polimeryzujące się; z pochodnemi hidrazyny tworzą hidrazony, wreszcie polimeryzują się łatwo na żółte i brunatne związki żywiczne.

a) Kilka kropli alkoholu ogrzewamy z dwuchromianem potasowym i rozcieńczonym kwasem siarkowym; dwuchromian potasu odtlenia się, dając siarczan chromowy, a alkohol zamienia się w aldehid octowy o charakterystycznej, aromatycznej woni.



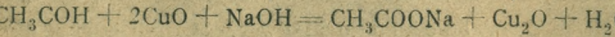
$$CH_3CH_2OH + O = CH_3CHO + H_2O.$$

b) Roztwór aldehidu octowego zadajemy roztworem Fehlinga i sodą żrącą: po ogrzaniu wydziela się ceglasty tlenek miedziawy Cu_2O. (Por. s. 25, uwaga 1).

$$CH_3COH + 2CuO + NaOH = CH_3COONa + Cu_2O + H_2O.$$

Przykład odtlenienia tlenków metali ciężkich przez aldehidy.

c) Do słabo amoniakalnego roztworu azotanu srebra dodać aldehidu octowego i nieco wodorotlenku sodowego: przy ogrzewaniu powstaje na ścianach probówki srebrne zwierciadełko:



$$NaOH + Ag_2O + CH_3CHO = 2Ag + CH_3COONa + H_2O.$$

d) Ogrzewamy kilka kropli aldehidu octowego z kroplą mocnej sody żrącej. Występuje żółte zabarwienie i powstaje żywica aldehidowa, nierozpuszczalna w wodzie.

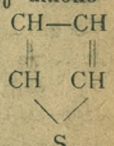
e) Dodajemy 5 kropli stężonego aldehidu octowego do 1 cm³ stężonego roztworu dwusiarczynu sodowego $NaHSO_3$; powstaje sól sodowa kwasu etylooksysulfonowego.

$$CH_3CHO + NaHSO_3 = CH_3CHOHSO_3Na.$$

f) Do roztworu aldehidu octowego dodajemy fenilohydrazyny i kwasu octowego; tworzy się oleisty hidrazon.

$$\underset{\text{Fenilohidrazyna}}{C_6H_5 - NH - NH_2} + CH_3CHO = \underset{\text{Fenilohidrazon}}{C_6H_5NH - N : CH - CH_2}.$$

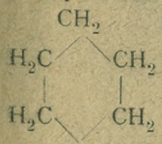
g) Kilka kropli aldehidu octowego mieszamy z 5 cm³ stężonego kwasu siarkowego i dodajemy kroplę 1 % alkoholowego roztworu tiofenu. Ogrzewamy ostrożnie we wrzącej wodzie: występuje silne zabarwienie czerwone.



Tiofen.

h) Do roztworu aldehidu octowego dodać roztworu nitroprusydku sodowego i nieco piperydyny: wystąpi mocne niebieskie zabarwienie.

i) Z mieszaniny aldehidu i alkoholu można usunąć aldehid, ogrzewając mieszaninę z tlenkiem srebrowym, otrzymanym przez strącenie azotanu srebra wodorotlenkiem sodowym i następnie wymywanie osadu kilkakrotnie wodą.



Piperydyna.

k) Roztwór (barwika czerwonego) fuksyny, odbarwiony przez dodanie właśnie takiej ilości kwasu siarkawego (roztworu SO_2 w wodzie), ażeby barwa czerwona zupełnie znikła, zabarwi się czerwono po dodaniu drobnej ilości aldehidu.

4. Aldehid mrówczany $\left(H - C \begin{smallmatrix} O \\ H \end{smallmatrix}\right)$.

Por. odczyny alkoholu metylowego i ogólne odczyny aldehidowe.

a) Do 5 cm^3 wody dodajemy kroplę amoniaku i fenolftaleinu; występuje czerwone zabarwienie. Po dodaniu roztworu aldehidu mrówczanego oddziaływanie alkaliczne znika i płyn się odbarwia.

$$6CH_2O + 4NH_3 = C_6H_{12}N_4 + 6H_2O.$$

b) Wykonujemy ten sam odczyn, biorąc zamiast amoniaku siarczan amonowy, który alkalizujemy za pomocą odrobiny bardzo rozcieńczonej sody. Do roztworu aldehidu mrówczanego dodajemy również fenolftaleinu i tyle rozcieńczonej sody, aby właśnie wywołać różowe zabarwienie. Po zmieszaniu obydwu alkalicznych płynów wystąpi oddziaływanie kwaśne i odbarwienie.

3. Kwas octowy. (CH_3COOH).

Dla kwasów organicznych charakterystyczną jest grupa karboksylowa, COOH. Ciała, zawierające taki rodnik, mają naogół charakter kwasów słabych, t. j. takich, w których tylko drobny ułamek cząsteczek ulega w roztworach wodnych dysocjacji elektrolitycznej na anion kwasowy $RC\begin{matrix}O'\\O\end{matrix}$ i katjon wodorowy $H^{\cdot}$; sole tych kwasów natomiast są dysocjowane zupełnie na anion i na kation. W kwasach wolnych istnieją przeważnie cząsteczki niby-kwasowe, w których grupa karboksylowa odpowiada wzorowi $R-C\begin{matrix}O\\OH,\end{matrix}$ pozostając w równowadze z cząsteczkami właściwemi kwasowemi, gdzie grupie karboksylowej przypisujemy wzór $-C\left.\begin{matrix}O\\O\end{matrix}\right\}'H$. W solach kwa-

sów grupa karboksylowa odpowiada tej ostatniej, jonowej formie.

Najważniejszemi pochodnemi formy niby-kwasowej są estry, które powstają przez wymianę grupy wodorotlenowej na grupę alkilotlenową, np. $CH_3COOC_2H_5$, (octan etylowy), oraz amidy, powstające przez wymianę grupy wodorotlenowej na grupę aminową, np. CH_3CONH_2, amid kwasu octowego. Związki te rozszczepiają się łatwo pod działaniem wody, w obecności kwasów lub zasad (estry szczególnie w obecności zasad, a amidy — w obecności kwasów) na kwas i alkohol, względnie kwas i amon.

a) 3 krople aldehidu octowego mieszamy z 3 cm^3 wody i ogrzewamy ze stężonym roztworem nadmanganianu potasowego ($KMnO_4$), dopóki woń aldehidu nie zniknie. Jeżeli płyn zakwasić kwasem siarkowym i ogrzać, to uchodzące pary mają ostrą woń kwasu octowego i czerwienią niebieski papierek lakmusowy.

b) Por. próbę a) z alkoholem etylowym.

c) Roztwór octanu sodowego daje z chlorkiem żelazowym czerwono-brunatny płyn, który odbarwia się po dodaniu kwasu solnego.

d) Ze stężonych roztworów octanu sodowego strąca azotan srebra trudno rozpuszczalny octan srebrowy.

6. Ester etylowy kwasu octowego czyli octan etylowy ($CH_3COOC_2H_5$).

a) Mieszamy kilka kropli octanu etylowego z podwójną objętością stężonej sody żrącej i ogrzewamy: charakterystyczna woń znika: w roztworze znajduje się octan sodowy. Proces rozłożenia estru na kwas i alkohol nazywamy zmydleniem.

$$CH_3COOC_2H_5 + NaOH = CH_3COONa + C_2H_5OH$$

7. Aceton (CH_3COCH_3).

Aceton jest najprostszym przedstawicielem ketonów, które powstają przez utlenienie alkoholów drugorzędowych. Charakterystyczną dla nich grupą jest $\begin{matrix} R \\ R_1 \end{matrix}\!\!>\!CO$; tlen związany jest podwójnie z węglem, niedźwigającym już atomu wodoru. Ketony są na ogół trwalsze, niż aldehidy. Podobnie jak aldehidy dają fenilohidrazony, ale nie ulegają tak łatwo utlenieniu. Utlenienie rozszczepia cząsteczki ketonów.

a) Do 3 cm^3 wody dodajemy kilka kropli acetonu, równą objętość kwasu siarkowego stężonego i nieco dwuchromianu potasu. Przy ogrzewaniu odtlenia się dwuchromian potasowy i wywiązują się kwaśne pary kwasu octowego i mrówczanego.

$$CH_3COCH_3 + 3O = CH_3COOH + HCOOH.$$

b) Do rozcieńczonego roztworu acetonu dodajemy wodorotlenku sodowego i roztworu jodu w jodku potasu. Płyn mętnieje i wydziela się jodoform.

$$CH_3COCH_3 + 3J_2 + 4NaOH = CHJ_3 + CH_3COONa + 3NaJ + 3H_2O.$$

Aby odróżnić aceton od alkoholu, wykonujemy tę samą próbę, używając amoniaku zamiast sody żrącej; w obecności acetonu powstaje jodoform (w tej modyfikacji t. zw. próba Gunninga).

c) Aceton daje z dwusiarczynem sodowym związek skrystalizowany.

$$CH_3COCH_3 + NaHSO_3 = (CH_3)_2 : C\begin{matrix} OH \\ SO_2ONa \end{matrix}.$$

d) Z fenilohidrazyną powstaje oleisty hidrazon:

$$CH_3COCH_3 + C_6H_5 \cdot NH \cdot NH_2 = \begin{matrix} CH_3C : N \cdot NH \cdot C_6H_5 \\ | \\ CH_3 \end{matrix}$$

e) Do rozcieńczonego roztworu acetonu dodajemy nitroprusydku sodowego ($Na_2Fe(CN)_5NO$), potem sody żrącej; występuje krwawe zabarwienie, które po zakwaszeniu kwasem octowym przechodzi w wiśniowe. Próba Legala, ważna przy rozpoznawaniu acetonu w moczu.

f) Do rozcieńczonego roztworu acetonu dodajemy równą objętość sproszkowanego siarczanu amonowego. następnie, wstrząsając nieustannie, kilka kropli nitroprusydku i amoniaku: powoli występuje fijołkowe zabarwienie.

Aceton powstaje skutkiem rozkładu kwasu acetooctowego:

$$CH_3COCH_2COOH = CH_3COCH_3 + CO_2;$$

wydziela się z gazami wydechowymi i w moczu ludzi, pozostających na djecie wyłącznie tłuszczowej, lub chorych na ciężką cukrzycę.

8. Kwas acetooctowy (CH_3COCH_2COOH).

Kwas acetooctowy, ważny w patologji chemicznej związek, powstaje w ustroju zwierzęcym jako produkt spalania kwasów tłuszczowych.

Kwas acetooctowy jest ketonokwasem, posiada zatem obok grupy karboksylowej grupę karbonilową:

$$CH_3 - \underset{\underset{O}{\|}}{C} - CH_2 - COOH$$

(Wzór ketonowy)

jest związkiem tautomerycznym i daje takie reakcje, jak gdyby odpowiadał także wzorowi

$$CH_3 - C \begin{cases} OH \\ CH - COOH \end{cases}$$

(Wzór enolowy).

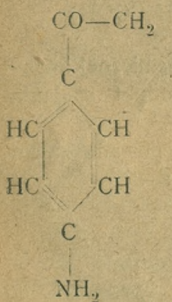
Przy gotowaniu w roztworach kwaśnych kwas acetooctowy rozpada się na dwutlenek węgla i aceton.

$$CH_3COCH_2COOH = CH_3COCH_3 + CO_2.$$

a) Do roztworu kwasu acetooctowego dodajemy kroplę po kropli chlorku żelazowego; występuje zabarwienie czerwone, czerwono-brunatne i czerwono fijołkowe. Próba charakterystyczna dla konfiguracji enolowej: daje ją także ester kwasu acetooctowego, który nie może tworzyć soli żelazowej.

Podobne zabarwienie z chlorkiem żelazowym daje także kwas salicylowy i inne pochodne fenolowe, które z lekarstwami mogą się dostać do ustroju. Nietrwałość kwasu acetooctowego umożliwia jednak łatwe odróżnianie od takich ciał fenolowych.

Aby być pewnym, czy mamy przed sobą kwas acetooctowy, gotujemy z kwasem solnym nową próbę płynu, który dawał odczyn z chlorkiem żelazowym; do gorącego roztworu dodajemy węglanu wapnia dopóty, dopóki nie przestanie się wywiązywać dwutlenek węgla (zobojętniamy w ten sposób kwas solny). W przesączu niema już kwasu acetooctowego i odczyn z chlorkiem żelazowym nie występuje. Na jakie związki rozłożył się?



p. amino-acetofenon.

c) Z nitroprusydkiem występuje próba Legala (ob. aceton).

d) Do 2 cm³ 1% roztworu para-aminoacetofenonu, zawierającego kwas solny, dodajemy 1 cm³ 1% azotynu potasowego, mieszamy z równą objętością roztworu kwasu acetooctowego, dodajemy 2 krople amoniaku; powstaje ceglasty osad, który się w nadmiarze kwasu solnego stężonego rozpuszcza, barwiąc płyn na kolor purpurowo-fijołkowy. (Powstaje barwik azowy przez związanie p. dwuazoaceto-

fenonu z grupą CH_2, stojącą między CO a COOH w kwasie acetooctowym.

9. Kwas β-oksymasłowy.

$$(CH_3 - \underset{\underset{OH}{|}}{CH} - CH_2 - COOH)$$

Kwas β-oksymasłowy występuje w moczu chorych na cukrzycę obok kwasu acetooctowego i acetonu.

a) Do roztworu kwasu β-oksymasłowego dodajemy 2 krople 3% wody utlenionej i kroplę siarczanu żelazawego; występuje zabarwienie czerwone.

$$CH_3CHOHCH_2COOH + H_2O_2 = CH_3COCH_2COOH + 2H_2O.$$

b) Ogrzewamy roztwór kwasu β-oksymasłowego do wrzenia z dwuchromianem potasowym i kwasem siarkowym. Do pary wprowadzamy na pałeczce kropelkę zasadowego roztworu jodu w jodku potasu (podjodynu potasowego lub sodowego); wystąpi w tej kropelce zmętnienie i zapach jodoformu.

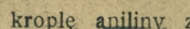
10. Chloroform ($CHCl_3$).

a) Wodzian chloralowy $CCl_3C{-}\begin{matrix}OH\\H\end{matrix}$ ogrzewamy z sodą żrącą; rozkłada się na chloroform i kwas mrówczany.

$$CCl_3CH(OH)_2 + NaOH = CCl_3H + HCOONa + H_2O.$$

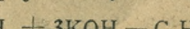
b) Wstrząsamy chloloform z wodą, pozwalamy mu osiąść, a w wodzie wykonujemy próbę na kwas solny (azotanem srebra); jeżeli chloroform był czysty, to nie powstanie zmętnienie. Jeżeli dodamy do wody chloroformowej cynku i rozcieńczonego kwasu siarkowego, to wywiązuje się wodór,

a po pewnym czasie możemy wykazać obecność kwasu solnego.



$$CHCl_3 + H_2 = CH_2Cl_2 + HCl.$$

c) Mieszamy kroplę aniliny z alkoholowym wodorotlenkiem potasowym i kilku kroplami wody chloroformowej; ogrzewamy: występuje wstrętna woń izocjanku fenilowego.



$$CHCl_3 + C_6H_5NH_2 + 3KOH = C_6H_5NC + 3KCl + 3H_2O.$$

11. Kwasy tłuszczowe wyższe: stearynowy $C_{17}H_{35}COOH$ i palmitynowy $C_{15}H_{31}COOH$.

a) Kawałek t. zw. stearyny, mieszaniny kwasu stearynowego i palmitynowego, ogrzewamy z 10 cm^3 wody i dodajemy wodorotlenku sodowego, dopóki nie powstanie płyn klarowny. Przy użyciu nadmiaru zasady nie można otrzymać takiego roztworu, gdyż nadmiar taki wysala powstałe mydła stearynowe (sole sodowe wyższych kwasów tłuszczowych).

b) Otrzymany roztwór mydła dzielimy na kilka części i używamy ich do następujących prób:

aa) przekonywujemy się, że roztwór się pieni;

bb) do drugiej części roztworu mydła dodajemy kwasu; wypadają kwasy stearynowy i palmitynowy, nierozpuszczalne w wodzie, łatwo rozpuszczalne w eterze;

cc) do trzeciej próby roztworu mydła dodajemy sproszkowanego chlorku sodowego; mydła wypadają jako osad, przylepiający się do ściany; po odlaniu słonego płynu można rozpuścić strącone mydła w destylowanej wodzie. Próba ta wykazuje odwracalność procesów wysalania u mydeł sodowych i potasowych;

dd) czwartą próbę zadajemy roztworem chlorku wapniowego; wypadną mydła wapniowe, nierozpuszczalne w wodzie i alkoholu etylowym.

ee) octanem ołowiawym strącamy mydła ołowiawe, nierozpuszczalne w wodzie i eterze.

c) Roztwór *obojętny mydła* w alkoholu oddziaływa obojętnie, przy rozcieńczaniu wodą występuje oddziaływanie zasadowe, które wykazujemy fenolftaleinem. Po dodaniu soli obojętnej, np. siarczanu magnezowego, oddziaływanie zasadowe znowu znika. Próba ta wykazuje hidrolizę mydła, jako soli zasady mocnej ze słabym kwasem.

12. Kwas oleinowy ($C_{17}H_{33}COOH$).

Kwas oleinowy jest kwasem nienasyconym i daje przeto charakterystyczne odczyny, polegające na przyłączaniu się chlorowców do wiązań węglowych podwójnych.

$$R.CH : CH.R_1 + Br_2 = R.\underset{Br}{CH}.\underset{Br}{CH}.R_1$$

a) Rozpuszczamy kwas oleinowy w alkoholu i dodajemy tynktury jodowej aż do zabarwienia płynu, potem nieco alkoholowego roztworu chlorku rtęciowego — płyn odbarwia się. W obecności chlorku rtęciowego dodaje się do podwójnych wiązań chlorojod; jest to najszybsze przyłączanie chlorowców do wiązań podwójnych, nadające się do ilościowego ich oznaczania (metoda Hübla).

b) Kropelkę kwasu oleinowego wstrząsamy z wodą i rozpuszczamy za pomocą kropli wodorotlenku sodowego rozcieńczonego: otrzymany w ten sposób roztwór mydła można wysolić chlorkiem sodowym albo nadmiarem sody żrącej.

c) Z roztworu mydła oleinowego wypada po dodaniu roztworu chlorku wapniowego oleinian wapniowy, rozpuszczalny we wrzącym alkoholu etylowym, po dodaniu zaś do

roztworu mydlanego soli ołowiawych strąca się oleinian ołowiawy, rozpuszczalny w eterze (plaster ołowiowy).

d) Do kropli kwasu oleinowego dodajemy kroplę rozcieńczonego roztworu cukru trzcinowego, tyle alkoholu, ażeby płyn się wyklarował, a następnie stężonego kwasu siarkowego: występuje zabarwienie purpurowe.

13. Gliceryna ($CH_2OH — CHOH — CH_2OH$).

Gliceryna jest trójwartościowym alkoholem, wywodzącym się od normalnego propanu.

$$\begin{array}{ccccc} CH_2OH & & CH_2 & & \\ | & & \| & & \\ CHOH & = & CH & + & 2H_2O \\ | & & | & & \\ CH_2OH & & COH & & \end{array}$$

Akroleina.

a) Przy ogrzewaniu kropli gliceryny z kryształkiem dwusiarczanu potasowego ($KHSO_4$) wywiązują się pary akroleinowe, drażniące błonę śluzową nosa i oka.

b) 3 krople gliceryny zmieszać z 2 cm^3 wody, dodać kroplę siarczanu miedziowego i sody żrącej; nie powstanie osad wodorotlenku miedziowego, lecz tylko płyn ciemno niebieski. Utrzymywanie miedzi (Cu) w roztworach zasadowych jest ogólną własnością alkoholów wielowartościowych.

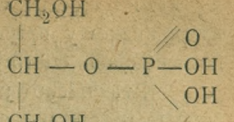
14. Kwas glicerynofosforowy.

Kwas glicerynofosforowy rodzimy, zawarty w lecytynie, odpowiada wzorowi:

$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2 — O — P \begin{array}{l} /\!/ O \\ \backslash OH \end{array} — OH \end{array}$$

i jest optycznie czynny. Dlaczego?

Kwas glicerynofosforowy sztuczny (kupny) odpowiada wzorowi: i jest optycznie nieczynny.



a) Glicerofosforan wapniowy rozpuszcza się w wodzie zimnej; po zagotowaniu wypada, jako osad; po ochłodzeniu osad ponownie się rozpuszcza.

b) Roztwór glicerofosforanu wapniowego nie daje odczynu na kwas fosforowy z molibdenianem amonowym; gotowanie ze stężonym kwasem lub zasadą rozkłada go na glicerynę i kwas fosforowy. Odczyn molibdenowy wtedy dopiero występuje.

15. Tłuszcze czyli trójgliceryniany wyższych kwasów tłuszczowych.

Nie rozpuszczają się one w wodzie, nieznacznie w alkoholu, łatwo w eterze, benzynie i chloroformie.

a) Do ciepłego (25—30°) roztworu węglanu sodowego (0·3%) wpuścić kropelkę oliwy czystej, obojętnej: kropelka niezmętniona pływa na powierzchni; kropla oliwy zjełczałej lub zmieszanej z odrobiną kwasu oleinowego rozprasza się (emulsjonuje) natychmiast w roztworze sody.

b) Kawałek wodorotlenku potasowego oblewamy 2 cm^3 alkoholu, dodajemy kropelkę oliwy i gotujemy. Dodajemy 10 cm^3 wody, a w roztworze wykonujemy próby 11. b), 12. a), c), e).

c) Rozpuścić nieco oliwy w chloroformie i stwierdzić wiązanie bromu lub jodu (w obecności chlorku rtęciowego) przez tłuszcz nienasycony.

16. Kwas mlekowy [$CH_3CH(OH)COOH$].

Ważny ten przetwór rozkładu cukru powstaje w mięśniach, wątrobie, znajduje się stale w drobnych ilościach

we krwi i moczu; w przemianie zwierzęcej powstaje zawsze kwas mlekowy optycznie czynny, prawoskrętny. W licznych fermentacjach cukrów powstaje kwas mlekowy racemiczny.

Kwas mlekowy łączy w sobie własności alkoholu i kwasu; zawiera rodnik wodorotlenowy alkoholu drugorzędowego oraz grupę karboksylową. Pod wpływem czynników utleniających przechodzi w kwas pyrogronowy.

$$CH_3 . CHOH . COOH + O = CH_3 . CO . COOH + H_2O.$$

Kwas pyrogronowy.

Kwas pyrogronowy rozszczepia się łatwo na aldehid octowy i dwutlenek węgla:

$$[CH_3 . CO . COOH] = CH_3C\begin{matrix} O \\ H \end{matrix} + CO_2$$

Izolujemy kwas mlekowy jako trudno rozpuszczalną, skrystalizowaną sól cynkową. Mleczan cynkowy racemiczny krystalizuje się z 3 cząsteczkami wody:

$$(CH_3 . CHOH . CO . O)_2Zn . 3H_2O;$$

mleczan cynkowy optycznie czynny natomiast z 2 cząsteczkami wody:

$$(CH_3CHOHCOO)_2Zn . 2H_2O.$$

a) Do 3 cm³ 10% roztworu kwasu mlekowego dodać węglanu cynkowego, gotować, aż ustanie wydzielanie się dwutlenku węgla i przesączyć na gorąco: otrzymamy w ten sposób roztwór mleczanu cynkowego. Z przesączu wydzieli się krystaliczny m l e c z a n c y n k o w y; przyśpieszamy krystalizację, pocierając wewnętrzną ściankę probówki pałeczką szklaną.

b) Do roztworu kwasu mlekowego lub mleczanu dodajemy po kropli bardzo rozcieńczonego chlorku żelazowego; dla porównania dodajemy taką samą ilość chlorku żelazo-

wego do równej objętości czystej wody; kwas mlekowy przybiera barwę cytrynową (ważna próba rozpoznawcza!)

c) Ogrzewamy kwas mlekowy z nadmanganianem potasu, powstaje dwutlenek węgla i aldehid octowy. Równanie reakcji?

d) Kroplę roztworu kwasu mlekowego i kroplę roztworu siarczanu miedziowego dodajemy do 5 cm^3 kwasu siarkowego stężonego; ogrzewamy we wrzącej wodzie przez minutę; po ochłodzeniu probówki w strumieniu zimnej wody, dodajemy kroplę 1% roztworu tiofenu w alkoholu, poczem zanurzamy probówkę na chwilkę do wody wrzącej; występuje wiśniowe zabarwienie. (Odczyn Hopkinsa; wystąpi tylko przy bardzo starannem wykonaniu i ścisłem zachowaniu podanej proporcji odczynników!)

e) Kwas mlekowy daje z zasadowym roztworem jodu w jodku potasu jodoform.

Jeżeli mamy z narządów lub soków izolować kwas mlekowy, to robimy z nich wyciąg wodny. Zagęszczamy go przez odparowanie przy oddziaływaniu obojętnem, nasycamy siarczanem amonowym i odsączamy osad, zawierający białka, lipoidy i t. p., przesącz zakwaszamy rozcieńczonym kwasem siarkowym i wytrząsamy kilkakrotnie eterem; oddzielony roztwór eterowy zagęszczamy, pozostałość po odpędzeniu eteru rozpuszczamy w drobnej ilości wody i zobojętniamy przez ogrzewanie z węglanem cynkowym, w stężonym płynie staramy się otrzymać kryształki mleczanu cynkowego, albo też wykonujemy próbę Hopkinsa.

17. Kwas bursztynowy.

$(COOH - CH_2 - CH_2 - COOH)$.

Kwas bursztynowy jest kwasem dwuwartościowym, zawierającym w cząsteczce dwie grupy karboksylowe.

a) Przy ogrzewaniu w suchej probówce kwas bursztynowy sublimuje.

b) Przesycamy próbkę kwasu bursztynowego amoniakiem i odparowujemy w parowniczce porcelanowej, na łaźni; rozpuszczamy pozostałość w kilku kroplach wody, mieszamy ze sproszkowanym cynkiem i ogrzewamy w probówce, wreszcie żarzymy; w pary zanurzamy drzazgę sosnową, zwilżoną mocnym kwasem solnym; drzazga nabiera koloru czerwonego. Przy reakcji tej tworzy się pirol. (Por. 55a).

$$\begin{matrix} CH_2 - COONH_4 \\ | \\ CH_2 - COONH_4 \end{matrix} = \begin{matrix} CH_2 - CO \\ | \\ CH_2 - CO \end{matrix} \Big\rangle NH + NH_3 + 2H_2O;$$

Sól amonowa kwasu bursztynowego. Imid kwasu bursztynowego.

$$\begin{matrix} CH_2 - CO \\ | \\ CH_2 - CO \end{matrix} \Big\rangle NH + 2CN = \begin{matrix} CH = CH \\ | \\ CH = CH \end{matrix} \Big\rangle NH + 2ZnO.$$

Pirol.

18. D-Glukoza, cukier gronowy czyli dekstroza ($C_6H_{12}O_6$).

D-Glukoza występuje we krwi, w drobnych ilościach we wszystkich organach, a przy cukrzycy albo po spożyciu większej ilości cukru gronowego w moczu.

Odczyny glukozy są w części odczynami grup alkoholowych, w części też grupy aldehidowej [1]).

Odczyny rodników wodorotlenowych:

a) Wodny roztwór glukozy wstrząsamy z chlorkiem benzoilowym i z nadmiarem sody żrącej, służącej do zwią-

---

[1]) Por. Parnas, Chemja fizjol, t. 1. str. 284. (1922).

zania powstającego chlorowodoru; tworzy się osad będźwinianów glukozy, nierozpuszczalny w sodzie żrącej

$$C_6H_7O(OH)_5 + 5C_6H_5COCl + 5NaOH =$$
$$= C_6H_7O(OCOC_6H_5)_5 + 5NaCl + 5H_2O.$$

Kwas będźwinowy wolny, powstający w tej reakcji, pozostaje w roztworze jako sól sodowa.

b) Dodajemy do roztworu glukozy octanu fenilohidrazynowego w nadmiarze, ogrzewamy przez godzinę w łaźni wodnej; powstaje żółty osad, złożony ze snopow i pęczków cienkich igiełek feniloosazonu glukozy. Przy reakcji tej powstaje najpierw hidrazon glukozy, odpowiadający hidrazonom aldehidowym:

$$\underset{\text{Fenilohidrazyna.}}{C_6H_{12}O_6 + NH_2 . NHC_6H_5} = \underset{\text{Fenilohidrazon glukozy.}}{C_6H_{12}O_5 : N—NH . C_6H_5} + H_2O$$

$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ (CHOH)_3 \\ | \\ CH — NH — NH — C_6H_5 \\ | \\ CH = N — NH — C_6H_5 \end{array}$$

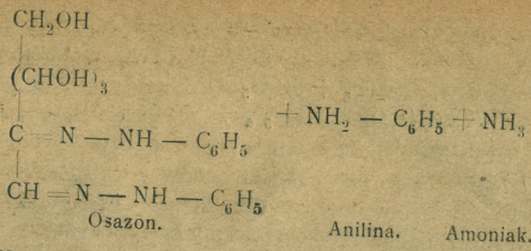
Fenilohidrazyt.

Fenilohidrazon reaguje z drugą cząsteczką fenilohidrazyny, tworząc hidrazyt, w którym sąsiadująca z pierwotną grupą aldehidową grupa wodorotlenowa jest również związana z fenilohidrazyną

Na fenilohidrazyt działa trzecia cząsteczka fenilohidrazyny, odbierając mu wodór, który zamienia fenilohidrazynę na anilinę i amoniak:

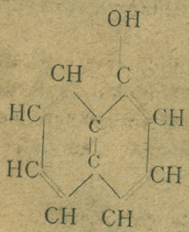
$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ (CHOH)_3 \\ | \\ CH — NH — NH — C_6H_5 \\ | \\ CH = N — NH — C_6H_5 \end{array} + NH_2 — NH — C_6H_5 =$$

Fenilohidrazyt. Fenilohidrazyna.

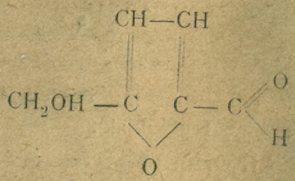


W taki sposób z jednej cząsteczki glukozy i trzech cząsteczek fenilohidrazyny powstaje cząsteczka glukozazonu; należy przeto używać do odczynu fenilohidrazyny w nadmiarze.

c) Kroplę roztworu glukozy i kroplę 20% alkoholowego roztworu α-naftolu zmieszać z 10 kroplami stężonego kwasu siarkowego; występuje zabarwienie fijołkowe. Przy próbie tej powstaje z cukru pochodna furfurolu, oksy-metyleno-furfurol, który z α-naftolem daje zabarwienie. Ogólny odczyn węglowodanów, niezmiernie czuły. (Próba Molischa).



α-Naftol.



Oksy-metyleno-furfurol.

d) Stężony roztwór glukozy gotować z sodą żrącą; występuje żółto brunatne zabarwienie. (Próba Moora czyli Hellera).

e) Roztwór glukozy alkalizujemy sodą żrącą, następnie dodajemy kroplę po kropli siarczanu miedziowego: wypada-

jący początkowo wodorotlenek miedziowy rozpuszcza się dzięki obecności grup wodorotlenowych cukru, tworząc niebieski płyn. Ogrzewamy otrzymany w ten sposob płyn; powstaje pomarańczowy osad tlenku miedziawego. (Próba Trommera). Należy bezwarunkowo unikać ogrzewania płynu, zmąconego osadem wodorotlenku miedziowego, który przy gotowaniu zamieni się na brunatny tlenek miedziowy i może zakryć właściwy odczyn. Jeżeli powstał nadmiar wodorotlenku miedziowego, to rozpuszczamy go przez dodanie drobnej ilości winianu sodowo-potasowego (soli Seignetta).

Tę samą próbę można wykonać za pomocą płynu Fehlinga[1]), w którym miedź utrzymuje się w roztworze zasadowym soli Seignetta. Ponieważ płyn Fehlinga nabiera po dłuższym czasie własności redukujących, przeto należy zawsze najpierw zagotować sam płyn i wykonać właściwą próbę tylko wtedy, jeżeli płyn Fehlinga sam nie da redukcji.

Tlenek miedziawy nie wydziela się w obecności amoniaku. Należy przekonać się o tem, dodając do roztworu cukru nadmiaru chlorku amonowego i wykonując następnie próbę Trommera.

f) Glukoza odtlenia zasadowe roztwory soli bizmutowych, dając bizmut metaliczny. Do roztworu glukozy dodajemy odczynnika Nylandera[2]), złożonego z azotanu bizmutowego, soli Seignetta i sody żrącej: gotujemy; płyn barwi się na brunatno lub czarno.

---

[1]) Płyn Fehlinga sporządza się w sposób następujący: 1. Rozpuścić 103.92 g skrystalizowanego $CuSO_4$ w wodzie ciepłej i rozcieńczyć do 1 l.

2. 320 g winianu sodowo-potasowego (soli Seignette'a) roztworzyć w wodzie ciepłej, dodać nieco toluolu dla zapobieżenia pleśnieniu, rozcieńczyć do 1 l. wodą.

3. Rozpuścić 150 g NaOH do 1 l. w wodzie.

Do użytku zmieszać równe objętości trzech roztworów.

[2]) 50 g soli Seignette'a, 20 g azotanu bizmutowego w 1 l. roztworu 8% sody żrącej

g) Do 2 cm^3 świeżego odczynnika Barfoed'a (66 g octanu miedziowego i 10 cm^3 octu lodowatego, rozcieńczone wodą do 1 l.) dodawać, gotując nieustannie, kroplę po kropli roztworu cukru gronowego: osad tlenku miedziawego. Odczynu Barfoeda nie daje ani maltoza ani laktoza, jeśli odczynnik jest świeżo przyrządzony; jeśli odczynnik nie świeży, wtedy również i te dwa cukry dają odczyn dodatni.

h) Do 5 cm^3 odczynnika Benedicta[1]) dodać 10 kropli roztworu 0·2% glukozy; gotować przez 2 minuty; wychłodzić; powstaje osad wodorotlenku miedziawego.

Przy wszystkich próbach, w których odbywa się odtlenienie tlenków metali ciężkich w roztworze zasadowym na tlenki niższe lub metale, nie działa redukująco sama tylko grupa aldehidowa glukozy, aczkolwiek dają ją tylko te cukry, które zawierają grupę aldehidową lub ketonową. W roztworze zasadowym glukoza rozpada się na 2 cząsteczki aldehidu glicerynowego, 3 cząsteczki aldehidu glikolowego lub 6 cząsteczek aldehidu mrówczanego. Wszystkie te cząsteczki ulegają różnorodnym kondensacjom, utlenieniom i odtlenieniom, których ilościowych stosunków z góry nie umiemy określić. Dlatego nie podajemy równań dla tych reakcyj i zaznaczamy, że zdolność redukcyjną każdego z cukrów wobec każdego z odczynników można tylko empirycznie określić.

i) Glukoza fermentuje z drożdżami. Probówkę napełnioną roztworem glukozy z domieszką drożdży zanurzamy w wodzie i odwracamy; po upływie godziny wywiązuje się gaz, który gromadzi się nad płynem. Dodajemy do płynu ługu i przekonywujemy się, że gaz jest dwutlenkiem węgla. Każda próba

---

[1]) Roztwór 17·3 g skrystalizowanego siarczanu miedziowego w 150 cm^3 wody wlać powoli, mieszając nieustannie, do klarownego, stężonego roztworu 173 g cytrynianu sodowego i 300 g węglanu sodowego skrystalizowanego, w 600 cm^3 wody. Dopełnić do 1 l. wodą.

fermentacyjna wymaga prób kontrolnych; należy się przekonać, czy użyte drożdże nie posiadają własności samofermentacji, czy nie wytwarzają dwutlenku węgla ze swoich własnych zapasów węglowodanowych; sprawdzamy to przez próbę z drożdżami i wodą czystą; musimy też sprawdzić, czy użyte drożdże mają zdolność rozkładania cukru: przekonamy się o tem za pomocą próby z drożdżami i roztworem, o którym wiemy, że napewno cukier zawiera.

$$C_6H_{12}O_6 = 2C_2H_5OH + 2CO_2.$$

k) Fermentacja aldehidowo-glicerynowa cukru gronowego:

Do 5 cm³ roztworu glukozy 10%-wego dodać około 0·5 g siarczynu wapniowego ($CaSO_3 + H_2O$) oraz 0·5 g drożdży piekarskich; drugą podobną próbę bez siarczynu. Obydwie probówki zanurzyć w wodzie o temperaturze 38⁰—40⁰. Po upływie pół godziny dobyć około 2 cm³ płynów i dodać po 0·1 cm² nitroprusydku 4%-owego i 1 cm³ roztworu 3% owego piperydyny: w próbie, zadanej siarczynem, wykaże głębokie zabarwienie niebieskie (por. 3 h) obecność dużych ilości aldehidu octowego:

$$C_6H_{12}O_6 \Longrightarrow \underset{\text{Gliceryna.}}{CH_2OH\,.\,CHOH\,.\,CH_2OH} + \underset{\text{Aldehid octowy.}}{CH_3\,.\,CHO} + CO_2$$

Glukoza, występująca w naturze, jest prawoskrętną; jest to mieszanina glukozy α i β, z których pierwsza skręca o $+ 110^0$ [1]), a druga o $+ 19^0$; dopiero w roztworze tworzy się mieszanina obydwu o składzie stałym o kącie skręcania wynoszącym (αD) = 52·5⁰. Świeżo przyrządzone roztwory glukozy mają stopień skręcalności (αD) = + 100⁰, ale w obec-

[1]) Zdolność skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego wyrażamy przez kąt, o który odchylałby płaszczyznę światła spolaryzowanego roztwór danego ciała 100%-owy, dla światła sodowego: kąt ten oznaczamy przez znak (αD).

ności drobnych ilości zasady lub po zagotowaniu szybko przychodzi do stanu równowagi, któremu odpowiada $(\alpha D) = +52{\cdot}5^0$.

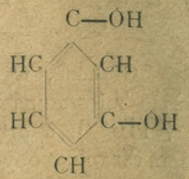
19. D-Fruktoza ($C_6H_{12}O_6$).

Fruktoza jest ketonocukrem; cząsteczka jej jest zbudowana stereochemicznie podobnie, jak cząsteczka glukozy. Obydwa cukry dają ten sam osazon (dlaczego?). Jaka aldoheksoza daje również ten sam osazon? Mannoza, glukoza i fruktoza przechodzą w roztworach zasadowych łatwo jedne w drugie.

a) Roztwór fruktozy wykazuje wobec chlorku benzoilowego, fenilohidrazyny, α-naftolu i kwasu siarkowego, wodorotlenku sodowego i przy próbach redukcyjnych to samo oddziaływanie, co glukoza; fermentuje również z drożdżami.

Fruktoza rodzima *(D fruktoza)* skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego na lewo. U cukrów litera D i L nie oznacza kierunku skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego, lecz stosunek do glukozy prawoskrętnej lub lewoskrętnej!

b) Do roztworu fruktozy dodajemy równą objętość stężonego kwasu solnego i kilka kryształków rezorcyny; po ogrzaniu występuje czerwone (łososiowe) zabarwienie. Jeżeli roztwór zawiera wiele fruktozy, to wydziela się osad, rozpuszczalny w alkoholu (Odczyn Seliwanowa). Fruktoza znajduje się niekiedy w moczu chorych na cukrzycę. Słabe zabarwienie różowe dają także i aldozy, ale nie dają nigdy osadu.



Rezorcyna.

20. L-Arabinoza ($C_5H_{10}O_5$).

L-Arabinoza powstaje przy hidrolizie gum roślinnych, z wchodzącego w ich skład kwasu galakturonowego, przez odszczepienie dwutlenku węgla.

D-Arabinoza oraz arabinoza optycznie nieczynna znajdują się w moczu chorych na pentozurję.

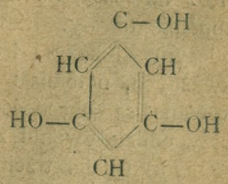
Pentozą, zawartą w kwasach nukleinowych jest D-ryboza, która przechodzi w D-arabinozę równie łatwo, jak mannoza w glukozę.

Pentozy dają wszystkie ogólne odczyny cukrów prostych.

a) Z fenilohidrazyną, α naftolem i kwasem siarkowym, ługiem sodowym i zasadowym roztworem miedzi lub bizmutu arabinoza reaguje podobnie jak glukoza i fruktoza, dając, naturalnie, inne produkta.

b) Ogrzewamy 20% kwas solny z floroglucyną i arabinozą; występuje wiśniowy kolor, ewentualnie tworzy się osad. Płyn wraz z osadem wytrząsamy alkoholem amylowym, który rozpuszcza barwnik; roztwór, oglądany przez spektroskop, wykazuje smugę między liniami Fraunhofera D i E.

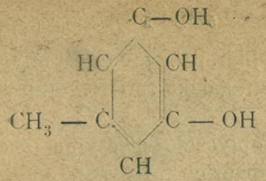
c) Do roztworu arabinozy dodać równą objętość stężonego kwasu solnego i nieco orcyny. Przy ogrzewaniu wystąpi najpierw czerwone i fijołkowe zabarwienie, potem niebieski osad. Roztwór tego osadu w alkoholu amylowym wykazuje smugi absorbcyjne między C i D.



Floroglucyna.

d) Równe objętości aniliny i kwasu octowego stężonego ogrzewamy do wrzenia; dodajemy arabinozy; powstaje ciemnoczerwone zabarwienie.

e) Do roztworu arabinozy dodajemy ostrożnie w ilości $^1/_4$ objętości roztworu stężonego kwasu siarkowego i ogrze-

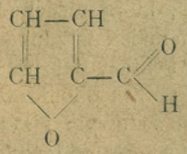


Orcyna.

wamy: do górnego otworu probówki wprowadzamy kawałek bibuły, zwilżonej kwaśnym roztworem octanu anilinowego; występuje piękne czerwone zabarwienie. Reakcja ta polega na powstaniu furfurolu:

$$C_5H_{10}O_5 = C_5H_4O_2 + 3H_2O;$$

Arabinoza. Furfurol.



Furfurol.

f) Arabinoza nie fermentuje z drożdżami.

21. Cukier trzcinowy. ($C_{12}H_{22}O_{11} = 2C_6H_{12}O_6 - H_2O$).

Cukier trzcinowy składa się z cząsteczki cukru gronowego i cząsteczki fruktozy; w płynach kwaśnych rozpada się z łatwością na te składniki; w płynach zasadowych jest zupełnie trwały. Dlatego cukier trzcinowy daje wszystkie te odczyny glukozy i fruktozy, które wykonuje się w płynach kwaśnych, natomiast nie daje tych odczynów, które uwarunkowane są obecnością grupy aldehidowej, a wykonują się przy oddziaływaniu zasadowem.

a) Cukier trzcinowy oddziaływa na chlorek benzoilowy, α-naftol i kwas siarkowy oraz fenilohidrazynę analogicznie, jak glukoza, natomiast nie barwi się z wodorotlenkiem sodowym na brunatno, nie redukuje tlenku miedziowego ani bizmutowego.

b) Próba cukru trzcinowego, zagotowana z kwasem siarkowym rozcieńczonym, daje po zalkalizowaniu próby Moora, Trommera, Nylandera oraz Seliwanowa.

c) Cukier trzcinowy fermentuje z drożdżami.

Cukier trzcinowy skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego na prawo; po ogrzewaniu zaś z rozcieńczonym kwasem na lewo, gdyż D-fruktoza skręca silniej na lewo, aniżeli równoważna ilość D-glukozy na prawo.

22. Cukier mlekowy, laktoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$).

Cukier mlekowy jest zbudowany z cząsteczki galaktozy i glukozy, połączonych ze sobą tak, że grupa aldehidowa glukozy jest zachowaną.

a) Roztwór cukru mlekowego daje wszystkie odczyny jakościowe, wspólne omawianym dotychczas cukrom prostym.

b) Cukier mlekowy skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego na prawo.

c) Nie fermentuje z drożdżami.

d) Szczyptę cukru mlekowego ogrzewamy w probówce z kilku kroplami kwasu azotowego stężonego tak, aby się wywiązywały pary tlenku azotowego; potem odparowujemy w parowniczce porcelanowej na łaźni wodnej; pozostałość zobojętniamy amoniakiem, odparowujemy i ogrzewamy na wolnym płomieniu; uchodzi pirol, który rozpoznajemy, jak w probie z kwasem bursztynowym (17 b), za pomocą drzazgi jodłowej, zwilżonej kwasem solnym.

23. Kwas glukuronowy.

Kwas glukuronowy, ważny składnik moczu, występuje tam w postaci związków z różnorodnemi substancjami, zawierającemi grupy alkoholowe, aldehidowe lub ketonowe, jak np. z chloralem, kamforą, mentolem; związki te ulegają hidrolizie przy gotowaniu z rozcieńczonym kwasem, dając kwas glukuronowy i związane z nim uprzednio substancje.

Kwas glukuronowy daje odczyny cukrowe, gdyż zawiera grupę aldehidową, pozatem odczyny pentoz; przechodzi bowiem, przez odszczepienie dwutlenku węgla, z łatwością w pentozę.

a) Wykonać odczyn Trommera, odczyn orcynowy i furfurolowy, jak u arabinozy.

b) Kwas glukuronowy barwi się z wodą barytową na żółto i daje po ogrzaniu żółty osad.

24. Skrobja $(C_6H_{10}O_5)_n$.

Oglądać pod mikroskopem na szkiełku podstawowem nieco skrobji ziemniaczanej, zwilżonej wodą i pokrytej szkiełkiem nakrywkowem; narysować postać ziarenek; dodać nieco jodu w jodku potasu i stwierdzić zabarwienie.

a) Skrobja nie rozpuszcza się w wodzie zimnej; wstrząsamy nieco skrobji w probówce z wodą zimną, sączymy i stwierdzamy, że przesącz nie wykazuje odczynu jodowego skrobji (24 c). W sodzie żrącej skrobja się roztwarza, po zakwaszeniu roztworu i dodaniu jodu wystąpi odczyn.

b) Skrobja, ogrzewana z wodą, pęcznieje; przy gotowaniu tworzy opalizujący roztwór koloidowy (klajster).

c) Ziarenka skrobji lub klajster dają z roztworem jodu w jodku potasu niebieskie zabarwienie; z wodą bromową — brunatno-żółte.

d) Przy długotrwałem gotowaniu z rozcieńczonym kwasem siarkowym skrobja ulega hidrolizie na dekstryny, maltozę i glukozę. Wykazujemy obecność glukozy lub maltozy zapomocą próby Trommera, zniknięcie skrobji zapomocą odczynu jodowego.

e) Do 1 cm^3 klajstru skrobiowego dodać równą objętość nasyconego roztworu siarczanu amonowego; skrobja strąca się, w przesączu odczyn jodowy ujemny.

f) 5 cm³ klajstru zadać 2 kropelkami H_2SO_4 stężonego i gotować przez 15 sekund; płyn staje się przejrzysty; zobojętnić amoniakiem, ochłodzić, dodać równą objętość nasyconego roztworu siarczanu amonowego, wymieszać, po 5 minutach przesączyć. W przesączu znajduje się amylodekstryna, która z jodem da mocny odczyn.

g) Próbę jak w (g) gotować przez 7 minut, zobojętnić (używając papierka lakmusowego) do oddziaływania b. słabo kwaśnego. Podzielić płyn na dwie porcje; w jednej wykazać zapomocą jodu erytrodekstryny (odczyn czerwony lub brunatny), w drugiej wykonać próbę Trommera.

25. Błonnik.

Wykonać próbę na białej bawełnie, lub wacie.

a) Błonnik rozpuszcza się w amoniakowym roztworze miedziawym[1]). Odróżnić białą bawełnę od wełny. Po zakwaszeniu płynu błonnik osadza się.

b) W roztworze 30% chlorku cynkowego w mocnym (38%) HCl błonnik się również rozpuszcza.

c) Roztwór jodu w jodochlorku cynkowym[2]) barwi błonnik niebiesko. (Odczyn Schultzego).

d) Bardzo stężony (dymiący) kwas solny (40%) hidrolizuje błonnik na glukozę.

26. Glikogen.

Najważniejszy cukier zapasowy ustroju zwierzęcego: gdzie występuje?

---

[1]) Strącić wodorotlenek miedziowy (z siarczanu miedziowego wodorotlenkiem potasowym) wymyć wodą, rozpuścić wolny od wodorotlenku potasowego osad w mocnym (20%) amoniaku. (Odczynnik Schweizera).

[2]) 250 g $Zn\text{-}Cl_2$, 80 g KJ. a 85 cm³ wody, nasycić jodem. Można też użyć roztworu jodu w mocnym kwasie jodowodorowym, albo 1 g KJ, 0·2 g J_2, 20 g nasyc. $CaCl_2$.

a) Glikogen barwi się jodem na kolor czerwono-brunatny.

b) Daje się strącić z roztworów przez równą objętość alkoholu.

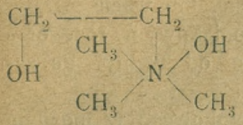
c) Nie rozkłada się przy ogrzewaniu z 30% roztworu potażu żrącego.

d) Roztwory glikogenu opalizują.

Ciała tłuszczowate.

27. Lecytyna i cholina.

Lecytyna jest związkiem, zbudowanym z kwasów tłuszczowych nasyconych i nienasyconych, kwasu gliceryno-fosforowego i choliny.



Cholina.

a) Lecytyny rozpuszczają się w alkoholu i eterze, z roztworów tych wytrąca je aceton. Z wodą dają lepki, koloidowy roztwór.

b) Ogrzewamy małą grudkę lecytyny z ługiem sodowym, aż otrzymamy jednolity płyn; cholina rozszczepia się przytem częściowo na lotną trójmetylaminę, która nadaje parom silnie zasadowe oddziaływanie. Zakwaszamy i wykazujemy kwasy tłuszczowe, ropuszczalne w eterze. W przesączonym wodnym płynie strącamy kwasem fosforowolframowym cholinę i trójmetylaminę.

c) Z alkoholowego roztworu możemy wytrącić lecytynę alkoholowym roztworem chlorku kadmowego.

d) Roztwór chlorku cholinowego

$$(CH_2OH \,.\, CH_2 \,.\, N(CH_3)_3Cl')$$

odszczepia przy ogrzewaniu z sodą żrącą trójmetylaminę, o woni przypominającej solankę śledziową.

$$CH_2OH \,.\, CH_2 \,.\, N(CH_3)_3OH \longrightarrow \underset{\text{Glikol.}}{CH_2OH \,.\, CH_2OH} + \underset{\text{Trójmetylamina.}}{N(CH_3)_3}.$$

e) Z kwaśnego roztworu rozcieńczonego chlorku cholinowego strąca kwas fosforowolframowy osad skrystalizowany biały, kwas fosforomolibdenowy osad żółty: jod w jodku potasu (KJ_3) osad czarny skrystalizowany, chlorek rtęciowy osad biały, skrystalizowany.

f) Do roztworu choliny dodać roztworu jodu w jodku potasowym (153 g J_2 i 100 g KJ w 200 cm^3 wody); powstaje skrystalizowany, czarny dziewięciojodek cholinowy.

g) Jeśli do chloroplatynianu cholinowego dodać na szkiełku podstawowem rozcieńczonego KJ_3 (6 g J_2 i 6 g KJ w 200 cm^3 wody) i oglądać pod mikroskopem, to pole widzenia pokrywa się skośnemi tabliczkami kryształków, które po 2 minutach poczynają się rozpływać i zmieniają w kropelki, a po wyschnięciu roztworu znowu się zjawiają.

Cholina występuje we wszystkich tkankach i płynach ustrojów.

28. Kefalina.

Kefalina, podobnie jak lecytyny, jest składnikiem wszelkich komórek, szczególnie obficie występuje w tkance układu nerwowego. Zbudowana jest z wysokich kwasow tłuszczowych: stearynowego i linolowego, jako zasadę zawiera nie cholinę, lecz oksetylaminę.

$$\begin{array}{ll} CH_2 - & CH_2 \\ | & | \\ NH_2 & OH \end{array}$$

Oksetylamina.

a) Sucha kefalina rozpuszcza się tylko w wilgotnym eterze, w eterze bezwodnym jest nierozpuszczalną; z eterowego roztworu alkohol ją strąca.

b) Przy hydrolizie kefaliny sodą żrącą nie wywiązują się pary o oddziaływaniu zasadowem.

c) W przesączu, otrzymanym po zakwaszeniu rozszczepionej (b) kefaliny nie powstaje po dodaniu kwasu fosforowolframowego osad, gdyż oksetylamina nie strąca się przez kwas fosforowolframowy.

29. Amid kwasu octowego (CH_3CONH_2).

Amid kwasu octowego zawiera grupę aminową, związaną z grupą karbonilową. Pod działaniem czynników hidrolizujących odszczepia się łatwo amoniak.

a) Roztwór amidu octowego gotujemy z kwasem solnym; następuje rozkład na kwas octowy i chlorek amonowy.

$$CH_3CONH_2 + H_2O + HCl = CH_3COOH + (NH_4)Cl.$$

Po zalkalizowaniu wywiązuje się amoniak.

b) Z kwasem azotawym (HNO_2) wywiązuje się azot i powstaje kwas octowy. (Zamiast kwasu azotawego posługujemy się roztworem azotynu, do którego dodajemy jakiegokolwiek kwasu mocnego: wywiązuje się wtedy wolny kwas azotawy).

$$CH_3CONH_2 + HNO_2 = CH_3COOH + N_2 + H_2O.$$

30. Glikokol, czyli kwas amino-octowy. (CH_2NH_2COOH).

Glikokol zawiera grupe aminową, związaną z grupą metylenową (CH_2); jest to najprostszy przedstawiciel aminokwasów, składników białka.

Aminokwasy zawierają w cząsteczce grupę kwaśną karboksylową oraz zasadową aminową, są więc amfolitami czyli elektrolitami obojniaczymi; tworzą sole z zasadami i kwasami; w roztworach alkalicznych działają swą resztą kwasową, tworząc anjon.

$$\begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ NH_2 \end{array} + Na^{\cdot}OH' = \begin{array}{l} CH_3 - COONa^{\cdot} \\ | \\ NH_2 \end{array} + H_2O;$$

w roztworach kwaśnych natomiast działają swą resztą zasadową, tworząc katjon:

$$\begin{array}{l} CH_2 . COOH \\ | \\ NH_2 \end{array} + H^{\cdot}Cl' = \begin{array}{l} CH_2 . COOH. \\ | \\ NH_3 . Cl' \end{array}$$

Przez estryfikację grupy karboksylowej można uwydatnić własności grupy zasadowej i otrzymać mocniej zasadowe estry aminokwasów:

$$\begin{array}{l} CH_2 - CCOC_2H_5 \\ | \\ NH_2 \end{array}$$

Ester etylowy glikokolu.

Grupę zasadową natomiast można wzmocnić przez zupełne umetylowanie; dochodzimy w ten sposób do betain, czyli wewnętrznych soli czwartorzędowych aminokwasów:

$$\begin{array}{l} CH_2 . CO.O' \\ | \\ N(CH_3)_3^{\cdot} \end{array}$$

Betaina.

Związanie grupy aminowej z grupą metylenową (pod działaniem aldehidu mrówczanego) osłabia zasadowe własności grupy aminowej tak dalece, że powstaje związek kwaśny.

a) Pod działaniem czynników hidrolizujących nie odszczepia się z glikokolu amoniak. Sprawdzić przez gotowanie z kwasem solnym stężonym i następne dodanie zasady.

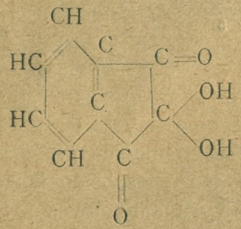
b) Pod działaniem kwasu azotawego powstaje kwas glikolowy:

$$\begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ NH_2 \end{array} + HNO_2 = \begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ OH \end{array} + N_2 + H_2O$$

Kwas glikolowy.

c) Do stężonego roztworu glikokolu dodać węglanu miedziowego i gotować; ciemno niebieski roztwór przesączyć na gorąco; z płynu wydzielają się kryształki glikokolanu miedziowego $(C_2H_4NO_2)_2Cu$. Sole miedziowe służą często do rozpoznawania poszczególnych aminokwasów.

d) Do 5 cm^3 wody dodajemy kroplę roztworu fenolftaleinu, nieco formaliny i tyle rozcieńczonej sody żrącej, ażeby płyn oddziaływał słabo zasadowo; po dodaniu również słabo zalkalizowanego roztworu glikokolu wystąpi oddziaływanie kwaśne (dlaczego?).



Wodzian trójketohydryndenu.

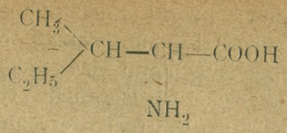
e) Do 1 cm^3 roztworu glikokolu dodać kroplę 1% roztworu wodzianu trójketohydryndenu (ninhidryny) i gotować; występuje fiołkowo-niebieskie zabarwienie. (Ogólny odczyn aminokwasów).

31. Leucyna czyli kwas α-aminoizokapronowy.

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>CH-CH_2-\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}-COOH.$$

Leucyna jest jednym z najważniejszych aminokwasów, wchodzących w skład białek. Obok niej występują jako składniki białka dwie pochodne innych kwasów kapronowych: norleucyna: $CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}-COOH$

i izoleucyna:



Niezupełnie czysta leucyna krystalizuje się z wody w postaci mikroskopowych kuleczek (globulitów); jest mało rozpuszczalna w wodzie.

a) Gotujemy roztwór leucyny z węglanem miedziowym, który dodajemy podczas gotowania w maleńkich porcyjkach; powstaje błękitny roztwór, z którego wykrystalizowuje w postaci błękitnych tabliczek bardzo trudno rozpuszczalna sól miedziowa $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$.

32. Kwas asparaginowy czyli aminobursztynowy.

$$\begin{array}{l} CH_2—COOH \\ | \\ NH_3—CH—COOH. \end{array}$$

a) Daje ogólne odczyny aminokwasów.

b) Przy gotowaniu z sodą żrącą lub kwasem nie odszczepia amoniaku.

c) Z kwasem azotawym wywiązuje azot i zamienia się w kwas jabłkowy.

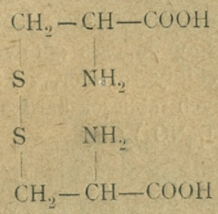
$$\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH — NH_2 \\ | \\ COOH \end{array} + HNO_2 = N_2 + H_2O + \begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH — OH \\ | \\ COOH \end{array}$$

Kwas jabłkowy.

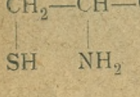
d) Sól miedziowa kwasu asparaginowego, otrzymana przez gotowanie roztworu kwasu asparaginowego z węglanem miedziowym (jak przy leucynie) i przesączenie na gorąco roztworu, krystalizuje w postaci bardzo długich cieniutkich igiełek.

W świecie roślinnym jest rozpowszechniony amid kwasu asparaginowego czyli asparagina Pod działaniem bakteryj gnilnych kwas asparaginowy przechodzi w β-alaninę.

33. Cystyna



Cystyna powstaje przez utlenienie cysteiny:



Cystyna i cysteina są prawdopodobnie jedynymi składnikami cząsteczki białkowej, zawierającymi siarkę.

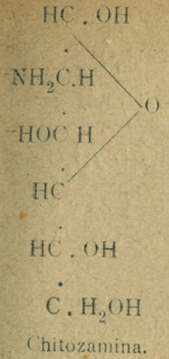
a) Rozpuszczamy odrobinę cystyny w amoniaku i pozwalamy zaschnąć na szkiełku podstawowem: cystyna wykrystalizuje się w sześciobocznych tabliczkach.

b) Roztwór, zawierający cystynę, zadajemy kroplą octanu ołowiawego i taką ilością sody żrącej, ile potrzeba do rozpuszczenia wodorotlenku ołowiawego; po gotowaniu wydzieli się czarny siarczek ołowiawy.

c) Gotować cystynę z sodą żrącą; po ostudzeniu dodać nitroprusydku: wystąpi przemijające zabarwienie fiołkowe.

34. Chitozamina.

Chitozamina jest ważnym składnikiem chityny i wchodzi wraz z kwasem glukuronowym i octowym w skład kwasu



Chitozamina.

mukoityno-siarkowego, charakterystycznego składnika ciał śluzowych, mucynów. Stereoizomeryczna z chitozaminą zasada cukrowa, chondrozamina, wchodzi w skład kwasu chondroityno-siarkowego, składnika istoty podstawowej chrząstki.

Chitozamina daje próby redukcyjne i glukosazon ten sam, co glukoza.

b) Nie fermentuje z drożdżami.

c) Z chlorkiem benzoilowym i wodorotlenkiem sodowym daje nierozpuszczalną w zasadzie czwórbenzoilochitozaminę.

35. Cerebron i kerazyna.

Cerebron i kerazyna są przedstawicielami galaktozydów, związków złożonych z wysokiego kwasu tłuszczowego (kwasu cerebronowego $C_{25}H_{50}O_3$), i wysokiej oksyzasady tłuszczowej (sfingozyny) i galaktozy. Ważne składniki układu nerwowego i wszelkich komórek.

a) Cerebron daje przy ogrzewaniu z kwasem siarkowym stężonym czerwone zabarwienie.

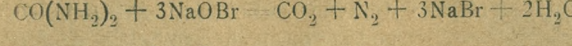
b) Po gotowaniu z kwasem solnym odszczepiają się kwasy tłuszczowe; przesącz daje skutkiem odszczepienia galaktozy próbę Trommera.

36. Mocznik, czyli dwuamid kwasu węglowego $\left(\begin{matrix}+\\ Ur\end{matrix}\right) \cdot CO\begin{matrix}NH_2\\ NH_2\end{matrix}$.

a) Mocznik rozpada się przy gotowaniu z sodą żrącą na amoniak i węglan sodowy.

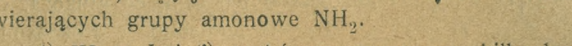
$$CO(NH_2)_2 + 2NaOH = Na_2CO_3 + 2NH_3.$$

b) Z kwasem azotawym daje azot i dwutlenek węgla:



$$CO(NH_2)_2 + 2HNO_2 = CO_2 + 2N_2 + 3H_2O.$$

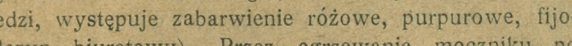
c) Pod działaniem ługu bromowego NaOBr [1]) — te same przetwory:



$$CO(NH_2)_2 + 3NaOBr = CO_2 + N_2 + 3NaBr + 2H_2O.$$

Odczyny b) i c) nie są charakterystyczne dla moczniku; dają je również i sole amonowe i wiele ciał, zawierających grupy amonowe NH_2.

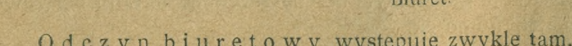
d) W *suchej* (!) probówce ogrzewamy kilka kryształków moczniku, aż się stopią, ochładzamy i dodajemy nieco wody, następnie sody żrącej i kroplę po kropli rozcieńczonego siarczanu miedziowego; w miarę dodawania roztworu miedzi, występuje zabarwienie różowe, purpurowe, fijołkowe (odczyn biuretowy). Przez ogrzewanie moczniku powstał biuret czyli amid kwasu alofanowego.



$$2CO(NH_2)_2 = NH_3 + \underbrace{NH_2 - CO - NH - CO - NH_2}_{\text{Biuret}}.$$

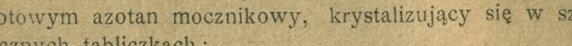
Odczyn biuretowy występuje zwykle tam, gdzie w jednej cząsteczce są skupione wielokrotne grupy CO — NH.

e) Stężone roztwory moczniku dają ze stężonym kwasem azotowym azotan mocznikowy, krystalizujący się w sześcio bocznych tabliczkach;



$$NH_2 - CO - NH_2 \,.\, HNO_3;$$

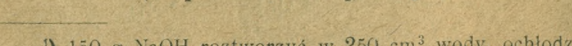
ze stężonym kwasem szczawiowym — szczawian mocznikowy:



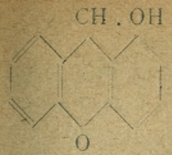
$$2(NH_2 - CO - NH_2) \,.\, C_2O_4H_2.$$

---

[1]) 150 g NaOH roztworzyć w 250 cm^3 wody, ochłodzić, dodawać powoli, chłodząc, 25 cm^3 bromu. Odczynnik musi być świeży gdyż podbromin przechodzi z czasem w broman:



$$3NaBrO \longrightarrow 2NaBr + NaBrO_3.$$



Ksanthydrol.

f) Do 2 kropli roztworu 1%-owego moczniku dodać 10 kropli octu lodowatego i 1 kroplę roztworu 10%-owego ksanthydrolu w alkoholu. Po godzinie stwierdzić osad skrystalizowanego dwuksantylomoczniku:

$$O < (C_6H_4)_2 > CH . NH . CO . NH . CH < (C_6H_4)_2 > O$$

(odczyn Fosse'a).

g) Dodać do roztworu moczniku azotanu rtęciowego, dopóki powstaje biały osad. Zlać płyn z osadu i sprawdzić, przez dodawanie roztworu nasyconego chlorku sodowego, że osad się rozpuszcza. Osad, otrzymany w powyższym odczynie, nie ma składu stałego, lecz jest złożony ze związku $2 . CO . (NH_2)_2 . Hg . (NO_3)_2$ z jedną, dwiema lub trzema cząsteczkami $Hg . O$. Z roztworów ciepłych a bardzo rozcieńczonych moczniku wypada skrystalizowany osad o składzie

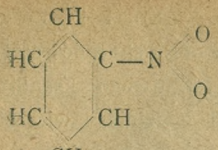
$$2CO . (NH_2)_2 . Hg(NO_3)_2 . 3HgO.$$

h) Zaczyn ureaza, zawarta w drobnoustrojach moczognilnych albo w fasolach sojowych rozkłada mocznik na węglan amonowy. (Por. część III).

Pochodne benzolowe.

37. Nitrobenzol $C_6H_5NO_2$.

Nitrobenzol zawiera grupę nitrową NO_2, związaną z jądrem benzolowem tak, że węgiel połączony jest z azotem bezpośrednio; poznajemy to po tem, że przy redukcji nitrobenzol zamienia się w anilinę, w przeciwstawieniu do związków, które otrzymujemy przez działanie kwasu azotowego na alkohole alifatyczne: powstają wtedy estry kwasu azoto-



Nitrobenzol.

wego, dające przy redukcji hidroksylaminę i amoniak.

a) Do 2 cm_3 kwasu siarkowego stężonego dodać 1 cm_3 kwasu azotowego i kroplę benzolu; mieszać; potem ogrzewać w łaźni; występuje charakterystyczny zapach gorzkich migdałów:

$$C_6H_6 + HNO_3 = C_6H_5NO_2 + H_2O.$$

b) Do kropli nitrobenzolu dodajemy nieco chlorku cynawego i 3 do 4 cm^3 sody żrącej; ogrzewamy, ciągle przetrząsając; zanika zapach nitrobenzolu, występuje woń aniliny. Wytrząsamy płyn (po zupełnem wychłodzeniu!) eterem i odlaną warstwę eterową odparowujemy na łaźni wodnej; do pozostałości dodajemy kroplę po kropli zawiesiny chlorku bielącego ($Ca\begin{cases}OCl\\Cl\end{cases}$): występuje purpurowo-fijołkowe zabarwienie, odczyn aniliny.

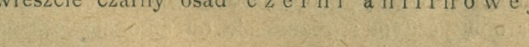
38. Anilina $C_6H_5NH_2$, czyli feniloamina.

a) Anilina rozpuszcza się w kwasach, tworząc sole anilinowe, np. $C_6H_5NH_2HCl$; po dodaniu zasady anilina wydziela się ponownie.

b) Jeżeli roztwór aniliny w kwasie solnym, dobrze ochłodzony, zadać ostrożnie rozcieńczonym azotynem sodowym, to powstaje chlorek dwuazobenzolowy, który można wykazać przez wytworzenie barwnika azowego z roztworem α-naftolu, w obecności amoniaku:

$$C_6H_5NH_2HCl + HNO_2 = C_6H_5 - \underset{\underset{Cl}{|}}{N} = N + 2H_2O.$$

Niezmiernie nietrwały, wybuchający chlorek dwuazobenzolowy rozpada się przy ogrzewaniu na fenol, azot i chlorowodór:



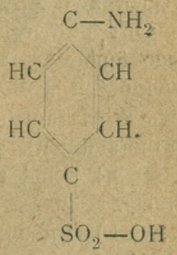
$$C_6H_5N_2Cl + H_2O = C_6H_5OH + N_2 + HCl.$$

Podobny mechanizm posiadają wszystkie reakcje, w których tworzy się z grupy aminowej pod działaniem kwasu azotawego grupa wodorotlenowa. (Por. 29 b, 30 b, 32 c, 36 b). W związkach alifatycznych sole dwuazowe są najzupełniej nietrwałe.

c) Z chloroformem i sodą żrącą por. próbę 10a.

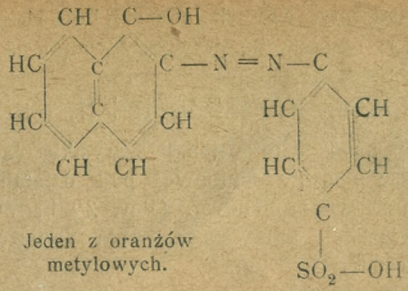
d) Sole anilinowe dają z dwuchromianem potasowym i kwasem siarkowym rozcieńczonym ciemno-zielony, granatowy, wreszcie czarny osad czerni anilinowej.

39. Kwas sulfanilowy.



a) Roztwór kwasu sulfanilowego zadajemy azotynem potasowym i rozcieńczonym kwasem siarkowym: wytwarza się kwas dwuazobenzolosulfonowy, który przy ogrzewaniu przechodzi w kwas parafenolosulfonowy (podać równanie reakcji).

b) Do 10 cm³ wody dodać kroplę roztworu kwasu sulfanilowego, kroplę rozcieńczonego azotynu sodowego i kilka kropli rozcieńczonego kwasu siarkowego; następnie kroplę odczynniku, otrzymanego przez rozcieńczenie kropli 20% alkoholowego α-naftolu przez 1 cm³ amoniaku i 5 cm³ wody; występuje pomarańczowe zabarwienie, które po dodaniu amoniaku przechodzi w purpurowe. Z kwasu diazobenzolosulfonowego i naftolu wytworzył się oranż metylowy, prototyp barwiku dwuazowego.



Jeden z oranżów metylowych.

40. Fenol czyli kwas karbolowy C_6H_5OH.

Fenole zawierają grupę wodorotlenową, związaną z rdzeniami aromatycznymi; różną się od alkoholów przez to, że węgiel, związany z grupą wodorotlenową, jest zarazem połączony podwójnem wiązaniem z drugim węglem. Wskutek tego fenole tworzą swoistą grupę alkoholów trzeciorzędowych, w których wodór grupy wodorotlenowej, na skutek sąsiedztwa z wiązaniem podwójnem, zachowuje się tak, jak w kwasach (słabych).

a) Fenol rozpuszcza się słabo w wodzie, łatwo w sodzie żrącej.

b) Dodanie do kryształków fenolu drobnej ilości wody obniża (dlaczego?) tak dalece temperaturę tajania tego ciała, że otrzymuje się w temperaturze pokojowej płyn *(acidum carbolicum liquefactum)*.

c) Wodny roztwor fenolu barwi się z chlorkiem żelazowym na kolor niebiesko-fijołkowy por. 8 a).

d) Woda bromowa wytwarza żółtawy osad trojbromofenolu.

$$C_6H_5OH + 3Br_2 = C_6H_2Br_3OH + 3HBr.$$

e) Przy ogrzewaniu kwasu azotowego z fenolem występuje jasno-żółte zabarwienie; po dodaniu sody żrącej barwa drzechodzi w brunatno-żółtą.

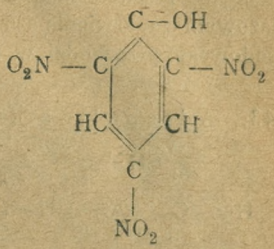
$$C_6H_5OH + HNO_3 = C_6H_4NO_2OH + H_2O.$$
Jednonitrofenol.

$$C_6H_5OH + 3HNO_3 = C_6H_2(NO_2)_3OH + 3H_2O.$$
Kwas pikrynowy.

f) Fenole, ogrzewane z odczynnikiem Millona (roztwór azotanu rtęciowego w kwasie azotowym, zawierającym nieco tlenków azotowych), dają zabarwienie czerwone.

41. Kwas pikrynowy.

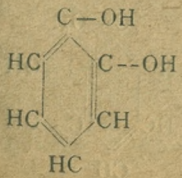
(trójnitrofenol.)



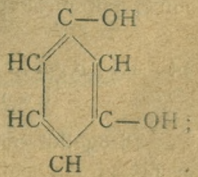
a) Kwas pikrynowy strąca alkaloidy i białka w kwaśnych roztworach. Sprawdzić na siarczanie cynchoninowym oraz roztworze żelatyny. Wskutek powinowactwa między kwasem pikrynowym a białkiem wełna lub jedwab barwią się trwale na żółto, natomiast z bawełny, zabarwionej kwasem pikrynowym możemy barwę żółtą spłukać (dlaczego?).

42. Pirokatechina $C_6H_4(OH)_2$ czyli ortodwuoksybenzol.

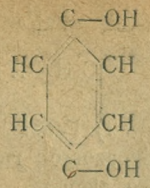
Dwuoksybenzole istnieją w 3 izomerach: ortodwuoksybenzol czyli pirokatechina:



; meta-dwuoksybenzol czyli resorcyna:



i para-dwuoksybenzol czyli hydrochinon:

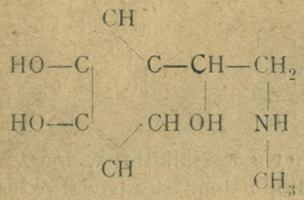


a) Roztwór wodny pirokatechiny barwi się pod wpływem zasady i przetrząsania z powietrzem na kolor ciemny, pochłania przytem tlen.

b) Pirokatechina redukuje amoniakowy roztwór srebra nawet bez ogrzewania.

c) Pirokatechina daje z chlorkiem żelazowym zabarwienie szmaragdowe, które po dodaniu węglanu sodowego przechodzi w fijołkowe.

43. Adrenalina (suprarenina, epinefryna).



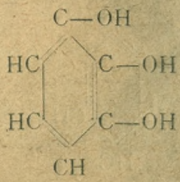
Adrenalina, wydzielina rdzenia nadnerczy, hormon układu współczulnego, jest pochodną pirokatechiny i daje wszystkie 3 wymienione wyżej odczyny pirokatechiny.

a) Adrenalina barwi się po dodaniu dwuchromianu potasu brunatno; jest to ogólny odczyn tkanek, wytwarzających adrenalinę, komórek chromochłonnych nadnerczy i paragangljów układu współczulnego.

b) Przy ogrzewaniu z kwasem jodowym (HJO_3) występuje barwa czerwona.

c) Z chlorkiem żelazowym zabarwia się zielono, podobnie, jak pirokatechina.

44. Pirogallol, (trójoksybenzol).



Pirogallol posiada w wyższej mierze niż pirokatechina zdolność pochła-

nianiania tlenu w roztworze zasadowym. Stosuje się z tego względu w analizie gazów do pochłaniania tlenu.

45. Kwas będźwinowy C_6H_5COOH.

Kwas będźwinowy jest najprostszym kwasem aromatycznym.

a) Ogrzewany w probówce sublimuje i osadza się na ściankach, jako krystaliczny nalot.

b) Rozpuszczamy kwas będźwinowy w rozcieńczonej sodzie żrącej, potem zakwaszamy; kwas będźwinowy wypada w formie krystalicznej

c) Odparowujemy nieco kwasu będźwinowego w parowniczce ze stężonym kwasem azotowym; tworzy się nitrobenzol, który poznajemy po woni:

$$C_6H_5COOH + HNO_3 = C_6H_5NO_2 + CO_2 + H_2O.$$

46. Kwas hipurowy, (benzoiloglikokol).
$C_6H_5CO-NHCH_2COOH$.

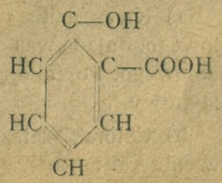
a) Kwas hipurowy jest trudno rozpuszczalny w wodzie zimnej, łatwo w gorącej.

b) Z kwasem azotowym daje nitrobenzol podobnie, jak kwas będźwinowy.

c) Przy ogrzewaniu z kwasem solnym stężonym rozpada się na kwas będźwinowy i glikokol; po ochłodzeniu zobojętniamy i wykazujemy glikokol zapomocą odczynu ninhydrynowego.

47. Kwas salicylowy, (orto-oksybędźwinowy):

jest zarazem kwasem aromatycznym i fenolem



a) Rozpuszczalność podobna do rozpuszczalności kwasu będźwinowego.

b) Ogrzewany na sucho topnieje i sublimuje; przy silniejszem ogrzaniu rozpada się na dwutlenek węgla i fenol:

$$C_6H_4OHCOOH = C_6H_5OH + CO_2.$$

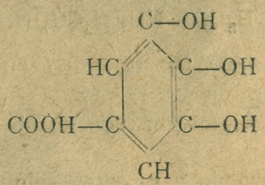
Odwróceniem tego odczynu jest synteza kwasu salicylowego z fenolu i dwutlenku węgla, pod wyższem ciśnieniem tego gazu.

c) Przy ogrzewaniu z chlorkiem żelazowym daje silne zabarwienie fjołkowe (dlaczego?) (por. 8 a, b i 40 c).

d) Z odczynnikiem Millona — zabarwienie czerwone (dlaczego?) (por. 40 c).

48. Kwas gallusowy.

$$C_6H_2(OH)_3COOH.$$



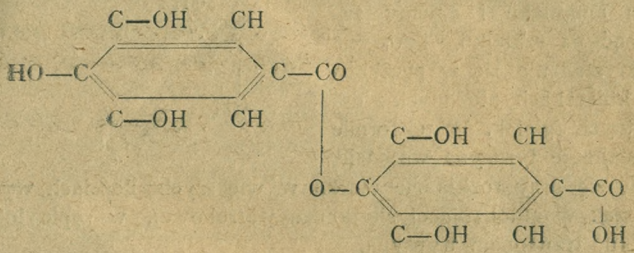
Kwas gallusowy.

a) Kwas gallusowy utlenia się pod działaniem kwasu azotowego, dając kwas szczawiowy. Przykład rozkładu rdzenia benzolowego. Po zobojętnieniu próby wykonać odczyn na kwas szczawiowy.

b) Chlorek żelazowy wywołuje niebiesko-czarne zabarwienie (atrament).

49. Tanina czyli kwas galogarbnikowy.

Tanina jest związkiem, w którym grupy wodorotlenowe glukozy lub wielocukrów są zestryfikowane z cząsteczkami kwasu dwugallusowego:



tak, że na każdą cząsteczkę glukozy przypada 10 cząsteczek kwasu gallusowego.

a) Tanina daje z chiorkiem żelazowym podobny odczyn, jak i kwas gallusowy.

b) Strąca alkaloidy, klej i białko.

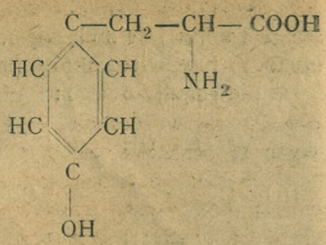
50. Feniloalanina, (kwas β-fenilo-α-aminopropionowy).

$$C_6H_5—CH_2—\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}—COOH$$

a) Daje przy gotowaniu z węglanem miedziowym sól miedziową, która wykrystalizuje się z ciemno-niebleskiego roztworu.

b) Przy ogrzaniu 2 cm^3 roztworu feniloalaniny z 10 kroplami kwasu siarkowego i odrobiną dwuchromianu potasu powstaje aldehid feniloocto wy, o charakterystycznym zapachu.

51. Tyrozyna, (paraoksyfeniloalanina).



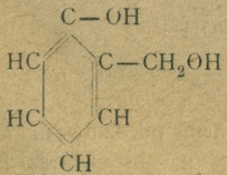
a) Tyrozyna jest mało rozpuszczalną w wodzie.

b) Rozpuszczamy kryształki tyrozyny w rozcieńczonym amoniaku i dajemy zaschnąć na szkiełku. Tyrozyna wykrystalizuje się w pęczkach lub kuleczkach, złożonych z delikatnych igiełek. W tej formie krystalizuje tyrozyna wszędzie, gdzie się przy rozkładzie białka w większych ilościach wytwarza: w autolizującej się tkance wątrobowej, w ropie lub białku, trawionem trypsyną.

c) Roztwór tyrozyny, nawet bardzo rozcieńczony, daje przy ogrzewaniu z odczynnikiem Millona silne czerwone zabarwienie (próba Hofmanna).

52. Salicyna (glukozyd saligeniny czyli alkoholu salicylowego).

a) Jak wszystkie glukozydy, tak i salicyna rozszczepia się przy gotowaniu z rozcieńczonymi kwasami i daje cukier redukujący, który wykazujemy za pomocą próby Trommera.



Saligenina

Ciała hydroaromatyczne.

53. Cholesteryn $C_{27}H_{45}OH$.

Cholesteryn jest alkoholem hydroaromatycznym nienasyconym, którego budowa nie jest jeszcze dokładnie znaną. Wchodzi w skład wszystkich komórek;

w większych ilościach wchodzi w skład tkanki nerwowej; uchodzi jako wydalina w żółci; estry cholesterynu z kwasami tłuszczowymi znajdują się w surowicy krwi, w korze nadnerczy, w tłuszczu skóry (lanolina).

a) Cholesteryn jest nierozpuszczalny w wodzie, rozpuszcza się w alkoholu, krystalizuje się z roztworów alkoholowych w tabliczki rombowe.

b) Do roztworu cholesterynu w chloroformie dodajemy równą ilość kwasu siarkowego, otrzymanego przez rozcieńczenie 2 objętości stężonego kwasu 1 objętością wody; występuje czerwone zabarwienie (próba Salkowskiego).

c) Do roztworu cholesterynu w chloroformie dodać kilka kropli bezwodnika kwasu octowego $\left(O\left\langle\begin{matrix}OC-CH_3\\OC-CH_3\end{matrix}\right.\right)$, następnie kropelkę stężonego kwasu siarkowego; występuje zabarwienie czerwone, które przechodzi kolejno w niebieskie, następnie w zielone (próba Liebermanna-Burchardta).

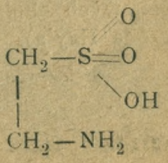
d) Do alkoholowego roztworu cholesterynu dodać alkoholowego roztworu digitoniny, ciała, należącego do klasy saponinów; powstaje biały osad (odczyn Windausa).

Estry cholesterynu dają odczyn Salkowskiego i Liebermanna, natomiast nie dają odczynu Windausa.

Na powinowactwie cholesterynu do saponinów polega działanie hemolizujące saponinów.

54. Kwas cholowy, $C_{24}H_{40}O_5$, czyli kwas trójoksycholanokarbonowy: $C_{23}H_{36}(OH)_3COOH$.

Kwas cholowy i desoksycholowy ($C_{23}H_{37}(OH)_2 . COOH$) tworzą w połączeniu z tauryną,



kwasy taurocholowe, w połączeniu z glikokolem — kwasy glikocholowe, główne kwasy żółciowe. Kwas cholowy jest kwasem jednowartościowym, zawierającym trzy wodorotleny, a pochodnym węglowodoru hydroaromatycznego cholanu: $C_{23}H_{40}$.

a) Cholan sodowy i potasowy są rozpuszczalne w wodzie; sam kwas nie rozpuszcza się w wodzie.

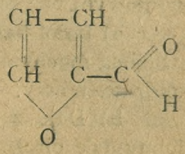
b) Na 2 cm³ stężonego kwasu siarkowego nalać ostrożnie 1 cm³ cholanu sodowego, do którego dodano kroplę rozcieńczonego roztworu cukru trzcinowego; mieszać obydwa płyny bardzo ostrożnie, unikając zbytniego ogrzania; występuje wiśniowo-purpurowe zabarwienie (próba Pettenkofera). Próbę tę dają wszystkie kwasy żółciowe (Por. 54 c).

c) Do 1 cm³ roztworu alkoholowego, zawierającego 5% kwasu cholowego, dodać 2 cm³ roztworu $\frac{1}{10}$ normalnego jodu w jodku potasu, a następnie dodawać wody powoli, porcjami po 1 cm³, obserwując płyn. W pewnej chwili płyn zamieni się w masę ciemno-niebieskich igiełek. (Odczyn Mylius'a). Zauważyć analogję między tym odczynem kwasu cholowego, a podobnym u skrobji. Zauważyć zmiany, jakie w obydwu odczynach wywołuje ogrzanie, a następnie ostudzenie płynów!

d) Na powierzchnię 10 cm³ roztworu 1% cholanu sodowego (w probówce) nasypać ostrożnie nieco kwiatu siarczanego; równolegle wykonać taką samą próbę z wodą czystą (w czystej probówce). W roztworze cholanu siarka opada na dno, wskutek niskiego napięcia powierzchniowego: na powierzchni wody natomiast proszek pozostaje. Aniony kwasów żółciowych obniżają potężnie napięcie powierzchniowe wody. (Próba Hay'a).

Ciała heterocykliczne.

55. Furfurol.



a) Do bardzo rozcieńczonego roztworu furfurolu dodać zakwaszonego roztworu octanu anilinowego.

b) Do takiegoż roztworu furfurolu dodać kroplę 20% roztworu α-naftolu i stężonego kwasu siarkowego.

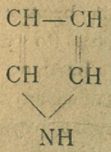
c) Do roztworu furfurolu dodać kroplę roztworu cholanu sodowego i dolać ostrożnie $^1/_2$ cm^3 stężonego kwasu siarkowego.

Podać, przy jakich substancjach występowały podobne odczyny.

d) Do roztworu furfurolu dodać roztworu floroglucyny w 12% rozczynie kwasu solnego; płyn ogrzany barwi się na żółto, potem na zielono, wreszcie wypada osad nierozpuszczalnego floroglucydu furfurolowego.

$$C_5H_4O_2 + C_6H_6O_3 = C_{11}H_8O_4 + H_2O.$$

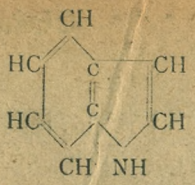
56. Pirol



a) Pary pirolowe barwią drzazgę jodłową, zwilżoną mocnym kwasem solnym, na kolor karminowy.

b) Z nitroprusydkiem sodowym i 3 cm^3 sody żrącej wystąpi po ogrzaniu zabarwienie zielone, po dodaniu 3 cm^3 octu lodowatego niebieskie.

57. Indol.



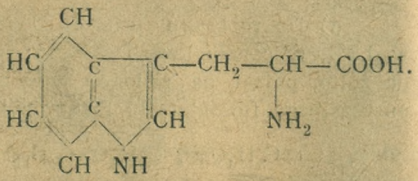
Indol powstaje przez rozkład gnilny tryptofanu w przewodzie pokarmowym.

a) Indol barwi drzazgę jodłową, zwilżoną mocnym kwasem solnym, na kolor wiśniowy.

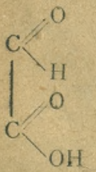
b) Daje z nitroprusydkiem i sodą żrącą odczyn podobny jak pirol, lecz mocniejszy,

c) Do roztworu indolu dodać azotynu potasowego i rozcieńczonego kwasu siarkowego; płyn zabarwi się na czerwono, następnie wypadnie czerwony krystaliczny osad, czerwień indolowa czyli czerwień choleryczna[1]).

58. Tryptofan



a) Wolny tryptofan daje charakterystyczną reakcję z wodą bromową: fijołkowe zabarwienie.



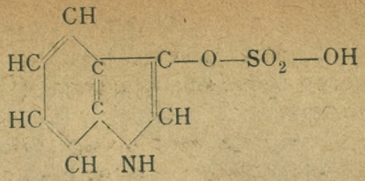
Kwas glioksylowy.

b) Po dodaniu do rozczynu tryptofanu kropli bardzo rozcieńczonego kwasu glioksylowego mieszamy ostrożnie z kwasem siarkowym stężonym; występuje piękne i trwałe fijołkowe zabarwienie.

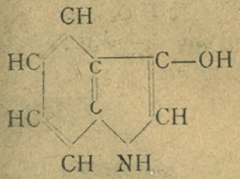
---

[1]) Krętki cholery zużywają w jelicie chorych gwałtownie tlen i odtleniają przez to azotany na azotyny; w wyciągu wodnym odchodów cholerycznych znajduje się przeto azotyn i indol, a po zakwaszeniu występuje odczyn powyższy.

59. Kwas indoksylosiarkowy, indykan moczowy.



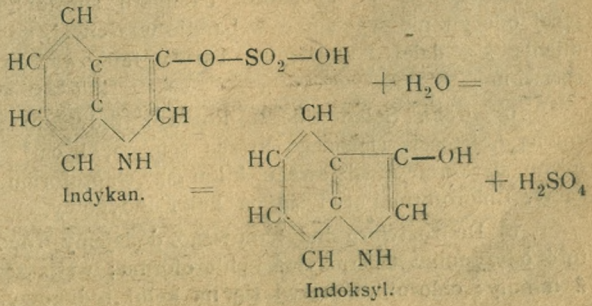
Indykan powstaje w ten sposób, że indol, wytworzony przez bakterje gnilne i wessany w jelicie, utlenia się w wątrobie na indoksyl, a indoksyl łączy się z kwasem siarkowym na kwas indoksylosiarkowy, tworząc w ten sposób nieszkodliwe dla ustroju ciało.

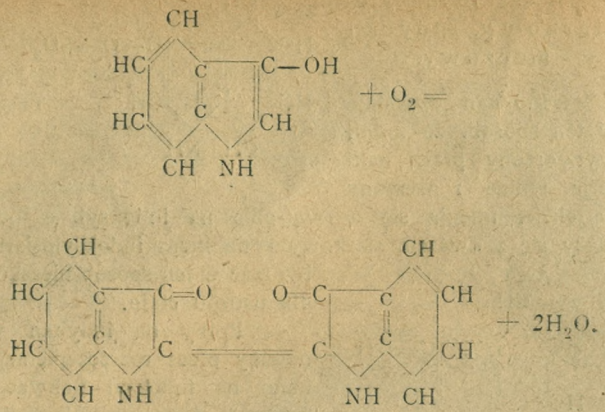


Indoksyl.

Próby na indykan wykonujemy przez rozszczepienie indykanu na indoksyl i kwas siarkowy i następnie utlenienie indoksylu na indygo. Jako środków utleniających używamy albo chlorku bielącego (próba Jaffego), albo chlorku żelazowego, (kwas solny stężony, zawierający 0,2% chlorku żelazowego stanowi odczynnik Obermayera), wreszcie siarczanu miedziowego (próba Salkowskiego).

1)



2) 

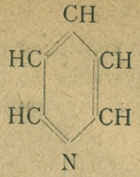
Indygo.

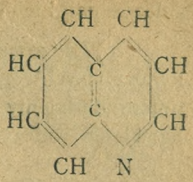
a) Próba Jaffego. Do roztworu, zawierającego indykan (moczu), dodać równą objętość stężonego kwasu solnego, kilka cm^3 chloroformu i kroplę rozcieńczonego chlorku bielącego, poczem silnie wstrząsać; chloroform barwi się na kolor indygowy. W obecności nadmiaru substancji utleniającej odczyn nie występuje w barwie właściwej, gdyż indygo utlenia się dalej i występuje barwa fiołkowa, ewentualnie czerwona.

b) Próba Salkowskiego. Roztwór indykanu zadajemy równą objętością stężonego kwasu solnego, 1 cm^3 10% roztworu siarczanu miedziowego, kilku cm^3 chloroformu i wstrząsamy. Chloroform barwi się na kolor indygowy.

c) Do roztworu indykanowego dodajemy równą objętość odczynniku Obermayera i chloroformu; wstrząsamy przez 2 minuty; chloroform barwi się na kolor indygowy.

Alkaloidy:

60. Pirydyna 

i chinolina 

a) Kwaśne roztwory pirydyny lub chinoliny dają osady z następującymi odczynnikami: 1) z kwasem garbnikowym, 2) z roztworem jodu w jodku potasu, 3) z jodkiem rtęciowym w jodku potasu, 4) z kwasem fosforowolframowym, 5) z kwasem pikrynowym, 6) z kwasem fosforomolibdenowym. Wszystkie te odczynniki określamy jako ogólne odczynniki alkaloidowe.

61. Chinina $C_{20}H_{24}N_2O_2$.

Chinina jest zasadą i tworzy sole z 1 cząsteczką kwasu solnego albo równoważnikami innych kwasów.

a) Daje ogólne odczyny alkaloidowe.

b) Roztwór soli chininowych wykazuje po dodaniu kwasu siarkowego błękitną fluorescencję.

c) Amoniak, węglan sodowy lub wodorotlenek sodowy wytrącają chininę z roztworów jej soli; osad jest rozpuszczalny w eterze.

d) Do kilku cm^3 roztworu chininy dodać kroplę wody bromowej, następnie amoniaku; powstaje szmaragdowe zabarwienie, które po zakwaszeniu kwasem solnym przechodzi w czerwone (odczyn taleiochinowy).

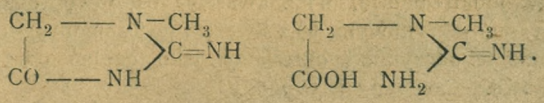
61. Morfina $C_{17}H_{17}NO_3$.

a) Morfina jest zasadą jednowartościową, nierozpuszczalną w amoniaku, rozpuszczalną w zasadach.

b) Roztwory soli morfinowych barwią się z chlorkiem żelazowym niebiesko.

c) Ogrzewamy w parowniczce kryształek morfiny z kroplą kwasu siarkowego, aż do wywiązywania się białych dymów, potem dodajemy kryształek saletry; występuje fioletowe zabarwienie (odczyn Hasemanna).

62. Kreatynina czyli bezwodnik kwasu metylo-guanidyno-octowego (kreatyny).



Kreatynina. Kreatyna.

a) Roztwór kreatyniny, zakwaszony kwasem solnym daje osad z kwasem fosforowolframowym.

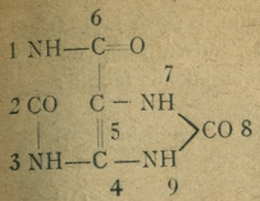
b) Ze stężonych roztworów kreatyniny krystalizuje się po zadaniu stężonym roztworem chlorku cynkowego połączenie kreatyniny z chlorkiem cynku $(C_4H_7N_3O)_2ZnCl_2$.

c) Roztwór kreatyniny, zadany kilku kroplami nitroprusydku, przyjmuje po dodaniu ługu sodowego kolor rubinowy (Odczyn Weyla). Barwa szybko zanika.

d) Po dodaniu kwasu pikrynowego i sody żrącej występuje w rozcieńczonym roztworze kreatyniny pomarańczowe zabarwienie, przypominające barwę dwuchromianu potasowego (odczyn Jaffego).

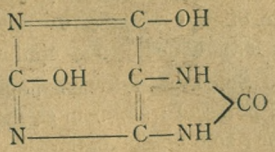
e) Kreatynina odbarwia przy gotowaniu płyn Fehlinga, ale tlenek miedziawy nie wydziela się.

63. Kwas moczowy czyli 2-6-8-trójoksypuryna.



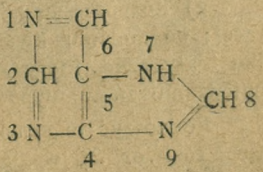
Wzór I.

albo



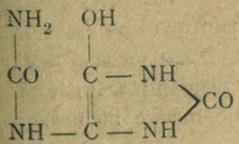
Wzór II.

Kwas moczowy jest pochodną puryny; w ustroju ssaków powstaje przez utlenienie innych pochodnych purynowych, wchodzących w skład kw. nukleinowych: adeniny czyli 6-aminopuryny, gwaniny czyli 2 amino-6-oksypuryny oraz powstających przez utlenienie tychże zasad purynowych: hipoksantyny czyli 6 oksypuryny i ksantyny czyli 2-6-dwuoksypuryny. Wyprowadzić wzory!



Puryna.

W ustroju ptaków kwas moczowy tworzy się drogą syntezy.



Alantoina.

Wszystkie ssaki, za wyjątkiem człowieka, utleniają kwas moczowy na alantoinę; człowiek tej zdolności nie posiada.

Kwas moczowy jest nierozpuszczalnym w zimnej wodzie kwasem dwuzasadowym. W kwasie tym mogą być wymienione na katjony albo 2-atomy wodoru związane z azotem, n. p. w pozycji 1 i 7 albo 1 i 3, albo też w formie tautomerycznej (II)

wodory grup wodorotlenowych 2 i 6. Nietylko grupa wodorotlenowa w karboksylu posiada zdolność odszczepiania zjonizowanego wodoru; tę samą zdolność posiadają także wodorotleny, stojące w pobliżu kilku podwójnych wiązań albo stanowiące grupę enolową, podobnie jak w fenolu:

$$R—CH=CR_1$$
$$|$$
$$OH$$

Grupa enolowa.

Sole kwaśne kwasu moczowego z sodem, potasem i amonem są mało rozpuszczalne; sole obojętne, trwałe tylko w roztworach alkalicznych, są łatwo rozpuszczalne. Dlatego kwas moczowy rozpuszcza się w ługu lub węglanie sodowym. Moczan amonowy jest trudno rozpuszczalny także w nadmiarze amoniaku.

a) Rozpuszczamy próbę kwasu moczowego w sodzie żrącej; po dodaniu kwasu solnego wypada kwas moczowy jako biały osad, który się rozpuszcza przy ogrzewaniu; przy ochładzaniu znów wypada.

Powtórzyć to samo doświadczenie, biorąc zamiast sody żrącej roztwór 2% węglanu sodowego; przesączyć i strącić w roztworze kwasu kwas moczowy.

b) Z zasadowego roztworu moczanu wytrącamy przez dodanie stężonego roztworu siarczanu amonowego osad moczanu amonowego.

c) Kwas fosforowolframowy strąca w roztworze kwaśnym kwas moczowy. Jeżeli dodajemy do bardzo rozcieńczonego roztworu nieco kwasu solnego i kwasu fosforowolframowego, to powstaje osad.

d) Do roztworu moczanów dodać węglanu sodowego i kwasu fosforowolframowego [1]): występuje mocne niebieskie zabarwienie (odczyn Folina i Denisa).

---

[1]) 100 g wolframianu sodowego, 102 cm³ kwasu ortofosforowego 66·3% i 250 cm³ wody gotować przez 2 godziny, ochłodzić, rozcieńczyć wodą do 1 l.

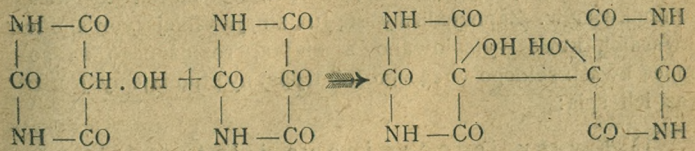
e) Do bardzo rozcieńczonego roztworu moczanu sodowego dodać amoniaku, mieszanki magnezowej i amoniakowego roztworu srebra. Kwas moczowy wypada zupełnie jako biały, żelatynowaty osad moczanu srebrowo-magnezowego.

f) Do zasadowego roztworu kwasu moczowego dodać siarczanu miedziowego i dwusiarczynu sodowego. Dwusiarczyn redukuje sól miedziową na miedziawą, która strąca kwas moczowy, jako biały moczan miedziawy, podobnie, jak sole srebrowe.

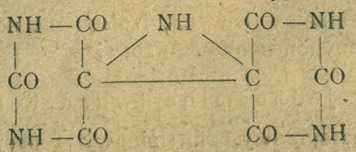
g) Kwas moczowy redukuje gorący płyn Fehlinga.

h) Do okruszynki kwasu moczowego dodać w miseczce porcelanowej kroplę stężonego kwasu azotowego i ostrożnie ogrzewać na łaźni dopóty, dopóki pozostałość nie będzie zupełnie sucha; pozostały osad ma barwę żółtą; ogrzewamy go tak długo, aż zaczyna nabierać od brzegu koloru czerwonego. Po ochłodzeniu dotykamy plamy z jednego końca kropelką sody żrącej, z drugiej strony — kropelką bardzo rozcieńczonego amoniaku: soda wywołuje barwę fiołkową, amoniak — purpurową (próba mureksydowa).

Odczyn ten polega na utlenieniu kwasu moczowego; powstaje kwas dialurowy i aloksan, które łączą się w aloksantynę:



Kwas dialurowy. Aloksan. Aloksantyna.



Kwas purpurowy.

Aloksantyna tworzy z amoniakiem kwas purpurowy, którego solą amonową jest fiołkowy mureksyd.

65. Kofeina, (1-3-7-trójmetylo-2-6-dwuoksypuryna).

Skutkiem nagromadzenia grup metylowych w kofeinie własności kwasowe są osłabione, zasadowe przeważają:

a) Kofeina daje osad z kwasem fosforowolframowym.

b) Jeżeli odparować drobną ilość kofeiny z wodą bromową lub chlorową do sucha, to tworzy się pomarańczowa pozostałość, która pod wpływem par amoniaku przechodzi w purpurową.

66. Białka.

Własności ciał białkowych zależą: 1) od rodzaju aminokwasów, z których są złożone, 2) od sposobu sprzężenia tych aminokwasów, 3) od wielkości cząsteczki i związanego z tem stanu koloidowego, 4) od charakteru amfoterowego cząsteczki białkowej, t. j. od zdolności tworzenia soli z kwasami i zasadami. Białko rozpada się pod działaniem kwasów lub zasad na produkta ostateczne, które należą do klasy aminokwasów. Zapoznaliśmy się już z najważniejszymi aminokwasami, które wyizolowano z białka, rozłożonego za pomocą kwasu solnego wrzącego lub trypsyny; podajemy jeszcze raz ich spis:

1) Kwasy jednoaminowe i jednokarboksylowe.

Glikokol, alanina, leucyna, izoleucyna, norleucyna, walina i kwas α-aminomasłowy. Wzory?

2) Kwasy jednoamino-dwukarboksylowe.

Kwas asparaginowy, glutaminowy i oksyglutaminowy. Wzory?

3) Kwasy dwuamino-jednokarboksylowe.

Ornityna czyli kwas $\alpha\ \delta$-dwuaminowalerjanowy; ornityna, połączona z resztą $C\begin{matrix}NH\\NH_2\end{matrix}$, tworzy argininę. Wzory?

4. Kwasy oksytłuszczowe.

Seryna czyli kwas β-oksy-α-aminopropionowy. Wzór? Kwas oksyglutaminowy.

5. Kwasy tioaminowe.

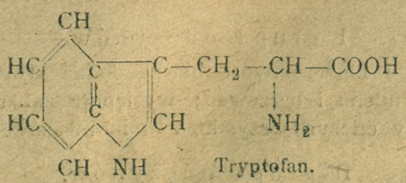
Cysteina czyli kwas β-tio-α-aminopropionowy, występuje w białku jako cystyna. Wzór?

6. Aminokwasy aromatyczne.

Feniloalanina i tyrozyna. Wzory?

7. Związki heterocykliczne.

Prolina czyli kwas α-pirolidynowo-karbonowy (nie jest we właściwem tego słowa znaczeniu aminokwasem), oksyprolina, tryptofan czyli kwas α-amino-β-indolopropionowy,



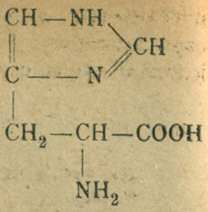
Tryptofan.

oksytryptofan i histydyna czyli kwas α-amino-β-imidazolopropionowy.

Aminokwasy są związane w białku w ten sposób, że grupy karboksylowe jednych złączone są z grupami aminowemi drugich jak w amidach kwasowych, tworząc w ten sposób bardzo długie i różnorodne łańcuchy, których najprostszym wzorem jest np.

$$NH_2—CH_2—CO—NH—CH_2—COOH$$

Glicyloglicyna.



Histydyna.

W związku z wielkością cząsteczki i charakterem koloidowym białka pozostaje własność wielkiej zmienności stanu skupienia. Pod wpływem czynników pozornie nieznacznych, np. pod działaniem zaczynów, podwyższenia ciepłoty, rozcieńczonych kwasów lub zasad, alkoholu etylowego formy rozpuszczalne przechodzą w nierozpuszczalne, ścinają się.

Przez roztwory soli obojętnych możemy białka wysalać odwracalnie Przez trawienie białka pepsyną otrzymujemy mieszaniny związków, zasadniczo podobnych do białka, lecz posiadających mniejszy ciężar cząsteczkowy. W miarę zmniejszania się ciężaru cząsteczkowego zatracają się własności ścinania i strącalności przez roztwory soli obojętnych.

Jako ogólne odczyny białkowe określamy te, które zależą od obecności ogólnych składników białka; odczyny te dają także produkta rozkładu białka.

I grupa odczynów.

a) Do 1 cm^3 roztworu białka dodać kroplę wodzianu trójketohydryndenu i ogrzewać; występuje zabarwienie fiołkowe: ogólny odczyn wszystkich aminokwasów. (Por. 30e).

II grupa odczynów.

b) Do roztworu białka dodać sody żrącej i kroplę po kropli bardzo rozcieńczonego roztworu siarczanu

miedziowego; występuje zabarwienie czerwono-fiołkowe. Odczyn biuretowy Piotrkowskiego, ogólny odczyn aminokwasów sprzężonych. (Por. 36 d).

III grupa odczynów.

Odczyn cystyny albo cysteiny.

c) Do roztworu białka dodać kroplę octanu ołowiawego i tyle sody żrącej, ile potrzeba na rozpuszczenie wodorotlenku ołowiawego; przy ogrzaniu występuje szaro brunatne lub czarne zabarwienie. Dlaczego? (Por. 33 b).

IV grupa odczynów.

Odczyny związków aromatycznych.

d) Ogrzewać białko z kwasem azotowym stężonym; jeżeli powstał żółto zabarwiony kłak białkowy, to nadmiar kwasu azotowego odlać; do osadu dodać amoniaku lub sody żrącej; występuje zabarwienie żółto-brunatne. Odczyn ksantoproteinowy, spowodowany obecnością grupy feniloalaninowej, tyrozynowej i tryptofanowej. Odczyn ten występuje na skórze, jeśli się zetknęła z mocnym kwasem azotowym. (Por. 40 d).

e) Gotować białko z odczynnikiem Millona[1]) powstaje różowy, później brunatno-czerwony osad. Odczyn fenolowy, wywołany obecnością tyrozyny.

f) Do roztworu białka dodać kilka kropli bardzo rozcieńczonego kwasu glioksylowego[2]) i nalewamy na kwas siarkowy stężony; powstaje pierścień fiołkowy; przy ostrożnem

---

[1]) 30 cm^3 rtęci rozpuścić w 570 cm^3 stężonego kwasu azotowego i rozcieńczyć otrzymany roztwór podwójną objętością wody.

[2]) 10 g proszku magnezowego zwilżyć wodą i dodawać małemi porcjami, chłodząc w wodzie zimnej, 250 cm^3 nasyconego roztworu kwasu szczawiowego w wodzie. Przesączyć, zakwasić słabo kwasem octowym, rozcieńczyć wodą do 1 l.

zmieszaniu obydwu warstw cały płyn przybiera tę barwę. Odczyn Hopkinsa, właściwy grupie tryptofanowej.

Do 1 cm^3 roztworu białka dodać kroplę roztworu 2·5% aldehidu mrówkowego i około 7 cm^3 kwasu solnego stężonego; mieszać starannie i pozostawić płyn na 5 minut; następnie dodać b. powoli, kroplę po kropli, roztworu azotynu sodowego 0·05%[1]): wystąpi zabarwienie fiołkowe. (Odczyn Voisenet'a, właściwy grupie tryptofanowej).

V grupa odczynów.

Odczyny alkaloidowe.

h) Zakwaszone roztwory białka dają osady z kwasem fosforowolframowym, taniną, rozczynem jodu w jodku potasu (odczynnik Brückego[2]), jodku bizmutu w jodku potasu, kwasem molibdenowofosforowym, kwasem pikrynowym[3]).

i) Żelazocjanek potasu strąca z roztworu białka, zakwaszonego mocnym kwasem octowym, biały osad.

VI grupa odczynów.

Wysalanie białka.

j) Do roztworu białka dodać sproszkowanego siarczanu amonowego; białko wypada, a po dodaniu wody rozpuszcza się ponownie.

k) Ogrzewać djalizowane białko z kropelką 1% kwasu octowego, roztwór początkowo klarowny, staje się opalizującym, białko denaturuje się i tworzy koloidową zawiesinę; po dodaniu drobnej ilości roztworu soli kuchennej

---

[1]) Świeżo przyrządzony przez rozcieńczenie stukrotne roztworu 5% $NaNO_2$.

[2]) 50 g KJ w 500 cm^3 wody, nasycić 120 g HgJ_2, rozcieńczyć do 1 l.

[3]) 10 g kwasu pikrynowego i 10 g kwasu cytrynowego w 1 l. (Odczynnik Essbacha).

a lepiej jeszcze siarczanu magnezowego lub glinowego wytwarza się gęsty kłaczkowaty osad. W nadmiarze wody białko tak strącone już się nie rozpuszcza; rozpuszcza się natomiast w sodzie żrącej rozcieńczonej, tworząc albuminaty czyli białczany.

Pod działaniem temperatury wyższej białko rodzime rozpuszczalne zamieniło się w nierozpuszczalne, zdenaturowało się; osad nie powstał przytem, tylko zawiesina koloidowa, trwała w nieobecności soli. Dodanie soli, zwłaszcza zawierającej jony wielowartościowe, wywołało dopiero osadzenie zawiesiny koloidowej, zbicie jej cząstek w kłaczki.

l) Ogrzewać białko ostrożnie (nie do wrzenia) z odrobiną sody żrącej: pozornie nie zachodzi zmiana, ale po ochłodzeniu i dokładnem zobojętnieniu kwasem octowym powstaje osad; z wytworzonego białczanu uwalnia się kwas białkowy.

ł) Jeżeli dodajemy do roztworu białka stężonego kwasu solnego, to może powstać osad, który się rozpuszcza po dodaniu wody; ze stężonym kwasem azotowym tworzy się zawsze osad nierozpuszczalny w wodzie.

Do roztworu białka dodać kroplę kwasu octowego stężonego, które nie wywoła zamętnienia; następnie dodać kroplę mocnego kwasu azotowego: powstanie biały osad.

Nalać roztwór białka ostrożnie, po ścianach pochyło trzymanej probówki, na kwas azotowy stężony: na pograniczu płynów powstanie warstewka osadu.

m) Z solami metali ciężkich, np. octanem ołowiawym, chlorkiem żelazowym, siarczanem miedziowym, powstają osady, które bywają rozpuszczalne w nadmiarze odczynniku. Pochodzi to stąd, że między metalami a białkiem tworzą się szeregi soli, z których jedne są rozpuszczalne, a drugie nierozpuszczalne.

n) Białko jest nierozpuszczalne w alkoholu etylowym i wypada pod jego działaniem z roztworów wodnych.

Oprócz tych grup, które wchodzą w skład wszystkich substancji białkowych, mogą jeszcze wchodzić w ich skład: grupy węglowodanowe jako zasady cukrowe (chitozamina i chondrozamina, oraz kwas glukuronowy) składowe kwasu mukoitynosiarkowego w mucynach i mukoidach, albo też chondroitynosiarkowego, kwas fosforowy w białkach kwaśnych (serniku); kwasy nukleinowe; grupy barwnikowe (np. hemochromogen).

Białko kurze.

Białko kurze zawiera mukoidy; daje odczyn Molischa, wskazujący na obecność grup węglowodanowych.

Do 1 cm^3 roztworu białka kurzego dodajemy kilka kropli 20% rozczynu α-naftolu i nalewamy na kwas siarkowy stężony; występuje czerwono-fiołkowe zabarwienie.

67. Sernik.

Przykładem białka związanego z kwasem fosforowym, jako grupą dodatkową, jest sernik. Obecność fosforu wykazywaliśmy przy jakościowej analizie elementarnej.

a) Sproszkowany sernik rozpuszcza się bardzo powoli w rozcieńczonym węglanie sodowym, po zobojętnieniu kwasem octowym wypada napowrót jako osad łatwo rozpuszczalny w zasadach, trudniej w kwasach silnych.

b) Sernik daje b. wyraźne odczyny Hopkinsa i Millona, a słabą próbę Molischa.

c) Roztwory sernika nie ścinają się przy gotowaniu.

68. Peptony (roztwór t. zw. peptonu Witte'go).

a) Peptony nie ścinają się przy gotowaniu.

b) Dają odczyn biuretowy (barwa czerwona!).

c) Dają odczyn z wodzianem trójketohydryndenu.

d) Strącają się z odczynnikami alkaloidowymi.

69. Mucyna.

Mucyna jest związkiem białka z kwasem mukoitynosiarkowym, złożonym z chitozaminy, kwasu glukuronowego i octowego; mucyna ma charakter wybitnie kwaśny, rozpuszcza się tylko jako sól.

a) Z roztworów wypada po dodaniu kwasu octowego.

b) Daje ogólne odczyny białkowe. Wykazujemy własności mucyny na mucynie ze śliny.

70. Żelatyna czyli klej.

Żelatyna jest białkiem niezupełnem, któremu brak tyrozyny i tryptofanu; zawiera wiele glikokolu

a) Nie daje się strącić przez kwas azotowy stężony.

b) Nie strąca się przez działanie kwasu octowego i gotowanie.

c) Nie daje się strącić przez kwas octowy i żelazocjanek potasowy.

d) Nie daje odczynów Millona, ksantoproteinowego, Hopkinsa ani cystynowego

e) Żelatyna pęcznieje w wodzie zimnej, rozpuszcza się w wodzie ciepłej; roztwory te ścinają się po ochłodzeniu.

71. Hemoglobina.

Hemoglobina składa się z części białkowej, wynoszącej 96% cząsteczki, i części barwnikowej (hemochromogenu), wynoszącej 4%

Hemoglobina jest związkiem białkowym, złożonym z zasadowego białka, globiny i części barwnikowej (hemochromogenu). Oksyhemoglobina rozpada się pod działaniem słabych kwasów lub zasad na globinę, którą możemy z kwaśnego roztworu wytrącić, dodając amoniaku, i na hematynę, którą możemy wytrząsnąć z kwaśnego wodnego roztworu zapomocą mieszaniny eteru i acetonu. Hematyna przechodzi pod działaniem substancji odtleniających w roztworze zasadowym w hemochromogen.

Hemoglobina zawiera żelazo, na 1 cząsteczkę hemoglobiny (16000) wypada 1 atom żelaza (56). Hematyna odszczepiona z hemoglobiny wynosi 4% pierwotnej cząsteczki hemoglobinowej. Wzór jej:

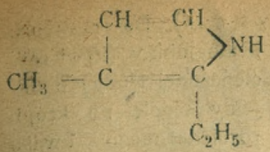
$$C_{32}H_{30}N_4(COOH)_2FeOH;$$

jest zatem kwasem dwuwartościowym; żelazo nie jest związane z grupami kwaśnemi, lecz z azotem, grupy kwaśne można zestryfikować z alkoholami. Grupę wodorotlenową, związaną z żelazem, można zastąpić przez chlor; powstaje chlorek hematyny czyli hemina. Hematyna ma się do hemochromogenu prawdopodobnie tak, jak methemoglobina (p. 73) do hemoglobiny; nie odszczepia tlenu w próżni, lecz tylko pod działaniem czynników odtleniających.

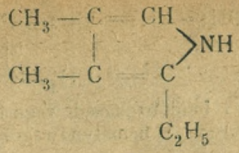
Pod działaniem mocnych kwasów, siarkowego lub bromowodorowego, następuje odszczepienie żelaza z cząsteczki hematyny, powstaje barwnik wolny od żelaza — hematoporfiryna:

$$C_{32}H_{36}O_2N_4(COOH)_2.$$

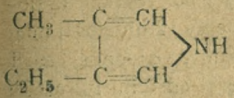
Przez działanie substancji odtleniających możemy zamienić hematoporfirynę na szereg związków hemopirolowych i kwasów hemopirolokarbonowych:



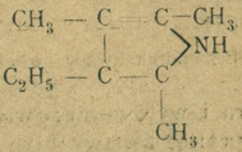
I.



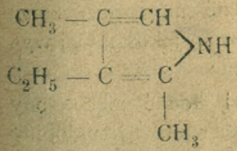
II.



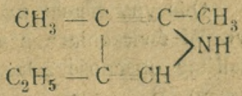
III.



IV.

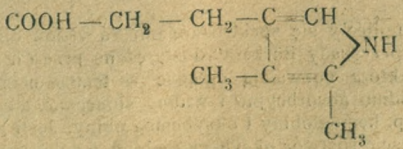


V.



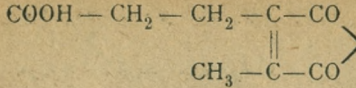
VI.

Hemopirole.

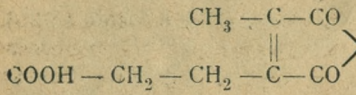


Kwas hemopirolokarbonowy.

Przez utlenienie tworzą się kwasy hematynowe, pochodne kwasu maleinowego:



Imid trójzasadowego kwasu hematynowego.



Bezwodnik kwasu hematynowego.

a) Do roztworu hemoglobiny (krwi rozcieńczonej wodą) dodajemy kroplę po kropli rozcieńczonego kwasu solnego, barwa przechodzi w brunatną. Na 1 objętość roztworu dodajemy 2 objętości mieszaniny złożonej z 1 części acetonu i 2 części eteru i wytrząsamy; warstwa eterowa zawiera hematynę kwaśną, żółtawy płyn wodny zawiera globinę, część białkową. Przez zobojętnienie rozcieńczonym amoniakiem po dodaniu szczypty salmiaku strącamy globinę z roztworu wodnego.

Odczyny hematyny można sprawdzić na rozcieńczonej krwi. W ćwiczeniach z analizy elementarnej jakościowej wykazaliśmy obecność żelaza w hemoglobinie.

b) Do bardzo rozcieńczonej krwi dodać nieco sody żrącej i ostrożnie ogrzewać; barwa czerwona hemoglobiny przechodzi w barwę hematyny zasadowej. W cieńkich warstwach płyn ma barwę zielonawą, w warstwach grubszych — czerwoną. Spektroskopem [1]) obserwujemy pasmo absorbcyjne

---

[1]) Posługujemy się spektroskopami (á vision directe), najdogodniejsze są przyrządy Bürkera (dostarczane przez firmę B Bühler w Tübingen), które pozwalają oglądać w tem samem świetle dwa widma, np. widmo absorbcyjne i widmo słoneczne, albo dwa widma absorbcyjne, np. hemoglobiny i oksyhemoglobiny. Jeśli np. w górnem naczyńku umieścić roztwór oksyhemoglobiny, a dolne zostawić próżne i oglądać ku oknu (jasnej chmurce), to w górnej części widzimy widmo słoneczne, w dolnej widmo oksyhemoglobiny. Najlepiej oglądać widmo absorbcyjne w świetle słonecznem, przyczem należy zacieśnić szczelinę spektroskopu tak, i nastawić okular tak, ażeby widzieć ostro linje Fraunhoferowskie. Według linji tych orjentujemy się w widmie: linja D, odpo-

między liniami Fraunhofera C a D; środek pasma leży koło linji $\lambda = 650$.

c) Do zasadowego roztworu hematyny dodać siarczku amonowego, $(NH_4)_2S$, barwa roztworu przechodzi w czystoczerwoną, występuje piękne widmo hemochromogenu, składające się z wązkiego ostrego pasma a między D a E (około λ 558) szerszego a bledszego B między E a E b (około λ 520).

d) Do 10 cm^3 kwasu siarkowego stężonego, umieszczonych w moździerzyku, wpuszczamy kroplę krwi i szybko mieszamy; powstaje purpurowa hematoporfiryna, niezawierająca już żelaza. Przelewamy płyn do probówki i oglądamy przez spektroskop wązkie pasmo przed linją D (koło λ 600) szersze poza linją D w kierunku ku widmu niebieskiemu (około linji λ 554).

Dodajemy jeszcze 6 kropli krwi, mieszając ciągle; wlewamy powoli, mieszając, do 50 cm^3 zimnej wody; powstaje osad, który zbieramy na pręciku szklanym, przenosimy do probówki, dodajemy kilka cm^3 alkoholu, gotujemy i alkalizujemy sodą żrącą. Rozcieńczamy odpowiednio i oglądamy widmo hematoporfiryny zasadowej, o czterech pasmach, leżących około λ 622, λ 576, λ 539 i λ 504.

e) Roztwór hemoglobiny (krew rozcieńczoną stokrotnie wodą) wstrząsamy w probówce z powietrzem i oglądamy w spektroskopie; 2 smugi absorbcyjne w części zielonej między D i E stanowią charakterystyczne widmo oksyhemoglobiny. Dodajemy świeżego roztworu siarczku amonowego: płyn nabiera koloru buraczkowego, a w widmie występuje jedna tylko smuga hemoglobiny. Przekonać się przez wstrząsanie roztworu z powietrzem o tem, że smugi oksyhemoglobiny

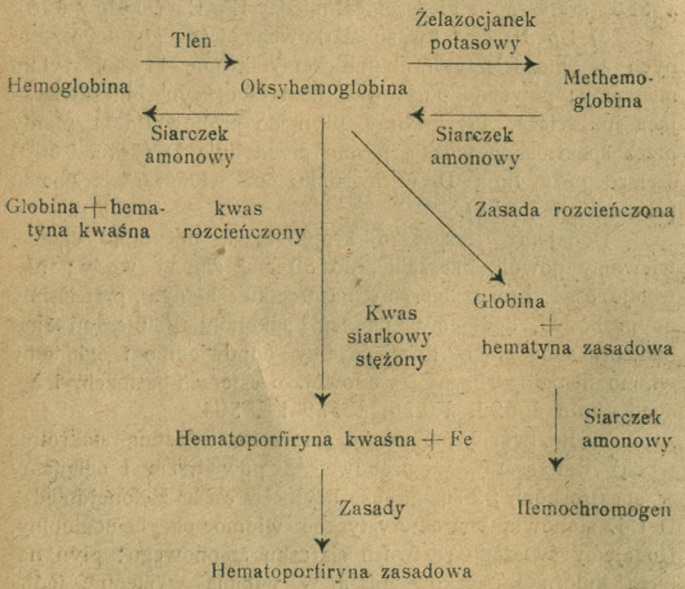
---

wiadająca światłu żółtemu sodowemu, ma długość fali 583 $\mu\mu$. Na lewo, ku światłu czerwonemu, leży linja C (657 $\mu\mu$), na prawo linja E (527 $\mu\mu$), b (518 $\mu\mu$), (w zielonem), F (486 $\mu\mu$) w niebieskiem.

występują, a potem pod działaniem siarczku amonowego znowu przechodzą w smugę jedną.

f) Przez roztwór oksyhemoglobiny przepuszczamy dwutlenek węgla: występuje widmo hemoglobiny, barwa ciemnieje.

Przemiany hemoglobiny uwidocznimy w następującym schemacie:



72. Hemoglobina tlenkowęglowa.

a) Do roztworu oksyhemoglobiny, umieszczonego w probówce, wprowadzamy przez chwilę gaz świetlny, zatykamy probówkę palcem i wstrząsamy. Jasnoczerwona barwa oksyhemoglobiny przechodzi w barwę malinową. Różnicę barw

widać dobrze na pianie płynów; występuje też ona bardzo wyraźnie, jeżeli działać tlenkiem węgla nie na roztwór hemoglobiny, lecz na zawiesinę krwinek. Widmo hemoglobiny tlenkowęglowej jest podobne do widma oksyhemoglobiny, lecz nieco przesunięte ku widmu fiołkowemu. W spektroskopach dających widmo podwójne, pozwalających oglądać widma dwu substancji jednocześnie, można porównać widmo tlenkowęglowej hemoglobiny z widmem oksyhemoglobiny. Hemoglobina tlenko-węglowa jest o wiele trwalszą, niż oksyhemoglobina, rozpada się bardzo powoli w próżni, a nie rozpada się pod działaniem substancji redukujących, działających przez to, że odbierają tlen; dlatego możemy odróżnić hemoglobinę tlenko-węglową od oksyhemoglobiny, dodając do płynu siarczku amonowego; widmo oksyhemoglobiny przechodzi wtedy w widmo hemoglobiny; widmo hemoglobiny tlenko węglowej pozostaje niezmienionem. Hemoglobina tlenko-węglowa daje jeszcze szereg innych odczynów, związanych z większą jej trwałością.

b) Próba Hoppe-Seylera. Krew, nasyconą tlenkiem węgla zmieszać z połową jej objętości stężonej sody żrącej i ogrzewać ostrożnie; barwa czerwona pozostaje niezmieniona; barwa krwi zwykłej przechodzi w brudno-brunatną.

c) Do rozcieńczonej tlenko-węglowej krwi dodać żółtego siarczku amonowego i zakwasić słabo kwasem octowym, barwa pozostaje czerwoną, natomiast barwa krwi zwykłej przechodzi w zielono brunatną (próba Kateyamy).

d) Do krwi tlenko-węglowej dodajemy roztworu taniny, powstaje osad jasno-czerwony; natomiast w krwi zwykłej szaro-brunatny (próba Kunkla).

73. Methemoglobina.

Methemoglobina powstaje przez działanie czynników utleniających (żelazicjanek potasowy, chloran, chinon) na hemoglobinę lub oksyhemoglobinę, a przez działanie rozcień-

czonych kwasów i aldehidów na oksyhemoglobinę. Przy powstawaniu methemoglobiny z oksyhemoglobiny lub hemoglobiny tlenko-węglowej wywiązuje się związany z hemoglobiną tlen lub tlenek węgla jako gaz. Methemoglobina ma ten sam skład, co oksyhemoglobina, ale tlen w niej jest inaczej związany.

a) Do mocnego roztworu oksyhemoglobiny (krwi, rozcieńczonej równą objętością wody i odrobiną rozcieńczonego amoniaku) dodać nieco żelazicjanku potasowego: wywiązuje się, w wyraźnych banieczkach, tlen, związany poprzednio przez oksyhemoglobinę, i powstaje roztwór methemoglobiny o kolorze czekoladowym; przez spektroskop oglądamy cztery pasma w części widma między C a F; najciemniejsze pasmo leży między C a D, około λ 630. Odczyn ten jest podstawą doniosłych metod współczesnych, służących do oznaczania tlenu związanego z hemoglobiną we krwi. (Barcroft-Haldane, por. Część III tej książki).

b) Zadać roztwór methemoglobiny świeżym roztworem siarczku amonowego: po kilku minutach występuje widmo hemoglobiny. Wstrząsać z powietrzem: występuje widmo oksyhemoglobiny. Objaśnić reakcje, które tu zaszły!

74. Hemina

(kryształki Teichmanna).

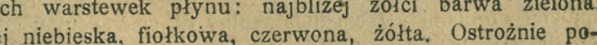
Kropelkę krwi umieszczamy na szkiełku podstawowem, dodajemy jaknajmniejszą okruszynkę soli kuchennej, rozcieramy i osuszamy strożnie, trzymając szkiełko wysoko nad płomykiem. Suchą pozostałość rozcieramy i mieszamy z kroplą octu lodowatego; odrobinę tej masy przenosimy na drugie szkiełko podstawowe, dodajemy jeszcze kroplę octu lodowatego, nakrywamy szkiełkiem nakrywkowem, ogrzewamy nad małym płomykiem dopóty, dopóki ocet pod szkiełkiem nie zacznie wrzeć: dodać jeszcze kroplę octu, ochłodzić, oglądać

pod mikroskopem charakterystyczne skośne tabliczki heminy (kryształki Teichmanna).

75. Bilirubina ($C_{33}H_{36}N_4O_6$).

Próby wykonujemy na żółci bydlęcej.

a) Gotujemy roztwór bilirubiny z sodą żrącą, potem zakwaszamy; kolor brunatny zamienił się na zielony przez utlenienie bilirubiny na biliwerdynę:



$$C_{32}H_{36}N_4O_6 + O_2 = C_{32}H_{36}N_4O_8.$$

b) Na stężony, żółty kwas azotowy nalewamy żółci. Na pograniczu płynów pojawia się szereg rozmaicie zabarwionych warstewek płynu: najbliżej żółci barwa zielona, poniżej niebieska, fiołkowa, czerwona, żółta. Ostrożnie poruszając probówką, mieszamy płyny powoli; cały płyn przybiera kolejno te barwy (próba Gmelina).

c) Na zwilżonej żółcią bibule[1]) umieszczamy za pomocą pałeczki szklanej kropelkę kwasu azotowego; dokoła tej kropli występuje obwódka czerwona, niebieska, zielona.

d) Mieszanina kwasu solnego i kwasu azotowego, dodawana po kropli do $^1/_2$ cm^3 żółci, wywołuje po kolei barwę zieloną, niebieską, fioletową (odczyn Hammarstena).

e) Bilirubina przechodzi z roztworów kwaśnych do chloroformu.

Bilirubina, barwnik żółciowy, znajduje się w świeżej żółci, niekiedy w kamieniach żółciowych jako bilirubinian wapniowy.

Powstaje w wątrobie z barwnika krwi; jest związkiem pokrewnym hematynie, zawiera ten sam skład jąder pirolowych (hemopirolów), co hematyna.

---

[1]) Najlepiej na bibule, przez którą przesączyliśmy kilkadziesiąt cm^3 żółci.

Przez redukcję przechodzi w mezobilirubinogen $C_{33}H_{44}N_4O_6$, związek identyczny z urobilinogenem, składnikiem kału i moczu; urobilinogen powstaje w kiszce z bilirubiny przez działanie bakterji gnilnych.

Przez utlenienie urobilinogenu, jego produktów rozkładu, lub hemopirolów, powstaje urobilina (odczyny por. w rozdziale Mocz. Część III.).

76. Chlorofil i barwniki żółte liści zielonych.

a) Próby wykonujemy na wyciągu, otrzymanym w następujący sposób: 2 g liści pokrzywy ususzonych i sproszkowanych rozpościera się na lejku Buchnerowskim; nalewa się małemi porcjami 20 cm³ mieszaniny 85 cm³ acetonu i 15 cm³ wody, albo alkoholu 90% owego. Zwrócić uwagę na właściwości optyczne wyciągu! Wyciąg zawiera 2 chlorofile (żółtozielony chlorofil α i niebiesko-zielony chlorofil β i dwa barwniki żółte: węglowodór karotyn ($C_{40}H_{56}$) i jego tlenek ksantofil ($C_{40}H_{56}O_2$).

b) Rozcieńczyć pięciokrotnie acetonem (85%-owym) i oglądać widmo. Główne pasmo w części czerwonej, koło linii C w kierunku do części fiołkowej 3 coraz słabsze pasma; niemal zupełne wygaszenie części niebieskiej i fiołkowej.

c) Po dodaniu kropli kwasu solnego występuje barwa oliwkowo-brunatna: kwas odszczepia z chlorofilu magnez i zamienia go w feofitynę, dla której charakterystycznem jest pasmo absorpcyjne przed linją E.

d) Roztwór eterowy chlorofilu otrzymuje się, mieszając płyn otrzymany pod a) z 30 cm³ eteru i wstrząsając z 50 cm³ wody; oddziela się warstwa eterowa, zawierająca wszystkie cztery barwniki. Podobnie można przenieść barwniki do 40 cm³ benzyny, rozmieszawszy z 80 cm³ wody.

e) Do 5 cm^3 roztworu eterowego dodać 2 cm^3 roztworu 30%-owego KOH w alkoholu metylowym. Barwa chlorofilu przechodzi w brunatną, a po 5—10 minutach powraca piękna, zielona barwa: chlorofil uległ zmydleniu i przeszedł w chlorofilinian potasowy, sól kwaśnego chlorofilinu, zawierającego magnez. Dodajemy wody: płyny rozdzielają się: warstwa eterowa zawiera karotyn i ksantofil, wodna chlorofiliniany.

f) Zdjąć pipetą warstwę żółtą eterową, wymyć wodą, i zagęścić do objętości 1 cm^3: dodać 10 cm^3 benzyny i 10 cm^3 alkoholu metylowego; zlać warstwę górną benzynową i wstrząsać ją ponownie z 10 cm^3 alkoholu metylowego. Warstwa benzynowa zawiera karotyn, alkoholowa ksantofil. Obejrzeć widma i porównać je. Odpędzić z porcji 2 cm^3 benzynę, do pozostałości dodać kroplę H_2SO_4 stężonego: wystąpi ciemno-niebieskie (indygowe) zabarwienie — odczyn karotynowy.

g) 10 cm^3 roztworu benzynowego barwników chlorofilowych i karotynowych zmieszać z 10 cm^3 alkoholu metylowego 92%owego; po rozdzieleniu się warstw zawiera benzyna chlorofil a i karotyn, warstwa alkoholowa chlorofil b i ksantofil.

h) 2 cm^3 roztworu eterowego barwników liści (por. pod d) wstrząsać z kilku kroplami kwasu solnego 20%-owego, następnie z wodą; zlać roztwór eterowy feofityny (por. 76 c) odpędzić eter, pozostałość rozpuścić w 5 cm^3 alkoholu, dodać pyłek octanu miedziowego i ogrzewać w łaźni; wystąpi mocne zielone zabarwienie. Na takiej regeneracji trwałego związku feofityny z miedzią, w miejsce nietrwałego chlorofilu magnezowego, polega zabarwienie konserw jarzynowych solami miedziowemi.

CZĘŚĆ II.

Ćwiczenia fizjologiczno-chemiczne.

1. Krew.

A. Krzepnienie krwi.

a) Krew, wypuszczoną z żyły lub z naciętego palca lub ucha, wprowadzamy do probówki; po kilku minutach krew ścina się i tworzy skrzep, galaretowatą masę, która się powoli ściąga i wysącza żółtą surowicę.

b) Drugą próbę krwi „bijemy" w miseczce pałeczką; na pałeczce wydzielają się elastyczne kłaczki włóknika, z płynnej pozostałości (krwi bitej) osadzają się krwinki; osadzanie się ich przyspieszamy przez wirowanie.

c) Wpuszczamy krew wprost do roztworu fizjologicznego soli, zawierającej $^1/_2$% szczawianu amonowego.

d) do nasyconego roztworu siarczanu sodowego.

e) do wyciągu z głów pijawek (hirudyny).

We wszystkich tych wypadkach (próby c, d i e) krew się nie ścina: krwinki osadzają się na dnie, nad niemi stoi osocze.

f) Krew, której krzepnienie powstrzymaliśmy przez dodanie szczawianu, ścina się po dodaniu chlorku wapniowego; krew, w której osiągnęliśmy to samo przez dodanie siarczanu sodowego — po rozcieńczeniu wodą.

B. Surowica[1]).

a) Stwierdzamy oddziaływanie osocza i surowicy przy pomocy papierka lakmusowego, czerwieni obojętnej i fenoftaleinu.

[1]) T. j. osocze, z którego wydzielił się włóknik.

b) Oznaczamy zapomocą urometru (małego arcometru przeznaczonego do oznaczania gęstości moczu) ciężar właściwy surowicy (około 1·030).

c) Strącamy obojętnym, sproszkowanym siarczanem amonowym ciała białkowe i badamy oddziaływanie przesączu.

C. Białka surowicy.

d) Rozcieńczamy surowicę dwudziestokrotną ilością wody destylowanej i wprowadzamy z przyrządu Kippa powoli dwutlenek węgla; powstaje osad euglobulinu; osad odwirowany i oddzielony od surowicy rozpuszcza się w 5% roztworze soli kuchennej.

e) Do 10 cm³ surowicy końskiej dodać 10 cm³ nasyconego roztworu siarczanu amonowego; przesączyć i dodać do przesączu ostrożnie kroplę po kropli dziesiętno normalnego roztworu kwasu siarkowego dopóty, dopóki nie nastąpi zmętnienie; w temperaturze pokojowej wydzieli się powoli albumina surowicza skrystalizowana. Obejrzeć pod mikroskopem!

f) 10 cm³ surowicy nasycamy sproszkowanym siarczanem amonowym, sączymy i ogrzewamy przesącz do 100°, przesącz, oddzielony od osadu, wytworzonego siarczanem amonowym, nie zawiera ścinającego się białka; siarczan amonowy strącił w roztworze nasyconym wszystkie albuminy i globuliny surowicy.

g) Rozcieńczyć 5 cm³ surowicy dziesięciokrotnie (t. j. dziewięcioma objętościami wody) i wykonać następujące próby:

Ogrzewać 5 cm³ roztworu do wrzenia: wystąpi wyraźna opalescencja roztworu, ale nie powstanie osad. Dodawać po ochłodzeniu ostrożnie kroplami kwasu octowego (1%-ego), dopóki nie wystąpi osad,

h) Dodać odrazu 2 krople kwasu octowego, jak wyżej; gotować; powstanie osad nierozpuszczalny w kwasie azotowym (więc białkowy, a nie fosforany wapniowe!)

i) Dodać do 5 cm^3 roztworu surowicy 5 kropli stężonego kwasu azotowego; powstaje biały osad; kwas octowy nie wywołuje podobnego osadu.

D. Ciała niebiałkowe surowicy.

a) Odbiałczenie surowicy:

Do surowicy dodać na 5 cm^3: 35 cm^3 wody, 5 cm^3 roztworu 10%-owego wolframianu sodowego, a następnie, mieszając lub wstrząsając nieustannie, 5 cm^3 kwasu siarkowego $^2/_3$ normalnego. (18·47 cm^3 H_2SO_4 w 1 l.). Po kilku minutach przesączyć przez suchy sączek; sprawdzić, że przesącz oddziaływa kwaśno na lakmus, ale nie na kongo. Przesącz przedstawia surowicę odbiałczoną i rozcieńczoną dziesięciokrotnie.

Wykonać następujące próby, biorąc po kilka cm^3 przesączu do każdej;

b) Zapomocą azotanu srebrowego wykazać obecność jonów chlorowych.

c) Zapomocą szczawianu amonowego wykazać obecność jonów wapniowych.

d) Zapomocą molibdenianu amonowego i kwasu azotowego wykazać obecność jonów fosforanowych.

e) Zapomocą odczynniku Nesslera wykazać obecność amoniaku.

f) Cukier wykazujemy w sposób następujący: Do 2 cm^3 przesączu dodać 2 cm^3 odczynniku miedziowego[1]) Fo-

[1]) 40 g bezwodnego Na_2CO_3 rozpuścić w 400 cm^3 wody, dodać 7·5 g kwasu winowego i 4·5 siarczanu miedziowego skrystalizowanego, rozcieńczyć do 1 l

lina, ogrzewać (bez wstrząsania lub mieszania) przez 6 minut we wrzącej wodzie, ochłodzić. Wystąpi żółty osad wodorotlenku miedziawego.

g) Wykonać próbę Jaffégo na kreatyninę, dodając do 2 cm^3 przesączu bezbiałkowego 1 cm^3 roztworu kwasu pikrynowego nasyconego i 0·5 cm^3 wodorotlenku sodowego 10%-owego.

h) Wykryć kwas moczowy zapomocą odczynu Folina i Denisa: do 10 cm^3 przesączu dodać 6 cm^3 roztworu węglanu sodowego 20%-owego oraz 0·5 cm^3 odczynniku fosforowolframowego[1]: wystąpi barwa niebieska.

i) Na próbie (kilku kroplach) osocza lub surowicy nieodbiałczonej wykonać próbę Rothera'y na ciała acetonowe: dodać siarczanu amonowego w proszku (w nadmiarze) dwie krople nitroprusydku, 2 krople amoniaku. W krwi (świeżej!) osób, chorych na cukrzycę, może wystąpić mocny odczyn. (Por. str. 13).

E. Krwinki.

a) W probówkach umieszczamy po 10 cm^3 soli kuchennej: 1) dwuprocentowej, 2) jednoprocentowej, 3) 0,6% i 4) 0,4% i do każdej dodajemy po 2 krople krwi bitej; przetrząsamy i odstawiamy; po kilkunastu minutach oglądamy zmiany, które zaszły. Zwrócić uwagę na jasny kolor próby 2) i opisać wygląd każdej próby?

b) Rozcieńczamy krew bitą 9 objętościami roztworu 0,9% chlorku sodowego, rozmieszczamy w 5 probówkach i dodajemy do pierwszej eteru, do drugiej — amoniaku, do trzeciej — saponinu, do czwartej — oleinianu sodowego, do piątej — cholanu sodowego. Opisać zmiany, które zaszły!

[1]) 100 g wolframianu sodowego i 80 cm^3 kwasu fosforowego 85%-owego gotować z 700 cm^3 wody przez 4 godziny, ostudzić i dopełnić wodą do 1 l.

F. Barwnik krwi.

a) Do kilka cm^3 krwi psiej odwłóknionej dodać w probówce kilka kropli eteru i wstrząsać, ażeby wywołać zupełną hemolizę. Dodać do krwi zupełnie zhemolizowanej szczyptę szczawianu amonowego bardzo dokładnie sproszkowanego, wstrząsać, aż się rozpuści i pozostawić próbę w temperaturze 0° przez godzinę; próbę wydzielonych kryształków oksyhemoglobiny dobyć pipetką, obejrzeć pod mikroskopem i odrysować.

b) Rozcieńczamy krew i oglądamy widmo oksyhemoglobiny lub hemoglobiny.

c) Dodajemy do kilku cm^3 rozcieńczonej krwi parę kropli rozcieńczonego ługu sodowego i ogrzewamy ostrożnie, aż wystąpi barwa brunatna hematyny; po dodaniu siarczku amonowego kolor brunatny przechodzi w ciemnowiśniowy i występuje charakterystyczne widmo hemochromogenu.

d) Rozcieńczoną krew zagotowujemy; powstaje szarobrunatny osad białka ściętego.

e) Kroplę krwi umieszczamy na szkiełku podstawowym, dodajemy pyłek chlorku sodowego i osuszamy ostrożnie nad płomykiem tak, aby zaschła krew utworzyła cienką warstewkę; dodajemy kroplę lodowatego kwasu octowego i nakrywamy szkiełkiem nakrywkowem; ogrzewamy nad małym płomykiem tak długo, aż w kwasie octowym wystąpią banieczki pary; natychmiast dodajemy od brzegu szkiełka nakrywkowego nową kroplę kwasu octowego. Widzimy w preparacie kryształki heminy czyli chlorku hematynowego,

$$C_{33}H_{32}N_4FeClO_4 \text{ (próba Teichmanna).}$$

Do 20 cm^3 wody dodajemy kroplę krwi; roztworu tego używamy do następujących prób:

f) Do 1 cm^3 roztworu krwi dodajemy 1 cm^3 starej terpentyny, zawierającej nadtlenki terpentynowe i świeżej tynktury gwajakowej (alkoholowego roztworu żywicy gwaja-

kowej); mieszaninę wstrząsamy przez dłuższy czas; wystąpi niebieskie zabarwienie.

g) Do reszty roztworu krwi dodać alkoholowego roztworu benzydyny, kilka kropli kwasu octowego i 3% wody utlenionej; występuje najpierw zielone, potem niebieskie zabarwienie. Sprawdzić czułość tego odczynu przez wykonanie próby w roztworze krwi coraz bardziej rozcieńczonym.

Ilościowe oznaczanie hemoglobiny za pomocą przyrządu Autenrietha.

Przyrząd Autenrietha składa się z przesuwalnego klina, wypełnionego barwnikiem sztucznym o tym samym kolorze, co hematyna, i ze stałego naczyńka A o kształcie również klinowatym. Do pipetki, załączonej do przyrządu wciągamy 20 mm^3 krwi, potem aż do kreski, oznaczającej 2 cm^3 dziesiętnonormalnego kwasu solnego. Zatykamy obydwa końce pipetki palcami i mieszamy krew z kwasem solnym, potem wypróżniamy pipetkę do otwartego naczyńka A; przesuwamy klin dopóty, dopóki nie zrówna się barwa klina i naczyńka, oglądanych przez pryzmaty przyrządu na tle białej ściany. Im więcej hemoglobiny zawiera krew, tem szerszy przekrój klina odpowiada barwą warstwie roztworu hematyny, danej przez grubość naczyńka A. Odczytujemy na skali poruszającej się wraz z klinem przyrządu, stan klina i na podstawie znalezionej liczby określamy z załączonego do przyrządu wykresu zawartość odsetkową hemoglobiny we krwi.

Dla badań ściślejszych należy sprawdzić klin przyrządu Authenrietha zapomocą metody gazometrycznej: por. Cz. III.

2. Trawienie.

a) Ślina.

Ślinę otrzymujemy w następujący sposób: bierzemy zwykłą probówkę między wargi i zlekka poruszając języ-

kiem w jamie ustnej, wpuszczamy ślinę do probówki. Natoczywszy około 15 cm^3 śliny, sączymy ją i wykonujemy następujące próby:

a) Strącamy kwasem octowym mucynę.

b) Do 1 cm^3 śliny dodajemy 4 cm^3 alkoholu etylowego; osadu używamy do próby na białko i próby Molischa.

c) Do próby śliny dodajemy kwasu azotowego i kroplę rozcieńczonego chlorku żelazowego; czerwone zabarwienie wskazuje na obecność kwasu rodanowodorowego, HCNS. Zauważyć wielkie różnice w intensywności barwy, wywołanej w ślinie różnych osób.

d) Sprawdzić na papierku lakmusowym oddziaływanie śliny.

e) Wypłókać usta dobrze wodą, ogrzaną do 40^0; następnie wziąć do ust około 25 cm^3 wody ciepłej (40^0) i poruszać nią w jamie ustnej przez dwie minuty; powtórzyć ten proces: przesączyć zebraną w ten sposób, rozcieńczoną ślinę.

Zmieszać w probówce 5 cm^3 śliny rozcieńczonej z 5 cm^3 klajstru skrobiowego 1 %-owego; po wymieszaniu wstawić probówkę do wody 40-stopniowej. Na czystej miseczce porcelanowej umieścić dokoła 10 maleńkich kropelek rozcieńczonego roztworu jodu w jodku potasu; co 5 minut dodawać do jednej kropelki jodu dużą kroplę mieszaniny skrobiowo-ślinowej, dobytej z probówki rureczką lu pręcikiem. Odczyn początkowo niebieski, przejdzie kolejno przez barwę niebiesko-fiołkową, liljową, czerwono brunatną, żółtą, wreszcie ustanie. Wtedy odlać z probówki kilka cm^3 i wykonać próbę Trommera.

f) Do 3 probówek, zawierających po 10 cm^3 roztworu 1%-owego skrobji dodajemy: do pierwszej — 5 cm^3 śliny świeżej rozcieńczonej, do drugiej — 5 cm^3 śliny ogrzanej do wrzenia i utrzymanej we wrzeniu przez $1/2$ minuty, do

trzeciej — 5 cm³ śliny świeżej i 2 krople stężonego kwasu solnego. Wszystkie umieszczamy w łaźni, ogrzanej do 40°. Co 10 minut odlewamy z probówek po 1 cm³ płynu i probujemy roztworem jodu w jodku potasu na obecność skrobji. Jeżeli próba na skrobję wypada ujemnie, to badamy za pomocą próby Trommera na obecność cukrów redukujących.

B. Trawienie żołądkowe.

Na odpreparowaną z żołądka świńskiego i rozdrobnioną błonę śluzową nalewamy ½% roztworu kwasu solnego; po 24 godzinach sączymy przez płótno i otrzymujemy w ten sposób „sztuczny sok żołądkowy". Do prób poniższych można też używać roztworu pepsyny w 0,3% roztworze kwasu solnego.

a) Do sztucznego soku żołądkowego wprowadzamy kłaczek włókniku, drugi taki kłaczek do 0,3% kwasu solnego; trzymamy obydwie probówki w temperaturze 37°; w kwasie solnym fibryna pęcznieje; w soku żołądkowym pęcznieje i rozpuszcza się.

b) Wykonujemy analogiczne próby z fibryną, zabarwioną karminem. Płyn, zawierający pepsynę, barwi się na czerwono. Przy długotrwałych próbach trawiennych należy dodać nieco chloroformu, tymolu lub toluolu, ażeby zapobiec skażeniu doświadczenia przez sprawy gnilne.

Rureczki szklane o średnicy 2 mm, wypełnione ściętem białkiem jaja kurzego [1]) i pokrajane na kawałeczki długości

[1]) Białko świeżego jaja bijemy pręcikiem, ażeby rozerwać błonki, sączymy przez płótno, wlewamy do grubościennego naczynia, które wypróżniamy z powietrza; po jakimś czasie, kiedy gazy uszły z białka, wciągamy białko do rureczek długości 15 cm a średnicy 2 mm, zatapiamy rureczki na obydwu końcach i wstawiamy je do dużej probówki, wypełnionej wodą, w której rureczki są zupełnie zanurzone; ogrzewamy szybko do wrzenia, pozwalamy powoli ochłodnąć i krajamy rurki na kawałki po 1 cm.

1 cm³, wkładamy do płynu, zawierającego pepsynę. Po upływie 24 godzin mierzymy, ile mm ze słupa białkowego uległo po każdej stronie strawieniu. Wykonać tę próbę na roztworze danym, oraz czterokrotnie i dziewięciokrotnie rozcieńczonym.

Jeśli stężenia pepsyny mają się jak 9 : 4 : 1, to długości słupków strawione jak $\sqrt{9} : \sqrt{4} : \sqrt{1}$, t. j. jak 3 : 2 : 1.

c) Sztuczny sok żołądkowy zobojętniamy dokładnie węglanem sodowym; dodajemy równą objętość $^1/_2$% roztworu kwasu solnego i kłaczek włókniku, potem wstawiamy do cieplarki; wykonujemy doświadczenie kontrolne za pomocą kwasu solnego o tem samem stężeniu, drugie za pomocą soku żołądkowego świeżego i włókniku.

C. Podpuszczka.

a) Zobojętnić sok żołądkowy rozcieńczonym węglanem sodowym, bardzo starannie unikając nadmiaru zasady, zmieszać z 5 objętościami surowego mleka i wstawić do cieplarki; po kilku minutach mleko się ścina. Wykonać tę próbę po zagotowaniu soku.

D. Produkta trawienia.

a) 10 cm³ sztucznego soku żołądkowego dodać do takiej samej objętości wilgotnego włókniku, dodać nieco tymolu i pozostawić w cieplarce dopóty, aż włóknik się rozpuści; zobojętnić rozcieńczonym węglanem sodowym aż do wytworzenia się osadu (acydalbumina), poczem gotujemy i sączymy. Płyn daje silny odczyn biuretowy.

Przesącz nasycamy siarczanem amonowym; otrzymujemy osad, złożony z albumoz. Jeżeli do przesączu dodać dużo sody żrącej i bardzo mało siarczanu miedziowego, to

można, dzięki obecności peptonów, spostrzec odczyn biuretowy.

Do dalszych prób używamy 5% roztworu peptonu Witte, wyrabianego przez działanie nalewu żołądkowego na włóknik.

b) Zakwasić 5%-owy roztwór peptonu „Witte" kwasem octowym, przesączyć, a w przesączu wykonać następujące próby na albumozy i peptony:

a) Odczyny barwne białek.

β) Sprawdzić, że tanina, odczynnik Essbacha, octan ołowiawy, kwas fosforowolframowy dają osady.

γ) Do 5 cm^3 dodać 10 cm^3 nasyconego roztworu siarczanu amonowego; po kilku minutach zebrać lepki osad strąconych albumoz pierwszorzędowych na końcu pręcika szklanego i rozpuścić w 5 cm^3 wody ciepłej. Użyć tego roztworu do następujących prób:

αα) Dodać kroplę żelazocjanku potasowego i zakwasić 2 kroplami octu lodowatego: biały osad.

ββ) Dodać kwasu azotowego: biały osad.

Osady *αα*) i *ββ*) rozpuszczają się na gorąco i powracają po ochłodzeniu.

Przesączyć płyn, otrzymany w dośw. γ), nasycić gd sproszkowanym siarczanem amonowym. Osad albumoz drugorzędowych, rozpuszczony w wodzie, nie da prób *αα*) i *ββ*).

E. Kwasy żołądkowe.

Kwas solny. a) Barwnik „kongo" czerwony (papierek) barwi się w obecności wolnego kwasu solnego niebiesko. Roztwór tropeoliny OO zmienia barwę z żółtej na czerwoną; podobnie oddziaływa dwumetylaminoazobenzol.

b) Roztwór fioletu metylowego przyjmuje po dodaniu 0,1% rozczynu kwasu solnego kolor stalowo-niebieski. Przekonać się, że dodanie albumozy wstrzymuje tę zmianę barwy.

Kwas mlekowy. 5 cm³ sodu żołądkowego, silnie zakwaszonego kwasem siarkowym, wytrząsany z równą objętością eteru. Po rozdzieleniu się płynów zlewamy eter, odparowujemy, z pozostałością wykonujemy próby na kwas mlekowy.

F. Trzustka.

a) Rozetrzeć 10 g świerzej trzustki wieprzowej z tymolem i piaskiem kwarcowym, przetrząsać z 100 cm³ wody, i sączyć przez płótno. Do przesączu dodać nieco roztworu lakmusowego, zobojętnić rozcieńczonym ługiem sodowym, dodać 10 kropli maślanu etylowego, silnie przetrząsać i umieścić w cieplarce (37°). Skutkiem działania lipazy odszczepi się kwas masłowy i wystąpi oddziaływanie kwaśne.

b) Rozetrzeć 10 g trzustki z tymolem, piaskiem kwarcowym i 20 cm³ fizjologicznego roztworu soli. Do emulsji dodać gęstego klajstru skrobiowego i pozostawić przez 15 minut w temperaturze 37°. Po 15 minutach wykazać w przesączu cukier (za pomocą próby Trommera).

c) Do posiekanej trzustki dodać toluolu i pozostawić w temperaturze 37°; w ciągu dni kilku następuje samostrawienie. Płyn wykazuje silny odczyn biuretowy, odczyn z wodą bromową wykazuje obecność tryptofanu wolnego; w osadzie na dnie naczyńka widzimy kryształki tyrozyny.

d) Świeżą trzustkę wieprzową, oczyszczoną z tłuszczu, rozetrzeć z piaskiem kwarcowym, dodać trzykrotną ilość wody i równą ilość (wagową) alkoholu; po trzech dniach przecedzić i przesączyć; do przesączu dodać (na 100 cm³) 1 cm³ 4% kwasu solnego: od osadu, który powstanie, odsączyć. Odczyn zawiera trypsynę i djastazę trzustkową, nie zawiera lipazy.

e) Ażeby otrzymać preparat trwały lipazy trzustkowej, postępujemy podobnie, namok wodno alkoholowy trzustki cedzimy przez gazę, ale nie sączymy!

3. Wątroba.

a) Glikogen. Wyjmujemy wątrobę świeżo zabitej żaby i wrzucamy do równej objętości ogrzanego na łaźni do 100° 60% roztworu ługu potasowego; ogrzewany przez godzinę, dodajemy do otrzymanego płynu równą objętość wody, a do tak otrzymanego roztworu równą objętość alkoholu etylowego (96%). Zlewamy z osadu płyn i przemywamy osad kilkakrotnie alkoholem, potem eterem. Otrzymujemy w ten sposób glikogen. jako biały proszek, który, rozpuszczając się w wodzie, daje opalizujący, silnie skręcający płaszczyznę światła spolaryzowanego płyn, a przy ogrzewaniu z rozcieńczonym kwasem solnym rozpada się na cukier gronowy (wykazać próbą Trommera).

b) Żółć.

Zbadać oddziaływanie i ciężar właściwy.

Wykazać kwasy żółciowe odczynem Pettenkoffera i Hay'a.

Wykazać obecność bilirubiny próbą Gmelina.

4. Mleko.

a) Oznaczyć ciężar właściwy za pomocą areometru (1·028—1·038). Jaki wpływ ma na ciężar właściwy rozcieńczenie mleka wodą? jaki wpływ ma zebranie tłuszczu (śmietanki)?

b) Stwierdzić oddziaływanie papierkiem lakmusowym niebieskim i czerwoym.

c) Świeże mleko można zagotować bez ścięcia się ciał białkowych.

d) Do 10 cm³ dodajemy kroplę po kropli kwasu octowego, wytworzony kłaczkowaty osad sączymy, a w przesączu

(kwaśnej serwatce) wykazać białko, cukier i fosforany. Jakie białko ścięło się, a jakie pozostało w roztworze? Jaki cukier jest zawarty w mleku?

Zakwaszony przesącz zobojętnić zapomocą Na_2CO_3 tak dalece, ażeby oddziaływanie było zaledwie dostrzegalnie kwaśne; zagotować; powstanie osad laktalbuminy. W przesączu wykonać próby na 1) cukier zapomocą

a) odczynniku Fehlinga
b) „ Barfoeda

2) próby na jon wapniowy (szczawianem amonowym),
3) próby na jon fosforanowy (molibdenianem amonowym i kwasem azotowym).

e) Z 3 probówek, zawierających po 10 cm^3 mleka, zadajemy: pierwszą 1 cm^3 roztworu świeżej podpuszczki, drugą — 1 cm^3 podpuszczki zagotowanej, trzecią — 1 cm^3 podpuszczki świeżej i 1 cm^3 5% roztworu szczawianu amonowego. Wszystkie 3 próby stawiamy do cieplarki (37^0). W próbie pierwszej mleko się ścina, w obydwu drugich nie ścina się. Jeżeli do trzeciej dodać ostrożnie chlorku wapniowego, to mleko się zetnie.

Czy osad, powstały przy ścięciu mleka za pomocą podpuszczki, jest identycznym z osadem powstałym pod wpływem kwasu octowego? czem się różnią?

f) Do kilku cm^2 mleka dodać równą objętość eteru i wstrząsać; tłuszcz zawarty w kuleczkach mleka nie przechodzi do eteru, przejdzie dopiero po dodaniu drobnej ilości ługu sodowego. Dlaczego? Zlać eter, odpędzić go w łaźni, pozostałość zmydlić 1 cm^3 alkoholowego wodorotlenku potasowego, wykazać kwasy tłuszczowe.

g) Próbę mleka pozostawiamy w temperaturze pokojowej albo w cieplarce; mleko ścina się (kwaśne mleko), po zagotowaniu powstaje osad. Czy osad ten jest identyczny z osadem, powstałym pod wpływem podpuszczki, czy z tym,

który powstał pod wpływem kwasu? Jaki kwas powstał i z czego powstał? Jakie czynniki wywołały powstanie kwasu?

5. Mocz.

A. Próby jakościowe.

a) Badamy oddziaływanie moczu.

b) Oznaczamy ciężar właściwy (areometrem). (Uwzględnić temperaturę płynu).

c) Wykazać obecność chlorków i siarczanów. Dla wykrycia jonów chlorowych dodać do 5 cm^3 moczu kilka kropli kwasu azotowego stężonego i kilka cm^3 rozcieńczonego octanu srebrowego. Jon siarczanowy (SO_4'') wykrywamy, zakwaszając mocz mocnym kwasem solnym i dodając chlorku barowego.

d) Próbę moczu alkalizujemy amoniakiem, strącamy fosforany magnezowe i wapniowe; sączymy; w przesączu wykazujemy mieszanką magnezową pozostałe fosforany jonów alkalicznych. Osad fosforanów wapnia i magnezu, pozostały na sączku, roztworzyć w rozcieńczonym kwasie octowym; w części roztworu wykazać jon wapniowy ($Ca^{\cdot\cdot}$) zapomocą szczawianu amonowego, w drugiej jon fosforanowy PO_4''' zapomocą molibdenianu amonowego i kwasu azotowego.

e) Odparować 100 cm^3 moczu na łaźni, pozostałość wyciągać alkoholem, roztwór alkoholowy odparować i do pozostałego syropu dodać stężonego kwasu azotowego; wykrystalizuje się azotan mocznikowy.

f) Dodać do moczu $^1/_{10}$ jego objętości stężonego kwasu solnego i odstawić na kilka godzin; krystalizuje kwas moczowy. Strącenie kwasu moczowego przez kwas solny jest niezupełne; po zalkalizowaniu amoniakiem i strąceniu fosforanów mieszanką magnezową można w przesączu wykazać za pomocą amoniakowego roztworu srebra obecność kwasu moczowego.

g) Przerobić odczyny na kwas moczowy.

h) Wykazać za pomocą prób Jaffego i Weyl'a obecność kreatyniny.

B. Mocze nienormalne.

Zwrócić uwagę na barwę, klarowność lub mętność, woń, oddziaływanie i ciężar właściwy; w przesączonym moczu należy zawsze sprawdzić obecność cukru i białka. Jeżeli mocz zawiera cukier, to należy zawsze poszukiwać kwasu acetooctowego i acetonu; z barwy moczu wnosimy o obecności krwi, żółci, methemoglobiny, hematoporfiryny lub urobiliny.

I. Próby na białko.

a) Kilka cm^3 przesączonego moczu, który musi oddziaływać obojętnie lub bardzo słabo kwaśno, ogrzewamy do wrzenia i dodajemy kilka kropli 1% roztworu kwasu octowego; w moczu normalnym nie zachodzą żadne zmiany, a jeżeli podczas gotowania mocz normalny zmętnieje, to po dodaniu kwasu octowego staje się znowu klarownym; mocz, zawierający białko zmętnieje, albo też, jeżeli stężenie białka jest większe, to powstanie w nim trwały osad.

b) Do kilku cm^3 moczu dodajemy kilka kropli kwasu azotowego stężonego. W moczu normalnym zachodzi najwyżej zmiana barwy i po kilku godzinach krystalizuje się kwas moczowy; w moczu, zawierającym białko, tworzy się osad. (Próba Hellera).

c) Na dno probówki nalewamy pipetką nieco kwasu azotowego stężonego, potem ostrożnie, po suchej ściance zupełnie pochyło trzymanej probówki, nieco badanego moczu; w normalnym moczu niema na pograniczu płynów osadu, dopiero w pewnej odległości ponad tą granicą powstaje za-

mętnienie skutkiem wydzielenia się kwasu moczowego lub mucyny; w moczu, zawierającym białko, tworzy się na granicy ostro zarysowany osad ściętego białka.

Zamiast kwasu azotowego można użyć do tej próby odczynniku Roberts'a, złożonego ze 100 cm^3 kwasu azotowego stężonego i 500 cm^3 nasyconego roztworu siarczanu magnezowego.

d) Zakwaszamy mocz silnie kwasem octowym i dodajemy kilka kropli 10% roztworu żelazocjanku potasowego; w moczu normalnym występuje niekiedy już po dodaniu kwasu octowego lekkie zmętnienie, dodanie żelazocjanku nie wywołuje zmiany; w moczu, zawierającym białko, tworzy się po dodaniu żelazocjanku silne zmętnienie i osad.

e) Mocz, zakwaszony słabo kwasem octowym, nalewamy na odczynnik Spiegler'a[1]: biały pierścień na pograniczu płynów. Próba niezmiernie czuła, dają ją nietylko białka właściwe, lecz również i cebumozy.

II. Próby na cukier.

a) Próba Trommera. Dodajemy do moczu ługu sodowego i kroplę po kropli, ciągle przetrząsając, tyle 10% roztworu siarczanu miedziowego, ile się rozpuszcza; potem ogrzewamy górną część cieczy; w obecności cukru występuje czerwono-żółty osad. Jeżeli dodano za mało miedzi, to osad nie wystąpi (dlaczego?). Jeżeli dodano za dużo miedzi, tak, że utworzył się nierozpuszczalny wodorotlenek miedziowy, to przy gotowaniu powstaje brunatny tlenek miedziowy, który może przysłonić osad tlenku miedziawego. Jeżeli przy próbie Trommera nastąpi tylko odbarwienie płynu, to nie jest to dowodem obecności cukru. Skutkiem obecności jakich związków odtleniających występuje odbarwienie?

[1]) 40 g $HgCl_2$, 20 g kwasu winowego, 100 g gliceryny, 50 g NaCl, 1000 cm^3 H_2O.

b) Do 5 cm³ odczynniku Benedicta (por. str. 26) dodać 10 kropli moczu, gotować mocno i pozwolić płynowi ochłodnąć; osad [1]) wykazuje obecność cukru w moczu.

c) Próba Nylandera. Przy gotowaniu (przez kilka minut) z odczynnikiem Nylandera moczu normalnego zmiana nie występuje; mocz. zawierający cukier, barwi się na brunatno lub czarno.

d) Próba fenilohidrazynowa. Do 7 cm³ moczu dodać szczyptę sproszkowanego octanu ołowiawego, wstrząsać, przesączyć; do przesączu dodać chlorku fenilohidrazynowego i dużo octanu sodowego, przesączyć, przesącz wstawić na $^1/_2$ godziny do wrzącej łaźni. Po ochłodzeniu oglądamy osad pod mikroskopem i stwierdzamy obecność osazonu glukozy.

e) Wprowadzamy mocz do aparatu fermentacyjnego (np. Einhorna), dodajemy drożdży i pozostawiamy w temperaturze pokojowej; z moczu, zawierającego cukier, wydziela się dwutlenek węgla. Sprawdzić, czy drożdże mają zdolność fermentacyjną i czy rozrobione z wodą nie wydzielają same dwutlenku węgla.

Próbę na pentozy wykonujemy, dodając do moczu równą objętość kwasu solnego stężonego, ziarenko floroglucyny i ogrzewając w wodzie wrzącej. Płyn przybiera barwę czerwoną i wykazuje pasmo absorbcyjne między linjami D i E.

III. Próby na kwas acetooctowy.

Wykonać próbę Gerharda z chlorkiem żelazowym. Próba wypada nieco odmiennie, aniżeli na czystych aceto-octanach: za dodaniem chlorku żelazowego zjawia się najpierw osad brunatnawy, następnie dopiero występuje odczyn Gerharda z odcieniem bardziej fioletowym, aniżeli w próbie (Cz. I. 8 a). Prze-

---

[1]) Czerwony, żółty albo zielonawy.

konać się, że wywołująca ją substancja rozpada się pod wpływem gotowania z kwasem solnym.

IV. Próby na aceton.

Wykonujemy próbę Legala z nitroprusydkiem (Cz. I. 7 c) i próbę z siarczanem amonowym, nitroprusydkiem i amoniakiem. (Cz. I. 7 f).

V. Próby na indykan.

Wykonujemy jedną z prób na indykan (Obermayera lub Jaffego). (Cz. I. 59).

VI. Próby na kwasy fenolosiarkowe.

Mocz, słabo zalkalizowany węglanem sodowym, zadać chlorkiem barowym w nadmiarze, przesączyć, zakwasić przesącz kwasem solnym i gotować przez 2 minuty; kwas siarkowy odszczepia się ze związków organicznych i tworzy ponownie osad siarczanu barowego (por. Cz. I. 1 d).

VII. Próby na barwniki krwi.

a) Stwierdzamy w spektroskopie smugi oksyhemoglobiny albo methemoglobiny.

b) Zadajemy mocz tynkturą gwajakową i starą terpentyną; w razie obecności krwi ciecz błękitnieje.

c) Gotujemy mocz i dodajemy kroplę rozcieńczonego kwasu octowego: osad, powstały w moczu zawierającym białko, jest biały; osad, powstały w moczu zawierającym krew, jest brunatny.

d) Dodajemy sody żrącej i gotujemy; z normalnego moczu wypada biały osad fosforanów; z moczu, zawierającego krew, wypada osad czerwonawy.

VIII. Próby na barwnik żółciowy.

a) Wykonujemy próbę Gmelina. Wystąpienie pierścienia zielonego dowodzi obecności bilirubiny.

b) Przesączywszy mocz przez mały sączek, umieszczamy na sączku kroplę stężonego kwasu azotowego; jak w odczynie Gmelina, tak i tu występuje odczyn barwników żółciowych, zielony pierścień.

c) Wykonujemy próbę Hay'a na obecność kwasów żółciowych (por. Cz. I. 54 d).

IX. Urobilina i urobilinogen.

Urobilinogen powstaje w kiszce przez działanie odtleniające drobnoustrojów gnilnych na bilirubinę; przez utlenienie urobilinogenu pod działaniem powietrza i światła powstaje urobilina. Dla urobilinogenu jest charakterystycznym odczyn z aldehidem para-dwumetyloamino-będźwinowym. Dla urobiliny jest charakterystycznem widmo i występowanie fluorescencji po dodaniu chlorku cynku i amoniaku w alkoholowym roztworze.

A) Próba na urobilinogen.

Ogrzewamy mocz z 2% roztworem aldehidu para-dwumetylo-amino-będźwinowego w 5% kwasie solnym; normalny mocz daje zabarwienie czerwone; jeżeli zabarwienie czerwone nie wystąpi, to w moczu brak urobilinogenu, jeżeli wystąpi już bez ogrzewania, to zawartość urobilinogenu jest patologicznie zwiększona.

B) Próby na urobilinę.

a) Zakwaszamy mocz rozcieńczonym kwasem solnym i wstrząsamy z połową jego objętości alkoholu amylowego.

W różowo zabarwionej warstwie amylowoalkoholowej stwierdzamy widmo urobiliny: smugę w części widma niebieskiej między liniami E i F.

b) Zlewamy roztwór urobiliny w alkoholu amylowym, dodajemy równą objętość alkoholu etylowego, potem kilka kropli alkoholowego roztworu chlorku cynku i kroplę rozcieńczonego amoniaku. Jeżeli powstanie osad, to odsączymy a w przesączu stwierdzamy zieloną fluorescencję, rzucając na przesącz (za pomocą soczewki) pęk światła.

C) Osady moczowe.

W moczu normalnym unosi się delikatny, lekki osad (obłoczek), składający się z nabłonków oraz śladów substancyj białkowych, związanych z kwasami nukleinowymi i z kwasem chondroitynosiarkowym.

Z moczów stężonych wypadają przy oddziaływaniu kwaśnem następujące osady:

1. Kwas moczowy w postaci brunatnych lub żółtych kryształków („osełek“ lub „beczułek“). Osad ten rozpuszcza się przy gotowaniu albo po dodaniu sody żrącej.

2. Moczany sodowe jako czerwonawy lub ceglasty osad bezpostaciowy, rozpuszczalny w sodzie żrącej lub przy ogrzewaniu.

3. Szczawian wapniowy w ośmiościanach („kopertach“), niekiedy w kształcie ciążków gimnastycznych; osad ten jest rozpuszczalny w kwasie solnym, nierozpuszczalny w kwasie octowym.

4. Rzadko spotykamy w moczu kwaśnym kryształy siarczanu wapniowego, nierozpuszczalne w kwasach i amoniaku.

5. Kryształy kwasu hipurowego, rozpuszczalne w amoniaku.

6. Tyrozyny (pęczki delikatnych igiełek), rozpuszczalne w amoniaku i kwasach.

7. Cystyny (sześcioboczne tabliczki), rozpuszczalne w amoniaku i kwasach,

Drobnoustroje moczognilne zamieniają mocznik w węglan amonowy i mocz przybiera oddziaływanie zasadowe. Wtedy występują w moczu zasadowym inne osady:

1. Bezpostaciowy fosforan wapniowy, $Ca_3(PO_4)_2$, który może występować w rodzimym moczu zasadowym.

2. Fosforan magnezowo-amonowy czyli „trypelfosforan", $MgNH_4PO_4$ („trumienki").

3. Bezpostaciowy węglan wapniowy.

4. Moczan amonowy w postaci żółtych, niekiedy kolczastych kul, rozpuszczalnych w ługu sodowym i kwasach.

5. Niekiedy indygo.

CZĘŚĆ III.

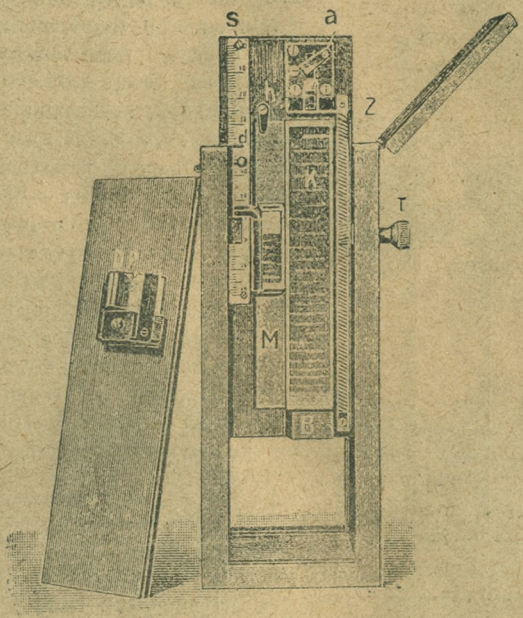
Metody ilościowe.

Przyjmując, że podstawowe metody analizy miareczkowej są znane z ćwiczeń chemicznych, podajemy tylko zastosowanie ich do analizy fizjologicznej.

Ponieważ podamy niektóre metody kolorymetryczne, przeto objaśniamy w kilku słowach zasadę i zastosowanie kolorymetru Authenrietha-Königsbergera; instrument ten, stosunkowo tani, a doskonały (rozpowszechniony jako hemoglobinometr), może służyć do wszelkich pomiarów kolorymetrycznych. Klin próżny służy do wypełnienia roztworem podstawowym[1]).

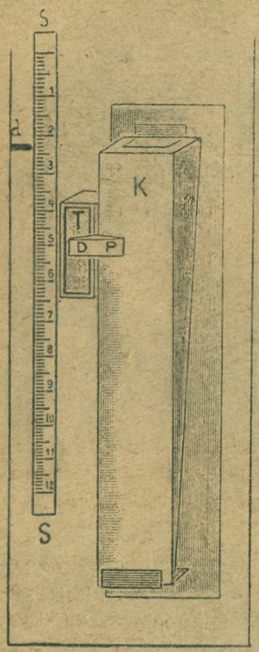
[1]) Z instrumentów kosztowniejszych jest najlepszym, jak się przekonałem t. zw. „mały kolorymetr" firmy Schmidt i Haensch w Berlinie.

Zasada; Mamy oznaczyć ilościowo zawartość ciała A w danym roztworze; przez dodanie stosownego odczynniku zamieniamy ciało A w pochodną barwną; natężenie barwy będzie proporcjonalne do stężenia ciała A. Jeśli np.



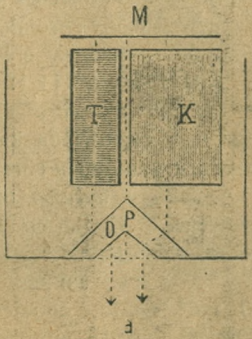
do roztworu rozcieńczonego amoniaku dodawać nadmiaru odczynniku Nesslera, to w pewnych granicach, w których nie powstaje osad ani męty, natężenie barwy żółto-brunatnej jest proporcjonalne do stężenia amoniaku w roztworze badanym.

Jeśli w płynie badanym, zawierającym np. około 1 do 2 mg amoniaku w 100 cm^3 wywołamy zapomocą odczynniku Nesslera zabarwienie, to możemy oznaczyć dokładnie zawartość, porównując natężenie zabarwienia z natężeniem zabarwienia roztworu podstawowego, o znanej zawartości, otrzymanego przez rozpuszczenie odważonej ilości soli amonowej (np. 0·124 g szczawianu amonowego, t. j. 34 mg NH_3 w 1 l.). Natężenie barwy oznaczamy, dobierając takie grubości warstwy obydwu płynów, które nie różnią się barwą. Jeżeli warstwa grubości 34 mm ma tę samą barwą (po dodaniu odczynników do jednakowych objętości płynu nieznanego i znanego i rozcieńczenie obydwu do równych objętości) co warstwa 10 mm płynu znanego (3·4 mg NH_3 w 100 cm^3), to zabarwienie badanego jest $\frac{1}{3{\cdot}4}$ zabarwienia podstawowego; płyn badany zawiera $\frac{1}{3{\cdot}4}$ zawartości amoniaku w płynie podstawowym, zatem w naszym przypadku: $\frac{34}{3{\cdot}4}$ 10 mg NH_3 w 1 l.



W kolorymetrach systemu Dubosq'a porównuje się zmienną grubość warstw płynu badanego i podstawowego. W kolorymetrze Anthenrietha (opis por. str. 87) trzeba sprawdzić poprzednio, jakiej działce skali, połączonej z klinem

ruchomym, odpowiada równość barw, jeśli klin i naczyńko nieruchome zawierają płyn identyczny, a jakiej działce, jeśli naczyńko zawiera płyn 2, 3, 4, 6, 8 razy bardziej rozcieńczony, niż klin. Sporządzamy wykres klina, kalibrując go empirycznie. Roztwór $^1/_2$ normalny $K_2Cr_2O_7$ (24·55 g tej soli w 1 l) wlewamy do klina; przygotowujemy roztwór $^1/_4$, $^1/_6$, $^1/_8$, $^1/_{12}$ normalny, rozcieńczając stosownie po 10 cm³ płynu $^1/_2$ normalnego. Stwierdzamy, że jeśli w naczyńku stałem znajduje się płyn $^1/_2$ normalny, to równości barw odpowiada stopień skali 4; na papierze milimetrowym zaznaczamy na odciętych 4 mm, na rzędnych 100 mm; niechaj rozcieńczeniu $^1/_4$ odpowiada stopień skali 54; $^1/_6$: 67·5; $^1/_8$: 76·5; $^1/_{12}$: 82·5; wykreślamy do tych punktów odciętych rzędne równe 50; 33·3; 25; 16·7. Łącząc te punkty, otrzymamy wykres przyrządu. Skalibrować przyrząd także zapomocą płynu niebieskiego, np. odczynniku Benedicta (por. 26).



Niechaj płyn podstawowy zawiera **a** mg ciała badanego w 100 cm³; równość barw w klinie i w płynie badanym uzyskano, jeśli klin stoi na poziomie, odpowiadającym działce **n** skali; wyszukujemy na wykresie rzędną, odpowiadającą punktowi **n** odciętej; niechaj rzędna ta będzie równa **m**. Płyn badany zawiera wtedy a $\frac{m}{100}$ mg ciała badanego. Jeżeli barwa płynu badanego w naczyńku jest mocniejszą, aniżeli w klinie na poziomie działki 4, to należy powtórzyć próbę, rozcieńczywszy płyn badany podwójnie, lub w razie potrzeby znaczniej.

Analiza ilościowa moczu.

I. Miareczkowanie chlorków metodą Mohra.

Zasada: Jeżeli roztwór obojętny zawiera chlorki i chromiany, to azotan srebra strąca najpierw cały chlor, dopiero następnie czerwony chromian srebrowy Metodę tę można stosować tylko do roztworów chlorków obojętnych.

Odczynniki: Do mianowania używamy dziesiętno-normalnego roztworu azotanu srebra. Jakiej ilości chlorku sodowego odpowiada każdy zużyty cm^3 dziesiętno-normalnego roztworu azotanu srebra?

Jako wskaźnika używamy 1% roztworu chromianu potasowego K_2CrO_4, do którego dodano kilka kropel azotanu srebra, a następnie odsączono z osadu chromianu srebrowego.

Wykonanie: Do 20 cm^3 moczu, rozcieńczonego 40 cm^3 wody, dodajemy 1 cm^3 chromianu potasowego, a potem, ciągle mieszając, tyle roztworu azotanu srebra, dopóki płyn nie nabierze odcienia czerwono-brunatnego, który przy kłóceniu nie znika. Obliczenie?

II. Miareczkowanie chlorków sposobem Volharda.

Zasada: Strącamy chlorki azotanem srebra, a nadmiar dodanego azotanu miareczkujemy rodankiem potasu KCNS

Odczynniki: Dziesiętno-normalny roztwór azotanu srebra, dziesiętno normalny roztwór rodanku potasowego, czysty kwas azotowy stężony i nasycony roztwór ałunu żelazowego.

Wykonanie: 10 cm^3 moczu wprowadzamy do kolbki miarowej stucentymetrowej, dodajemy 4 cm^3 kwasu azotowego stężonego i za pomocą dokładnej pipety 20 cm^3 roz

tworu azotanu srebra, poczem wypełniamy kolbkę wodą aż do znaku (100 cm^3). Mieszamy i sączymy przez suchy sączek do suchego naczynia; z przesączu bierzemy 50 cm^3 i miareczkujemy, po dodaniu kilku kropli alunu żelazowego, rodankiem potasowym dopóty, dopóki nie wystąpi czerwone zabarwienie (pierwsza kropla rodanku, niezużytego na strącenie srebra da czerwony rodanek żelazowy).

Obliczenie: Pamiętać, że mianowanie rodankiem odbywa się w połowie płynu, otrzymanego przez rozcieńczenie 10 cm^3 moczu.

III. Miareczkowanie fosforanów.

Zasada: Octan uranilowy albo azotan uranilowy w obecności octanu sodowego strąca fosforany jako fosforan uranilowy:

$$UrO_2(C_2H_3O_2)_2 + NaH_2PO_4 = UrO_2HPO_4 + CH_3COOH + CH_3COONa.$$

Skoro azotan uranilowy znajdzie się w nadmiarze, wtedy dodana jako wskaźnik tynktura koszenilowa zmienia barwę z czerwonej na zieloną.

Odczynniki: № 1: Roztwór azotanu albo octanu uranilowego; którego 1 cm^3 odpowiada 5 mg P_2O_5.[1]

---

[1]) a) Ażeby sporządzić taki roztwór, trzeba mieć roztwór podstawowy jonu ortofosforowego. Rozpuścić 12 g Na_2HPO_4 w 1 l. wody; oznaczyć w 50 cm^3 tego roztworu zawartość fosforanu, odparowując wodę w miseczce zważonej, susząc następnie przez 10 godzin w suszarce (w temp. 130°) i ważąc. Jeśli otrzymano w ten sposób z 50 cm^3 roztworu n g pyrofosforanu sodowego, to do każdych 100 cm^3 roztworu powstałego należy dodać

$$\frac{(2\,n - 0{\cdot}3746)}{0{\cdot}003746}\ cm^3$$

wody, ażeby otrzymać roztwór, którego 50 cm^3 odpowiada 0·1 g P_2O_5.

b) Sporządzić roztwór octanu uranilowego z 36 g w 1 l wody gorącej, po ochłodzeniu przesączyć; do 50 cm^3 roztworu fosforanu

№ 2: roztwór, zawierający 100 g octanu sodowego i 30 g kwasu octowego w 1 litrze wody; № 3: tynktura koszenilowa, t. j. wyciąg alkoholowy z czerwi koszenilowych, otrzymany przez dwudniowe wyciąganie sproszkowanych owadów alkoholem 40%-owym, następnie przesączenie.

Wykonanie: 50 cm³ moczu zaprawiamy 5 cm³ odczynnika № 2 i kilku kroplami koszenili, poczem ogrzewamy do wrzenia i dodajemy dopóty roztworu uranilowego, dopóki kolor czerwony nie przejdzie w zielony.

IV. Kwasowość moczu.

a) Do 25 cm³ moczu dodajemy 15 g sproszkowanego szczawianu potasowego i kroplę roztworu fenolftaleinu. Wstrząsamy przez 2 minuty i miareczkujemy zimny płyn dziesiętno-normalną sodą żrącą, dopóki nie wystąpi trwałe czerwone zabarwienie. Liczba cm³ dziesiętno-normalnej zasady, zużytej na 100 cm³ kwasu, jest miarą ilości fosforanów pierwszorzędowych, zawartych w moczu. Wyrażamy ją w liczbie cm³ sody żrącej dziesiętno-normalnej, potrzebnej na zobojętnienie 100 cm³ moczu.

b) Dodajemy do moczu oranżu metylowego i miareczkujemy dziesiętno-normalnym kwasem solnym, dopóki nie wystąpi zabarwienie czerwone. Liczba zużytych cm³ kwasu podaje ilość zawartych w moczu fosforanów drugorzędowych. Wyrażamy ją przez liczbę cm³ kwasu $\frac{1}{10}$ n., potrzebnych na zakwaszenie 100 cm³ moczu.

zadanych 5 cm³ roztworu octanu (Nr 2) i kilku kroplami koszenili, ogrzanych do 100°, wpuszczać z biretki octanu uranilowego, jak wskazano przy wykonaniu miareczkowania moczu. Jeśli zużyto na 50 cm³ fosforanu m cm³ roztworu uranilowego, to po dodaniu na każde 100 cm³ octanu uranilowego $\frac{(20 - m) \cdot 100}{m}$ cm³ wody otrzymamy roztwór, którego 1 cm³ = 5 mg P_2O_5.

Stosunek ilości zużytej w próbie a) zasady do zużytego w próbie b) kwasu daje nam stosunek fosforanów kwaśnych (MeH_2PO_4) do zasadowych (Me_2HPO_4). Stosunek ten wynosi w osoczu krwi około 1 : 7; w moczu jest większy. Obliczyć ilość kwasu (w równoważnikach kwasu jednowartościowego, albo dla dowolnego kwasu, np. mlekowego lub solnego w gramach), wydzielonego przez ustrój w 1 l moczu jeśli stosunek $\frac{KH_2PO_4}{K_2HPO_4}$ wynosi $\frac{1+n}{7}$.

V. Oznaczanie azotu.

a) Sposób Kjeldahla.

Zasada: Ciała organiczne, zawierające azot, rozkładają się przy gotowaniu z kwasem siarkowym stężonym w obecności katalizatorów, (np. siarczanu miedziowego); cały węgiel i wodór ulegają spaleniu, a azot zamienia się w siarczan amonowy.

Wykonanie: 5 cm^3 moczu ogrzewamy w specjalnej kolbie z twardego szkła (800 cm^3, postać gruszkowata, długa wązka szyjka) z 10 cm^3 stężonego kwasu siarkowego i kryształkiem siarczanu miedzi dopóty, dopóki płyn nie stanie się klarowny i nabierze słabo-żółtej lub niebieskiej barwy. Rozcieńczamy 200 cm^3 wody i łączymy ze specjalną rurą destylacyjną, która zapobiega przedostaniu się kropelek sody żrącej do odbieralnika (najlepszy model Hopkins'a) i chłodnicą. Części zstępujące chłodnicy muszą być ze szkła twardego; korek, którym zamknięta jest kolba, jest zaopatrzony w wentyl rtęciowy, pozwalający powietrzu zzewnątrz wstępować do kolby, niewypuszczający natomiast powietrza z wnętrza kolby. Koniec rurki destylacyjnej tkwi w naczyniu, zawierającem 50 cm^3 dziesiętno-normalnego kwasu i zanurza się w płynie. Do kolby, zawierającej substancję spaloną wrzucamy kawałek cynku, wle-

wamy 60 cm^3 30% ługu sodowego, natychmiast łączymy ją z chłodnicą i destylujemy. Po przedestylowaniu około 100 cm^3 przekonać się za pomocą papierka lakmusowego, czy uchodzący z rurki destylat ma jeszcze odczyn zasadowy; jeżeli nie, to destylacja jest skończoną. Miareczkujemy wtedy kwas w odbieralniku $\frac{1}{10}$ n sodą żrącą, używając jako wskaźnika czerwieni metylowej (nie fenolftaleinu!). Różnica daje liczbę cm^3 amoniaku dziesiętno-normalnego, odpowiadająca zawartości azotu w moczu.

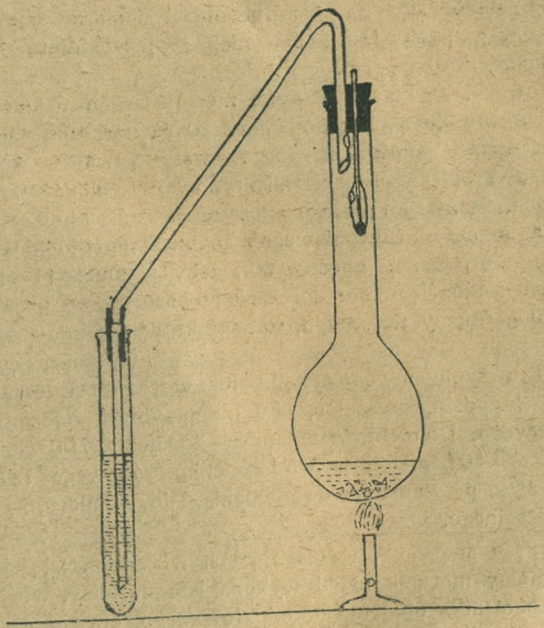
Obliczenie: Ponieważ użyte odczynniki: kwas siarkowy, wodorotlenek sodowy, woda mogą zawierać amoniak, przeto musimy określić w doświadczeniu ślepem zawarty w nich amoniak i tę zawartość odjąć od wartości, otrzymanych we właściwem doświadczeniu.

Zapomocą metody Kjeldahla można oznaczać tylko azot, zawarty w grupach aminowych (NH_2), iminowych (NH) nitrylowych N≡, w jądrach heterocyklicznych, ale nie w grupach nitrowych (NO_2) lub nitrozylowych (NO).

b) Sposób uproszczony (Folin i Wright).

Zamiast kwasu siarkowego używa się mieszaniny, złożonej z 300 cm^3 kwasu fosforowego 85%, 100 cm^3 H_2SO_4 stężonego i 50 cm^3 roztworu siarczanu miedzi (6%). Do kolby kjeldahlowskiej (obj. 300 cm^3) dać 5 cm^3 powyższej mieszaniny, 5 cm^3 moczu, 2 cm^3 10%-owego roztworu $FeCl_3$ i kilka kawałków kwarcu; ogrzewać energicznie nad małym palnikiem; skoro kolba wypełni się gęstym białym dymem (po 4') nakryć kolbkę lużną zatyczką szklanną i ogrzewać dalej energicznie; po dalszych dwu minutach płyn wyjaśnieje, a jeszcze po dwu można usunąć płomień; ściśle w piątej minucie od tej chwili dodać 50 cm^3 wody, następnie 15 cm^3 nasyconego (50—55%) wodorotlenku sodowego i natychmiast zamknąć kolbę korkiem gumowym, przez którego

otwór wetknięta jest kabłąkowato zgięta, niezbyt wąska rura szklanna, prowadząca do odbieralnika i zanurzona w kwasie 1/10 normalnym (50 cm^3 + 100 cm^3 wody) zabarwionym czerwienią metylową Natychmiast po połączeniu z odbieral-



nikiem zmieszać w kolbce sodę żrącą z kwasem i ogrzewać pełnym płomykiem; gotując energicznie przez 5' przepędza się cały amoniak do odbieralnika. Miareczkować wodorotlenkiem sodowym 1/10 normalnym.

V. Oznaczanie moczniku.

Sposób Folina.

Zasada: Przez ogrzewanie moczu z kwasem solnym do temperatury 150° można rozłożyć mocznik na amoniak i dwutlenek węgla.

Wykonanie: 5 cm³ moczu wprowadzamy do kolbki kjeldahlowskiej na 150 cm³, dodajemy 2 cm³ kwasu solnego 25% owego, stawiamy ukośnie, niemal leżąco na łaźni i odparowujemy do sucha; dodajemy 20 g chlorku magnezowego; 2 cm³ kwasu solnego stężonego, mały kawałeczek parafiny i kilka kropli czerwieni alizarynowej. Kolbkę zamykamy korkiem, w którym osadzony jest bezpiecznik z kulką szklanną (rurka do chlorku wapniowego), zakończona chłodnicą, a cały przyrząd ustawiamy ukośnie tak, żeby w kulce bezpiecznika zatrzymywało się około 1·5 cm³ powracającego z chłodnicy płynu; gotujemy tak długo, dopóki krople, spadającej z powrotem do masy ogrzewanej, nie wywołują silnego syczenia, poczem utrzymujemy zawartość kolbki w tej temperaturze (150°) około 2 godzin, uważając, aby nie przybrała oddziaływąnia zasadowego. Do ochłodzonej masy dodajemy 700 cm³ wody i 22 cm³ 10% roztworu wodorotlenku sodowego i destylujemy, jak przy metodzie Kjeldahla, do odmierzonej ilości kwasu solnego.

Przy analizach, wymagających większej ścisłości, wyodrębniamy mocznik przed wykonaniem hidrolizy, wyciągając go alkoholem z obojętnego, odparowanego prawie do sucha moczu. Postępowanie takie ma na celu usunięcie innych ciał azotowych, których pod działaniem czynników hidrolizujących mogłby odszczepić się amoniak. Ciała azotowe można też usunąć przez strącenie ich kwasem fosforowolframowym lub fosforomolibdenowym. Ponieważ przy oznaczaniu moczniku metodą Folina mierzymy zarazem amoniak, który, jako sole

amonowe, znajdował się w moczu, przeto analizę taką należy połączyć z określeniem amoniaku w tym samym moczu.

Chlorku magnezowego dodajemy, aby podwyższyć temperaturę płynu; parafinę — ażeby zapobiec pienieniu się; alizarynę — ażeby skontrolować, czy oddziaływanie jest kwaśne; przy zasadowem alizaryna przybiera barwę purpurową.

VII, Oznaczenie moczniku przy pomocy ureazy. (Por. str. 124).

VIII. Oznaczenie amoniaku.

a) Sposób Folina.

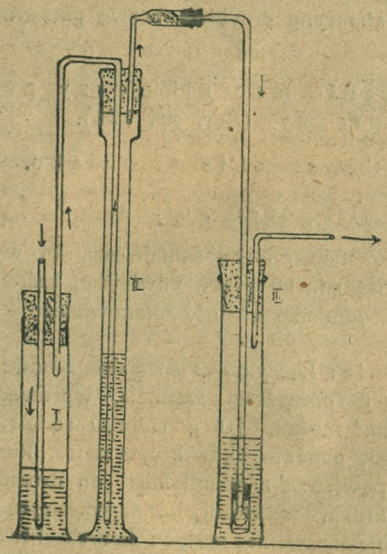
Zasada: Z moczu słabo zalkalizowanego wypędzamy amoniak za pomocą silnego prądu powietrza, które następnie przechodzi przez odmierzoną ilość mianowanego kwasu solnego.

Wykonanie: Łączymy 2 specjalne płuczki[1]) w sposób odpowiadający powyższej zasadzie, wprowadzając do pierwszej[1]) 25 cm^3 moczu, 10 g chlorku sodowego i 1 g węglanu sodowego, ponadto kilka kropel nafty. Rurka, wprowadzająca prąd powietrza z amoniakiem do drugiej płuczki jest zakończona kulką, w której na największym przekroju poziomym znajduje się wieniec małych dziurek. Płuczka druga zawiera 20 cm^3 kwasu $\frac{1}{10}$ normalnego, między jedną a drugą płuczką umieszczamy rurkę, luźnie wypełnioną watą. Przepędzamy za pomocą miecha (pompki Stuhla) albo przesysamy za pomocą pompki wodnej ssącej przez $^1/_2$ godziny silny prąd powietrza, który oczyszczamy przed płuczką pierwszą, przepędzając go przez płuczkę z kwasem siarkowym stę-

[1]) Płuczka ta winna być b. wysoka, najlepiej sporządzić ją z wysokiego, wąskiego cylindra, służącego do mierzenia c. właściwego cieczy przy pomocy areometrów.

żonym, poczem miareczkujemy w płuczce-odbieralniku niezwiązany przez amoniak kwas solny. Ubytek kwasu odpowiada ilości wypędzonego amoniaku.

Obliczenie jak pod V a str. 110.



b) Metoda Schiffa-Malfattiego.

Zasada: Jeżeli do roztworu soli amonowych dodać formaliny, to amoniak utworzy z formaliną urotropinę, a kwas się uwolni.

$$6CH_2O + 2(NH_4)_2SO_4 = 6H_2O + N_4(CH_2)_6 + 2H_2SO_4.$$

Wykonanie: 25 cm³ moczu i 100 cm³ wody zadajemy kilku kroplami fenolftaleinu i taką ilością dziesiętno-

normalnej sody żrącej, ile potrzeba, aby płyn nabrał odcienia różowego; dodajemy 10 cm^3 40% formaliny, rozcieńczonej 30 cm^3 wody i zobojętnionej sodą żrącą przy użyciu fenolftaleinu jako wskaźnika. Po zmieszaniu znika oddziaływanie alkaliczne. Miareczkujemy wytworzony kwas dziesiętno-normalnym wodorotlenkiem sodowym 1/5 normalnym.

Obliczenie: Metoda ta daje liczby wyższe, niż sposób Folina. Ponieważ aminokwasy reagują z formaliną tak samo, jak sole amonowe, przeto ilość aminokwasów można określić tym samym sposobem, jeżeli poprzednio z moczu, zadanego sodą, usunąć amoniak silnym prądem powietrza. Należy przeto zawsze wykonać oznaczenie, jak powyżej, otrzymując wartość A (aminokwasy + sole amonowe); następnie po odpędzeniu amoniaku, wartość B (aminokwasy; A—B daje zawartość amoniaku samego.

IX. Oznaczenie kreatyniny.

Zasada: Z intensywności odczynu Jaffego możemy przy pomocy kolorymetru Authenrietha ocenić ilość kreatyniny.

Wykonanie: 10 cm^3 moczu zadajemy w półlitrowej kolbie 15 cm^3 1,2% kwasu pikrynowego i 5 cm^3 10% sody żrącej; pozostawiamy przez 5 minut i rozcieńczamy wodą do $^1/_2$ l. Próbę płynu umieszczamy w naczyńku otwartem kolorymetru Authenrietha.

Roztwór 10 mg kreatyniny, zadany podobnie kwasem pikrynowym i wodorotlenkiem sodowym, rozcieńczony do 500 cm^3, ma w warstwie grubości 8·1 mm tę samą barwę, co warstwa 8 mm roztworu $^1/_2$ n dwuchromianu potasowego. Jeśli taki roztwór $K_2Cr_2O_7$ znajduje się w klinie kolorymetru; jeżeli równość barw odpowiada działce skali **m**, a odciętej m odpowiada w wykresie przyrządu rzędna **u**: wtedy zawartość kreatyniny w 10 cm^3 moczu wynosi $10 \cdot \frac{8 \cdot 1}{8} \cdot \frac{n}{100}$ mg.

X. Oznaczenie kwasu moczowego.

Metoda Hopkinsa-Folina.

Zasada: Strącamy kwas moczowy amoniakiem w obecności soli amonowych jako moczan amonowy, a potem miareczkujemy go w rozczynie kwaśnym nadmanganianem potasu.

Odczynniki: Nr. 1: 500 g siarczanu amonowego, 5 g octanu uranilowego i 60 cm^3 10% kwasu octowego w 650 cm^3 wody;

Nr. 2: 10% roztwór siarczanu amonowego;

Nr. 3: $^1/_{20}$-normalny roztwór nadmanganianu potasowego; 1 cm^3 odpowiada 3,75 mg kwasu moczowego.

Wykonanie: 200 cm^3 moczu zadajemy 50 cm^3 odczynnika Nr. 1; po pół godzinie zlewamy płyn przez suchy sączek do suchej erlenmajerki, pozostawiając, o ile możności, osad na dnie naczynia; odmierzamy 125 cm^3 przesączu i zaprawiamy 5 cm^3 20% amoniaku. Po upływie 24 godzin sączymy przez sączek hartowany, starając się jaknajwięcej osadu pozostawić w kolbce; przemywamy osad pozostały w naczyniu oraz spłukany na sączek odczynnikiem Nr. 2, wyjmujemy sączek z lejka i spłukujemy osad cienkim strumieniem wody z tryskawki do zlewki (najlepiej do tego samego naczynia, w którem przedtem osad wytworzono). Dopełniamy objętość wody do 100 cm^3, dodajemy 15 cm^3 stężonego kwasu siarkowego i miareczkujemy natychmiast ciepły płyn nadmanganianem potasu, dopóki po dodaniu 2 kropli nadmanganianu cały płyn przez chwilę nie pozostanie czerwony.

Nadmanganian utlenia kwas moczowy na alantoinę. Obliczenie: por. powyżej. (Nr. 3)[1]).

---

[1]) Ze względu na rozpuszczalność moczanu amonowego w zastosowanych płynach należy dodać do otrzymanej zawartości kwasu moczowego po 3 mg $\bar{u}$ na każde użyte do analizy 100 cm^3 moczu.

XI. Ilościowe oznaczanie glukozy.

Metoda polarymetryczna.

Glukoza skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego na prawo tak, że 100% roztwór skręcałby ją w rurze długości 1 dm o $52{,}5^0$. Roztwór a% w rurze o długości 1 dm skręca zatem o kąt $\alpha = \left(\frac{52{,}5 \,.\, a \,.\, 1}{100}\right)^0$; kąt α odpowiada stężeniu $\frac{100 \,.\, \alpha}{52{,}5 \,.\, 1}$. Jeżeli stosujemy rurę o długości $\frac{100}{52{,}5}$ dm, to kąt odczytany daje nam bezpośrednio odsetki cukru w moczu (dlaczego?)

Przed wprowadzeniem do rury polarymetru należy mocz wyklarować przez dodanie sproszkowanego octanu ołowiawego i odsączenie fosforanów i węglanów, które porywają ze sobą wszystkie męty.

XII. Miareczkowanie cukru w moczu.

a) Sposobem Benedicta.

Zasada: W obecności soli rodanowych powstają przy redukcji soli miedziowych białe rodanki miedziawe, które nie utleniają się w zetknięciu z powietrzem.

Odczynnik: 200 g cytrynianu sodowego, 200 g skrystalizowanej sody i 125 g rodanku potasowego rozpuszczamy w 700 cm^3 wody. Sączymy i dodajemy, mieszając starannie 18 g skrystalizowanego siarczanu miedziowego, rozpuszczonego w 100 cm^3 wody. Po dodaniu 5 cm^3 5% roztworu żelazocjanku potasowego dopełniamy wodą do litra.

Wykonanie: 25 cm^3 odczynnika umieszczamy w parowniczce porcelanowej, dodajemy 10 g węglanu sodowego i kilka odłamków niepolewanej porcelany lub pumeksu, ogrzewamy na wolnym płomieniu do wrzenia i do wrącego płynu dodajemy z biretki badany mocz, najpierw szybko,

a kiedy płyn zacznie blednąć, po 2 krople na minutę. Koniec reakcji jest osiągnięty wtedy, kiedy zniknie ślad koloru niebieskiego.

25 cm^3 odczynniku odpowiada 50 mg glukozy, albo 53 mg fruktozy.

b) Oznaczenie cukru gronowego.

Sposobem Bertranda.

Zasada: Redukuje się zasadowy roztwór tlenku miedziowego badaną ilością cukru; wydzielony tlenek miedziawy odsącza się, wymywa i rozpuszcza w kwaśnym roztworze siarczanu żelazowego. Z tlenku miedziawego i siarczanu żelezowego powstaje w tych warunkach siarczan miedziowy i siarczan żelazawy:

$$Cu_2O + H_2SO_4 + Fe_2(SO_4)_3 = H_2O + 2CuSO_4 + 2FeSO_4.$$

Powstały siarczan żelazawy miareczkujemy nadmanganianem potasowym:

$$2KMnO_4 + 8H_2SO_4 + 10FeSO_4 = 2MnSO_4 + 8H_2O + K_2SO_4 + 5Fe_2(SO_4)_3.$$

Odczynniki: Nr. 1: 40 g skrystalizowanego $CuSO_4$, rozpuszczone w wodzie do litra;

Nr. 2: 200 g soli Seignetta i 150 g NaOH w wodzie do litra;

Nr. 3: 50 g siarczanu żelazowego w 20 cm^3 stężonego H_2SO_4, rozcieńczone wodą do litra;

Nr. 5: Dziesiętno-normalny roztwór nadmanganianu potasowego.

Wykonanie: Rozcieńczamy badany płyn tak, ażeby zawierał nie więcej, aniżeli $^1/_2$% cukru gronowego; z tego odmierzamy pipetą 20 cm^3 do małej erlenmajerki, dodajemy po 20 cm^3 odczynników Nr. 1 i Nr. 2, ogrzewamy do wrzenia i utrzymujemy przez 3 minuty we wrzeniu; odstawiamy

TABLICA.

Cu w mg	d-glukoza w mg	Cu w mg	d-glukoza w mg	Cu w mg	d-glukoza w mg	Cu w mg	d-glukoza w mg	Cu w mg	d-glukoza w mg
20,4	10	57,2	29	91,8	48	124,7	67	155,6	86
22,4	11	59,1	30	93,6	49	126,4	68	157,2	87
24,3	12	60,9	31	95,4	50	128,1	69	158,8	88
26,3	13	62,8	32	97,1	51	129,8	70	160,4	89
28,3	14	64,6	33	98,9	52	131,4	71	162,0	90
30,2	15	66,5	34	100,6	53	133,1	72	163,6	91
32,2	16	68,3	35	102,3	54	134,7	73	165,2	92
34,2	17	70,1	36	104,1	55	136,3	74	166,7	93
36,2	18	72,0	37	105,8	56	137,9	75	168,3	94
38,1	19	73,8	38	107,6	57	139,6	76	169,9	95
40,1	20	75,7	39	109,3	58	141,2	77	171,5	96
42,0	21	77,5	40	111,1	59	142,8	78	173,1	97
43,9	22	79,3	41	112,8	60	144,5	79	174,6	98
45,8	23	81,1	42	114,5	61	146,1	80	176,2	99
47,7	24	82,9	43	116,2	62	147,7	81	177,8	100
49,6	25	84,7	44	117,9	63	149,3	82		
51,5	26	86,4	45	119,6	64	150,9	83		
53,4	27	88,2	46	121,3	65	152,5	84		
55,3	28	90,0	47	123,0	66	154,0	85		

i pozwalamy osiąść czerwonemu tlenkowi miedziawemu; płyn musi pozostać wyraźnie niebieski; przelewamy przez sączek azbestowy lub tygielek Goocha tak, ażeby możliwie jaknajmniej osadu dostało się na sączek; osad w erlenmajerce przemywamy wodą, którą zlewamy przez sączek; dodajemy do tlenku miedziawego w erlenmajerce 20 cm^3 odczynniku Nr. 3, pozwalamy tlenkowi miedziawemu rozpuścić się *bez ogrzewania*, przelewamy płyn przez sączek azbestowy, przyczem rozpuszczają się te cząstki tlenku, które przedostały się na sączek; wymywamy erlenmajerkę i sączek zimną wodą i natychmiast miareczkujemy przesącz nadmanganianem, dodając go dopóty, aż zielona barwa płynu przejdzie w różową. Z ilości zużytych cm^3 nadmanganianu obliczamy ilość miedzi w osadzie tlenku miedziawego. 1 cm^3 dziesiętno normalnego $KMnO_4$ odpowiada 6,3 mg. miedzi; z ilości mg miedzi odczytujemy w podanej tablicy ilość mg glukozy, zawartych w użytych do doświadczenia 20 cm^3 płynu.

XIII. Oznaczanie cukru przy pomocy fermentacji w przyrządzie Lohnsteina.

Wykonujemy podług objaśnień, załączonych do każdego przyrządu.

XIV. Ilościowe oznaczenie białka w moczu.

Zakwaszamy 100 cm^3 przesączonego słabo moczu kwasem octowym, ogrzewamy do wrzenia, sączymy, wymywamy staranie osad na sączku wodą; w osadzie wraz z sączkiem określamy ilość azotu sposobem Kjeldahla. W analizie kontrolnej określamy ilość azotu w takim samym sączku. Znalezioną w osadzie ilość azotu mnożymy przez liczbę 6,25; otrzymujemy w ten sposób ilość białka.

XV. Oceniania białka sposobem Essbacha.

Do specjalnej rurki — albuminometru Essbacha — nalewamy słabo kwaśnego moczu do kreski U, następnie odczynniku Essbacha (mieszaniny 20% kwasu cytrynowego i 1% kwasu pikrynowego) do kreski R i pozostawiamy w temperaturze pokojowej przez 24 godzin; z wysokości słupa osadu odczytujemy na podziałce ilość odsetkową białka: sposób ten daje rezultaty przybliżone.

XVI. Oznaczenie acetonu i kwasu aceto-octowego w moczu.

I. Sposób Folina.

Zasada: Używamy tego samego przyrządu, który stosowaliśmy przy określaniu amoniaku; wypędzamy szybkim prądem powietrza aceton z słabo kwaśnego moczu i chwytamy go w płynie, złożonym z wodorotlenku potasowego i odmierzonej (z biretki) ilości dziesiętno-normalnego roztworu jodu w jodku potasu. Ilość jodu niezużytego na utworzenie jodoformu określamy przez miareczkowanie tiosiarczanem 1/10 n.

Wykonanie: Do 20 cm^3 moczu dodajemy 0,25 g kwasu szczawiowego, 10 g soli kuchennej i nieco parafiny płynnej. Do odbieralnika nalewamy 150 cm^3 wody, 4 g wodorotlenku potasowego i 40 cm^3 dziesiętno-normalnego roztworu jodu w jodku potasu. Przez $^1/_2$ godziny przepędzamy przez aparat bystry prąd powietrza, potem zakwaszamy zawartość odbieralnika stężonym kwasem solnym, a wydzielony jod miareczkujemy dziesiętno-normalnym tiosiarczanem sodowym. Ponieważ na wytworzenie jodoformu z 1 cząsteczki acetonu potrzeba 6 atomów jodu, przeto 1 cm^3 jodu zużytego oznacza 0,97 mg acetonu.

II. Oznaczenie sumy kw. acetooctowego i acetonu.

20 cm^3 świeżego moczu (w którym wykazaliśmy jakościową próbą obecności większych ilości acetonu) zadajemy 0,5 cm^3 50% kw. octowego i 150 cm^3 wody i destylujemy z obszernej kolbki, połączonej z dobrą chłodnicą i silnie chłodzonym odbieralnikiem dopóty, aż otrzymamy około 50 cm^3 destylatu. Do przekroplonej cieczy dodajemy nieco węglanu wapniowego, wstrząsamy i destylujemy ponownie; po dodaniu do nowego przekropu 1 cm^3 ośmiokrotnie rozcieńczonego kwasu siarczanego destylujemy go po raz trzeci; ilość acetonu oznaczamy jodometrycznie, jak podano powyżej.

Analiza II daje nam sumę acetonu, zawartego w moczu jako kwas acetooctowy i jako aceton wolny. Analiza I daje sam tylko wolny aceton.

XVII. Analiza chemiczna krwi.

Ze względu na doniosłość tych metod i zastosowanie ich w fizjologji i patologji podajemy sposoby oznaczania azotu niebiałkowego, mocznika, kwasu moczowego, kreatyniny, jonu chlorowego, fosforanowego, wapnia i cukru.

Azot niebiałkowy, mocznik, kwas moczowy, kreatyninę i cukier oznacza się w przesączu krwi, odbiałczonej zapomocą wolframianu sodowego i kwasu siarkowego.

Do analiz części składowych organicznych należy użyć krwi świeżej, najlepiej dobytej z żyły. Skrzepnieniu zapobiegamy, dodając na każdy cm^3 krwi około $1^1/_2$ mg szczawianu litowego[1]); sól tę należy rozetrzeć na delikatny proszek i oprószyć nim ścianki naczyńka, do którego zbiera się krew. Za-

[1]) 5 g węglanu litowego i 8·5 g kwasu szczawiowego, rozpuścić w 100 cm^3 wody gorącej, osuszyć i sproszkować.

miast szczawianu litowego można użyć szczawianu sodowego, w ilości 2 mg na każdy cm^3 krwi.

Do odbiałczenia krwi służą następujące odczynniki: Roztwór wolframianu sodowego[1]) 10%-owy; kwas siarkowy 2/3 normalny (tj. zawierający 32·7 g H_2SO_4 w 1 l). Do odmierzonej zapomocą pipety objętości krwi (np. do 5 cm^3) dodać siedmiokrotną objętość (np. 35 cm^3) wody, jedną objętość (5 cm^3) wolframianu, wkroplić kroplę po kropli, wstrząsając nieustannie, jedną objętość kwasu siarkowego: powstaje gęsty, brunatny osad; po kilku minutach sączymy przez suchy sączek[2]); przesącz winien być klarowny, bezbarwny, oddziaływać słabo kwaśno na lakmus, nie zmieniać jednak barwy czerwonego papierka kongo.

Przesącz stanowi roztwór składników krwi odbiałczonej, rozcieńczony dziesięciokrotnie w stosunku do krwi.

a) Oznaczenie azotu niebiałkowego.

Spala się zapomocą odczynniku, podanego pod 110 str. i rozcieńczonego równą objętością wody; 2 cm^3 przesączu krwi odbiałczonego umieszcza w probówce (normalnej wielkości, 18×160 mm) ze szkła jenajskiego, dodać $^1/_2$ cm^3 powyższej mieszaniny kwasów, kilka kawałków kwarcu, na-

---

[1]) Kahlbauma lub Mercka.

[2]) Sączki zawierają sole amonowe zwłaszcza, jeżeli znajdują się przez czas dłuższy w pracowni. Należy przekonać się, czy sączki użyte nie oddają przy sączeniu amonu: przelać przez sączek 20 cm^3 wody, stwierdzić zapomocą odczynniku Nesslerowskiego, czy płyn przesączony daje odczyn na amon, tj. żółte zabarwienie, ew. ocenić z pomocą kolorymetru, jak wiele amonu wypłukało 20 cm^3 wody z sączka. Jeśli sączki zawierają wiele amonu, to należy je oczyścić, wypłukując przez 24 godzin wodą, wolną od amonu. Polecenia godną jest także następująca kontrola: jeśli odbiałczono np. 5 cm^3 krwi, to równolegle wziąć 40 cm^3 wody, 5 cm^3 wolframianu i 5 cm^3 kwasu siarkowego (odczynników, użytych do odbiałczania) i przesączyć przez taki sam sączek. Przesączu używa się jako kontroli przy oznaczaniu azotu niebiałkowego i moczniku. (I. Dadlez).

stępnie ogrzewa się płomieniem małego palnika tak długo, dopóki płyn zupełnie nie wyjaśnieje. Rozcieńczyć do 10 cm^3; w drugiem naczyniu przygotować roztwór podstawowy jonu amonowego, zawierający w 10 cm^3 0·28 mg N (np. 124 mg szczawianu amonowego w 1 l); dodać do 10 cm^3 tego płynu taką ilość mieszaniny kwasów, jakiej się użyło do spalenia[1]). Do obydwu prób dodać jednocześnie po 10 cm^3 odczynniku Nesslera[2]) i rozcieńczyć do 25 cm^3; porównać w kolorymetrze Authenrietha (por. str. 102) i obliczyć, jak tamże podano.

Krew normalna zawiera 25 do 45 mg azotu niebiałkowego w 100 cm^3; w warunkach patologicznych zawartość dochodzi do 280 mg.

b) Oznaczenie moczniku zapomocą ureazy sojowej.

Zasada: Rozkłada się mocznik zapomocą zaczynu swoistego, ureazy, na węglan amonowy; amoniak przepędza się do roztworu kwaśnego i miareczkuje albo oznacza kolorymetrycznie, jak pod a).

Odczynniki: 1) Ureaza otrzymuje się z mączki fasoli sojowej *(glycine hispida)*. W bardzo czystej, (wolnej od najmniejszych śladów metali ciężkich, jak rtęci lub miedzi) butelce umieszcza się około 3 g permutytu[3])

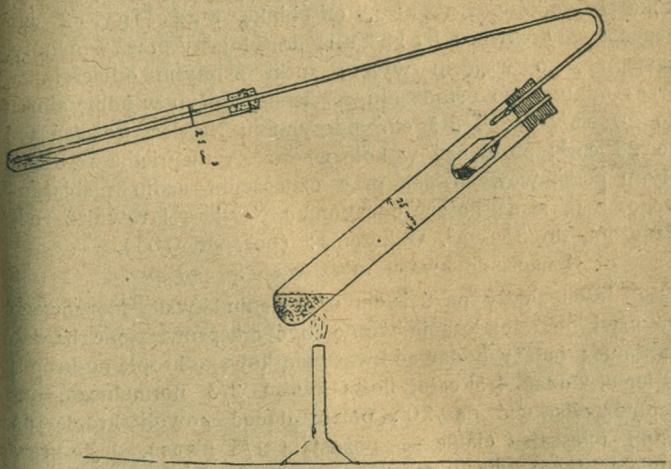
---

[1]) Oraz 2 cm^3 przesączu kontrolnego. jak podano na str. 123 uw. 2.

[2]) Odczynnik Nesslera sporządza się w sposób następujący: 150 g, jodku potasowego, 110 g jodu, 100 cm^3 wody i 150 g rtęci wstrząsać dopóty, dopóki jod nie zniknie i płyn nie wyjaśnieje; ochłodzić i wstrząsać, aż płyn przybierze barwę zupełnie jasną; odlać z rtęci; wypłukać i rozcieńczyć wodą do 2 l. Z tego płynu wziąć 750 cm^3 i dodać 750 cm^3 wody oraz 3.500 cm^3 sody żrącej 10%-owej, możliwie wolnej od węglanów.

[3]) Krzemian glinowo-sodowy, usuwa z roztworu wodnego jony amonowe i wapniowe.

i wymywa się ten proszek najpierw kwasem octowym 2%-owym, następnie dwa razy wodą; dodać 100 cm^3 alkoholu rozcieńczonego (35 cm^3 alkoholu 95%-owego + 70 cm^3 wody) i 5 g mączki sojowej [1]); wstrząsać przez 10 minut. Przesączyć [2]) i zebrać roztwór zaczynu w bardzo czystych flaszeczkach, które przechowuje się w chłodni lub lodowni.



2) Roztwór moderatorów oddziaływania: 140 g pyrofosforanu sodowego i 20 g kwasu fosforowego szklistego w 1 l.

Do 5 cm^3 przesączu odbiałczonego zadać (w dużej probówce jenajskiej (200 mm dług., 25 mm średnicy), bardzo

[1]) Fasole sojowe można zemleć w t. zw. młynku tureckim do kawy.

[2]) Przez sączek wolny od związków amonowych. Ew. użyć sączka azbestowego. (Por. uwagę str. 123 uw. 2).

czystej!) 1 cm³ roztworu ureazy, dwie krople moderatorów (2) i ogrzewać przez 10' w wodzie o temperaturze 50°. Po upływie 10' połączyć probówkę zapomocą korka gumowego i rurki szklanej z odbieralnikiem, tj. z probówką zwykłą, na której objętość 25 cm³ jest oznaczona kreską; rurka destylacyjna zanurza się w płynie odbieralnika, tj. w 2 cm³ kwasu $\frac{1}{20}$ normalnego. Do probówki, z której destylujemy, dodać kilka kawałków kwarcu, odrobinkę wazeliny, 2 cm³ nasyconego roztworu boraksu; destylujemy przez 4 minuty, następnie, po wyjęciu wylotu rurki z płynu odbieralnika, przez minutę; po ostudzeniu rozcieńczyć płyn w odbieralniku do 20 cm³, dodać 2·5 cm³ odczynniku Nesslera, rozcieńczyć do 25 cm³; porównać w kolorymetrze Authenrietha z 10 cm³ płynu podstawowego, jak przy oznaczeniu azotu niebiałkowego, z tą samą ilością odczynniku Nesslera i również rozcieńczoną do 25 cm³. Obliczenie: (por. str. 105).

c) Oznaczenie kwasu moczowego:

Jeżeli zależy na ścisłem oznaczeniu kwasu moczowego we krwi, to odbiałczenie winno być przeprowadzone bardzo starannie; należy dodawać kwasu siarkowego kroplę po kropli; najlepiej dodać 4/5 całej ilości kwasu 2/3 normalnego, następnie odstawić na 20', potem dodać powoli kroplę po kropli, mieszając ciągle — pozostałą 1/5 kwasu. Jeśli krew zawiera dużo kwasu moczowego, wtedy lepiej rozcieńczyć krew 20-krotnie: a więc na 1 objętość krwi użyć 17 objętości wody, 1 wolframianu, 1 kwasu.

Odczynniki: 1. Podstawowe roztwory kwasu moczowego:

a) Rozpuścić 0·5 g węglanu litowego w 150 cm³ wody gorącej; 1 g (odważony analitycznie) kwasu moczowego wsypać na lejek, umieszczony na kolbie miarowej 1 litrowej; spłukać do kolby gorącym roztworem litowym; po rozpuszczeniu ochłodzić, rozcieńczyć, dodając 300 cm³ wody,

dodać 25 cm³ formaliny (40%), zmieszać, dodać 3 cm³ octu lodowatego. Dopełnić wodą do 1 l. Podzielić płyn, który zawiera 1 mg ū w 1 cm³, na dziesięć małych flaszeczek, zakorkować, przechować w miejscu ciemnem i chłodnem.

1 cm³ tego płynu, odmierzony bardzo dokładnie zapomocą pipetki, dodać do 100 cm³ wody, następnie dodać 10 cm³ kwasu siarkowego 2/3 normalnego, 1 cm³ formaliny (40%), dopełnić do 250 cm³ wodą. Płyn ten zawiera 0·02 mg kwasu moczowego w 5 cm³ i trzyma się conajmniej 4 tygodnie bez zmiany.

2. Odczynnik na kwas moczowy (Folina i Denisa): 100 g wolframianu sodowego, 700 cm³ wody i 80 cm³ kwasu fosforowego (85%) gotować przez 10—12 godzin pod chłodnicą zwrotną; dopełnić wodą do 1 l.

3. a) Roztwór cjanku sodowego (15%): 100 g cjanku sodowego niezwietrzałego (preparat obecnie wszędzie do nabycia, używany do desynsekcji!), rozpuścić w 670 cm³ wodorotlenku sodowego 1/10 norm., wlać do ciemnej flaszki, nakryć nieszczelną nakrywką szklanną (nie zakorkować!) i pozostawić przez 2 tygodnie, zanim się płyn weźmie do użytku.

b) Albo 5% roztwór NaCN, który można otrzymać z 2%-owego HCN, (farmakopei), zobojętniając 100 cm³ roztworu powoli, chłodząc i mieszając (pod wyciągiem!) zapomocą 3·4 g sproszkowanego NaOH; nakryć, nie korkować!

4. 20%-owy roztwór siarczanu litowego.

Wykonanie: a) Przygotować w zlewce wodę wrącą; do jednakowych probówek odmierzyć: do pierwszej 5 cm³ przesączu odbiałczonego, 2 cm³ wody; do drugiej 5 cm³ płynu podstawowego (0·02 mg ū) i 2 cm³ wody; do każdej probówki po 3 krople odczynniku (4), 2 cm³ odczynniku (3 a), (albo 6 cm³ odczynniku (3 b) (z biretki nie z pipety!); po 1 cm³ odczynniku (2), wymieszać, pozostawić przez 2

minuty, następnie wstawić na 80'' do wody wrącej, ochłodzić, porównać w kolorymetrze Authenrietha; jeśli barwa zbyt mocna, rozcieńczyć obydwa płyny do 25 cm^3.

Obliczenie: por. str. 105.

b) 5 cm^3 przesączu krwi odbiałczonej wlać do rurki wirówkowej; dodać 7 cm^3 roztworu mleczanu srebrowego[1]) nie mieszać, odparować osad; zlać płyn; do osadu dodać 1 cm^3 roztworu 10% chlorku sodowego w kwasie solnym 1/10 n; wymieszać dokładnie; dodać 4 cm^3 wody, wirować; zlać płyn dokładnie z osadu chlorku srebrowego i poddać (roztwór izolowanego kwasu moczowego) analizie zupełnie tak samo, jak podano pod a).

d) Oznaczenie kreatyniny i kreatyny.

Odczynniki: 1. Roztwór nasycony kwasu pikrynowego (por. IX. str. 115), 2. Soda żrąca 10%-owa. 3. Roztwór podstawowy kreatyniny:

Oznaczenie kreatyniny samej:

Wykonanie: Przygotować roztwór zasadowy pikrynianu: do 25 cm^3 nasyconego roztworu wodnego kwasu pikrynowego dodać 5 cm^3 sody żrącej (2). Odmierzyć do jednej probówki 10 cm^3 przesączu krwi odbiałczonej, do drugiej 5 cm^3 płynu podstawowego (2) i 15 cm^3 wody; do pierwszej dodać 5 cm^3 zasadowego pikrynianu, do drugiej 10 cm^3; po 10', ale nie później niż po 15' porównać barwy. Obliczenie?

Gdyby się okazało, że barwa płynu nieznanego jest mocniejsza niż podstawowego, wtedy należy rozcieńczyć płyn badany dwu wzgl. trzykrotnie, jak potrzeba: używając do

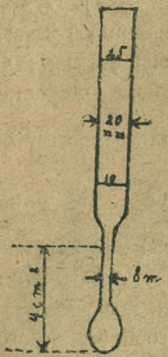
---

[1]) Strącić z 250 cm^3 roztworu 1 n $AgNO_3$ tlenek srebrowy; wymyć wodą, nie tracąc osadu, aż woda nie będzie oddziaływała zasadowo (na wirówce, lub zlewając z osadu). Rozpuścić osad w 500 cm^3 kwazu mlekowego 1 normalnego, rozcieńczyć do 1 l.

rozcieńczenia przygotowanego powyżej, rozcieńczonego dwiema objętościami wody, roztworu zasadowego pikrynianu.

Oznaczenie kreatyniny i kreatyny: Do 5 cm³ przesączu krwi dodać w probówce 1 cm³ kwasu solnego normalnego; ogrzewać w autoklawie przez 20' do 130° C. Po ochłodzeniu dodać 5 cm³ pikrynianu, po 10' rozcieńczyć do 25 cm³; płyn porównawczy przygotować, dodając do 25 cm³ roztworu podstawowego kreatyniny 2 cm³ kwasu solnego normalnego, 10 cm³ pikrynianu i rozcieńczając do 50 cm³. Porównać barwy, obliczyć według str. 105.

e) Metoda oznaczania cukru gronowego polega na redukcji zasadowego roztworu miedziowego, poczem ilość utworzonego tlenku miedziawego oznacza się na podstawie zabarwienia niebieskiego, wywołanego przez redukcję kwasu arszeno-fosforowolframowego przez tlenek miedziawy, w płynie kwaśnym; porównuje się zabarwienie, wywołane przez analizowany roztwór cukru, z zabarwieniem, wywołanem przez roztwór cukru znany, podstawowy.



1. Odczynnik miedziowy zawiera 40 g bezwodnego węglanu sodowego, 7·5 g kwasu winowego i 4·5 g $CuSO_4$ w litrze.

2. Odczynnik arszenofosforowolframowy otrzymuje się, gotując przez 20 minut 100 g wolframianu sodowego, 50 g pięciotlenku arszenowego, 25 cm³ kwasu fosforowego (85%) i 20 cm³ kwasu solnego stężonego w 600 cm³ wody; ochłodzić; dopełnić wodą do 1 l. Na 40 cm³ odczynniku dodać 18 cm³ kwasu solnego $^1/_2$ normalnego.

Zaleca się stosowanie specjalnych probówek, o pojemności — oznaczonej znakiem — 25 cm³, a opatrzonych

blisko dna zwężeniem, oddzielającem dolną część kulistą, o pojemności 4 cm^3; szyjka, łącząca część dolną i górną probówki, ma 8 mm średnicy a 40 mm długości[1]).

Oznaczenie cukru wykonuje się, dając do jednej probówki 2 cm^3 przesączu krwi odbiałczonej, do drugiej 2 cm^3 roztworu podstawowego, zawierającego w 10 cm^3 2 mg glukozy. Do każdej próby dodać po 2 cm^3 roztworu miedziowego. Ogrzewać je w wodzie wrzącej przez 6 minut, ochłodzić w wodzie bez wstrząsania i dodać po 2 cm^3 odczynniku arszeno-fosforowolframowego, po rozpuszczeniu się tlenku miedziawego rozcieńczyć wodą do 25 cm^3, wymieszać i porównać zabarwienia kolorymetrycznie.

f) Oznaczenie chlorków we krwi odbiałczonej zapomocą kwasu wolframowego wykonuje się zapomocą następującej odmiany metody Volhardowskiej:

Odczynniki: 1. Równoważne roztwory mianowane azotanu srebrowego ($\frac{1}{55 \cdot 46}$ normalny) i siarkocjanku amonowego lub potasowego ($\frac{1}{35 \cdot 46}$ n). 2. Sproszkowany siarczan żelazowo-amonowy. 3. Kwas azotowy stężony (c. wł. 1·42).

10 cm^3 przesączu krwi odbiałczonej (równoważne z 1 cm^3 krwi) dodaje się w miseczce porcelanowej do 5 cm^3 roztworu srebrowego, miesza się, po 5 minutach dodaje się około 0,2 g siarczanu żelazowo-amonowego, poczem miareczkuje się nadmiar jonu srebrowego siarkocjankiem. dopóki nie wystąpi wyraźne i trwałe przez conajmniej 15", czerwone (łososiowe) zabarwienie. Różnica między liczbą cm^3

---

[1]) Płyny znajdują się w kulce dolnej, powierzchnia wolna w wązkiej szyjce: wskutek tego płyn nie jest narażony na żywszy dostęp powietrza który spowodowałby utlenienie częściowe tlenku miedziawego.

roztworu srebrowego dodanych, a zużytych cm^3 siarkocjanku daje w miligramach ilość chloru, zawartego w 1 cm^3 krwi.

g) Oznaczenie fosforanów[1]):

Zasada: Roztwór hydrochinonu redukuje kwas fosforomolibdenowy, dając w obecności siarczynów barwę niebieską, nie redukuje zaś kwasu molibdenowego.

Odczynniki: 1. Kwas trójchlorooctowy (20%).

2. 25 g molibdenianu amonowego rozpuścić w 300 cm^3 wody; dodać 200 cm^3 roztworu kwasu siarkowego, zawierającego w 200 cm^3 75 g H_2SO_4.

3. Siarczyn sodowy: roztwór wodny 20%owy.

4. Roztwór podstawowy: 0·04394 g KH_2PO_4 w 1 l; 1 cm^3: 0·01 mg P.

5. $^1/_2$ g hydrochinonu w 100 cm^3 wody; dodać 1 kroplę H_2SO_4.

Wykonanie: Rozcieńczyć odmierzoną ilość osocza (np. 2 cm^3) trzema objętościami wody, dodać jedną objętość odczynniku (1), wstrząsać mocno, po 10' przesączyć przez sączek (ilościowy) suchy; 5 cm^3 przesączu, oraz 2 cm^3 płynu podstawowego (4) odmierzyć do cylinderków (z podziałką do 15 cm^3). Do każdej próby dodać: 2 cm^3 odczynniku (2), 1 cm^3 odczynniku (3), 1 cm^3 odczynniku (5); rozcieńczyć wodą do 15 cm^3; po 30' porównać kolorymetrycznie.

h) Oznaczenie wapnia

Odmierzyć do miseczki platynowej 1 albo 2 cm^3 osocza krwi, której skrzepnienie wstrzymano przez dodanie cytrynianu trójsodowego (nie szczawianu!). Wstawić do piecyka „muflowego", albo do miseczki porcelanowej i ostrożnie, nie podnosząc temperatury powyżej żaru czerwonego, spowodować przy dobrym dostępie powietrza spopielenie. Gąbczasta masa krwi zwęglonej zamienia się, przy dobrem spopieleniu,

---

[1]) Przy stosowaniu tej metody użyć jaknajmniejszej ilości szczawianu dla powstrzymania skrzepnięcia krwi.

we wiotką sieć popiołu zupełnie białego. Jeśli się użyło temperatury zbyt wysokiej, to stopione ciała mineralne osłaniają cząstki węgla i zapobiegają ich spaleniu. W taki sam sposób spala się także krew całą, lub krwinki.

1. Oznaczenie miareczkowe: Rozpuścić popioły w kwasie solnym: dodawać kwasu kroplami z pipetki włoskowatej, opatrzonej gumką (t. zw. wkraplaczem); ew. ogrzewać zlekka; tą samą pipetką przenieść płyn, (którego ilość nie powinna wynosić więcej, niż 0·5 cm^3) do rurki wirówkowej (3 cm^3, podz. na 0·1 cm^3); dalszych 0·5 cm^3 wody użyć do wypłukania miseczki i pipetki, dolać do rurki.

Wstawić rurkę do wrzącej łaźni, dodać 0·5 cm^3 roztworu nasyconego szczawianu amonowego, przesycić amoniakiem (analitycznie czystym, albo takim, który zadano szczawianem amonowym, w celu usunięcia śladów wapnia); zakwasić słabo octem lodowatym przekroplonym, wolnym od wapnia.

Po conajmniej 3 godzinach odwirować (5' przy 3000 obrotach). Wymyć osad trzykrotnie, dodając za każdym razem po 0·2 cm^3 wody, wstrząsając osad i odwirowując, zbierając płyn pipetką włoskowatą ostrożnie, a przytem jaknajzupełniej z osadu!

Rozpuścić osad w 0·3 cm^3 kwasu siarkowego 50%-owego, ogrzać do 50^0 i miareczkować kwas szczawiowy z biretki, podzielonej na 1/50 cm^3, zapomocą nadmanganianu $\frac{1}{100}$ normalnego, który sporządza się świeżo z roztworu $\frac{1}{10}$ normalnego, o mianie sprawdzonem. Punkt końcowy miareczkowania: odcień różowy płynu, utrzymujący się przez conajmniej 2 minuty.

2. Metoda kolorymetryczna:

Postępować, jak pod 1; osad szczawianu wapniowego w rurce wirówkowej wymyć nie wodą, lecz jednorazowo trzema cm^3 roztworu szczawianu amonowego 0·1%-owego.

Rozpuścić osad w 0·5 cm^3 kwasu solnego normalnego, przelać do probówki, wymyć rurkę wodą; objętość płynu ma wynosić około 10 cm^3; dodać 1 cm^3 roztworu, zawierającego 1 g alizaryny w 1 l alkoholu; ogrzać rurkę w łaźni do 80^0 i dodać 5 kropli mocnego amoniaku; trzymać przez godzinę w łaźni, następnie pozostawić do dnia następnego. Odsączyć[1]) osad alizarynianu wapniowego na sączku azbestowym i wymyć rozcieńczonym amoniakiem, starając się, ażeby osad na sączku jaknajmniej stykał się z powietrzem; następnie umieścić rurkę z sączkiem azbestowym nad tą samą probówką, w której strącono alizarynian wapniowy, wlać na sączek 1 cm^3 roztworu stężonego kwasu szczawiowego w alkoholu 50%-owym; wymyć sączek ciepłym alkoholem (93%). Przelać roztwór alizaryny do kolbki miarowej na 50 cm^3, wymywać probówkę amoniakiem b. rozcieńczonym, zalkalizować połączone płyny słabo amoniakiem, rozcieńczyć do 50 cm^3 wodą.

Przygotować płyn podstawowy: 2 cm^3 roztworu zawierającego 240·1 mg alizaryny[2]) w 1 l alkoholu, 1 cm^3 kwasu szczawiowego w alkoholu (50%), jak użyto powyżej, tyle alkoholu, ile użyto do wymywania sączku azbestowego, zalkalizować po rozcieńczeniu wodą słabo amoniakiem, rozcieńczyć do 50 cm^3. Porównać z próbą badaną w kolorymetrze. Na podstawie porównania kolorymetrycznego płynu badanego z podstawowym otrzymuje się zawartość alizaryny, a ilość alizaryny, podzielona przez 6 daje ilość wapnia, zawartego w alizarynianie wapniowym, a zatem w próbie badanej. (Alizarynian wapniowy: $C_{14}H_6O_4Ca + 2H_2O$; alizaryna: wapnia = 240·1 : 40·07)

---

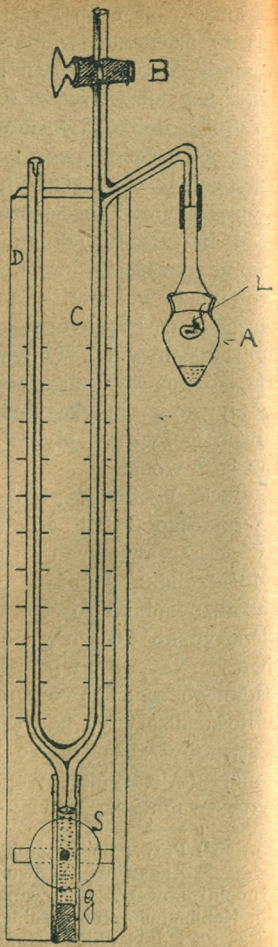
[1]) Przy pomocy pompki wodnej.

[2]) Alizaryny, tj. dwuoksyantrochinonu, a nie kwasu alizyrarynosulfonowego, stosowanego jako wskaźnik! Preparat alizaryny, np. Kahlbauma albo Grüblera wykrystalizować z octu lodowatego gorącego i dokładnie wysuszyć.

XVIII. Oznaczenie ilości tlenu, związanego we krwi zapomocą metody Haldanea i Barcrofta.

Zasada: W odpowiedniem naczyńku, połączonem z manometrem, wypędzamy żelazicjankiem potasowym tlen związany w oksyhemoglobinie i mierzymy jego objętość na podstawie przyrostu ciśnienia.

Przyrząd[1]) (ryc. str. 134) składa się z manometru w postaci litery Y, którego jedno ramię komunikuje się na zewnątrz, drugie, połączone z naczyńkiem gruszkowatem, można przez otwarcie kurka, również z atmosferą połączyć. Po otwarciu tego kurka panuje w naczyńku ciśnienie atmosferyczne; ciecz w obydwu ramionach manometru stoi na jednakowym poziomie. Jeśli po zamknięciu kurka wywiąże się lub zniknie w naczyńku (A) pewna objętość gazu, to poziom cieczy w obydwu ra-



[1]) Dostarcza firma C. Desaga w Heidelberdze (Hauptstrasse 63). Doskonałe, ale dla początkujących nieco trudniejsze przyrządy różnicowe, por. Barcroft, The respiratory function of the blood, Cambridge, (1914). Appendix. Dostarcza Bleckmann i Burger, Berlin, Auguststr. 3 a.

mionach manometru ulegnie zmianie; można wtedy, przez zaciśnięcie lub rozluźnienie zacisku C, ściskającego gumowe dno manometru, sprowadzić płyn w ramieniu manometru do tego samego poziomu, na którym stał w początku doświadczenia: różnica poziomów w obydwu ramionach wyraża wtedy zmianę ciśnienia w naczyńku, przy niezmienionej objętości. Przyrost lub ubytek gazu równa się wtedy objętości gazu, zawartej w naczyńku, pomnożonej przez stosunek ubytku (przyrostu) ciśnienia do ciśnienia atmosferycznego. Jako cieczy w manometrze używamy roztworu, zawierającego 5 g żółcianu sodowego i 23 g chlorku sodowego w 500 g wody, płyn ten ma ciężar właściwy 1,034. Do doświadczenia używamy dwu jednakowych przyrządów, z których jeden służy jako świadek zmian ciepłoty i stanu barometrycznego. Napełniamy obydwa aparaty tymi samymi płynami, i w tych samych ilościach; obydwa naczyńka zawieszamy w garnku wody o ciepłocie pokojowej. Objętość naczyńka należy określić przez zważenie naczyńka próżnego i wypełnionego wodą destylowaną; musi również być znaną objętość tego ramienia manometru, które łączy się z naczyńkiem, aż do pewnej, raz na zawsze przyjętej działki.

Odczynniki: Nr: 1: rozcieńczony amoniak (4 cm^3 10% amoniaku w litrze wody).

Nr. 2: nasycony roztwór żelazicjanku potasowego.

Zadanie A.

Oznaczenie pojemności krwi dla tlenu.

Wykonanie. Na dno naczyńka nalewamy $1\frac{1}{2}$ cm^3 amoniaku i 1 cm^3 badanej krwi, mieszamy i przetrząsamy z powietrzem; krew musi stać się zupełnie lakowatą. Na łyżeczkę L, przylutowaną do pokrywki naczyńka, nalewamy 0,3 cm^3 żelazicjanku, zamykamy naczyńko nakrywką i łą-

czymy z manometrem, którego kurek B jest otwarty; podobnie napełniamy naczyńko manometru kontrolnego i zawieszamy obydwa we wspólnym garnku wody. Po upływie kwadransa nastawiamy za pomocą śrubki C płyn w manometrach na poziom, który odpowiada wymierzonej martwej przestrzeni manometru, zamykamy kurki manometrów i wstrząsamy krew w jednym z nich tak, ażeby żelazicjanek z górnego naczyńka zmieszał się z krwią i wypędził tlen z oksyhemoglobiny. Przyrząd musi przytem być zamknięty. Wtedy zanurzamy naczyńko manometru napowrót do wody; po kilku minutach doprowadzamy zapomocą zaciśnięcia śrubki poziom płynu w ramieniu manometru, połączonem z naczyńkiem, do poziomu pierwotnego; tak samo doprowadzamy do pierwotnego stanu poziom płynu w manometrze kontrolnym, w którym krwi z żelazicjankiem nie mieszano. Teraz odczytujemy różnicę poziomów w obydwu ramionach każdego manometru i otrzymujemy w ten sposób zmianę ciśnienia gazowego w naczyńkach, przy niezmienionej objętości. Zmianę (dodatnią lub ujemną) w manometrze kontrolnym musimy odjąć od zmiany, spostrzeżonej w tym manometrze, w którym wykonano doświadczenie. Jeżeli Vn oznacza sumę objętości naczyńka i martwej przestrzeni, Vp — objętość płynów, wprowadzonych do naczyńka, P zmianę ciśnienia w mm słupa żółcianów (po odciągnięciu zmiany ciśnienia w manometrze kontrolnym), to objętość tlenu, wydzielonego w temperaturze wody równa się:

$$\frac{(Vn - Vp) \cdot P}{10000} \text{ cm}^3;$$

mnożąc przez $\frac{b}{760} \cdot \frac{273}{T}$ otrzymujemy w cm^3 pojemność 1 cm^3 krwi dla tlenu.

Zadanie B.

Sprawdzić hemoglobinometr Authenrietha (por. II D str. 87).

Ponieważ 16·4 kg hemoglobiny wiąże 22·4 l tlenu, przeto krew, której 1 cm^3 wiąże n cm^3 tlenu, zawiera

$n \frac{16400}{22412}$ g hemoglobiny w 1 cm^3. Oznaczyć dla tej samej próby krwi pojemność dla tlenu i zawartość hemoglobiny w drodze kolorymetrycznej: obliczyć, jakiej zawartości hemoglobiny w 1 cm^3 krwi odpowiada 100% hemoglobiny, według wykresu hemoglobinometru Authenrietha.

Zadanie C.

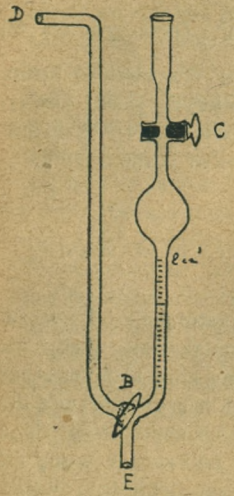
Oznaczenie zawartości tlenu w danej próbce krwi.

Wykonanie. Wprowadzamy podobnie, jak w zadaniu A, próbę krwi badaną pod amoniak tak, ażeby nie zetknęła się z powietrzem; potem możemy albo 1) przetrząsać (bez użycia żelazicjanku) w zamkniętem naczyniu krew z tlenem i zmierzyć na podstawie obniżenia ciśnienia ilość tlenu związanego (k), a z krwi nasyconej w taki sposób wypędzić żelazicjankiem całą ilość zawartego w niej tlenu (p); wtedy (p – k) wyraża ilość tlenu, związanego w danej próbce krwi; albo 2) można odrazu wypędzić żelazicjankiem tlen związany w danej próbce i zmierzyć, jak w zadaniu A.

XIX Oznaczenie zawartości dwutlenku węgla w atmosferze pęcherzykowej płucnej. (Metoda Friderici'i).

Do analizy powietrza pęcherzykowego służy przyrząd, wyobrażony w rycinie str. 138 Pipeta zawiera między kurkami C i D 100 cm^3; kurki C i D mają otwory szerokie, conajmniej 3 mm średnicy; kurek D jest kurkiem trójdrożnym,

można nim połączyć pipetę z wylotem E, albo z częścią DB, albo część DB z wylotem E.



Osobnik badany oddycha normalnie, siedząc spokojnie przez 10' potem, na końcu wydechu, bierze wylot A przyrządu do ust, zatyka nos palcami i wydycha gwałtownie tak głęboko, jak tylko może; podczas wydechu kurek D jest tak nastawiony, że część CD i DB są połączone; na końcu wydechu zamyka się kurek C, do wylotu B wsuwa się pęczek waty.

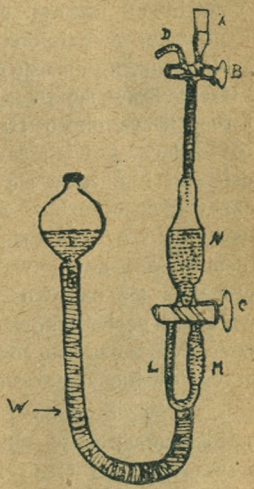
Zanurzyć przyrząd aż po C do wody o temperaturze pokoju, w którym wykonuje się doświadczenie; po upływie pięciu minut wlać przez B, po wyjęciu waty, pipetą nieco (około 10 cm^3) potażu żrącego (20%); kilka kropli przejdzie przez kurek D do pipety; przekręcić D tak, ażeby zarówno CD jak BD były zamknięte. Wstrząsać przez chwilę tak, ażeby potaż żrący pochłonął nieco CO_2 z komory CD; połączyć CD z BD; większa ilość (około 3 cm^3) ługu potasowego przejdzie do CD; resztę ługu spuścić przez wylot E. Wstrząsać tak, ażeby ług, zawarty w CD zwilżył zupełnie ściany tej pipety, zanurzyć przyrząd ponownie w wodzie, połączyć CD z wylotem E, i po upływie 5' podnieść przyrząd tak, ażeby zrównać poziom wody w pipecie CD i w naczyniu, w którem przyrząd zanurzamy. Następnie przekręcić kurek D i zrównać, połączywszy E z BD, poziom wody w obydwu naczyniach. Pipeta CD zawiera podziałkę, poczynając od dołu, w cm^3; objętość

wody, która zajęła w pipecie CD miejsce pochłoniętego przez KOH dwutlenku węgla, przedstawia odsetkową zawartość CO_2 w powietrzu pęcherzykowem.

XX. Oznaczenie zdolności wiązania dwutlenku węglowego we krwi ludzkiej.

(Sposób van Slyke'a).

a) Metoda ta służy do oznaczenia ilości dwutlenku węgla, który osocze krwi może związać w postaci dwuwęglanów; im więcej krąży we krwi kwasów organicznych (acetooctowego i mlekowego), tem więcej zasad osocza krwi zajmą te kwasy — mocniejsze niż węglowy — tem mniejszą jest objętość dwutlenku węgla, którą z osocza przez zakwaszenie i wprowadzenie do próżni wyzwolić można.



Przyrząd (ryc. str 139)[1]) jest biretką gazową, do której płyn badany i odczynniki wprowadzić można wylotem (A); przez obniżenie zbiorniku można wytworzyć w komorze N próżnię Toricellego; w próżni tej, obejmującej przestrzeń 50 cm^3, ujdą z zakwaszonego osocza (2·5 cm^3) gazy; następnie można płyn, z którego uszły gazy, schować do komory M, a rtęć wnieść do komory N drogą przez L i odmierzyć objętość gazów.

[1]) Wyrabiany przez firmę R. Goetze, Lipsk, Nürnbergersfr. 56. oraz P. Hack, Wiedeń IX Garellihofstrasse.

Odczynniki: 1. Kwas mlekowy rozcieńczony: 1 objętość kwasu kupnego (c. wł. 1·20) rozcieńczyć do 10 objętości; 2. $^1/_2$ n. NaOH; alkohol kaprylowy, zapobiegający pienieniu się cieczy.

Przygotowanie osocza: Otrzymuje się osocze przez odwirowanie 10 cm^3 krwi, dobytej z żyły; do której dodano około 10 mg szczawianu litowego (albo 20 mg potasowego); około 3 cm^3 osocza pipetuje się do czystego, suchego rozdzielacza na 250 cm^3 (najlepiej postaci walcowatej, o kurku z wylotem niezbyt ciasnym). Rurę rozdzielacza łączy się z płuczką, wypełnioną dużemi (średnicy 5—8 mm) kulkami szklannemi, kładzie się rozdzielacz poziomo, a następnie osobnik, którego krew się bada, albo badający wydecha przez płuczkę i rozdzielacz około 10 razy bardzo głęboko, ażeby wypełnić rozdzielacz powietrzem pęcherzykowem. Zamyka się rozdzielacz i obraca się go powoli w pozycji poziomej tak, ażeby osocze rozlało się po całej powierzchni wewnętrznej naczynia i nasyciło się dwutlenkiem węgla pod takiem ciśnieniem, jakie panuje w atmosferze pęcherzykowei. Następnie wypełnia się nanowo — przez 10-krotny wydech — powietrzem pęcherzykowem i powtarza się nasycanie osocza: wreszcie stawia się rozdzielacz w pozycji pionowej; osocze przygotowane zbiera się na dnie.

Przygotowanie przyrządu: Kurki winny być dobrze natłuszczone; przez kilkakrotne wytworzenie próżni w całym przyrządzie (od C do B) uwalnia się powierzchnię szkła od gazów zaadsorbowanych; jeśli przyrząd (kurki) jest szczelny, to rtęć, wracająca po utrzymaniu przez 5' próżni, powinna uderzyć o kurki z suchym ostrym trzaskiem.

Wykonanie: Wygotować w probówce kilka cm^3 wody i kilka cm^3 kwasu mlekowego, ażeby uwolnić je od gazów; wystudzić je przez wstawienie do zimnej wody (nie wstrząsać!). Wypełnić cały przyrząd rtęcią, wprowadzić nieco rtęci

do rurki D i do kubka (A). Z dna probówki wziąć pipetą wody wygotowanej i odmierzyć 1 cm^3 do kubka (A); pod tę warstwę wody wprowadzić dokładnie odmierzony 1 cm^3 osocza; dodać 1 kroplę alkoholu kaprylowego; otworzyć kurek tak, ażeby komora N komunikowała się z kubkiem (A) i obniżając ostrożnie rtęć, wprowadzić w kolejnych warstwach osocze, wodę, alkohol do wnętrza komory, bacząc, ażeby odrobina alkoholu pozostała w kubku (A). Zamknąć kurek, dodać 0·5 cm^3 kwasu mlekowego wygotowanego i wprowadzić go do komory, zamknąć kurek B starannie, otworzyć kurek C do komory M, obniżyć poziom rtęci do znaku 50 cm^3, zamknąć kurek C, zdjąć przyrząd z podtrzymującej go klamry, wstrząsać energicznie, albo obrócić 15 razy, ażeby wydobyć CO_2 z zakwaszonego w próżni osocza. Ustawić przyrząd pionowo, obniżyć poziom rtęci tak, ażeby próżnia Toricellego obejmowała także komorę M, wprowadzić płyny (ale tylko płyny) z komory M do komory N i przestawić kurek C tak, ażeby zbiornik rtęci komunikował się z komorą N poprzez rurę L; wprowadzić rtęć do birety N i odmierzyć gazy w niej zawarte, ustawiając rtęć w zbiorniku ruchomym i w birecie na jednym poziomie. Jeśli nad rtęcią stoi płyn wodny, to należy rtęć w zbiorniku ustawić o 1/13 wysokości słupa cieczy wodnej ponad poziomem w birecie. Odczytać objętość gazu.

Dla ścisłości można się przekonać, że gaz wydobyty z osocza jest dwutlenkiem węgla: wlać do kubka (A) kilka cm^3 wygotowanej sody żrącej ($^1/_2$ n), wciągnąć ją do biretki, przez j a k n a j m n i e j s z e obniżenie zbiornika rtęciowego; soda żrąca pochłonie dwutlenek węgla; pozostała objętość gazu (N_2 i O_2) jest już uwzględniona w poprawkach tabliczki, podanej na str. 142.

Normalne osocze człowieka dorosłego wiąże, na 100 cm^3 53 do 77 cm^3 CO_2; objętość związana, wynosząca mniej, niż

temperatura t	f	Czynnik[1]), przez który należy pomnożyć objętość (odczytaną po jednorazowem (jak powyżej) wyciąganiu CO_2 z osocza) gazu wilgotnego, w temperaturze t, pod ciśnieniem barometrycznem b, ażeby otrzymać objętość CO_2, sprowadzona do 760 mm i 0^0, zawartą w analizowanej objętości osocza.	
		A[2])	B[3])
15^0	$0{\cdot}932 \cdot \frac{b}{760}$	$1{\cdot}002 \cdot \frac{b}{760}$	$1{\cdot}061 \times \frac{b}{760}$
16^0	0·928 „	0·995 . „	1·053 × „
17^0	0·924 „	0·989 . „	1·046 × „
18^0	0·919 „	0 983 . „	1 038 × „
19^0	0·915 „	0·978 . „	1·030 × „
20^0	0·910 „	0·972 . „	1·022 × „
21^0	0·906 „	0·966 . „	1·015 × „
22^0	0·901 „	0·960 . „	1·008 × „
23^0	0·897 „	0·954 . „	1·001 × „
24^0	0.892 „	0 948 . „	0·993 × „
25^0	0·888 „	0·942 . „	0·986 × „

---

[1]) $\frac{b-w}{760\ (1+1/273\ t)} \cdot 1{\cdot}017 \cdot \left(1+\frac{S}{A-S}\ \acute{\alpha}_{CO_2}\right)$

gdzie **w** oznacza prężność pary wodnej dla temperatury t, S objętość płynu wodnego w komorze (b), tj. 2·5 cm^3, a objętość komory (b), tj. 50 cm^3; $\acute{\alpha}$ CO_2: współczynnik absorpcji dwutlenku dla temperatury t; 1·017: współczynnik empiryczny, stanowiący poprawkę ze względu na pochłonienie CO_2 podczas wracania rtęci do birety, przed odmierzeniem objętości gazu.

[2]) Jeśli objętość płynów wodnych wynosi 2·5 cm^3.

[3]) Jeśli objętość płynów wodnych wynosi 5 cm^3.

53% objętości krwi, wskazuje lekką kwaśnicę, poniżej 40% średnią, poniżej 30% objętości ciężką kwaśnicę.

b) Ten sam przyrząd może służyć do analizy zupełnej gazów, zawartych we krwi. Z próby krwi badanej, niekrzepliwej, nasyconej w sposób podany dla osocza powietrzem pęcherzykowem, wypędza się dwutlenek węgla kwasem mlekowym, tlen żelazicjankiem, odmierza się całość gazów krwi; następnie pochłania się kwas węglowy zapomocą $^1/_2$ n NaOH, odczytuje ubytek gazu; z pozostałej objętości otrzymuje się objętość tlenu przez odjęcie zwykłej zawartości azotu we krwi (niezależnej ani od zawartości hemoglobiny, ani od zawartości zasad) wynoszącej 1·36 cm^3 azotu na 100 cm^3 krwi. 2 cm^3 kwasu mlekowego 0·05 n wpuszcza się do komory N, uwalnia od gazów rozpuszczonych i chowa w komorze M,; następnie, po wypełnieniu N rtęcią, oswobadza się od gazów 1·9 cm^3 wody, zadanej kroplą alkoholu kaprylowego; wodę tę wprowadza się do kubka (A) i wpuszcza natychmiast pod tą warstwę wody z dokładnej, dwuznakowej pipety, 1 cm^3 krwi: należy przytem otwierać kurek B tak, ażeby krew, wypływająca z pipety, odrazu spływała do komory N; krew spłukuje się wodą, pozostawiając jeszcze 0·5 cm^3 wody, do której dodaje się 0·05 cm^3 (1 kroplę) roztworu żelazicjanku 20%-owego; po wpuszczeniu tej ostatniej porcji wody i opuszczeniu rtęci z komory N, wpuszcza się kwas, przechowany w komorze M i wstrząsa się przez 1'. Płyny ściąga się do komory M i odczytuje objętość gazu pod ciśnieniem atmosferycznem. Z kubka (A) wprowadza się do biretki N ostrożnie, obniżając poziom rtęci tylko o tyle, ile potrzeba dla wciągnięcia płynu[1]) $^1/_2$ cm^3 sody żrącej 0·5 normalnej. Po chwili dwutlenek węgla jest pochłonięty,

---

[1]) Ażeby nie wciągnąć powietrza, rozpuszczonego w sodzie żrącej.

można wtedy, uwzględniając przy ustawieniu słupa rtęci wysokość słupa cieczy wodnej, odczytać objętość pozostałego tlenu + azot.

Zawartość dwutlenku węglowego we krwi badanej oblicza się przy pomocy współczynników, zawartych w kolumnie B tablicy na str. 142.

Objętość tlenu + azotu sprowadza się do 760 mm i 0^0, z uwzględnieniem wilgoci, zapomocą czynnika f, z tablicy (str. 142). Objętość sprowadzoną mnoży się przez 100, jeśli użyto 1 cm^3 krwi i oblicza się z tej objętości gazów, odejmując przy oznaczeniu:

(a) Zawartości tlenu w 100 cm^3 krwi	1·36% azotu
(b) Zawartości tlenu, związanego z hemoglobiną w krwi żylnej . . .	1·5% azotu + tlen rozpuszczony fizycznie
(c) Zawartości tlenu, związanego w krwi tętniczej	1·7% azotu
(d) Zawartości tlenu, związanego we krwi, nasyconej powietrzem w t = 20^0	2·1% azotu

Zawartość hemoglobiny w 100 cm^3 krwi równa się: 0·746 (d.)

Nasycenie odsetkowe hemoglobiny: $\frac{100\ (b)}{(d)} = \frac{100\ (c)}{(d)}$

Niedobór nasycenia tlenem: (d) – (c), albo (d) — (b).

XXI. Oznaczenie glikogenu.

W małej rurce wirówkowej (15 cm^3) ogrzewamy 2 cm^3 60% ługu potasowego we wrzącej łaźni; wrzucamy około 2 g mięsa, albo innej badanej tkanki. Mieszając cieniutką pałeczką, przyspieszamy rozpuszczenie się. Po półgodzinnem ogrzewaniu ochładzamy, dodajemy 4 cm^3 wody i 8 cm^3 alkoholu 96%; wirujemy, płyn zlewamy z osadu, osad przemywamy, wirując za każdym razem, kolejno 60%,

80%, 96% alkoholem i potem eterem; do przemywania używamy po 4 cm^3 płynu. Po odparowaniu eteru rozpuszczamy pozostały proszek w 10 cm^3 wody, dodajemy 0 5 cm^3 36% kwasu solnego i ogrzewamy we wrzącej łaźni przez 3 godziny. Roztwór zawierający już cukier gronowy rozcieńczyć do 20 cm^3 i oznaczyć cukier sposobem Bertranda.

XXII. Oznaczenie tłuszczów.

I. Metoda (Soxhleta).

Kilka gramów wysuszonej i sproszkowanej tkanki umieszczamy w gilzie papierowej przyrządu Soxhleta i wyciągamy przez 48 godzin eterem. Po odparowaniu eteru suszymy pozostałość w suszarce aż do osiągnięcia stałej wagi.

II. Metoda (Liebermanna).

5 g badanej tkanki gotować przez $^1/_2$ godziny z 30 cm^3 50% wodorotlenku potasowego; ochładzamy, dodajemy 30 cm^3 96% alkoholu i gotujemy jeszcze przez 10 minut. Otrzymany płyn ochładzamy i rozkładamy zawarte w nim mydła przez dodanie 100 cm^3 kwasu siarkowego 20%-owego. Kwasy tłuszczowe wytrząsamy za pomocą 50 cm^3 benzyny, wrącej poniżej 60°. Do całej tej mieszaniny dodajemy tyle nasyconego NaCl, ażeby cała objętość wynosiła 240 cm^3, a po oddzieleniu się warstwy benzynowej bierzemy z niej pipetą 20 cm^3 (ostrożnie!).

Do tej ilości dodajemy 40 cm^3 90% alkoholu, nieco fenolftaleinu i miareczkujemy dziesiętno-normalnym ługiem potasowym. Można także benzynę odparować, a pozostałość zważyć.

Uwaga: W ten sposób oznacza się nie ilość tłuszczu, lecz ilość kwasów tłuszczowych, zawartych w tłuszczach obojętnych, ciałach tłuszczowatych; jeżeli ważymy pozostałość, to suma zawiera także cholesteryn.

XXIII. Oznaczenie cholesterynu.

1. Metoda Windausa.

Rozpuścić badaną próbę w 50 częściach alkoholu; dodawać na gorąco roztworu, zawierającego 1 g digitoninu w alkoholu 90%-owym, dopóty, dopóki powstaje osad. Po upływie kilku godzin odsączyć osad na sączku azbestowym, wymyć alkoholem, następnie eterem, osuszyć w temperaturze 100°, ochłodzić, zważyć: waga cholesterynu wynosi 25% wagi osadu digitoninianu cholesterynowego.

Oddzielony od osadu digitoninowego przesącz alkoholowy rozcieńczyć wodą i wytrząsać benzyną lekkowrącą; estry, które mogą być zawarte w próbie materji tłuszczowej, otrzymanej metodą Soxhleta (ale nie metodą Liebermanna!), przejdą wraz z tłuszczami i lipinami do benzyny. Odpędzić benzynę, zmydlić pozostałość przez półgodzinne ogrzewanie do wrzenia z alkoholowym roztworem wodorotlenku potasowego; odpędzić alkohol, z zasadowej pozostałości wyciągnąć cholesteryn zapomocą eteru. Oznaczyć cholesteryn, jak powyżej.

2. Oznaczenie cholesterynu we krw (kolorometryczne).

1 cm³ surowicy lub osocza ogrzewać przez 2 godziny z 10 cm³ wodorotlenku potasowego 25%-owego, po ochłodzeniu wlać do małego (30 cm³) rozdzielacza, wypłukać naczynie dwukrotnie 5 cm³ chloroformu, zlać chloroform do rozdzielacza. Wytrząsać energicznie przez kilka minut, spuścić warstwę chloroformową (dolną) do suchej flaszeczki z zatyczką szklanną, powtórzyć wytrząsanie chloroformem czterokrotnie, biorąc za każdym razem po 8 cm³, do zjednoczonych wyciągów chloroformowych dodać 5 g bezwodnego

siarczanu sodowego, wstrząsać, przesączyć przez suchy sączek do menzurki na 50 cm^3, wymyć sączek chloroformem i dopełnić do 50 cm^3.

Płyn porównawczy: 100 mg cholesterynu rozpuścic w 100 cm^3 chloroformu; z tego płynu odmierzyć 10 cm^3, i rozcieńczyć chloroformem do 250 cm^3: 25 cm^3 = 1 mg cholesterynu.

Odmierzyć 5 cm^3 roztworu chloroformowego cholesterynu badanego, 25 cm^3 roztworu porównawczego; do pierwszej próby dodać 2 cm^3 bezwodniku octowego, do drugiej 10 cm^3 bezwodniku, do pierwszej 0·1 cm^3 kwasu siarkowego stężonego, do drugiej 0·5 cm^3. Płyn porównawczy do klina kolorymetru Authenrietha, płyn badany do naczyńka zamkniętego zatyczką szklanną.

Obydwie próby wstawić do wody, ogrzanej do 35°, na 15', w ciemnem miejscu, następnie porównać kolorymetrycznie.

Obliczyć, jak podano pod Cz. III. str. 105.

Gdyby barwy roztworu chloroformowego, badanego i porównawczego były równe, to płyn badany zawierałby 2 × 1 mg w 1 cm^3 (surowicy albo osocza).

XXIV. Oznaczenie ilości białka w surowicy za pomocą refraktometru.

Zasada: Ze współczynnika załamania światła (n) danego wodnego roztworu można obliczyć ilość rozpuszczonych w nim substancji. Białko załamuje światło bardzo silnie.

Przyrząd: Używamy refraktometru Pulfricha-Zeissa, którego pryzmat można zanurzać wprost do płynu badanego, jeżeli mamy do rozporządzenia dostateczną jego ilość. Jeżeli natomiast rozporządzamy tylko małemi ilościami (kropelką) badanej cieczy, to umieszczamy jej kropelkę pomiędzy pryzma-

tem refraktometru, a pryzmatem pomocniczym. Pomiary wykonujemy w temperaturze 17,5°, która musi być ściśle zachowana. Dla wody destylowanej w tej temperaturze granica ciemnego i jasnego pola znajduje się przy działce „15".

Zawartość białka w surowicy umieszczonej między pryzmatami refraktometru odczytujemy ze stopnia podziałki, na której leży granica pól w refraktometrze i obliczamy na podstawie następującej tablicy:

n	Liczba odczytana na podziałce	‰ białka	Różnica w ‰ białka na jednostkę podziałki
1,33705	25	0,63	0,220
1,33806	30	1,74	0,220
1,34086	35	2,84	0,220
1,34275	40	3,94	0,218
1,34463	45	5,05	0,218
1,34650	50	6,12	0,216
1,34836	55	7,20	0,216
1,35021	60	8,28	0,214
1,35205	65	9,35	0,212
1,35388	70	10,41	

W surowicy normalnej człowieka: n = 1 · 3476 do 1 · 3512, odpowiada to zawartości białka od 6 · 3% do 8 · 8%.

W próbie surowicy określamy zawartość białka; odbiałczamy przez bardzo słabe zakwaszenie i zagotowanie; w próbce przesączu ponownie określamy refraktometrem współczynnik załamywania.

n_D dla wody destylowanej wynosi 1 . 33320

Δn_D dla związków niebiałkowych surowicy: 0 . 00277.

XXV. Mierzenie napięcia powierzchniowego surowicy zapomocą stalagnometru Traubego.

Zasada: Ciężar kropli, odrywającej się od ujścia rurki, jest proporcjonalny do średnicy rurki i do napięcia powierzchniowego płynu. Jeżeli różne płyny wypływają z tej samej rurki, to ciężary kropli są proporcjonalne do napięcia powierzchniowego; jeżeli jednakowe ilości różnych płynów wypływają z tej samej rurki, to napięcia powierzchniowe tych płynów będą odwrotnie proporcjonalne do liczby kropel, w których wypłynęły.

Przyrząd: Pipeta o starannie oszlifowanem, szerokiem ujściu, zawierająca między dwoma znakami określoną objętość płynu. Pipetę należy przed każdem określeniem starannie oczyścić kwasem chromowym i wypłukać wodą wodociągową.

Ew. przyrządy pomocnicze: a) Dźwignia pisząca, zakończona z tyłu ukośnie przytwierdzonem, parafinowanem szkiełkiem nakrywkowem.

a) Kimograf: Krople spadające na szkiełko zapisują się na okopconym kimografie.

Oznaczamy liczbę kropel, utworzonych przez objętość wody, zawartej między kreskami stalagmometru: (liczymy je albo zapisujemy na kimografie).

Podobnie liczymy lub zapisujemy liczbę kropel, utworzonych przez a) roztwór 1% mydła i b) przez surowicę.

Napięcie powierzchniowe badanego płynu równa się:

$$75 \cdot \frac{\text{liczba kropel płynu}}{\text{liczba kropel wody}} \quad \frac{\text{dyn}}{\text{cm}}.$$

Pómiary muszą być wykonane w tej samej temperaturze!

XXVI. Oznaczenie stężenia cząsteczkowego krwi (surowicy) za pomocą metody kryoskopowej.

Jeżeli równe ilości rozpuszczonych cząsteczek znajdują się w równych ilościach roztworu, to wywołują one w danym rozpuszczalniku jednakowe obniżenie punktu tajania (albo zamarzania). Ażeby określić stężenie cząsteczkowe roztworu musimy określić punkt tajania rozpuszczalnika i punkt tajania roztworu.

Przyrząd[1]): Składa się ze zlewki przeznaczonej na mieszaninę mrożącą, umieszczonej w niej szerokiej probówki i wreszcie umieszczonego w tej probówce nieco węższego naczynia, upatrzonego u góry bocznym wylotem. W tym naczyniu tkwi termometr.

Temperaturę mierzymy, jeżeli chodzi o pomiary dla celów fizjologicznych, termometrem o skali obejmującej kilka stopni około zera; każdy stopień jest podzielony na części. Odczytujemy za pomocą lupy. Ogólniejsze zastosowanie ma termometr różnicowy Beckmanna, którego rurka jest opatrzona na górze zbiornikiem, do którego można zlać część rtęci: termometr ten, o skali obejmującej kilka stopni możemy przystosować do każdej temperatury.

Wykonanie pomiaru: Do naczyńka wprowadzamy 10 cm³ wody. Wtykamy termometr i mieszadełko, napełniamy zlewkę mieszaniną mrożącą i, mieszając ciągle wodę, obserwujemy termometr. Woda z początku ulega przechłodzeniu, potem zaczyna nagle zamarzać: wtedy temperatura podnosi się. Odczytujemy najwyższy punkt, do którego termometr wtedy dochodzi i notujemy tę temperaturę, jako temperaturę zamarzania wody (rozpuszczalnika).

Powtarzamy to samo doświadczenie, wprowadziwszy

---

[1]) Rycina w każdym podręczniku chemji.

do naczynia wewnętrznego zamiast wody krew. W odpowiednio zbudowanych przyrządach mogą wystarczyć do doświadczenia 3 cm^3 krwi. Ochładzamy i obserwujemy temperaturę zamarzania; termometr idzie wtedy w górę tak, jak w poprzedniem doświadczeniu. Najwyższa temperatura, do której dochodzi, daje nam w przybliżeniu punkt zamarzania roztworu. Aby go ustalić powtarzamy doświadczenie, ochładzając ciecz tylko nieznacznie poniżej poprzednio zaobserwowanej temperatury, i wywołując potem zamarznięcie przez „zaszczepienie" krwi odrobinką lodu, który wytwarzamy w małej rurce włoskowatej i wrzucamy przez boczny otwór; wtedy dopiero odczytujemy prawdziwą temperaturę zamarzania. Normalna krew ludzka zamarza o $0{,}56^0$ niżej od wody.

Roztwór wodny, zawierający jedną gram-cząsteczkę jakiejkolwiek substancji w litrze roztworu, zamarza przy temperaturze — $1{,}85^0$.

Ile rozpuszczonych cząsteczek gramowych zawiera litr krwi?

Wykonać oznaczenie stężenia cząsteczkowego:

a) na surowicy;

b) na krwi odbiałczonej;

c) na moczu.

XXVII. Oznaczenie stężenia jonów wodorowych.

a) Za pomocą indykatorów i roztworów soli o określonem stężeniu jonów wodorowych.

Iloczyn ze stężenia jonów wodorowych przez stężenie jonów wodorotlenowych jest w każdym wodnym roztworze liczbą stałą, zależną tylko od temperatury; stała ta wynosi w temperaturze 22^0: 10^{-14}.

W wodzie i w roztworach obojętnych stężenie jonów wodorowych jest równe stężeniu jonów wodorotlenowych. W roztworach kwaśnych stężenie jonów wodorowych jest większe od stężenia jonów wodorotlenowych, w roztworach zasadowych rzecz ma się na odwrót; jeżeli znamy stężenie jonów wodorowych, to możemy obliczyć stężenie jonów wodorotlenowych: $(OH') = \frac{10^{-14}}{(H\cdot)}$ (22^0).

Zamiast podawać stężenie jonów wodorowych, podaje się często logarytm (dziesiętny) liczby, wyrażającej stężenie w ułamkach dziesiętnych stężenia normalnego. Znak pH ma następujące znaczenie:

$$pH = -\log^{10}(H\cdot) = \log^{10}\frac{1}{(H\cdot)}$$

Jeśli $(H\cdot) = 2.10^{-5}$, to

$$\log_{10}(H\cdot) = \log 2 + \log 10^{-5} = 0{\cdot}301 - 5$$
$$= -4{\cdot}699$$

$$pH = 4{\cdot}69.$$

Jeżeli $pH = 8{\cdot}70$, to

$$\log(H\cdot) = -8{\cdot}70 = +0{\cdot}30 - P$$
$$(H\cdot) = 2 \times 10^{-9}.$$

Roztwory o ściśle określonem, a nizkiem (podobnie jak w płynach fizjologicznych) stężeniu jonów wodorowych można sporządzić przez mieszanie słabych kwasów z solami tychże kwasów. W takich roztworach stężenie jonów wodorowych:

$$(H) = k \times \frac{\text{stężenie cząsteczkowe kwasu}}{\text{stężenie cząsteczkowe soli}},$$

gdzie k oznacza współczynnik dysocjacji kwasu. Układy takie soli i kwasów, albo soli kwaśnych i zasadowych, nazywamy moderatorami oddziaływania.

Mieszając roztwory fosforanu pierwszorzędowego z drugorzędowym, można otrzymać szereg roztworów, których stężenie jonów wodorowych leży między 10^{-5} a 10^{-9}.

Odczynniki: Nr. 1: $^1/_3$-cząsteczkowy roztwór pierwszorzędowego fosforanu sodowego.

Nr. 2: $^1/_3$-cząsteczkowy roztwór drugorzędowego fosforanu sodowego.

Przez mieszanie tych roztworów w stosunkach, podanych w następującej tabliczce, otrzymujemy płyny o następujących stężeniach (H):

Pierwszorzędowy fosforan / Drugorzędowy fosforan	(H·)	pH
1/32	$5 . 10^{-9}$	8·40
1/16	$1 . 10^{-8}$	8·00
1/8	$2 . 10^{-8}$	7·7
1/4	$5 . 10^{-8}$	7·40
1/2	$1 . 10^{-7}$	7·00
1/1	$2 . 10^{-7}$	6·70
2/1	$4 . 10^{-7}$	6·4
4/1	$8 . 10^{-7}$	6·1
8/1	$1.5 . 10^{-6}$	5·824
16/1	$3 . 10^{-6}$	5·92
32/1	$6 . 10^{-6}$	5·222

Tabliczka ta obejmuje większość roztorów, odpowiadających stężeniem jonów wodorowych płynom fizjologicznym (za wyjątkiem soku żołądkowego).

Płyny o innych stężeniach jonów wodorowych otrzymujemy za pomocą innych moderatorów, naprzykład glikokolu z kwasem solnym (10^{-1} do $^{-5}$), cytrynianu z wodorotlenkiem sodowym (10^{-5} do $^{-7}$).

Ścisłe oznaczenie stężenia jonów wodorowych można wykonać tylko za pomocą ogniw wodorowych. Metodą łatwą

i wykonalną w każdej pracowni jest oznaczenie stężenia jonów wodorowych za pomocą indykatorów. Indykatory są to barwiki o charakterze słabych kwasów albo zasad, przeważnie jednak słabe kwasy, których anion jest zabarwiony inaczej, aniżeli cząsteczka niezdysocjowana. Stosunek stężenia anionu do cząsteczek niezdysocjowanych wyraża się przez wzór:

$$\frac{(\text{Anion})}{(\text{Kwas niezdysocjowany})} \quad \frac{k}{(H)},$$

gdzie k oznacza współczynnik dysocjacji indykatora.

Wynika stąd, że zależnie od stężenie jonów wodorowych w danym płynie indykator będzie w stanie cząsteczki niezdysocjowanej, albo jako anion. Ponieważ współczynnik dysocjacji poszczególnych indykatorów ma wartości bardzo różne, przeto można poszczególne z nich stosować do sprawdzania różnych stężeń jonów wodorowych.

Jeżeli naprzykład do badanego roztworu dodać fenolftaleinu, a zabarwienie nie wystąpi, to (H) jest wyższe niż 10^{-9}; ten sam płyn zabarwi czerwień obojętną na żółto, stężenie jonów wodorowych jest zatem niższe niż 10^{-7}. Zastosowanie indykatorów do przybliżonego określenia stężenia jonów wodorowych opiera się n. p. na następującej tabelce:

Indykator:	Zmienia kolor przy (H).	
Fiolet metylowy	10^{-3}	z stalowo niebieskiego na fioletowy.
Czerwień Kongo	10^{-4}	z niebieskiego na czerwony.
Czerwień metylowa	10^{-5}	z czerwonego na żółty.
Nitrofenol	10^{-6}	z żółtego na bezbarwny.
Czerwień obojętna	$10^{-7.5}$	z czerwonego na żółty.
Naftolftalein	10^{-8}	z bezbarwnego na niebieski.
Fenolftalein	10^{-9}	z bezbarwnego na czerwony.

jeżeli przechodzić od wyższych do niższych stężeń jonów wodorowych.

Jeżeli chcemy za pomocą indykatorów określić stężenie jonów wodorowych dokładniej, to, zorjentowawszy się w przybliżeniu, sporządzamy w sposób wyżej podany szereg płynów o (H) ściśle określonych, a blizkich badanego płynu; dodajemy do tych płynów i do płynu badanego po kropli indykatora, który w tej dziedzinie (H·) barwę zmienia i rozpoznajemy, który płyn przyjmie barwę podobną, jak płyn badany. Ten płyn, który przybierze barwę najbardziej zbliżoną do płynu badanego, ma to samo stężenie jonów wodorowych.

W płynach, które zawierają wielkie ilości białka albo soli, metody tej nie można zastosować!

Zadanie: Sporządzić tak zwane płyny fizjologiczne, mianowicie płyn Ringera, zawierający w 1000 cm^3 6,5 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,2 g $CaCl_2$, 0,1 g $NaHCO_3$; i płyn Tyrode'a, zawierający 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 0,2 g $CaCl_2$, 0,2 g $MgCl_2$ i 1 g $NaHCO_3$. Przy pomocy podanych powyżej mieszanin fosforanów oraz fenolftaleinu, czerwieni obojętnej i naftolftaleinu określić stężenie jonów wodorowych i wodorotlenowych w tych płynach.

b) Bez moderatorów z pomocą wskaźników jednobarwnych (metoda nitrofenolowa Michaelis'a).

Zasada: Stosuje się indykatory, które w płynach kwaśniejszych są bezbarwne, w płynach zasadowych zabarwione, więc fenolftalein, bezbarwny w kwaśnym, czerwony w zasadowym roztworze, nitrofenole, żółte w płynach zasadowych; indykatory te są kwasami, o współczynniku dysocjacji K, K_1, itd. Jeśli wziąć ood uwagę płyny o różnych stężeniach jonowodorowych, zawierających dany indykator, to począwszy od takiego stężenia (H·), w którem cały kwas indykatorowy jest wolny, a zatem jako kwas słaby — niezdysocjowany, a skończywszy na takiem (H·), gdzie całość indykatoru jest

zamieniona w sól, więc zupełnie zdysocjowana na jon barwny, to między stężeniem (H·) a stopniem dysocjacji indykatora istnieje zależność, wyrażona przez równanie:

$$(H^{\cdot}) = K \frac{1 - \alpha}{\alpha},$$

gdzie α oznacza stopień dysocjacji indykatora, t. j. stosunek stężenia jonów barwnych do całości stężenia indykatora. Stosunek ten — przy danem stężeniu całkowitem indykatoru — można oznaczyć z natężenia barwy w danym płynie, można zatem z natężenia barwy oznaczyć stężenie jonów wodorowych (H·) w danym płynie.

Dodając do płynu bezbarwnego, w którym mierzymy stężenie (H·), odmierzoną ilość danego indykatoru, wywołamy dysocjację określonego ułamku indykatoru i odpowiadające stężeniu cząsteczek dysocjowanych zabarwienie płynu. To samo zabarwienie wywołamy, dodając do roztworu zasadowego (np. 1/10 n. Na_2CO_3) mniejszą ilość tegoż indykatoru, który w tych warunkach ulegnie zupełnej dysocjacji: a mianowicie tyle, ażeby stężenie indykatoru w płynie zasadowym równało się stężeniu ułamku, zdysocjowanego w płynie badanym. Dajmy na to, że dodawszy do 10 cm^3 płynu badanego 0·5 cm^3 roztworu indykatorowego otrzymamy takie same zabarwienie, jakie w 10·45 cm^3 roztworu Na_2CO_3 (1/10 n) wywoła 0·05 cm^3 tegoż indykatoru: stopień dysocjacji indykatoru w płynie badanym równa się wtedy

$$\alpha = \frac{0{\cdot}05}{0{\cdot}5} = 0{\cdot}1.$$

Znając współczynnik dysocjacji użytego indykatoru można wstawić α w równanie (1) i obliczyć w ten sposób (H·).

Logarytmując równanie (1) otrzymujemy

$$\log. h = - pH = \log. K + \log. \frac{1-\alpha}{\alpha},$$

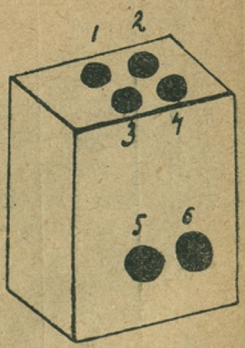
czyli biorąc — log. K = pK

$$pH = pK + \log. \frac{a}{1-a}$$

Charakterystyczne dla poszczególnych indykatorów logarytmy współczynników dysocjacji, wzięte ze znakiem ujemnym (pK) podaje dla różnych temperatur tabl. str. 161; tabl. str. 162 podaje wartość funkcji $\log. \frac{a}{1-a}$ dla różnych wartości a.

Stosujemy następujące indykatory[1]) dla których podajemy zarazem barwę, znak chemiczny, pK, zakres stężenia (H·), do którego pomiarów służą i skład roztworu, w którym je stosujemy.

Do porównywania barw służy komparator kolorymetryczny Walpola, który można sporządzić najprostszymi środkami (por. ryc. str. 157) Otwory w bloku drewnianym 1, 2, 3 i 4 służą do wstawienia probówek, przez przebijające je otwory 5 i 6 można przeglądać poprzez dwie ustawione za sobą probówki, Tylne wyloty otworów 5 i 6 są przesłonięte szybką ze szkła mlecznego i płytką ze szkła jasno-niebieskiego. Klocek jest pokryty na zewnątrz a także wewnątrz wierceń czarną, matową farbą.



Ażeby zmierzyć stężenie (H·) w płynie, który, jak płyny fizjologiczne wogóle, pożywki itp. musi zawierać moderatory oddziaływania, to wybieramy 10 probówek o jednakowej średnicy, odpowiadające otworom komparatoru

[1]) Indykatorów tych dostarcza firma Grüblera w Lipsku.

Nazwa	Określenie chemiczne	Barwa	pK (18°)	Zakres (H·)	Roztwór
β-Dwunitrofenol	1 Oksy-2 6-dwunitrobenzol	żółta	3·69	2 2—4·0	0·1 g w 300 cm³ wody
α-Dwunitrofenol	1 Oksy-2.4-dwunitrobenzol	żółta	4·06	2·8—4·5	0·1 g w 200 cm³ wody
γ-Dwunitrofenol	1 Oksy-2.5-dwunitrobenzol	żółta	5·15	4·0—5·5	0·1 g w 400 cm³ wody
p-Nitrofenol		żółta	7·18	5·2—7 0	0·1 g w 100 cm³ wody
m-Nitrofenol		żółta	8·33	6·7—8·4	0·3 g w 100 cm³ wody
Fenolftalein		czerwona	9 74	8·5—10·5	0·04 g w 30 cm³ alkoholu + 70 cm³ wody

i dajemy do pierwszej 10 cm^3 płynu badanego, do czterech następnych po 9 cm^3 roztworu sody (Na_2CO_3) 1/10 normalnego; do płynu badanego dodajemy 0·5 tego z podanych powyżej indykatorów, który — o czem należy przekonać się poprzednio — przybiera w tym płynie zabarwienie, ale o wiele słabsze niż w węglanie sodowym. Gdybyśmy np. badali płyn Ringera (jak podano na stronie 153), to użylibyśmy jako indykatoru m nitrofenolu. Następnie rozcieńczamy nieco tego samego indykatoru dwudziestokrotnie[1]) i dodajemy z pipetki na 2 cm^3 podzielonej na setne cm^3, do probówek, zawierających węglan sodowy,, kolejno 0·7, 0·83, 1·0, 1·2, 1·44[2]) cm^3 indykatoru rozcieńczonego i dopełniając z takiej samej pipetki sodą 1/10 n do objętości 10·5 cm^3; porównujemy zabarwienie każdej z nich z probówką, zawierającą płyn badany, dopóty, dopóki barwa jednej z probówek porównawczych nie zrówna się z płynem badanym: należy się przekonać, że w szeregu rozcieńczeń indykatoru niższe jest słabiej, wyższe mocniej zabarwione niż te, które uważamy za równe barwą płynowi badanemu

Przy porównywaniu barw należy patrzeć poprzez otwory 5 i 6 ku białej chmurce, albo oświetlonej światłem dziennem białej ścianie. Przy świetle sztucznem nie można porównywać barw żółtych.

Jeżeli płyn badany jest zabarwiony, jak np. mocz, to przedewszystkiem obniżamy natężenie zabarwienia, rozcieńczając płyn 3 do 8-krotnie roztworem soli kuchennej 2%-owym; stężenie ($H^{\cdot}$) nie ulegnie przez to zmianie, gdyż zależy ono w płynach, zawierających moderatory, od stosunku stężenia soli kwaśnych do zasadowych (por. str. 152). Pozatem wy-

---

[1]) Można, oczywiście, użyć także rozcieńczenia 5 lub 10-krotnego.

[2]) T. zn. tak, że każda probówka zawiera o 20% barwniku więcej, niż poprzedzająca.

kluczamy wpływ barwy własnej lub mętności płynu w komparatorze Walpola. Badając np. mocz, wstawiamy w otwór **1** płyn badany (ew. rozcieńczony) bez indykatoru; w otwór 3 płyn porównawczy z indykatorem; w otwór **2** płyn badany z indykatorem, w otwór **4** probówkę z wodą czystą: w taki sposób porównujemy barwę indykatora w płynie porównawczym + barwa, męty i woda płynu badanego, z barwą indykatora w płynie badanym + jego barwa własna i męty, + warstwa wody.

Dajmy na to, że w temperaturze 18^0 trzeba było do sody dodać 1 cm^3 roztworu m-nitrofenolu, rozcieńczonego dwudziestokrotnie, ażeby otrzymać takie same zabarwienie, jakie w płynie badanym wywołało 0·5 cm^3 roztworu indykatorowego pierwotnego: mamy wtedy

$$a = \frac{1}{20} : \frac{1}{2} = 0{\cdot}1.$$

Z tablicy str. 161 odczytujemy dla m-nitrofenolu pK = 8·33; z tablicy str. 162 dla $a = 0{\cdot}10$ wartość $\log. \frac{a}{1-a} = -0{\cdot}95$; mamy zatem

$$pH = pK + \log \frac{a}{1-a} = 8{\cdot}33 - 0{\cdot}95 = 7{\cdot}38.$$

A zatem stężenie jonów wodorowych równa się $(H^{\cdot}) = 10^{-7{\cdot}38}$ por. str. 152.

XXVIII. Oznaczenie kwasowości soku żołądkowego.

Przez miareczkowanie soku żołądkowego można dać — w przybliżeniu — odpowiedzi na dwa pytania:

1. Ile sok zawiera kwasu solnego wolnego i jak wielkie

jest — zależnie od stężenia wolnego, nie związanego z białkiem, albumozami — stężenie jonów wodorowych.

2. Wiele kwasu solnego żołądek wogóle wydzielił?

Pytanie pierwsze rozstrzygnąć z pomocą metody nitrofenolowej, podanej pod XXVII. b, str. 155; następnie wykonać miareczkowanie w sposób następujący:

Temperatura	pK β-Dwunitrofenolu	pK α-Dwunitrofenolu	pK γ-Dwunitrofenolu	pK p Nitrofenolu	pK m-Nitrofenolu
10°	3·74	4·10	5·18	7·27	8·39
15°	3·71	4 08	5·17	7·22	8·35
18°	3·69	4·06	5·15	7·18	8·33
20°	3·68	4·05	5·14	7·16	8·31
25°	3·65	4·02	5 11	7·10	8·27
30°	3 62	3·99	5·09	7·04	8·22
35°	3·59	3·96	5·07	6·98	8·18
40°	3·56	3·93	5·04	6·93	8·15

10 cm³ soku żołądkowego przesączonego zadać w miseczce porcelanowej dwiema kroplami roztworu alkoholowego (0·1%) dwumetylaminoazobenzolu i dwiema kroplami roztworu fenolftaleinu. Miareczkować różowy płyn wodorotlenkiem sodowym 1/10 normalnym dopóty, dopóki barwa płynu nie stanie się żółtawą — „łososiową"; (dla lepszego zdawania sobie sprawy ze zmiany barwy zatrzymać próbkę płynu kwaśnego z indykatorem, jako kontrolę!). Zapisać zużycie

a	$\log\frac{a}{1-a}$	a	$\log\frac{a}{1-a}$	a	$\log\frac{a}{1-a}$	a	$\log\frac{a}{1-a}$
0·001	— 3·00	0·01	— 2·00	0·10	— 0·95	0·55	+ 0·10
0·0012	— 2·91	0·012	— 1·90	0·12	— 0·85	0·60	+ 0·20
0·0014	— 2·85	0·015	— 1·81	0·14	— 0·79	0·65	+ 0·28
0·0016	— 2·80	0·025	— 1·60	0·16	— 0·71	0·70	+ 0·38
0·0018	— 2·75	0 03	— 1·51	0·18	— 0·65	0·75	+ 0·49
0 002	— 2·69	0 04	— 1·38	0·20	— 0·59	0·80	+ 0·60
0·003	— 2·52	0·05	— 1·28	0·25	— 0 47		
0·004	— 2·40	0·06	— 1·20	0·30	— 0·37		
0·005	— 2·30	0·07	— 1·12	0·35	— 0·25		
0·006	— 2·22	0·08	— 1·06	0·40	— 0·18		
0·007	— 2·15	0·09	— 1·00	0·50	— 0·00		
0·008	— 2 07						

sody żrącej do tego punktu (1). Miareczkować dalej, aż barwa będzie czysto żółta i dalsza kropelka zasady (której się nie liczy!) nie wywoła zmiany odcienia; zapisać zużycie do tego punktu (2). Wreszcie miareczkować dopóty, dopóki nie wystąpi czerwona barwa fenolftaleinu zasadowego (punkt (3).

Wyniki: Zużycie zasady ($\frac{1}{10}$ n) do zmiany barwy dwumetyloaminoazobenzolu na łososiową podaje zawartość kwasu solnego wolnego w cm^3 kwasu 1/10 n; zawartość kwasu solnego całkowitego (więc sumy wolnego i związanego z białkami, albumozami itp. nie z jonami zasad mocnych) leży pośrodku między wartością, odczytaną w punkcie (2) (zupełnie żółty odcień dwumetyloaminoazobenzolu), a odczytaną w punkcie (3) (zaróżowienie fenolftaleinu). Jeśli n. p, do punktu (1) zużyto 3 cm^3 NaOH 1/10 n, do punktu (2) 6 cm^3, do punktu (3) 3 cm^3, to zawartość w 100 cm^3 soku żołądkowego wynosi dla

kwasu solnego	wolnego:	30
„ „	całkowitego:	70
„ „	związanego:	40.

Stężenie jonów wodorowych — miarodajne dla działania pepsyny — wynika (w przybliżeniu) z zawartości kwasu solnego wolnego: w przytoczonym przypadku sok żołądkowy jest ze względu na kwas 3/100 normalny, a zatem stężenie jonów wodorowych ma tę samą normalność; wynosi $(H^{\cdot}) = 3.10^{-2}$, a zatem pH = 1.48.

XXIX. Oznaczenie barwniku żółciowego (bilirubiny) w surowicy krwi.

1. Zasada: Roztwór bilirubiny daje z kwasem dwuazobenzosulfonowym (dwuazowanym kwasem sulfanilowym, por. I 39 str. 45) mocne zabarwienie czerwone, z którego natężenia można ocenić zawartość bilirubiny w płynie badanym.

2. Płyn porównawczy: zamiast roztworu bilirubiny, zawierającego 5 mg czystej bilirubiny w 100 cm^3 chloroformu, stosujemy roztwór rodanku żelazowego w eterze, roztwór, mający barwę podobną do azobilirubiny. Rozpuścić 0·1508 g czystego ałunu żelazowo-amonowego w 50 cm^3 H·Cl' stężonego i rozcieńczyć wodą do 100 cm^3, roztwór ten jonu żelazowego 1/320 n przechować (Roztwór A). 10 cm^3 roztworu A zmieszać z 25 cm^3 HCl stężonego i rozcieńczyć do 250 cm^3 wodą; roztwór 1/800 normalny (B). Do 3 cm^3 tego płynu dodać 3 cm^3 roztworu 10%-owego siarkocjanku potasowego (czystego, bezbarwnego), oraz 12 cm^3 eteru: wytrząść, zlać zabarwioną warstwę eterową z bezbarwnej, wodnej: natychmiast, unikając zgęszczenia przez ulotnienie się eteru, wlać do klina kolorymetru i zatkać.

3. Wykonanie: do rurki wirówkowej, mieszczącej około 5 cm^3, a podzielonej na 1/10 cm^3, odmierzyć pipetą 0·5 cm^3 surowicy, dodać 1 cm^3 alkoholu (96%) (tj. do objętności 1·42 cm^3) wymieszać, odwirować; zdjąć pipetą 1 cm^3 płynu i wlać do drugiej rurki wirowkowej: dodać 0·25 cm^3 odczynniku Ehrlicha [1]), wymieszać, po chwili dodać 0·5 cm^3 alkoholu. Ewentualnie szybko odwirować męty, przenieść do naczyńka kolorymetru, porównać z płynem podstawowym zawartym w klinie.

Obliczenie: Roztwór eterowy siarkocjanku żelazowego $\frac{1}{32000}$ n odpowiada barwą azobilirubiny w roztworze alkoholowym, zawierającym na 200000 cm^3 1 g bilirubiny.

0·5 cm^3 surowicy rozcieńczone alkoholem do 10/7 cm^3, a zatem rozcieńczono surowicę 20/7 razy; 1 cm^3 płynu kla-

---

[1]) a) 1 g kwasu sulfanilowego, 15 cm^3 HCl stężonego, rozpuścić do 900 cm^3.

(b) 1 g azotynu sodowego ($NaNO_2$) w 1 l wody. Zmieszać przed użyciem 9 cm^3 odczynniku (a) z 1 cm^3 odczynniku (b).

rownego rozcieńczono alkoholem i odczynnikiem na 1 75, więc 7/4 razy: wogóle rozcieńczono zatem surowicę 20/7 × × 7/4 razy, a więc pięciokrotnie. Jeśli znajdziemy, że roztwór azobilirubiny posiada natężenie barwy, odpowiadające n% płynu porównawczego, to surowica badana zawiera 5 × n g bilirubiny na 200000 cm^3.

Jeżeli roztwór azobilirubiny, otrzymany, jak powyżej, ma barwę mocniejszą, aniżeli płyn w klinie, to należy powtórzyć oznaczenie, rozcieńczywszy surowicę równą objętością wody i uwzględnić rozcieńczenie przy obliczeniu.

Normalna surowica ludzka zawiera 1 g bilirubiny na $2{\cdot}5 \,.\, 10^5 — 4.10^5$ cm^3.

XXX. Przemiana materji zwierzęca. (Przemiana związków azotowych).

Umieszczamy królika (samca) w klatce specjalnej, która umożliwia dokładne zbieranie kału i moczu: przez kratę dna spadający kał zatrzymuje się na leżącej pod nią siatce, mocz przecieka do jeszcze niższej szufladki, z której ukośnego dna ścieka do podstawionej flaszki. Obserwator zamyka klatkę na klucz.

Prowadzimy dokładny bilans związków azotowych spożytych i wydalonych przez zwierzę. W tym celu analizujemy i ważymy pokarm spozyty, kał i mocz wydalony; określamy ilość ogólną i zawartość azotu, ew. także w moczu rodzaj związków azotowych; określamy wtedy codziennie ilość amoniaku, kwasu moczowego, aminokwasów, kreatyniny.

Rozpoczynamy doświadczenie przez okres głodowy: przez trzy albo cztery dni dajemy zwierzęciu tylko wodę, codziennie określamy wagę zwierzęcia, ilość moczu i kału, oraz ilość wydalonego azotu. W doświadczeniach ścisłych

wydobywamy mocz z pęcherza kateterem. Zaobserwować przebieg wydalania głodowego azotu aż do t. zw. przedśmiertnego zwiększenia wydalania, następnie przerwać głodzenie.

Po okresie głodowym karmimy królika brukwią albo kartoflami, dodając do tego owsa albo jęczmienia: ilość pokarmu dokładnie ważymy, ew. także ilość pozostawioną albo rozrzuconą przez zwierzę. Jeżeli karmimy pokarmem, którego zapas wystarczy na cały okres doświadczenia, to wystarczy jednorazowo stwierdzić zawartość azotu.

Doprowadzić zwierzę do wagi, którą miało przed okresem głodowym i ułożyć bilans azotowy z całego okresu doświadczenia.

Odczynniki.

1. Uwagi niniejsze są przeznaczone dla urządzających ćwiczenia z chemji lekarskiej, dla uczniów, albo dla tych, którzy samodzielnie tę lub ową część kursu praktycznego przerabiają. Zdobycie potrzebnych materjałów nie jest dziś rzeczą tak prostą, jak dawniej, i garść wskazówek i doświadczeń nie będzie może rzeczą bezużyteczną.

Rękojmię względnej czystości odczynników daje naogół nazwa jednej z wielkich fabryk, trudniących się wyrobem preparatów chemicznych do celów pracownianych: Kahlbaum w Adlershof pod Berlinem (zastępca A. Czerniaków, Warszawa, Wspólna 56), E. Merck w Darmstadtcie (Zastępca P. Mikolasch we Lwowie, ul. Kopernika, oraz Kamieński, Warszawa, Tłomackie), De Haën w Hannowerze (zast. Chemotechnika, Kraków, Rynek 39), Grübler w Dreznie. O ile nie podajemy innych źródeł, to mamy na myśli preparaty wedle katalogów chemikaljów tych firm. W ostatnich latach wybiły się fabryki chemikaljów amerykańskie, które dostar-

czają preparatów pierwszorzędnej jakości, w szczególności zwracamy uwagę, że niektórych „rzadkich“ cukrów i aminokwasów, których wymienione fabryki niemieckie albo nie wyrabiają wcale, albo na szczególne zamówienie, dostarczają w największym stopniu czystości firmy: *Special chemicals Company*, Highland Park, Ill.; (cukry. aminokwasy) oraz Eastman Kodak Company, Rochester. N. Y.

Przepisy dla sporządzenia wielkiej liczby (około 230) preparatów (odczynników) zawiera znakomita „Preparatyka chemiczna organiczna“ Pawlewskiego. (Lwów 1908).

2. Zwykłe odczynniki „stołowe“ stosujemy w składzie takim samym, jak przy ćwiczeniach z chemji analitycznej: por. Schramm-Brunner.

3. 2. 1. 1. Alkohol 96%-owy, rektyfikowany; KHS roztwór 20%.

2. Alkohol metylowy: Fabryki chemiczne Grodzisk.

3. b) Roztwór aldehidu 20%-owy h) nitroprusydek w kryształkach, roztwór nietrwały.

5. Kwas octowy lodowaty: Fabryki chemiczne Grodzisk.

7. Aceton: Fabryki chemiczne Grodzisk.

8. Roztwór soli potasowej kwasu acetooctowego: 13 g kupnego acetooctanu etylowego rozpuścić w zimnym roztworze 12 g KOH w 300 cm^3 wody; pozostawić przez noc; następnie zobojętnić kwasem solnym, chłodząc, aż do słabo kwaśnego oddziaływania wobec lakmusu.

9. Kwas β oksymasłowy od Mercka; ew. z moczu chorych na ciężką cukrzycę. Na 1 l moczu dodać 400 g $(NH_4)_2SO_4$ i wyciągać przez 3 doby w automatycznych przyrządach płyn, zakwaszony 20 cm^3 H_2SO_4, zapomocą eteru. usunąć przez wstrząsanie z kilku cm^3 wody kwasy mineralne, przesączyć, odparować eter, do pozostałości dodać 100 cm^3 wody, odsączyć od wykrystalizowanego kwasu hipurowego, przesącz

gotować dla odpędzenia lotnych kwasów tłuszczowych, pozostałość zobojętnić sodą, odbarwić węglem, odparować wodę, pozostałość, tj. β-oksymaślan sodowy wykrystalizować z alkoholu absolutnego.

20. W braku czystej arabinozy: 1 kg gumy czereśniowej gotować z 8 l H_2SO_4 2% owego, zobojętnić nasyconą, gorącą wodą barytową, zagęścić, strącić alkoholem nierozłożoną gumę, zagęścić do syropu i rozpuścić gęsty syrop w wrącym alkoholu. Zagęścić, wykrystalizować arabinozę przez b. długie pozostawienie w chłodni, albo użyć roztworu (zanieczyszczonego galaktozą) do ćwiczeń.

23. Kwas glukuronowy: 2 g mentolu rozpuścić w ciepłym alkoholu, dodać 20 cm^3 letniej wody, przez wstrząsanie zemulsjonować i codziennie podawać królikowi sondę żołądkową. Zbierany przez tydzień mocz zakwasić rozcieńczonym H_2SO_4, zadać czwartą częścią objętości eteru i równą objętością alkoholu 98% i przez 4 godziny wstrząsać na maszynie. Przesączony wyciąg eterowy zadać stężonym amoniakiem aż do wyraźnie zasadowego oddziaływania, wykrystalizować (ew. po dodaniu stężonego amoniaku) sole amonowe, przemyć niewielką ilością wody; zostawić na powietrzu, rozpuścić z małej ilości gorącej wody, strącić octanem ołowiawym; przemyty osad rozłożyć w letniej temperaturze siarkowodorem i odparować. Otrzymany czysty kwas mentologlukuronowy gotować z rozcieńczonym H_2SO_4. Mentol wyciągnąć eterem. Otrzymujemy czysty kwas glukuronowy w roztworze.

26. Glikogen: por. str. 93. Ew. karmić królika obficie pokarmem skrobjastym przez dni kilka, zabić nagle uderzeniem w kark i natychmiast przerobić wątrobę na glikogen. Także kupny u Mercka.

27. 28. Cholina obecnie kupna; lecytyna: Kahlbauma. Ew. sporządzić z mózgu: por. Parnas, Chemja Fizjologiczna T. I. (1922) str. 412, 413.

30. Glikokol: preparat kupny, albo też por. *Pawlewski, Preparatyka organiczna* str. 159 (102).

Aminokwasy: Leucyna, feniloalanina, tyrozyna, por. *Fischer Anleitung z. Darstellung organischer Praeparate.*

33. Cystyna: Gotować na łaźni piaskowej przez 4 godziny 500 g włosów ludzkich z 1500 cm^3 HCl (c. g 1·19) w kolbie 5-litrowej, po oziębieniu zadać stężoną sodą żrącą do słabokwaśnego oddziaływania. Dodawać kilkakrotnie sporo węgla zwierzęcego, gotować przez 3 kwadranse i na gorąco przesączyć. Po oziębieniu wykrystalizuje się cystyna, tyrozyna i leucyna. Po 12 godzinach odsączyć pompą, wymyć wodą. Wykrystalizowany osad rozpuścić w 1 l gorącego 10% amoniaku, oziębić lodem i przez sączenie uwolnić od tyrozyny; ostrożnie dodawać kwasu octowego lodowatego tak, by oddziaływanie było jednak wyraźnie zasadowe. Powstały osad składa się z kryształków tyrozyny. Odsączyć pompą, przesącz zadać kwasem octowym lodowatym, płyn zostaje jasny aż do kwaśnego oddziaływania, wtedy wypada osad cystyny. Po 24 godzinach przesączyć pompą, wymyć wodą, potem alkoholem, a wreszcie eterem usunąć alkohol.

34. Chitozamina: Dobrze oczyszczone skorupy i szczypce raków moczyć przez 24 godzin w zimnym rozcieńczonym HCl; oczyścić. 100 g tak oczyszczonego materjału zalać w misce porcelanowej dymiącym HCl i ogrzać na łaźni piaskowej do słabego wrzenia. Chityna roztwarza się. Odparować, aż wypadnie krystaliczna sól chlorowodorowa chitozaminy, oziębić, przesączyć przez muślin, przemyć zimnym HCl. Rozpuścić sól w zimnej wodzie i odparowywać do powtórnej krystalizacji.

35. Cerebron: Proszek mózgowy, z ktorego benzyną wyciągnięto lecytynę i kefalinę, wyciągać wrącym alkoholem etylowym, po odsączeniu na gorąco i ochłodzeniu wykrystali-

zują się galaktolipiny (cerebron, frenozyna), których już można użyć do podanych odczynów.

36. g) Ksanthydrol: Z ksantonu; 100 g kupnego salolu ogrzewać słabym płomieniem przez 6 godzin; oddestyluje fenol; ogrzewać do temperatury 356—360° C. Destylat zawiera ksanton zanieczyszczony. Dla otrzymania czystego preparatu wykrystalizować z alkoholu.

10 g ksantonu z 40 g NaOH i 400 cm^3 alkoholu etylowego gotować pod chłodnicą zwrotną, w ciągu dnia dodawać małemi porcjami sproszkowanego cynku; ksanthydrol strącić przez dodanie wody, wykrystalizować z ligroiny.

40. Odczynnik Millona: por. uwaga 1 str. 67.

43. Adrenalina: preparat kupny (Höchst Richter).

53. Cholesteryn: por. Parnas, Chemja fizjologiczna, I str. 432.

54. Kwas cholowy: 5 kg żółci bydlęcej, 1 kg NaOH 30%, gotować w garnku żelaznym 30 godzin, dopełniając ubywającej wody; dodać 5 l wody i strącić kwasy przez zakwaszenie HCl. Lepką masę wymiesić wodą dla usunięcia HCl, wodę zlać; masę osuszyć na łaźni wodnej, sproszkować. Otrzymane tak kwasy surowe rozetrzeć z podwójną wagą atkoholu 96%. Nierozpuszczony kwas cholowy odsączyć i wykrystalizować dwa razy z gorącego alkoholu. Otrzymuje się czysty kwas cholowy. Do pierwszego roztworu alkoholowego dodać następny, dodać nadmiar bardzo stężonego NaOH i ogrzewać całość przez 2 godziny na łaźni. Wydzielony cholan sodowy odsączyć, wymyć gorącym alkoholem.

58. W braku tryptofanu czystego: rozpuścić sernik w 0·3% roztworu węglanu sodowego dodać trypsyny (handlowej) i toluolu, wstawić do cieplarki (40°) na 3—5 dni: przesączyć, przesącz zakwasić słabo kwasem solnym rozcieńczonym i używać do ćwiczeń.

59. Wykonać próby na moczu końskim, odbarwionym

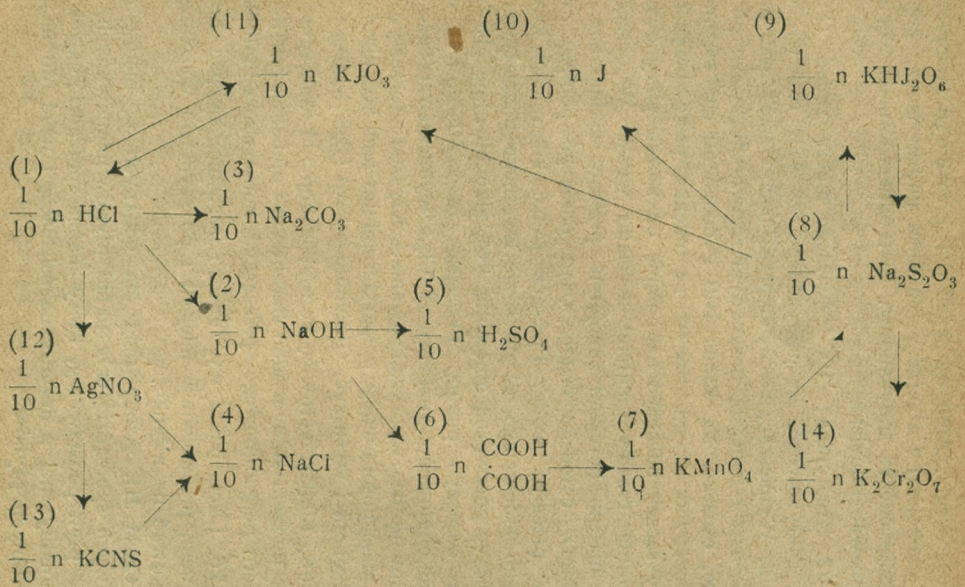
zapomocą węgla. Albo też zażyć 0·1 g indolu (w opłatku, popić alkoholem) i zbierać przez kilka godzin mocz, dopóki mocz daje odczyn indykanowy. Ew. odbarwić mocz węglem, konserwować toluolem.

62. Kreatynina: 10 l świeżego moczu zadać 180 g kwasu pikrynowego, rozpuszczonego w 450 cm^3 wrącego alkoholu. Wymieszać, zostawić przez noc. Odlać; osad przemyć na nuczy zimnym, nasyconym roztworem kwasu pikrynowego, osuszyć. Na każde 100 g dodać 60 cm^3 stężonego HCl, rozetrzeć w moździerzu na miękką pastę, przez hartowany sączek odsączyć na pompie od kwasu pikrynowego, dwukrotnie przemyć małemi ilościami wody. W obszernej kolbie małemi porcjami zobojętnić przesącz nadmiarem stałego MgO, chłodząc ciągle. Osad odsączyć pompą, dwukrotnie przemyć wodą. Przesącz zadać kilku cm^3 kwasu octowego lodowatego aż do silnie kwaśnego oddziaływania, rozcieńczyć poczwórną objętością 96% alkoholu; po 15 minutach odsączyć pompą. Przesącz zadać 30 do 40 cm^3 30% alkoholowego roztworu $ZnCl_2$, wymieszać i zostawić w lodowni do wykrystalizowania. Kryształy przemyć na nuczy małą ilością wody, potem dużemi ilościami 50% alkoholu, 96% alkoholu i wysuszyć. Otrzymujemy sól $(C_4H_7N_3O)_2ZnCl_2$.

66. Białko: surowicę końską zobojętnić dokładnie na lakmus kwasem solnym albo siarkowym i djalizować w kiszce z papieru pergaminowego, przesączyć, konserwować toluolem.

76. Liście pokrzywy, świeżo zerwane, usypać luźnie w ciepłem, przewiewnem miejscu i po szybkiem wyschnięciu sproszkować na młynku.

Część III. Ażeby móc dla podanych tu metod miareczkowych sporządzić cały układ płynów mianowanych, podajemy płyn podstawowy, który można sporządzić nawet bez wagi analitycznej z dostateczną ścisłością i użyć do mianowania innych płynów:


(11) 1/10 n KJO3
(10) 1/10 n J
(9) 1/10 n KHJ2O6
(1) 1/10 n HCl
(3) 1/10 n Na2CO3
(8) 1/10 n Na2S2O3
(2) 1/10 n NaOH
(5) 1/10 n H2SO4
(12) 1/10 n AgNO3
(4) 1/10 n NaCl
(6) 1/10 n COOH COOH
(7) 1/10 n KMnO4
(14) 1/10 n K2Cr2O7
(13) 1/10 n KCNS

Do 1 l kwasu solnego stężonego (38—39%) dodać 1 l wody i destylować: pierwszy litr przekropu odrzucić, następne 500 cm³ zebrać; destylować ponownie, zbierając po odrzuceniu pierwszych 100 cm³, następne 250 cm³. Zapisać stan barometryczny. Ażeby otrzymać roztwór kwasu 1 n, należy odmierzyć i rozcieńczyć wodą do 1 litra, jeżeli ciśnienie barometryczne podczas destylowania wynosiło:

750 mm	760 mm	770 mm H,
179·96 g	180·17 g	180·39 g, albo
	164·42 cm³	

kwasu przedestylowanego, który do 768—Hg zawiera dokładnie 20·242% HCl.

Z roztworu 1 n sporządzić 1/10 normalny i zapomocą tego roztworu zmianować wedle zasad podanych w podręcznikach analizy (np. Treadwell'a) i według schematu tu podanego inne płyny, służące do analizy miareczkowej. Zwracamy uwagę na to, że płyny (1), (9) i (11) są trwalsze i mogą służyć do kontroli innych, natomiast lnne wymagają od czasu do czasu sprawdzenia.

III. IX. (str. 115). Por. str. 171, 1·61 g soli chlorocynkowej odpowiada 1 g kreatyniny.

III. XVII. (str. 124). Fasola sojowa: Jeśli trudno dostać w kraju, dostarcza: Vereinigte Fabriken für Lab. Bedarf, Berlin, N. Scharnhorststr., oraz The Arlington Chem. Co. (Boston). Permutytu: De Haën, Hanower. str. 128: Roztwór podst. kreatyniny: 1·61 g soli chlorocynkowej (według str. 171) w 1 l HCl 1/10 n. Z tego roztworu wziąć 6 cm³, dodać 100 cm³ 1/10 n. KCl, kilka kropli toluolu, wody do 1 l. 5 cm³ = 0·03 g kreatyniny.

Oczyszczenie soli chlorocynkowej: Do surowej (jak na str. 171) soli dodać 10 razy tyle wody, oraz pięciokrotną objętość kwasu siarkowego normalnego, i gotować z 4 g węgla

zwierzęcego, odsączyć na gorąco, do klarownego przesączu dodać 3 g $ZnCl_2$, oraz 7 g octanu potasowego. Po 10 minutach dodać podwójną (ze względu na roztwór) objętość alkoholu, w chłodzie pozwolić wykrystalizować się, odsączyć, wymyć, osuszyć.

III. XXVII. Str. 153. Nr. 1 i 2. Z 1/3 cząsteczkowego roztworu kwasu fosforowego (Kahlbauma) (sprawdzić zawartość analizą wagową, jeśli chodzi o dużą ścisłość!) przez dodanie jednej, wzgl. dwu objętości wodorotlenku sodowego normalnego.

Str. 154. Indykatory: Kahlbaum; Grübler; Szczególnie: La Motte Chemical Prod. Co. Baltimore, 13 W. Saratoga St. Tamże gotowe roztwory moderatorów.

SKOROWIDZ.

(Liczby oznaczają strony).

WSKAZÓWKI I OBJAŚNIENIA

DO

ĆWICZEŃ Z CHEMJI LEKARSKIEJ

(KURS UNIWERSYTETU WARSZAWSKIEGO)

UŁOŻYŁ

I. K. PARNAS.

NAKŁAD GEBETHNERA I WOLFFA
WARSZAWA — LUBLIN — ŁÓDŹ
KRAKÓW — G. GEBETHNER I SPÓŁKA.

Druk Rubieszewskiego i Wrotnowskiego w Warszawie.

SPIS RZECZY.

Część II.

Ćwiczenia fizjologiczno chemiczne.

Część III
Metody ilościowe.

PRZEDMOWA.

Ćwiczenia z chemji lekarskiej mają za zadanie praktyczne obznajmienie słuchaczów medycyny z najważniejszemi własnościami chemicznemi i fizycznemi tych związków, z którymi spotykają się oni w fizjologji chemicznej, w medycynie wewnętrznej i farmakologji, oraz z najważniejszymi odczynami rozpoznawczymi. Warunki, w jakich odbywają się te ćwiczenia, wymagają pewnego kompromisu między tem, co się uważa za godne życzenia, a tem, co da się osiągnąć w wyborze materjału i zakresie tych ćwiczeń.

Kierunek chemiczny w fizjologji normalnej i patologicznej rozwinął się potężnie: nauki te rozwijają się coraz bardziej w kierunku chemicznym; coraz głębsza i szersza znajomość chemji i chemji fizjologicznej jest potrzebną dla zrozumienia tych nauk, tem bardziej dla współpracy w ich rozwoju. Można bez przesady powiedzieć, że to, czego się student chemji w ciągu czteroletnich studjów nauczy, jest raczej niedostatecznem niż nadmiernem przygotowaniem podstawowem do

zrozumienia i opanowania fizjologji i patologji chemicznej.

Studja medyków są tak ułożone, że na kursa praktyczne z chemji przypada dla ogółu studentów tylko jedno lub dwa popołudnia tygodniowo w półroczu drugiem, na ćwiczenia z chemji lekarskiej co najwyżej tyleż w półroczu czwartem. Ćwiczenia muszą być tak ułożone, ażeby w tym krótkim czasie słuchacz mógł się zapoznać z ogólnemi prawami chemicznemi i z chemją nieorganiczną, z chemją organiczną i lekarską. Zastosowanie chemji do celów rozpoznawczych (chemiczne metody badań klinicznych) stanowią dział osobny, aczkolwiek blizko spokrewniony, a należący do propedeutyki klinicznej. Trudności, związane z obznajmieniem słuchaczów w krótkim czasie z olbrzymim materjałem tak zwanej chemji lekarskiej, mogą być spotęgowane przez wielki napływ młodzieży: brak miejsca i konieczność odbywania ćwiczeń grupami. Uważam jednak za bezwarunkowo konieczne, ażeby każdy słuchacz przerabiał wszystkie ćwiczenia sam; przy dzieleniu studentów na grupy, które wspólnie mają wykonywać poszczególne zadania, widzi się prawie zawsze, że część do zadania prawie zupełnie ręki nie przykłada i prawie nie przyjmuje do wiadomości tego, co jeden lub dwuch z grupy wykonuje. Ze względu na to dajemy każdemu studentowi możność przerobienia wszystkich ćwiczeń na własną rękę. Wobec tego zmuszeni jesteśmy dobrać ćwiczenia tak, aby wystarczały utensylja jak najprostsze; każdy student otrzymuje tuzin probówek, parowniczkę,

lejek, tryskawkę, moździerzyk, zlewkę, pałeczki szklane i pipetki; wszystkie odczyny wykonujemy w probówkach lub parowniczkach.

Wybór ćwiczeń w kursach chemji fizjologicznej, lub tak zwanej lekarskiej bywa bardzo rozmaity i najczęściej uwydatnia szczególnie kierunek preparatywny lub analityczny (Abderhalden, Salkowski); przeprowadzenie takich ćwiczeń dla ogółu studentów jest niemożliwem, gdyż wymagałoby całodziennych lub conajmniej półdziennych codziennych ćwiczeń w ciągu jednego półrocza; przeznaczamy takie ćwiczenia dla tych słuchaczów, którzy przedmiotem bardziej się interesują i poświęcają mu przez dłuższy okres czasu wolne godziny. W III części tej książki zebrane są niektóre metody fizjologiczno-chemiczne dla tych właśnie studentów. Natomiast nie można myśleć nawet o tem, ażeby kilkuset słuchaczów, pracujących w ciągu jednego semestru letniego przez jedno popołudnie tygodniowo, nauczyć choćby tylko wykonywania metody Kjeldahla. Dla tego ogółu słuchaczów jest przeznaczony kurs (część I i II Wskazówek), obejmujący wyłącznie próby jakościowe. Taki układ ćwiczeń, wprowadzony pierwotnie w pracowni fizjologiczno-chemicznej w Strassburgu, może być z wielką korzyścią dla studenta, przerabiającego ćwiczenia uważnie i starannie, zastanawiającego się nad tem, co robi; pozwala mu zaznajomić się z bardzo wielką ilością związków, większą niemal niż ta, z którą słuchacz chemji w ciągu zajęć w pracowni organicznej zwykle się zapoznaje. Wykluczamy zu-

pełnie kierunek techniczny nauczania, ograniczamy się wyłącznie do poznawania własności badanych substancji.

Przy układaniu niniejszej książki korzystałem z „Wskazówek dla praktyczno-chemicznego nauczania studentów medycyny“ F. Hofmeistra. Przejąłem z tej książki przedewszystkiem układ, którego myślą przewodnią jest, ażeby pracujący kilkakrotnie z tymi samymi odczynami się spotykał, np. raz z aminokwasami wolnymi, potem z aminokwasami w produktach trawienia i t. p. Większą część przepisów również z zestawienia Hofmeistra przejąłem. Ze względu na to, że w języku polskim brak podręcznika chemji fizjologicznej, uważałem za stosowne uzupełnić wskazówki objaśnieniami, które mają na celu tym, którzy z przedmiotem na podstawie przesłuchanych wykładów z chemji organicznej i fizjologicznej są już obznajmieni, przypomnieć nabyte już przez nich wiadomości. Rozszerzyłem też znacznie część, zajmującą się analizą ilościową, przeznaczając ją dla słuchaczów zaawansowanych; zbytnie rozszerzanie tej części uważałem za niepotrzebne, gdyż posiadamy obecnie w języku polskim podręcznik do badań fizjologiczno-chemicznych Leona Marchlewskiego.

W sprawie techniki urządzania tych ćwiczeń. Słuchacze są podzieleni na grupy, pracujące w poszczególnych dniach tygodnia; studenci, należący do jednej grupy, przerabiają jednocześnie te same ćwiczenia. Materjały i odczynniki są przygotowane i rozstawione na

stołach przez okres czasu, w ciągu którego, według ułożonego planu zajęć, wszystkie grupy winny dane ćwiczenia przerobić. Przez przygotowanie odczynników osiąga się to, że w krótkim czasie wielka ilość prób może być wykonaną. Całość ćwiczeń, opisanych w I i II części Wskazówek może być przerobioną gruntownie w ciągu 10 trzygodzinnych ćwiczeń. Jako personel nauczający 100 studentów, jednocześnie pracujących, funkcjonuje kierownik, 2 asystentów i 4 demonstratorów. Wobec trudności, na jakie napotyka obecnie zaopatrzenie pracowni w pewne materjały i naturalnej tendencji do marnowania ich u początkujących, wprowadziliśmy taki sposób wydawania odczynników rzadszych i kosztowniejszych, przy którym służba zakładowa ze stołów ustawionych w salach pracownianych wydziela pracownikom potrzebne do wykonywania odczynów ilości odczynników. W ten sposób można przeprowadzić opisane tu ćwiczenia nawet wtedy, jeżeli się rozporządza bardzo małemi ilościami odczynników; np. 10 gr. arabinozy wystarcza, ażeby 500 uczestników kursu przerobiło po 10 rozmaitych prób na arabinozę.

Panu studentowi medycyny D. Wyszogrodowi dziękuję serdecznie za pomoc w ułożeniu tych wskazówek; również panu asystentowi Dr. Zygmuntowi Koehlerowi za cenną pomoc przy korekcie.

Uwagi wstępne.

Odczyny wykonujemy w probówkach, które można ogrzewać bezpośrednio na płomieniu gazowym.

Przy ogrzewaniu trzeba probówkę poruszać lub potrząsać nią. Czystość probówki jest pierwszym warunkiem udawania się odczynów. Na palniki należy uważać; w razie przeskoczenia płomienia do wnętrza rury, natychmiast zgasić, pozwolić palnikowi ostygnąć, potem ponownie zapalić, regulując dopływ powietrza tak, aby bezbarwny płomień spokojnie się palił. Wszystkie przepisy, podane we wskazówkach, są wypróbowane i muszą się udawać, jeżeli pracujący ściśle do przepisów się stosują. Najczęściej popełnianym błędem jest używanie niewłaściwych, zwłaszcza nadmiernych, ilości odczynników. Przy wykonywaniu odczynów należy powoli dodawać tego odczynnika, który reakcję ostatecznie wywołuje, aby rozpoczynając od najniższych stężeń, módz obserwować stopniowe występowanie i wzmacnianie się reakcji; wszędzie gdzie odczynnik musi być odrazu dodany lub mieszanina reagujących ciał szybko ogrzany jest to zaznaczone w przepisie. Jak najczęściej należy posługiwać się próbami ślepemi, które umożliwiają często zauważenie charakterystycznych cech reakcji. Jeżeli reakcja się nie udaje, należy przedewszystkiem przekonać się, czy się użyło właściwych odczynników (pomyłki zachodzą bardzo często!), ewentualnie sprawdzić odczynniki; nigdy nie należy odkładać próby, lecz raczej zwrócić się z zapytaniem do personelu nauczającego. Błędy, robione przy wykonywaniu poszczególnych reakcji są tak jednostajne, że najczęściej odrazu można objaśnić, na czem polegają. Wykonywanie reakcji bez

WSKAZÓWKI I OBJAŚNIENIA

DO

ĆWICZEŃ Z CHEMJI LEKARSKIEJ

zastanawiania się nad niemi jest rzeczą zupełnie bezużyteczną: przed wykonaniem każdej reakcji należy zastanowić się nad nią i nad własnościami użytych do niej odczynników. Te reakcje, których chemiczna natura jest znaną, są objaśnione w tekście niniejszych Wskazówek. Wielka ilość odczynów, służących do rozpoznawania ważnych dla fizjologji związków, nie daje się objaśnić chemicznie lub daje się objaśnić jedynie niezupełnie.

CZĘŚĆ I.

Wykazywanie składników elementarnych w związkach organicznych.

Jeżeli chcemy się przekonać, czy substancja badana jest związkiem organicznym, musimy wykazać, że zawiera węgiel i wodór. Ważnymi składnikami substancji, wchodzących w zakres chemji fizjologicznej, są, oprócz węgla, wodoru i tlenu, azot, siarka, fosfór, chlorowce i żelazo.

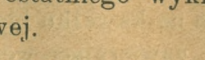
A. Próby na węgiel.

a) Ziarenko substancji suchej lub kroplę płynu ogrzewamy ostrożnie na kawałku blaszki niklowej albo platynowej; związki, zawierające węgiel, spalają się albo zwęglają; węgiel powstały spala się łatwiej lub trudniej, a nielotne substancje nieorganiczne tworzą *popiół*. Jeżeli w skład badanej substancji wchodziły tylko metale alkaliczne lub ziemie alkaliczne, to otrzymamy po zupełnem spaleniu węgla popiół biały. Niektóre substancje organiczne sublimują, nie spalając się wcale na blaszce, np. kwas bendźwinowy lub salicylowy; inne znowu, bardzo blizkie chemicznie ostatecznym produk-

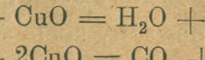
tom utlenienia węgla, jak kwas szczawiowy, zamieniają się na dwutlenek węgla i wodę bez uprzedniego zwęglenia.

B. Próby na wodór.

a) Ponieważ wszystkie substancje organiczne zawierają wodór, przeto próby na wodór po wykazaniu węgla są naogół zbyteczne. Jeżeli się jednak ma takie wykonać, to miesza się substancję badaną z tlenkiem miedzi i żarzy mieszaninę w suchej probówce; woda skrapla się w górnych częściach probówki, tlenek miedzi odtlenia się na czerwoną miedź metaliczną. Do tej próby zarówno substancja badana, jako też tlenek miedzi i probówka muszą być bezwzględnie suche; tlenek miedzi, przechowywany na powietrzu nawet w zamkniętych flaszkach zawiera wiele wody. Tą samą próbą możemy wykazać obecność węgla, który pod działaniem rozżarzonego tlenku miedzi spala się na dwutlenek węgla, obecność tego ostatniego wykryć możemy za pomocą wody barytowej.



$$H_2 + CuO = H_2O + Cu$$



$$C + 2CuO = CO_2 + 2Cu.$$

C. Próby na azot.

a) Próba Lassaigne'a. Związki organiczne, zawierające azot, rozkładamy, żarząc je z metalicznym potasem; wtedy z azotu, węgla i potasu tworzy się cjanek potasu (KCN).

Na dnie rurki długości 8 cm., o świetle 5 mm., wyciągniętej śpiczasto, umieszczamy parę mg. badanej substancji organicznej; nad nią — kawałeczek potasu metalicznego tak wielki, aby po stopieniu nie wypełnił całkowicie światła probówki. Ogrzewamy ostrożnie od góry tak, ażeby najprzód stopić metal, potem żarzymy substancję organiczną, która wchodzi w żywą reakcję z potasem. Rozżarzoną rurkę wrzucamy do probówki, zawierającej 4 cm.^{3} wody, rureczka pęka; poruszamy próbówką tak, ażeby zawartość rureczki cała uległa rozpuszczeniu, poczem sączymy otrzymany roztwór. Do przesączu dodajemy kroplę rozcieńczonego roztworu siarczanu żelazawego, gotujemy, dodajemy kroplę rozcieńczonego chlorku żelazowego i zakwaszamy kwasem solnym. Jeżeli badana substancja zawierała azot, to występuje niebieskie zabarwienie lub niebieski osad błękitu pruskiego.

b) Mieszamy sproszkowaną substancję dokładnie z wapnem sodowanem i ogrzewamy w probówce; z wielu substancji, zawierających azot, odszczepia się amoniak, który wykazujemy u wylotu probówki wilgotnym papierkiem lakmusowym.

D. Próby na siarkę.

a) Rozcieramy substancję z podwójną ilością sody i saletry i wprowadzamy do miseczki niklowej lub srebrnej (w braku takich, porcelanowej), w której uprzednio stopiliśmy nieco saletry; ogrzewamy mieszaninę tak długo, aż węgiel zniknie; rozpuszczamy stop po ochło-

dzeniu w wodzie, zakwaszamy silnie kwasem solnym i wykazujemy kwas siarczany chlorkiem barowym.

E. Próby na fosfór.

a) Postępujemy jak przy wykazywaniu siarki, ale z tą różnicą, że stop zakwaszamy kwasem azotowym i dodajemy molibdenianu amonowego. Żółty osad wskazuje na obecność kwasu fosforowego.

F. Próby na chlorowce.

a) Sproszkowaną substancję mieszamy w miseczce ze stężonym ługiem sodowym, *który nie zawiera chloru*; ogrzewamy ostrożnie aż do zwęglenia substancji organicznej i dodajemy po usunięciu płomienia drobną ilość sproszkowanej saletry, ażeby węgiel całkowicie spalić. Po ochłodzeniu rozpuszczamy stop w wodzie, zakwaszamy i badamy na chlorowodór, bromowodór, jodowodór.

G. Próby na żelazo.

a) Żarzymy substancję w tygielku porcelanowym, ustawionym dla lepszego dostępu powietrza ukośnie, tak długo, aż węgiel zniknie; rozpuszczamy popiół w czystym kwasie solnym i wykonujemy próbę na żelazo przez dodanie żelazocjanku [$K_4Fe(CN)_6$] potasowego.

Próby na węgiel, wodór, azot, fosfór i siarkę wykonujemy na kazeinie, próby na żelazo—na zaschłej krwi lub hemoglobinie; próby na związane organicznie chlorowce (J) można wykonać na preparach tarczycowych.

Odczyny substancji organicznych.

I rozdział. Substancje alifatyczne.

1. Alkohol etylowy (C_2H_5OH).

Alkohole są związkami, zbudowanymi z grupy alkilowej (CH_3, C_2H_5, C_3H_7 i t. d.) i grupy wodorotlenowej; ogólne odczyny alkoholów są odczynami grupy wodorotlenowej, związanej z resztą organiczną; w szczególności związanej tak, że atom węgla, dźwigający grupę wodorotlenową, nie jest już związany z drugim atomem tlenu. Zależnie od tego, czy atom węgla, dźwigający grupę wodorotlenową, jest związany z jednym, dwoma lub trzema innymi atomami węgla, rozróżniamy alkohole pierwszorzędowe, drugorzędowe, trzeciorzędowe.

a) Alkohole przechodzą pod działaniem kwasów w estry, z rodników wodorotlenowych kwasu i alkoholu występuje przytem cząsteczka wody:

$$C_2H_5OH + CH_3COOH = CH_3COOC_2H_5 + H_2O$$

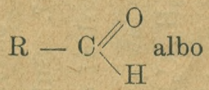
alkohol etylowy; kw. octowy; ester etylowy kw. octowego;

10 kropli alkoholu etylowego mieszamy ze szczyptą octanu sodowego i 20 kroplami stężonego kwasu siarkowego; przy ogrzaniu występuje zapach estru octowego. W odczynie tym kwas siarczany służy jako katalizator reakcji i jako substancja, odciągająca wodę, wytworzoną w reakcji.

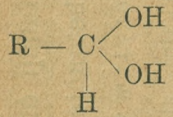
b) Chlorki kwasów tworzą z alkoholami również estry kwasów, przyczem odszczepia się chlorowodór.

$R - CH_2 - OH$

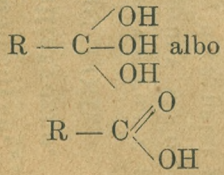
alkohol pierwszorzędowy, który pod wpływem substancji utleniających przechodzi w aldehid o wzorze:



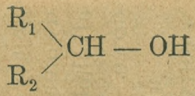
albo



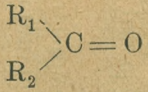
a następnie w kwas:



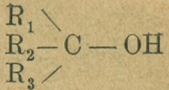
albo



alkohol drugorzędowy, który przechodzi w tych samych warunkach w keton:



Ketonów bez rozszczepienia dalej utlenić nie możemy.



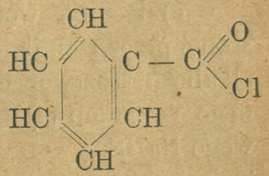
alkohol trzeciorzędowy, który nie daje się utlenić bez rozszczepienia cząsteczki.

Odczyny grupy wodorotlenowej alkoholów.

Dla związania chlorowodoru wykonujemy tę reakcję w obecności ługu sodowego.

Kilka kropli alkoholu z równą ilością kropli chlorku benzoilowego i kilku centymetrami stężonego ługu sodowego długo przetrząsamy. Ostry zapach chlorku benzoilowego znika i występuje aromatyczny zapach estru etylowego kwasu bendźwinowego.

$$C_2H_5OH + C_6H_5COCl + NaOH = C_6H_5COOC_2H_5 + NaCl + H_2O.$$



chlorek benzoilu

c) Tworzenie się estrów kwasów nieorganicznych wykazujemy na kwasie etylo-siarkowym.

10 kropli alkoholu ogrzewamy z 5 kroplami kwasu siarkowego stężonego

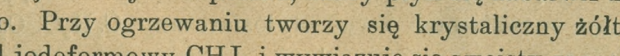
$$C_2H_5OH + H_2SO_4 = C_2H_5OSO_2OH + H_2O$$

zobojętniamy ługiem sodowym, dodajemy chlorku barowego, który strąca całkowicie siarczany wolne; pozostaje w roztworze kwas etylosiarczany $C_2H_5OSO_2OH$, który w przesączonym płynie możemy wykazać, gotując go przez 2 minuty z połową objętości stężonego kwasu solnego.

$$C_2H_5OSO_2OH + H_2O = C_2H_5OH + H_2SO_4$$

Kwas solny działa przy tej reakcji jedynie jako katalizator. Jeżeli w roztworze, gotowanym z kwasem solnym, był jeszcze nadmiar chlorku barowego, to odszczepiony kwas siarczany wytwarza ponownie osad siarczanu barowego.

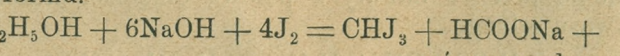
d) 3 krople alkoholu absolutnego i 2 krople kwasu siarczanego stężonego ogrzewamy do wrzenia; występuje zapach eteru etylowego.



$$C_2H_5OSO_2OH + C_2H_5OH = C_2H_5OC_2H_5 + H_2SO_4.$$

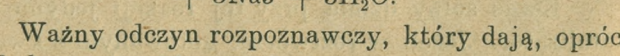
Przykład reakcyi katalitycznej, w której drobną ilością kwasu siarczanego można zamienić na eter wielkie ilości alkoholu.

e) Rodnik wodorotlenowy alkoholu możemy zastąpić przez rodnik siarkowodorowy (SH); ogrzewamy alkaliczny roztwór etylosiarczanu sodowego, otrzymanego w reakcji (c) z kilku kroplami wodosiarczku sodowego NaHS; tworzy się etylomerkaptan, który poznajemy po zapachu czosnkowym.

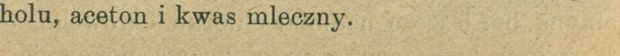


$$C_2H_5OSO_2ONa + NaSH = C_2H_5SH + Na_2SO_4.$$

f) Próba jodoformowa. Rozcieńczamy kroplę alkoholu pełną probówką wody, bierzemy z tego płynu około 1 cm.^{3}, alkalizujemy ługiem i dodajemy tyle roztworu jodu w jodku potasu, ażeby płyn się zabarwił na żółto. Przy ogrzewaniu tworzy się krystaliczny żółty osad jodoformowy CHJ_3 i wywiązuje się swoisty zapach jodoformu.



$$C_2H_5OH + 6NaOH + 4J_2 = CHJ_3 + \underset{\text{mrówczan sodowy}}{HCOONa} +$$



$$+ 5NaJ + 5H_2O.$$

Ważny odczyn rozpoznawczy, który dają, oprócz alkoholu, aceton i kwas mleczny.

2. Alkohol metylowy (CH_3OH).

a) Wykazujemy alkohol metylowy przez zamienienie go na aldehid mrówczany. Kilka kropli alkoholu metylowego mieszamy z roztworem dwuchromianu potasowego i kwasem siarkowym i ogrzewamy; wytwarzają się drażniące błonę śluzową nosa pary aldehidu mrówczanego, pary mają reakcję kwaśną na skutek obecności kwasu mrówczanego.

$$CH_3OH + O = H_2CO + H_2O$$
$$H_2CO + O = HCOOH.$$

b) Zanurza się kilkakrotnie rozżarzoną spiralkę z drutu miedzianego do płynu, zawierającego alkohol metylowy. Do ochłodzonego płynu dodaje się nieco mleka i stężonego kwasu siarczanego; występuje fijołkowe zabarwienie. Uwaga: wykrywanie alkoholu metylowego może być zadaniem toksykologicznem, ponieważ alkohol metylowy służy niekiedy jako niebezpieczna domieszka do wódek.

3. Aldehid octowy (CH_3CHO).

Aldehidy powstają przez utlenienie alkoholów pierwszorzędowych, charakterystyczną dla nich grupą jest $R - C\begin{matrix}\diagup O \\ \diagdown H\end{matrix}$ albo $R - C\begin{matrix}\diagup OH \\ \diagdown H\end{matrix}$—OH. Tylko w niektórych aldehidach, np. chloralu $CCl_3 - C\begin{matrix}\diagup OH \\ \diagdown H\end{matrix}$—OH może odmiana wodzianowa być trwałą. Grupa karbonilowa $C = O$

albo $C\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix}$ nadaje aldehidom wielkie zdolności do reakcji. Ulegają one łatwo odtlenieniu na alkohole, utlenieniu na kwasy i różnorodnym kondensacjom. Z amoniakiem dają iminy $R - C\begin{matrix}H\\NH\end{matrix}$, polimeryzujące się, z pochodnymi hidrazyny tworzą hidrazony, wreszcie polimeryzują się na żółte i brunatne związki żywiczne.

a) Kilka kropli alkoholu ogrzewamy z dwuchromianem potasowym i rozcieńczonym kwasem siarkowym; dwuchromian potasu odtlenia się na siarczan chromowy, a alkohol utlenia się na aldehid octowy o charakterystycznym aromatycznym zapachu:

$$CH_3CH_2OH + O = CH_3CHO + H_2O.$$

b) Roztwór aldehidu octowego zadajemy roztworem Fehlinga i ługiem, przy gotowaniu wydziela się ceglasty tlenek miedziawy Cu_2O.

$$CH_3COH + 2CuO + NaOH = CH_3COONa + Cu_2O + H_2O.$$

Przykład utleniania się aldehidów i odtleniania tlenków metalowych przez aldehidy.

c) Do słabo-amoniakalnego roztworu azotanu srebra dodajemy aldehidu octowego i nieco ługu sodowego; przy ogrzewaniu tworzy się srebrne zwierciadełko.

$$NaOH + Ag_2O + CH_3CHO = 2Ag_2 + CH_3COONa + H_2O.$$

d) Ogrzewamy kilka kropli aldehidu octowego z kroplą mocnego ługu sodowego. Występuje żółta

barwa i tworzy się żywica aldehidowa, nierozpuszczalna w wodzie.

e) Dodajemy 5 kropli stężonego aldehidu octowego do 1 cm.³ stężonego roztworu dwusiarczynu sodowego $NaHSO_3$; tworzy się krystaliczna sól sodowa kwasu etylooksysulfonowego.

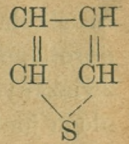
$$CH_3CHO + NaHSO_3 = CH_3CHOHSO_3Na.$$

f) Do roztworu aldehidu octowego dodajemy fenilohidrazyny i kwasu octowego; tworzy się oleisty hidrazon.

$$\underset{\text{fenilohidrazyna}}{C_6H_5 - NH - NH_2} + CH_3CHO =$$

$$= \underset{\text{fenilohidrazon}}{C_6H_5NH - N = CH - CH_3} + H_2O.$$

g) Kilka kropli aldehidu octowego mieszamy z 5 cm.³ stężonego kwasu siarkowego i dodajemy kroplę 1% alkoholowego roztworu tiofenu. Ogrzewamy ostrożnie we wrzącej wodzie, występuje silne zabarwienie czerwone.



Tiofen.

4. Aldehid mrówczany $\left(H - C\begin{matrix}\diagup O \\ \diagdown H\end{matrix}\right)$.

Patrz reakcje przy alkoholu metylowym i ogólne odczyny aldehidowe.

a) Do 5 cm.³ wody dodajemy kroplę amoniaku i fenolftaleiny; występuje czerwone zabarwienie. Po dodaniu roztworu aldehidu mrówczanego reakcja alkaliczna znika i płyn się odbarwia.

$$6CH_2O + 4NH_3 = C_6H_{12}N_4 + 6H_2O.$$

b) Wykonujemy tę samą reakcję, biorąc zamiast amoniaku siarczanu amonowego, który za pomocą odrobiny bardzo rozcieńczonego ługu alkalizujemy. Do roztworu aldehidu mrówczanego również dodajemy fenolftaleiny i tyle rozcieńczonego ługu, aby właśnie wywołać różowe zabarwienie. Po zmieszaniu obydwu alkalicznych płynów występuje reakcja kwaśna i odbarwienie.

5. Kwas octowy (CH_3COOH).

Dla kwasów organicznych charakterystyczną grupą jest $C\begin{matrix}/\!\!/ O \\ \backslash OH\end{matrix}$, w której łączy się charakterystyczna dla aldehidów grupa karbonilowa z charakterystyczną dla alkoholów grupą wodorotlenową. Wodór rodnika wodorotlenowego nabiera przez sąsiedztwo z podwójnie związanym tlenem ruchliwości i w roztworach wodnych ulega jonizacji.

Najważniejszemi pochodnemi kwasów są, oprócz ich soli, estry, które powstają przez wymianę grupy wodorotlenowej na grupę alkilotlenową, np. $CH_3COOC_2H_5$, i amidy, powstające przez wymianę grupy wodorotlenowej na grupę aminową, np. CH_3CONH_2. Związki te rozszczepiają się łatwo pod działaniem wody w obecności kwasów lub ługów (estry szczególnie w obecności ługów, a amidy — w obecności kwasów) na kwas i alkohol, względnie amoniak.

a) 3 krople aldehidu octowego mieszamy z 3 cm.^{3}

wody i ogrzewamy ze stężonym roztworem nadmanganianu potasowego ($KMnO_4$), dopóki zapach aldehidu nie zniknie. Jeżeli teraz płyn zakwasimy kwasem siarczanym i ogrzejemy, to uchodzące pary będą miały ostry zapach kwasu octowego i zaczerwienią niebieski papierek lakmusowy.

b) Patrz próbę a z alkoholem etylowym.

c) Roztwór octanu sodowego daje z chlorkiem żelazowym czerwono-brunatny płyn, który odbarwia się po dodaniu kwasu solnego.

d) Ze stężonych roztworów octanu sodowego strąca azotan srebra trudno rozpuszczalny octan srebrowy.

6. Ester etylowy kwasu octowego czyli octan etylowy ($CH_3COOC_2H_5$).

a) Mieszamy kilka kropli octanu etylowego z podwójną objętością stężonego ługu i ogrzewamy; charakterystyczny zapach znika; w roztworze znajduje się octan sodowy. Proces rozłożenia estru na jego składniki nazywamy ogólnie zmydlaniem.

$$CH_3COOC_2H_5 + NaOH = CH_3COONa + C_2H_5OH.$$

7. Aceton (CH_3COCH_3).

Aceton jest najprostszym przedstawicielem ketonów, które powstają przez utlenienie alkoholów drugorzędowych. Charakterystyczną dla nich grupą jest $\begin{matrix} R \\ R_1 \end{matrix}\!\!>CO$; tlen związany jest podwójnie z węglem, nie-

dźwigającym już żadnego atomu wodoru. Ketony są naogół trwalsze, niż aldehidy. Dają, podobnie jak aldehidy, odczyn z fenilohydrazyną, ale nie ulegają tak łatwo utlenieniu. Przy utlenieniu cząsteczki ketonów ulegają rozbiciu.

a) Do 3 cm.^{3} wody dodajemy kilka kropli acetonu, równą objętość kwasu siarkowego stężonego i nieco stałego dwuchromianu potasu. Przy ogrzewaniu następuje odtlenienie dwuchromianu potasowego i wywiązują się kwaśne pary kwasu octowego i mrówczanego.

$$CH_3COCH_3 + 3O = CH_3COOH + HCOOH.$$

b) Do rozcieńczonego roztworu acetonu dodajemy ługu sodowego i roztworu jodu w jodku potasu. Płyn mętnieje i wydziela się jodoform.

$$CH_3COCH_3 + 3J_2 + 4NaOH = CHJ_3 + CH_3COONa + \\ + 3NaJ + 3H_2O.$$

Aby odróżnić aceton od alkoholu wykonujemy tę samą próbę, używając amoniaku zamiast ługu sodowego; w obecności acetonu tworzy się jodoform (w tej modyfikacji t. zw. próba Gunninga).

c) Aceton daje z dwusiarczynem sodowym krystaliczny związek.

$$CH_3COCH_3 + NaHSO_3 = (CH_3)_2 = C\begin{cases} OH \\ SO_2ONa. \end{cases}$$

d) Z fenilohydrazyną tworzy się oleisty hidrazon.

$$CH_3COCH_3 + C_6H_5 - NH - NH_2 = \\ = \underset{\underset{CH_3}{|}}{CH_3C} = N - NH - C_6H_5$$

e) Do rozcieńczonego roztworu acetonu dodajemy nitroprusydku potasowego $K_2Fe(CN)_5NO$, potem ługu; występuje krwawe zabarwienie, które po zakwaszeniu kwasem octowym zmienia się na wiśniowe. Próba Legala, ważna przy rozpoznawaniu acetonu w moczu.

f) Do rozcieńczonego roztworu acetonu dodajemy równą objętość sproszkowanego siarczanu amonowego, kilka kropli nitroprusydku i 1 cm.^{3} amoniaku, powoli występuje fijołkowe zabarwienie.

Uwaga: aceton tworzy się w ustroju człowieka, chorego na ciężką cukrzycę skutkiem rozkładu kwasu acetooctowego

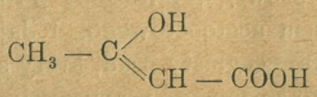
$$CH_3COCH_2COOH = CH_3COCH_3 + CO_2$$

i wydziela się z gazami wydechowymi i w moczu.

8. Kwas acetooctowy (CH_3COCH_2COOH).

Kwas acetooctowy, ważny w patogji chemicznej związek, powstaje w organizmie, zwierzęcym, jako produkt spalania kwasów tłuszczowych.

Kwas acetooctowy jest ketonokwasem, posiada zatem obok grupy karboksylowej grupę karbonilową; jest on związkiem tautomerycznym i daje także takie reakcje, jak gdyby odpowiadał także wzorowi



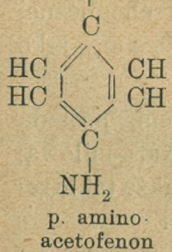
(wzór enolowy). Przy gotowaniu w roztworach kwaś-

nych kwas acetooctowy rozpada się na dwutlenek węgla i aceton.

$$CH_3COCH_2COOH = CH_3COCH_3 + CO_2.$$

a) Do roztworu kwasu acetooctowego dodajemy kroplę po kropli chlorku żelazowego; występuje zabarwienie czerwone, czerwono-brunatne i czerwono-fijołkowe. Próba, charakterystyczna dla konfiguracji enolowej; daje ją także ester kwasu acetooctowego, który nie może tworzyć soli żelazowej.

b) Aby być pewnym, czy mamy przed sobą kwas acetooctowy, gotujemy z kwasem solnym nową próbę płynu, który dawał odczyn z chlorkiem żelazowym; do gorącego roztworu dodajemy węglanu wapnia dopóty, dopóki nie przestanie się wywiązywać dwutlenek węgla (zobojętniamy w ten sposób kwas solny). W przesączu niema już kwasu acetooctowego i odczyn z chlorkiem żelazowym nie występuje. Na jakie związki rozłożył się?



p. amino-acetofenon

c) Z nitroprusydkiem występuje próba Legala (ob. aceton).

d) Do 2 cm.³ 1% roztworu para-aminoacetofenonu, zawierającego kwas solny, dodajemy 1 cm.³ 1% azotynu potasowego, mieszamy z równą objętością roztworu kwasu acetooctowego, dodajemy 2 krople amoniaku; powstaje ceglasty osad, który się w nadmiarze kwasu solnego stężonego rozpuszcza, barwiąc płyn na kolor purpurowo-fijołkowy. (Powstaje barwnik azowy

przez związanie p. dwuazocetofenonu z grupą CH_2, stojącą między CO a COOH w kwasie acetooctowym.

9. Kwas β-oksymasłowy
$(CH_3 - \underset{\underset{OH}{|}}{CH} - CH_2 - COOH)$.

Kwas β-oksymasłowy występuje w moczu chorych na cukrzycę obok kwasu acetooctowego i acetonu.

a) Do roztworu kwasu β-oksymasłowego dodajemy 2 krople 3% wody utlenionej i kroplę siarczanu żelazawego; występuje zabarwienie czerwone.

$$CH_3CHOHCH_2COOH + H_2O_2 =$$
$$= CH_3COCH_2COOH + 2H_2O.$$

b) Ogrzewamy roztwór kwasu β-oksymasłowego do wrzenia z dwuchromianem potasowym i kwasem siarkowym. Do pary wprowadzamy na pałeczce kropelkę alkalicznego roztworu jodu w jodku potasu, występuje na tej kropelce zamętnienie i zapach jodoformu.

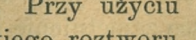
10. Chloroform ($CHCl_3$).

a) Wodzian chloralowy $CCl_3C\begin{cases}OH\\OH\\H\end{cases}$ ogrzewamy z ługiem: rozkłada się na chloroform i kwas mrówczany.

$$CCl_3CH(OH)_2 + NaOH = CCl_3H + HCOONa + H_2O.$$

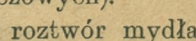
b) Przetrząsamy chloroform z wodą, pozwalamy mu osiąść, a w wodzie robimy próbę na kwas solny azo-

tanem srebra; jeżeli chloroform był czysty, to nie powstaje zamętnienie. Jeżeli dodamy do wody chloroformowej cynku i rozcieńczonego kwasu siarkowego, to wywiązuje się wodór, a po pewnym czasie możemy wykazać obecność kwasu solnego.



$$CHCl_3 + H_2 = CH_2Cl_2 + HCl..$$

c) Mieszamy kroplę aniliny z alkoholowym ługiem potasowym i kilku kroplami wody chloroformowej i ogrzewamy; występuje wstrętny zapach izocjanku fenilowego.



$$CHCl_3 + C_6H_5NH_2 + 3KOH = C_6H_5NC + 3KCl + 3H_2O.$$

11. Kwasy tłuszczowe wyższe: stearynowy $C_{17}H_{35}COOH$ i palmitynowy $C_{15}H_{31}COOH$.

a) Kawałek t. zw. stearyny, mieszaniny kwasu stearynowego i palmitynowego, ogrzewamy z 10 cm.^{3} wody i dodajemy ługu sodowego tak długo, aż powstanie klarowny płyn. Przy użyciu nadmiaru ługu nie można otrzymać takiego roztworu, gdyż nadmiar ługu wysala powstałe mydła stearynowe (sole sodowe wyższych kwasów tłuszczowych).

b) Otrzymany roztwór mydła dzielimy na kilka porcji i używamy ich do następujących prób:

aa) przekonywujemy się, że roztwór się pieni;

bb) do drugiej części roztworu mydła dodajemy kwasu; wypadają kwasy: stearynowy i palmitynowy, łatwo rozpuszczalne w eterze;

cc) do trzeciej próby roztworu mydła dodajemy

sproszkowanego chlorku sodowego; mydła wypadają jako osad, przylepiający się do ściany; po odlaniu słonego płynu możemy rozpuścić strącone mydła w destylowanej wodzie. Próba ta wykazuje odwracalność procesów wysalania u mydeł sodowych i potasowych;

dd) czwartą próbę zadajemy roztworem chlorku wapniowego; wypadają mydła wapniowe, nierozpuszczalne w wodzie i alkoholu etylowym;

ee) octanem ołowiawym strącamy mydła ołowiawe, nierozpuszczalne w wodzie i eterze.

c) Roztwór *obojętnego mydła* w alkoholu oddziaływa obojętnie; przy rozcieńczaniu wodą występuje oddziaływanie zasadowe, które wykazujemy fenolftaleiną. Po dodaniu soli obojętnej, np. siarczanu magnezowego, oddziaływanie alkaliczne znowu znika. Próba ta wykazuje hidrolizę mydła, jako soli silnej zasady ze słabym kwasem.

12. Kwas oleinowy ($C_{17}H_{33}COOH$).

Kwas oleinowy jest kwasem nienasyconym i daje dlatego charakterystyczne odczyny, polegające na przyłączaniu chlorowców do grup wodorotlenowych.

$$RCH = CHR_1 + Br_2 = RCHBr - CHBrR_1 .$$

a) Rozpuszczamy kwas oleinowy w alkoholu i dodajemy tynktury jodowej aż do zabarwienia płynu, potem alkoholowego roztworu sublimatu — płyn odbarwia się. W obecności sublimatu dodaje się do podwójnych wiązań chlor-jod; jest to najszybciej odbywające

się przyłączanie chlorowców, nadające się do ilościowego określania podwójnych wiązań (metoda Hübla).

b) Kroplę kwasu oleinowego przetrząsamy z wodą i rozpuszczamy za pomocą kropelki ługu rozcieńczonego; otrzymany w ten sposób roztwór mydła możemy wysolić chlorkiem sodowym albo nadmiarem ługu.

c) Z chlorkiem wapnia wypada oleinian wapniowy, rozpuszczalny we wrzącym alkoholu etylowym.

d) Z octanem ołowiawym wypada oleinian ołowiawy, rozpuszczalny w eterze (składnik plastrów ołowiowych).

e) Do kropli kwasu oleinowego dodajemy kroplę roztworu cukru trzcinowego rozcieńczonego, tyle alkoholu, ażeby płyn się wyklarował, i stężonego kwasu siarczanego: występuje zabarwienie purpurowe.

13. Gliceryna ($CH_2OH — CHOH — CH_2OH$).

Gliceryna jest trójwartościowym alkoholem, wywodzącym się od normalnego propanu.

a) Przy ogrzewaniu kropli gliceryny z kryształkiem dwusiarczynu potasowego $KHSO_4$ wywiązują się pary akroleinowe, drażniące błonę śluzową nosa i oka.

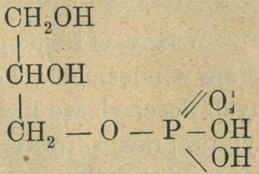
$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} = \begin{array}{l} CH_2 \\ \| \\ CH \\ | \\ COH \end{array} + 2H_2O$$

b) 3 krople gliceryny mieszamy z 2 cm.³ wody, dodajemy kroplę siarczanu miedziowego i ługu sodowego; nie powastaje osad wodorotlenku miedziowego lecz

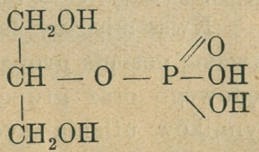
ciemno-niebieski płyn. Ogólna własność wielowartościowych alkoholów.

14. Kwas glicerynofosforowy.

Kwas glicerynofosforowy naturalny, zawarty w lecytynie, odpowiada wzorowi: i jest optycznie czynny. Dlaczego?



Kwas glicerynofosforowy sztuczny (handlowy) odpowiada wzorowi: i jest optycznie nieczynny.



a) Glicerofosforan wapniowy rozpuszcza się w wodzie zimnej; po zagotowaniu wypada, jako osad; po ochłodzeniu osad ponownie się rozpuszcza.

b) Roztwór glicerofosforanu wapniowego nie daje odczynu na kwas fosforowy z molibdenianem amonowym; po gotowaniu ze stężonym kwasem lub ługiem rozkłada się na glicerynę i kwas fosforowy. Odczyn molibdenowy wtedy występuje.

15. Tłuszcze czyli trójgliceryniany wyższych kwasów tłuszczowych.

Nie rozpuszczają się one w wodzie, z trudnością w alkoholu, łatwo w eterze, benzynie i chloroformie.

a) Kawałek wodzianu potasowego oblewamy

2 cm.^{3} alkoholu, dodajemy kropelkę oliwy i gotujemy. Dodajemy 10 cm.^{3} wody, wykonujemy próby z rozdziału kwasu oleinowego na kwasy tłuszczowe str. 18, 19, 20.

16. Kwas mleczny [$CH_3CH(OH)COOH$].

Ważny w fizjologji przetwór rozkładu cukru powstaje w mięśniach, wątrobie, znajduje się stale w drobnych ilościach we krwi jako kwas mleczny optycznie czynny, prawoskrętny. Przy licznych fermentacjach cukrów powstaje kwas mleczny racemiczny.

Kwas mleczny łączy w sobie własności alkoholu i kwasu; posiada grupę wodorotlenową alkoholu drugorzędowego oraz grupę karboksylową. Pod wpływem czynników utleniających przechodzi w kwas pyrogronowy ($CH_3COCOOH$).

$$CH_3CHOHCOOH + O = CH_3COCOOH + H_2O.$$

Kwas pyrogronowy rozszczepia się łatwo na aldehid octowy i dwutlenek węgla.

$$CH_3COCOOH = CH_3C\begin{matrix}\diagup\!\!\!\diagup O \\ \diagdown H\end{matrix} + CO_2$$

Izolujemy kwas mleczny, jako trudno rozpuszczalną, krystalizującą sól cynkową. Mleczan cynkowy racemiczny krystalizuje z 3 cząsteczkami wody:

$$(CH_3CHOHCOO)_2Zn \,.\, 3H_2O;$$

mleczan cynkowy optycznie czynny z 2 cząsteczkami wody:

$$(CH_3CHOHCOO)_2Zn \,.\, 2H_2O.$$

a) Do 3 cm.^{3} 10% roztworu kwasu mlecznego dodajemy węglanu cynkowego, gotujemy, aż ustanie wydzielanie się dwutlenku węgla i sączymy na gorąco otrzymany w ten sposób roztwór mleczanu cynkowego. Z przesączu wydziela się krystaliczny mleczan cynkowy; przyśpieszamy krystalizację, pocierając wewnętrzną ściankę probówki pałeczką szklaną.

b) Do roztworu kwasu mlecznego lub mleczanu dodajemy po kropli bardzo rozcieńczonego chlorku żelazowego; dla porównania taką samą ilość chlorku żelazowego dodajemy do równej objętości czystej wody; kwas mleczny nabiera cytrynowego koloru (ważna próba rozpoznawcza!)

c) Ogrzewamy kwas mleczny z nadmanganianem potasu, powstaje dwutlenek węgla i aldehid octowy. Wzór reakcji?

d) Kroplę roztworu kwasu mlecznego i kroplę roztworu siarczanu miedziowego dodajemy do 5 cm.^{3} kwasu siarczanego stężonego; ogrzewamy we wrzącej wodzie przez minutę, ochładzamy probówkę w strumieniu zimnej wody, dodajemy kroplę 1% roztworu tiofenu w alkoholu, poczem zanurzamy probówkę na chwilkę do wody wrzącej; występuje wiśniowe zabarwienie. (Reakcja Hopkinsa, występująca tylko przy bardzo starannem wykonaniu i zachowaniu podanej proporcji odczynników).

e) Kwas mleczny daje z alkalicznym roztworem jodu w jodku potasu jodoform.

Jeżeli mamy z narządów lub soków izolować kwas mleczny, to robimy z nich wyciąg wodny. Stężamy go przez odparowanie przy oddziaływaniu obojętnem, nasycamy siarczanem amonowym i odsączamy osad, zawierający białka, lipoidy i t. p., przesącz zakwaszamy rozcieńczonym kwasem siarkowym i przetrząsamy kilkakrotnie z eterem; oddzielony roztwór eterowy odparowujemy, pozostałość rozpuszczamy w drobnej ilości wody i zobojętniamy przez gotowanie z węglanem cynkowym; w stężonym płynie albo staramy się otrzymać kryształki mleczanu cynkowego, albo też wykonujemy próbę Hopkinsa.

17. Kwas bursztynowy ($COOH - CH_2 - CH_2 - COOH$).

Kwas bursztynowy jest kwasem dwuwartościowym, posiadającym dwie grupy karboksylowe.

a) Przy ogrzewaniu w suchej probówce kwas bursztynowy sublimuje.

b) Przesycamy próbkę kwasu bursztynowego amoniakiem i odparowujemy w parowniczce porcelanowej na łaźni; rozpuszczamy pozostałość w kilku kroplach wody, mieszamy ze sproszkowanym cynkiem i ogrzewamy w probówce, wreszcie żarzymy; w pary zanurzamy drzazgę sosnową, zwilżoną kwasem solnym; drzazga nabiera koloru czerwonego. Przy reakcji tej tworzy się pyrol.

$$\begin{array}{l} CH_2 - COONH_4 \\ | \\ CH_2 - COONH_4 \end{array} = \begin{array}{l} CH_2 - CO \\ | \\ CH_2 - CO \end{array} \Big\rangle NH + NH_3 + 2H_2O;$$

Sól amonowa kwasu bursztynowego. Imid kwasu bursztynowego.

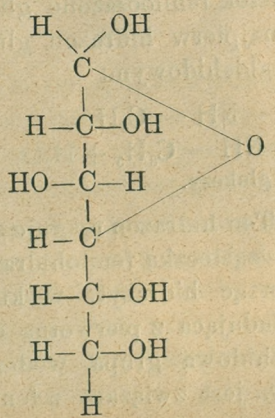
$$\begin{array}{l} CH_2 - CO \\ | \\ CH_2 - CO \end{array} \Big\rangle NH + 2Zn = \begin{array}{l} CH = CH \\ | \\ CH = CH \end{array} \Big\rangle NH + 2ZnO.$$

Pyrol.

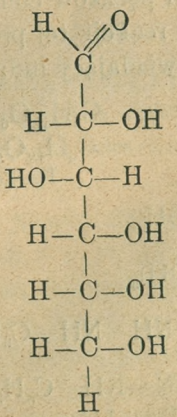
18. Glukoza, cukier gronowy czyli dekstroza ($C_6H_{12}O_6$).

Glukoza występuje we krwi, w drobnych ilościach we wszystkich organach, a przy cukrzycy albo po spożyciu większej ilości cukru gronowego w moczu.

Odczyny glukozy są albo odczynami grup alkoholowych albo też grupy aldehidowej; jakkolwiek gluko-



Glukoza.



Glukoza (odmiana tautomeryczna).

za odpowiada wzorowi powyżej podanemu, jest jednak tautomeryczną ze związkiem, zawierającym grupę aldehidową.

Odczyny rodników wodorotlenowych:

a) Wodny roztwór glukozy przetrząsamy z chlorkiem benzoilowym i z nadmiarem ługu, służącego do związania powstającego chlorowodoru; tworzy się osad estrów kwasu bendźwinowego, nierozpuszczalny w ługu.

$$C_6H_7O(OH)_5 + 5C_6H_5COCl + 5NaOH =$$
$$= C_6H_7O(OCOC_6H_5)_5 + 5NaCl + 5H_2O.$$

Kwas bendźwinowy wolny, powstający przy tej reakcji, pozostaje w roztworze jako sól sodowa.

b) Dodajemy do roztworu glukozy octanu fenilohidrazynowego w nadmiarze, ogrzewamy przez godzinę w łaźni wodnej; powstaje żółty osad, złożony ze snopów i pęczków cienkich igiełek feniloosazonu glukozy. Przy reakcji tej powstaje najpierw hidrazon glukozy, odpowiadający hidrazonom aldehidowym:

$$C_6H_{12}O_6 + NH_2 - NH - C_6H_5 =$$
$$= C_6H_{12}O_5 = N - NH - C_6H_5 + H_2O.$$

Fenilohidrazon glukozy.

$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ (CHOH)_3 \\ | \\ CH-NH-NH-C_6H_5 \\ | \\ CH=N-NH-C_6H_5 \end{array}$$

Fenilohidrazyt.

Ten hidrazon reaguje z drugą cząsteczką fenilohidrazyny, tworząc hidrazyt, w którym sąsiadująca z pierwotną grupą aldehidową grupa wodorotlenowa jest związana z fenilohidrazyną.

Na ten hidrazyt działa trzecia cząsteczka fenilohidrazyny, utleniając czyli odbierając mu wodór, który zamienia fenilohidrazynę na anilinę i amoniak:

$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ (CHOH)_3 \\ | \\ CH-NH-NH-C_6H_5 \\ | \\ CH=N-NH-C_6H_5 \end{array} + NH_2-NH-C_6H_5 =$$

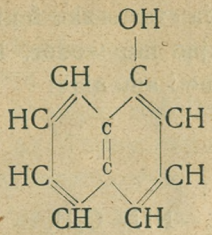
Fenilohidrazyt fenilohidrazyna

$$= \begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ (CHOH)_3 \\ | \\ C=N-NH-C_6H_5 \\ | \\ CH=N-NH-C_6H_5 \end{array} + NH_2-C_6H_5 + NH_3 .$$

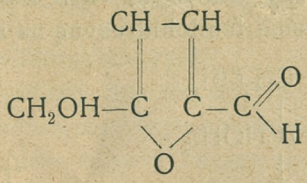
osazon anilina amoniak.

W ten sposób z jednej cząsteczki glukozy i trzech cząsteczek fenilohidrazyny tworzy się jedna cząsteczka glukosazonu; należy dlatego używać do odczynu nadmiaru fenilohidrazyny.

c) Kroplę roztworu glukozy i kroplę 20% alkoholowego roztworu α-naftolu mieszamy z 10 kroplami stężonego kwasu siarkowego; występuje zabarwienie fijołkowe. Przy próbie tej powstaje z cukru pochodna furfurolu, oksy-metyleno-furfurol, który z α-naftolem daje zabarwienie. Ogólna reakcja węglowodanów, niezmiernie czuła. (Próba Molischa).



α-Naftol.



Oksy-metyleno-furfurol.

d) Stężony roztwór glukozy gotujemy z ługiem sodowym; występuje żółto-brunatne zabarwienie (Próba Moora czyli Hallera).

e) Roztwór glukozy silnie alkalizujemy ługiem sodowym, dodajemy kroplę po kropli siarczanu miedziowego: wypadający początkowo wodorotlenek miedziowy rozpuszcza się dzięki obecności grup wodorotlenowych cukru, tworząc niebieski płyn. Ogrzewamy otrzymany w ten sposób płyn; powstaje pomarańczowy osad tlenku miedziawego. (Próba Trommera). Należy bezwarunkowo unikać ogrzewania płynu mętnego od osadu wodorotlenku miedziowego, gdyż ten ostatni przy gotowaniu zamienia się na brunatny tlenek miedziowy i może zakryć właściwą reakcję. Jeżeli mamy taki nadmiar wodorotlenku miedziowego, to rozpuszczamy go przez dodanie drobnej ilości winianu sodowo-potasowego (soli Seignetta).

Tę samą próbę możemy wykonać za pomocą płynu Fehlinga, w którym miedź utrzymujemy w roztworze alkalicznym przy pomocy soli Seignetta. Ponieważ płyn Fehlinga nabiera po dłuższym czasie własności re-

dukujących, przeto należy zawsze najpierw zagotować sam płyn i wykonać właściwą próbę tylko wtedy, jeżeli płyn Fehlinga nie dał redukcji.

Tlenek miedziawy nie wydziela się wobec amoniaku lub soli amoniakowych. Należy przekonać się o tem, dodając do roztworu cukru nadmiaru chlorku amonowego i wykonując potem próbę Trommera.

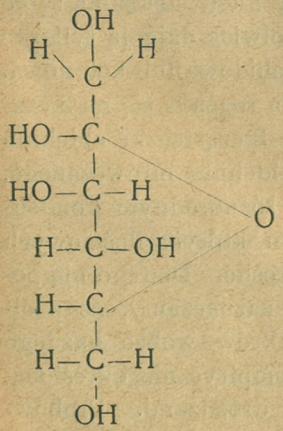
f) Glukoza odtlenia zasadowe roztwory soli bizmutowych na bizmut metaliczny. Do roztworu glukozy dodajemy odczynnika Nylandera, złożonego z azotanu bizmutowego, soli Seignetta i ługu, i gotujemy; płyn barwi się na brunatno lub czarno.

Przy wszystkich próbach, przy których następuje odtlenienie tlenków metalowych w roztworze alkalicznym na tlenki niższe lub metale, nie działa sama tylko grupa aldehidowa glukozy, aczkolwiek dają ją tylko te cukry, które posiadają grupę aldehidową lub ketonową. W roztworze alkalicznym glukoza rozpada się na 2 cząsteczki aldehidu glicerynowego, 3 cząsteczki aldehidu glikolowego lub 6 cząsteczek aldehidu mrówczanego. Wszystkie te cząsteczki ulegają różnorodnym kondensacjom, utlenieniom i odtlenieniom, których ilościowych stosunków zgóry nie umiemy określić. Dlatego nie podajemy wzorów na te reakcje i zaznaczamy, że zdolność redukcyjna każdego z cukrów wobec każdego z odczynników może być tylko empirycznie określoną.

g) Glukoza fermentuje z drożdżami. Probówkę napełnioną roztworem glukozy z domieszką drożdży zanurzamy w wodzie i odwracamy; po upły-

wie godziny wywiązuje się gaz, który gromadzi się nad płynem. Dodajemy do płynu ługu i przekonywujemy się, że gaz jest dwutlenkiem węgla. Każda próba fermentacyjna wymaga prób kontrolnych; musimy się przekonać, czy użyte drożdże nie posiadają własności samofermentacji, to znaczy, czy nie wytwarzają dwutlenku węgla ze swoich własnych zapasów węglowodanowych; sprawdzamy to przez próbę z drożdżami i wodą czystą; musimy się też przekonać, czy użyte drożdże mają zdolność rozkładania cukru za pomocą próby z drożdżami i roztworem, o którym wiemy, że napewno cukier zawiera.

Glukoza, występująca w naturze, jest prawoskrętną; jest ona jednak mieszaniną glukozy α i β, z których jedna skręca o $+110^0$, a druga o $+19^0$; dopiero w roztworze tworzy się stała mieszanina o kącie skręcania, wynoszącym $+52,5^0$. Świeżo przyrządzone roztwory glukozy mają stopień skręcalności około $+100^0$, który w obecności drobnych ilości ługu lub po zagotowaniu szybko przychodzi do stanu równowagi, do $+52,5^0$.



Fruktoza.

19. Fruktoza ($C_6H_{12}O_6$).

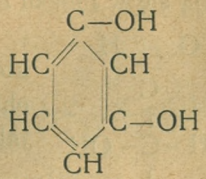
Fruktoza jest ketonocukrem; cząsteczka jej jest zbudowana stereochemicznie tak samo, jak cząsteczka glu-

kozy. Obydwa cukry dają ten sam osazon (dlaczego?). Jaka aldoheksoza daje również ten sam osazon? Mannoza, glukoza i fruktoza przechodzą w roztworach alkalicznych łatwo jedna w drugą.

a) Roztwór fruktozy wykazuje wobec chlorku benzoilowego, fenilohidrazyny, α-naftolu i kwasu siarkowego, ługu sodowego i przy próbach redukcyjnych to samo oddziaływanie, co glukoza; fermentuje też z drożdżami.

Fruktoza naturalna (*d-fruktoza*) skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego na lewo. U cukrów litera d i l nie oznacza kierunku skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego, lecz pochodzenie strukturalne od glukozy prawoskrętnej lub lewoskrętnej!

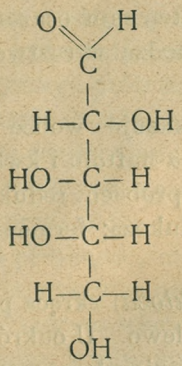
b) Do roztworu fruktozy dodajemy równą objętość stężonego kwasu solnego i kilka kryształków rezorcyny; po ogrzaniu występuje czerwone (łososiowe) zabarwienie. Jeżeli roztwór zawiera wiele fruktozy, to wydziela się osad, rozpuszczalny w alkoholu (Odczyn Seliwanowa). Fruktoza znajduje się niekiedy w moczu chorych na cukrzycę.



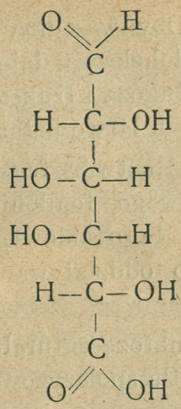
Rezorcyna.

20. l-Arabinoza ($C_5H_{10}O_5$).

l-arabinoza powstaje przy hydrolizie gum roślinnych z wchodzącego w ich skład kwasu galakturonowego przez odszczepienie dwutlenku węgla.

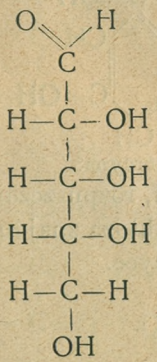


l-Arabinoza.



Kwas galakturonowy.

d-arabinoza i nieczynna optycznie arabinoza znajdują się w moczu chorych na pentozurję.



d-Ryboza.

Pentozą, zawartą w kwasach nukleinowych jest d-ryboza, która przechodzi w d-arabinozę równie łatwo, jak mannoza w glukozę.

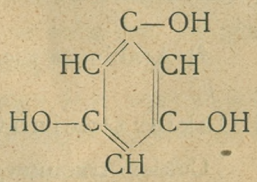
Pentozy dają wszystkie ogólne odczyny cukrów prostych.

a) Z fenilohidrazyną, α-naftolem i kwasem siarkowym, ługiem sodowym i alkalicznym roztworem miedzi lub bizmutu arabinoza reaguje podobnie jak glukoza i fruktoza, dając, naturalnie, inne produkta.

b) Ogrzewamy 20% kwas solny z floroglucyną i arabinozą; występuje wiśniowy kolor, ewentualnie

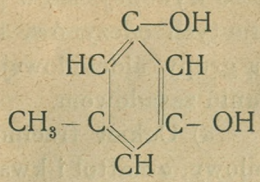
tworzy się osad. Płyn wraz z osadem przetrząsamy z alkoholem amylowym, który rozpuszcza barwnik; roztwór, oglądany przez spektroskop, wykazuje smugę absorbcyjną między liniami Fraunhofera D i E.

c) Do roztworu arabinozy dodajemy równą objętość stężonego kwasu solnego i nieco orcyny. Przy ogrzewaniu występuje najpierw czerwone i fijołkowe zabarwienie, potem niebieski osad. Roztwór tego osadu w alkoholu amylowym wykazuje smugi absorbcyjne między C i D.



Floroglucyna.

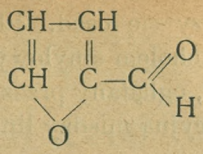
d) Równe objętości aniliny i kwasu octowego stężonego ogrzewamy do wrzenia; dodajemy arabinozy; powstaje ciemno-czerwone zabarwienie.



Orcyna.

e) Do roztworu arabinozy dodajemy ostrożnie ćwierć objętości stężonego kwasu siarkowego i ogrzewamy; do górnego otworu probówki wprowadzamy kawałek bibuły, zwilżonej kwaśnym roztworem octanu anilinowego; występuje piękne czerwone zabarwienie. Reakcja ta polega na tworzeniu się furfurolu:

$C_5H_{10}O_5 = C_5H_4O_2 + 3H_2O$;
Arabinoza furfurol



Furfurol.

f) Arabinoza nie fermentuje z drożdżami.

21. Cukier trzcinowy ($C_{12}H_{22}O_{11} = 2C_6H_{12}O_6 - H_2O$).

Cukier trzcinowy składa się z cząsteczki cukru gronowego i cząsteczki fruktozy; w płynach kwaśnych rozpada się z łatwością na te składniki; w płynach alkalicznych jest zupełnie trwały. Dlatego cukier trzcinowy daje wszystkie te odczyny glukozy i fruktozy, które wykonuje się w płynach kwaśnych, natomiast nie daje tych odczynów, które uwarunkowane są obecnością grupy aldehidowej, a wykonują się przy oddziaływaniu zasadowem.

a) Cukier trzcinowy oddziaływa na chlorek benzoilowy, α-naftol i kwas siarkowy oraz fenilohydrazynę analogicznie, jak glukoza, natomiast nie barwi się z ługiem sodowym na brunatno, nie redukuje tlenku miedziowego ani bizmutowego.

b) Próba cukru trzcinowego, zagotowana z kwasem siarkowym rozcieńczonym, daje po zalkalizowaniu próby Moora, Trommera, Nylandera oraz Seliwanowa.

c) Cukier trzcinowy fermentuje z drożdżami.

Cukier trzcinowy skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego na prawo; po ogrzewaniu zaś z rozcieńczo-

nym kwasem na lewo, gdyż d-fruktoza skręca silniej na lewo, aniżeli równoważna ilość d-glukozy na prawo.

22. Cukier mleczny, laktoza ($C_{12}H_{22}O_{11}$).

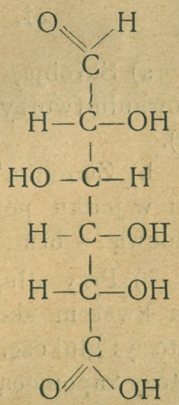
Cukier mleczny jest zbudowany z cząsteczki galaktozy i glukozy, połączonych ze sobą tak, że grupa aldehidowa glukozy jest zachowaną.

a) Roztwór cukru mlecznego daje wszystkie odczyny jakościowe wspólne omawianym dotychczas cukrom prostym.

b) Cukier mleczny skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego na prawo.

c) Nie fermentuje z drożdżami.

d) Szczyptę cukru mlecznego ogrzewamy w probówce z kilku kroplami kwasu azotowego stężonego tak, aby się wywiązywały pary tlenku azotowego; potem odparowujemy w parowniczce porcelanowej na łaźni wodnej; pozostałość zobojętniamy amoniakiem, odparowujemy i ogrzewamy na wolnym płomieniu; uchodzi pyrol, który rozpoznajemy, jak w próbie z kwasem bursztynowym (17 b), za pomocą drzazgi jodłowej, zwilżonej kwasem solnym.



Kwas glukuronowy.

23. Kwas glukuronowy.

Kwas glukuronowy, ważny składnik moczu, występuje tam

w postaci związków z różnorodnemi substancjami, zawierającemi grupy alkoholowe, aldehidowe lub ketonowe, jak np. z chloralem, kamforą, mentolem; związki te ulegają hidrolizie przy gotowaniu z rozcieńczonym kwasem, dając kwas glukuronowy i związane z nim substancje.

Kwas glukuronowy daje odczyny cukrowe, gdyż zawiera grupę aldehidową, pozatem odczyny pentoz; przechodzi bowiem przez odszczepienie dwutlenku węgla z łatwością w pentozę.

a) Wykonać odczyn Trommera, odczyn orcynowy i furfurolowy arabinozy.

b) Kwas glukuronowy barwi się z wodą barytową na żółto i daje przy ogrzaniu żółty osad.

24. Skrobja $(C_6H_{10}O_5)_n$.

a) Skrobja, ogrzewana z wodą, pęcznieje; przy gotowaniu tworzy opalizujący roztwór koloidalny (klajster).

b) Ziarenka skrobji lub klajster dają z roztworem jodu w jodku potasu niebieskie zabarwienie; z wodą bromową — brunatno-żółte.

c) Przy długotrwałem gotowaniu z rozcieńczonym kwasem skrobja ulega hidrolizie na dekstryny, maltozę i glukozę. Wykazujemy obecność glukozy lub maltozy zapomocą próby Trommera.

25. Dekstryny.

Dekstryny są produktami rozkładu skrobji; mięszaninami substancji o wielkim ciężarze cząsteczkowym.

a) Alkohol strąca dekstryny.

b) Pewne dekstryny (erytrodekstryny) barwią się jodem na czerwono, inne (achroodekstryny) nie dają tej reakcji.

c) Przy gotowaniu z kwasem dekstryny zamieniają się na glukozę.

26. Glikogen.

Najważniejszy cukier zapasowy ustroju zwierzęcego: gdzie występuje?

a) Glikogen barwi się jodem na kolor czerwonobrunatny.

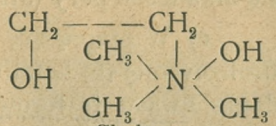
b) Daje się strącić z roztworów przez równą objętość alkoholu.

c) Nie rozkłada się przy gotowaniu z 30% ługiem.

Ciała tłuszczowate.

27. Lecytyna.

Lecytyna jest związkiem, zbudowanym z kwasów tłuszczowych nasyconych i nienasyconych, kwasu glicerynofosforowego i choliny.



Cholina.

a) Lecytyny rozpuszczają się w alkoholu i eterze, z roztworów tych wytrąca je aceton. Z wodą dają lepki koloidalny roztwór.

b) Ogrzewamy małą grudkę lecytyny z ługiem sodowym, aż otrzymamy jednolity płyn; cholina rozszczepia się przytem częściowo na lotny trójmetylamin, który nadaje parom silnie zasadową reakcję. Zakwaszamy i wykazujemy kwasy tłuszczowe, rozpuszczalne w eterze. W przesączonym wodnym płynie strącamy kwasem fosforowolframowym cholinę i trójmetylamin.

c) Z alkoholowego roztworu możemy wytrącić lecytynę alkoholowym roztworem chlorku kadmowego.

28. Kefalina.

Kefalina, podobnie jak lecytyny, jest składnikiem wszelkich komórek, szczególnie obficie występuje w tkance układu nerwowego. Zbudowana jest z wysokich kwasów tłuszczowych: stearynowego i linolowego, jako zasadę zawiera nie cholinę, lecz oksetylamin.

$$\begin{array}{ll} CH_2 - & CH_2 \\ | & | \\ NH_2 & OH \end{array}$$

Oksetylamin.

a) Sucha kefalina rozpuszcza się tylko w wilgotnym eterze, w eterze bezwodnym jest nierozpuszczalną; z eterowego roztworu alkohol ją strąca.

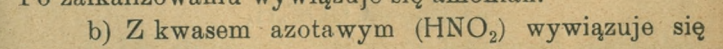
b) Przy hidrolizie kefaliny ługiem nie wywiązują się alkaliczne pary (dlaczego?).

c) W przesączu, otrzymanym po zakwaszeniu hidrolizowanej (b) kefaliny nie wytwarza się osad po dodaniu kwasu fosforowolframowego, gdyż oksetylamin nie strąca się przez kwas fosforowolframowy.

29. Amid kwasu octowego (CH_3CONH_2).

Amid kwasu octowego zawiera grupę aminową, związaną z grupą karbonilową. Pod działaniem czynników hidrolizujących łatwo odszczepia się z niego amoniak.

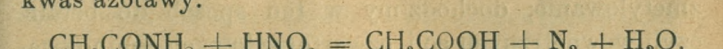
a) Roztwór amidu kwasu octowego gotujemy z kwasem solnym; następuje rozkład na kwas octowy i chlorek amonowy.



$$CH_3CONH_2 + H_2O + HCl = CH_3COOH + (NH_4)Cl.$$

Po zalkalizowaniu wywiązuje się amoniak.

b) Z kwasem azotawym (HNO_2) wywiązuje się azot i tworzy się kwas octowy. Zamiast kwasu azotawego posługujemy się roztworem azotynu, do którego dodajemy jakiegokolwiek kwasu; wywiązuje się wolny kwas azotawy.



$$CH_3CONH_2 + HNO_2 = CH_3COOH + N_2 + H_2O.$$

30. Glikokol, kwas amino-octowy. (CH_2NH_2COOH).

Glikokol zawiera grupę aminową, związaną z grupą metylenową (CH_2); jest on najprostszym reprezentantem aminokwasów, składników białka.

Aminokwasy zawierają grupę kwaśną karboksylową i zasadową aminową, są więc amfolitami; tworzą sole z zasadami i kwasami; w roztworach alkalicznych reagują jako kwasy:

$$\begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ NH_2 \end{array} + NaOH = \begin{array}{l} CH_2 - COONa \\ | \\ NH_2 \end{array} + H_2O;$$

w roztworach kwaśnych — jako zasady:

$$\begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ NH_2 \end{array} + HCl = \begin{array}{l} CH_2 - COOH\,. \\ \quad | \\ H \diagdown N \diagup H \\ H \diagup \quad \diagdown Cl \end{array}$$

Przez estryfikację grupy karboksylowej można uwydatnić własności grupy zasadowej i otrzymać silniej zasadowe estry aminokwasów:

$$\begin{array}{l} CH_2 - COOC_2H_5 \\ | \\ NH_2 \end{array}$$

Ester etylowy glikokolu.

Grupę zasadową możemy wzmocnić przez zupełne zmetylowanie; dochodzimy w ten sposób do betain, czyli wewnętrznych soli czwartorzędowych aminokwasów:

$$\begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ NH_2 \end{array} \rightarrow \begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ \quad | \\ CH_3 \diagdown N \diagup OH \\ CH_3 \diagup \quad \diagdown CH_3 \end{array} \rightarrow$$

Aminokwas.

$$\rightarrow \begin{array}{l} CH_2 - CO \\ \quad | \qquad\quad | \\ CH_3 \diagdown N - - O \\ CH_3 \diagup \quad \diagdown CH_3 \end{array}$$

Betaina.

Przez związanie grupy aminowej z grupą metylenową (pod działaniem aldehidu mrówczanego) możemy zasadowe własności grupy aminowej tak dalece osłabić, że powstaje związek kwaśny.

a) Pod działaniem czynników hidrolizujących nie następuje odszczepienie od glikokolu amoniaku. Sprawdzić przez gotowanie z kwasem solnym stężonym.

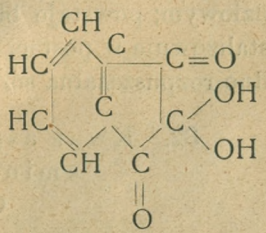
b) Pod działaniem kwasu azotawego powstaje kwas glikolowy:

$$\begin{array}{l} CH_2-COOH \\ | \\ NH_2 \end{array} + HNO_2 = \begin{array}{l} CH_2-COOH \\ | \\ OH \end{array} + N_2 + H_2O$$

Kwas glikolowy.

c) Do stężonego roztworu glikokolu dodajemy węglanu miedziowego i gotujemy; ciemno-niebieski roztwór sączymy na gorąco; z płynu wydzielają się kryształki glikokolanu miedziowego $(C_2H_4NO_2)_2Cu$. Sole miedziowe służą często do rozpoznawania poszczególnych aminokwasów.

d) Do 5 cm.³ wody dodajemy kroplę fenolftaleiny, nieco formaliny i tyle rozcieńczonego ługu, ażeby wystąpiła słabo zasadowa reakcja; po dodaniu również słabo zalkalizowanego roztworu glikokolu występuje reakcja kwaśna (dlaczego?).

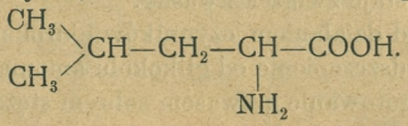


Wodzian trójketohydryndenu.

e) Do 1 cm.³ roztworu glikokolu dodajemy kroplę 1% roztworu wodzianu trójketohydryndenu (ninhydry-

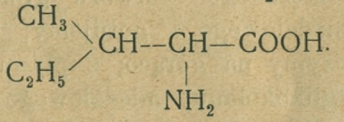
ny) i gotujemy; występuje niebieskie zabarwienie. Ogólny odczyn aminokwasów.

31. Leucyna, kwas α-amino-izokapronowy.



Leucyna jest jednym z najważniejszych składników białka. Obok niej występują jako składniki białka dwie pochodne innych kwasów kapronowych: norleucyna: $CH_3--CH_2-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH$

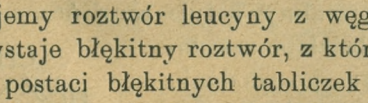
i izoleucyna:



Niezupełnie czysta leucyna krystalizuje z wody w postaci mikroskopowych kuleczek (globulitów); jest trudno rozpuszczalna w wodzie.

a) Gotujemy roztwór leucyny z węglanem miedziowym; powstaje błękitny roztwór, z którego wykrystalizowuje w postaci błękitnych tabliczek bardzo trudno rozpuszczalna sól miedziowa $(C_6H_{12}NO_2)_2Cu$.

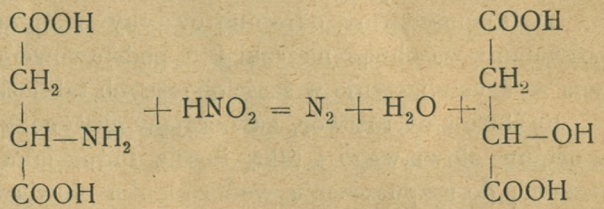
32. Kwas asparaginowy czyli kwas aminobursztynowy.



a) Daje ogólne odczyny aminokwasów.

b) Przy gotowaniu z ługiem lub kwasem nie odszczepia amoniaku.

c) Z kwasem azotawym wywiązuje azot i zamienia się na kwas jabłkowy.

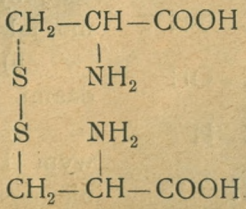


Kwas jabłkowy.

d) Sól miedziowa kwasu asparaginowego, otrzymana przez gotowanie roztworu kwasu asparaginowego z węglanem miedziowym i przesączenie na gorąco roztworu, krystalizuje w postaci bardzo długich cieniutkich igiełek.

W świecie roślinnym rozpowszechniony jest amid kwasu asparaginowego czyli asparagina. Pod działaniem bakterji gnilnych kwas asparaginowy przechodzi w β-alaninę.

33. Cystyna



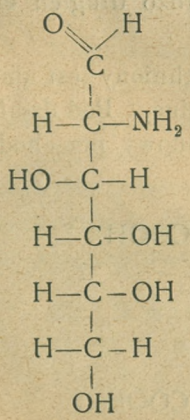
Cystyna powstaje przez utlenienie cysteiny:

CH_2—CH—COOH. Cystyna i cysteina są prawdopo-
| |
SH NH_2
dobnie jedynymi, zawierającymi siarkę, składnikami cząsteczki białkowej.

a) Rozpuszczamy odrobinę cystyny w amoniaku i pozwalamy zaschnąć na szkiełku podstawowem; cystyna wykrystalizowuje w sześciobocznych tabliczkach.

b) Gotujemy roztwór, zawierający cystynę, z kroplą octanu ołowiawego i taką ilością ługu, jaka jest potrzebną do rozpuszczenia wodorotlenku ołowiawego; wydziela się czarny siarczek ołowiawy.

c) Gotujemy cystynę z ługiem sodowym, po ostudzeniu dodajemy nitroprusydku; powstaje fijołkowe zabarwienie.



Glukozamin.

34. Glukozamin.

Glukozamin jest ważnym składnikiem chityny i kwasu chondroitynosiarczanego.

a) Glukozamin daje próby redukcyjne i glukosazon tak samo, jak glukoza.

b) Nie fermentuje z drożdżami.

c) Z chlorkiem benzoilowym i ługiem sodowym daje nierozpuszczalny w ługu czworobenzoiloglukozamin.

35. Cerebron, frenozyna.

Cerebron i frenozyna są przedstawicielami galaktozydów, związków złożonych z wysokiego kwasu tłuszczowego (kwasu cerebronowego $C_{25}H_{50}O_3$), wysokiej oksyzasady tłuszczowej (sfingozyny) i galaktozy. Ważne składniki układu nerwowego i wszelkich komórek.

a) Cerebron daje przy ogrzewaniu z kwasem siarkowym stężonym czerwone zabarwienie.

b) Po gotowaniu z kwasem solnym wydzielają się kwasy tłuszczowe; w przesączu występuje skutkiem odszczepienia galaktozy dodatnia próba Trommera.

36. Mocznik, dwuamid kwasu węglowego $\left(\begin{smallmatrix}+\\ \mathrm{Ur}\end{smallmatrix}\right).CO\begin{smallmatrix}NH_2\\ NH_2\end{smallmatrix}$.

a) Mocznik rozpada się przy gotowaniu z ługiem na amoniak i węglan.

$$CO(NH_2)_2 + 2NaOH = Na_2CO_3 + 2NH_3$$

b) Z kwasem azotawym daje azot i dwutlenek węgla:

$$CO(NH_2)_2 + 2HNO_2 = CO_2 + 2N_2 + 3H_2O.$$

c) Pod działaniem ługu bromowego NaOBr — te same produkta:

$$CO(NH_2)_2 + 3NaOBr = CO_2 + N_2 + 3NaBr + 2H_2O.$$

d) W *suchej* (!) probówce ogrzewamy kilka kryształków mocznika, aż się stopią, ochładzamy i dodaje

my nieco wody, następnie ługu sodowego i rozcieńczonego siarczanu miedziowego; występuje zabarwienie różowe, purpurowe, fijołkowe (odczyn biuretowy). Przez ogrzewanie mocznika powstał biuret czyli amid kwasu alofanowego.

$$2CO(NH_2)_2 = NH_3 + NH_2 - CO - NH - CO - NH_2.$$

Biuret.

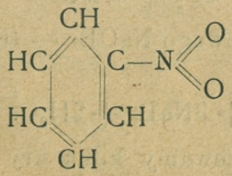
e) Stężone roztwory mocznika dają ze stężonym kwasem azotowym azotan mocznikowy, krystalizujący w sześciobocznych tabliczkach:

$$NH_2 - CO - NH_2 \cdot HNO_3;$$

ze stężonym kwasem szczawiowym — szczawian mocznikowy: $2(NH_2-CO-NH_2) \cdot C_2O_4H_2$.

37. Nitrobenzol $C_6H_5NO_2$.

Nitrobenzol zawiera grupę nitrową NO_2, związaną z jądrem benzolowem tak, że węgiel połączony jest z azotem bezpośrednio; poznajemy to po tem, że przy redukcji nitrobenzol zamienia się na anilinę w przeciwstawieniu do związków, które otrzymujemy przez działanie kwasu azotowego na alkohole alifatyczne; powstają wtedy estry kwasu azotowego, dające przy redukcji hidroksylaminę i amoniak.



Nitrobenzol.

a) Do 2 cm.³ kwasu siarkowego stężonego dodajemy 1 cm.³ kwasu azotowego i kroplę benzolu; mieszamy, potem ogrzewa-

my ostrożnie w łaźni; występuje charakterystyczny zapach gorzkich migdałów:

$$C_6H_6 + HNO_3 = C_6H_5NO_2 + H_2O.$$

b) Do kropli nitrobenzolu dodajemy nieco chlorku cynawego i 3 do 4 cm.^{3} ługu sodowego; ogrzewamy, ciągle przetrząsając; zanika zapach nitrobenzolu, występuje zapach aniliny. Przetrząsamy alkaliczny płyn z eterem i odlaną warstwę eterową odparowujemy na łaźni wodnej, a do pozostałości dodajemy chlorku bielącego ($Ca\begin{matrix}OCl\\Cl\end{matrix}$): występuje purpurowo-fijołkowe zabarwienie, odczyn aniliny.

38. Anilina $C_6H_5NH_2$ czyli feniloamin.

a) Anilina rozpuszcza się w kwasach, tworząc sole anilinowe, np. $C_6H_5NH_2HCl$; po dodaniu ługu anilina wydziela się w postaci kropelek.

b) Jeżeli roztwór aniliny w kwasie solnym, dobrze ochłodzony, zadamy ostrożnie rozcieńczonym azotynem sodowym, to powstaje chlorek dwuazobenzolowy, który możemy wykazać przez wytworzenie barwnika azowego z roztworem α-naftolu w obecności amoniaku:

$$C_6H_5NH_2HCl + HNO_2 = C_6H_5 - \underset{\underset{Cl}{|}}{N} \equiv N + 2H_2O.$$

Niezmiernie nietrwały wybuchający chlorek dwu-

azobenzolowy rozpada się przy ogrzewaniu na fenol, azot i chlorowodór:

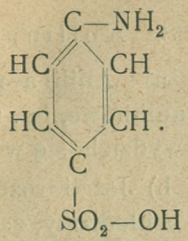
$$C_6H_5N_2Cl + H_2O = C_6H_5OH + N_2 + HCl.$$

Prawdopodobnie ten sam mechanizm posiadają wszystkie reakcje, w których tworzy się z grupy aminowej pod działaniem kwasu azotawego grupa wodorotlenowa. W związkach alifatycznych sole dwuazowe są jeszcze bardziej nietrwałe, niż w aromatycznych.

c) Z chloroformem i ługiem ob. próbę 10a.

d) Sole anilinowe dają z dwuchromianem potasowym i kwasem siarczanym rozcieńczonym ciemno-zielony, granatowy, wreszcie czarny osad czerni anilinowej.

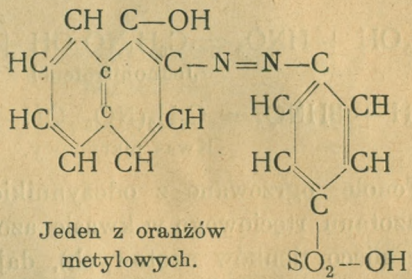
39. Kwas sulfanilowy.



a) Roztwór kwasu sulfanilowego zadajemy azotynem potasowym i rozcieńczonym kwasem siarkowym: wytwarza się kwas dwuazobenzolosulfonowy, który przy ogrzewaniu przechodzi w kwas parafenolosulfonowy (podać wzór reakcji).

b) Do 10 cm.^{3} wody dodajemy kroplę roztworu kwasu sulfanilowego, kroplę rozcieńczonego azotynu sodowego i kilka kropli rozcieńczonego kwasu siarko-

wego dodaje się potem po kropli odczynnika, otrzymanego przez rozcieńczenie kropli 20% alkoholowego α-naftolu przez 1 cm.³ amoniaku i 5 cm.³ wody; występuje pomarańczowe zabarwienie, które po dodaniu amoniaku przechodzi w purpurowe. Z kwasu diazobenzolosulfonowego i naftolu wytworzył się oranż metylowy, prototyp barwika dwuazowego.



Jeden z oranżów metylowych.

40. Fenol czyli kwas karbolowy C_6H_5OH.

Fenole zawierają grupę wodorotlenową, związaną z jądrami aromatycznemi; różnią się od alkoholów przez to, że węgiel, związany z grupą wodorotlenową, jest zarazem połączony podwójnem wiązaniem z drugim węglem. Przez to fenole tworzą swoistą grupę alkoholów trzeciorzędowych, w których wodór grupy wodorotlenowej, na skutek sąsiedztwa z wiązaniem podwójnem, zachowuje się tak, jak w kwasach (słabych).

a) Fenol rozpuszcza się trudno w wodzie, łatwo w ługu sodowym.

b) Wodny roztwór fenolu barwi się z chlorkiem żelazowym na kolor niebiesko-fijołkowy.

c) Woda bromowa wytwarza żółtawy osad trójbromofenolu.

$$C_6H_5OH + 3Br_2 = C_6H_2Br_3OH + 3HBr.$$

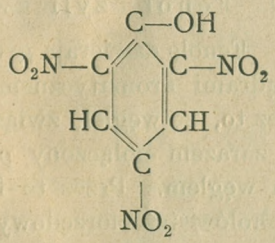
d) Przy ogrzewaniu kwasu azotowego z fenolem występuje jasno-żółte zabarwienie; po dodaniu ługu barwa przechodzi w brunatno-żółtą.

$$C_6H_5OH + HNO_3 = \underset{\text{Jednonitrofenol.}}{C_6H_4NO_2OH} + H_2O.$$

$$C_6H_5OH + 3HNO_3 = \underset{\text{Kwas pikrynowy.}}{C_6H_2(NO_2)_3OH} + 3H_2O.$$

e) Fenole, ogrzewane z odczynnikiem Millona (roztwór azotanu rtęciowego w kwasie azotowym, zawierającym nieco tlenków azotowych), dają zabarwienie czerwone.

41. Kwas pikrynowy, trójnitrofenol.

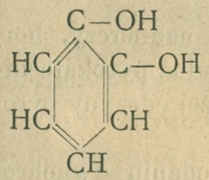


a) Kwas pikrynowy strąca alkaloidy i białka w kwaśnych roztworach. Sprawdzić na siarczanie cynchoninowym i roztworze kleju. Wskutek powinowactwa między kwasem pikrynowym a białkiem wełna lub jedwab barwią się trwale na żółto, natomiast z baweł-

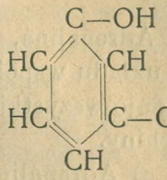
ny, zabarwionej kwasem pikrynowym możemy barwę żółtą spłukać (dlaczego?).

42. Pyrokatechina $C_6H_4(OH)_2$, orto-dwuoksybenzol.

Dwuoksybenzole istnieją w 3 izomerach: orto-dwuoksybenzol czyli pyrokatechina:

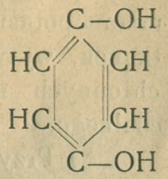


; meta-dwuoksybenzol czyli rezorcyna:



;

i para-dwuoksybenzol czyli hydrochinon:

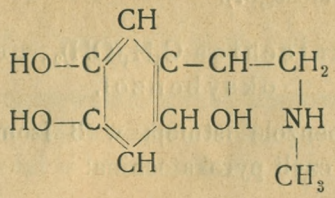


a) Roztwór wodny pyrokatechiny barwi się pod wpływem ługu i przetrząsania z powietrzem na kolor ciemny, pochłania przytem tlen.

b) Pyrokatechina redukuje amoniakalny roztwór srebra nawet bez ogrzewania.

c) Pyrokatechina daje z chlorkiem żelazowym zabarwienie szmaragdowe, które po dodaniu węglanu sodowego przechodzi w fijołkowe.

43. Adrenalina, suprarenina, epinefryna.

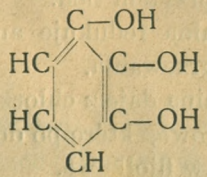


Adrenalina, wydzielina rdzenia nadnerczy, hormon układu współczulnego, jest pochodną pyrokatechiny i daje wszystkie 3 wymienione wyżej odczyny pyrokatechiny.

a) Adrenalina przyjmuje po dodaniu dwuchromianu potasu kolor brunatny; jest to ogólny odczyn tkanek, wytwarzających adrenalinę, komórek chromochłonnych nadnerczy i paragangljów układu współczulnego.

b) Przy ogrzewaniu z kwasem jodowym (HJO_3) występuje czerwona barwa.

44. Pyrogallol, trójoksybenzol.



Pyrogallol posiada w wyższej mierze niż pyrokatechina zdolność pochłaniania tlenu w alkalicznym roztworze.

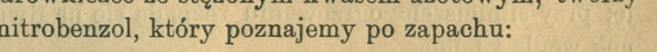
45. Kwas bendźwinowy C_6H_5COOH.

Kwas bendźwinowy jest najprostszym kwasem aromatycznym.

a) Ogrzewany w probówce sublimuje i osadza się na ściankach, jako krystaliczny nalot.

b) Rozpuszczamy kwas bendźwinowy w rozcieńczonym ługu sodowym, potem zakwaszamy; kwas bendźwinowy wypada w formie krystalicznej.

c) Odparowujemy nieco kwasu bendźwinowego w parowniczce ze stężonym kwasem azotowym; tworzy się nitrobenzol, który poznajemy po zapachu:



$$C_6H_5COOH + HNO_3 = C_6H_5NO_2 + CO_2 + H_2O.$$

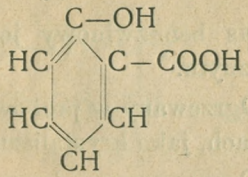
46. Kwas hipurowy, benzoiloglikokol.
$C_6H_5CO—NHCH_2COOH$.

a) Kwas hipurowy jest trudno rozpuszczalny w wodzie zimnej, łatwo w gorącej.

b) Z kwasem azotowym daje nitrobenzol tak, jak kwas bendźwinowy.

c) Przy ogrzewaniu z kwasem solnym stężonym rozpada się na kwas bendźwinowy i glikokol; po ochłodzeniu zobojętniamy i wykazujemy glikokol zapomocą reakcji ninhydrynowej.

47. Kwas salicylowy, kwas orto-oksybendźwinowy:



jest zarazem kwasem aromatycznym i fenolem.

a) Rozpuszczalność podobna do rozpuszczalności kwasu bendźwinowego.

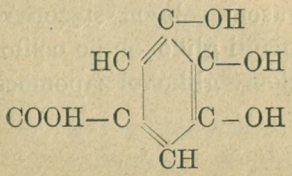
b) Przy ogrzewaniu na sucho topnieje i sublimuje; przy silniejszem ogrzewaniu rozpada się na dwutlenek węgla i fenol.

$$C_6H_4OHCOOH = C_6H_5OH + CO_2 .$$

Odwróceniem tej reakcji jest synteza kwasu salicylowego z fenolu i dwutlenku węgla pod wyższem ciśnieniem tego gazu.

c) Przy ogrzewaniu z chlorkiem żelazowym występuje silne fijołkowe zabarwienie (dlaczego?).

d) Z odczynnikiem Millona — czerwone zabarwienie (dlaczego?).



Kwas gallusowy.

48. Kwas gallusowy $C_6H_2(OH)_3COOH$.

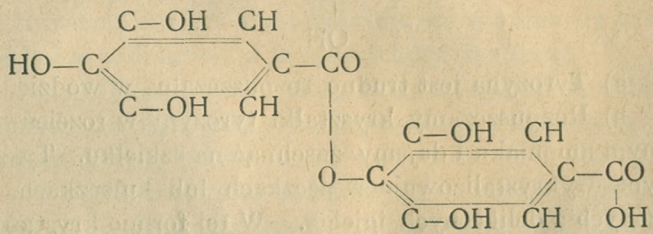
a) Kwas gallusowy utlenia się pod działaniem kwasu azotowego na kwas szczawiowy. Przykład roz-

kładu jądra benzolowego. Po zobojętnieniu próby wykonać odczyn na kwas szczawiowy.

b) Chlorek żelazowy wywołuje czarno-niebieskie zabarwienie.

49. Tanina czyli kwas gallogarbnikowy.

Tanina jest związkiem, w którym grupy wodorotlenowe glukozy lub wielocukrów są zestryfikowane z cząsteczkami kwasu dwugallusowego:



tak, że na każdą cząsteczkę glukozy przypada 10 cząsteczek kwasu gallusowego.

a) Tanina daje z chlorkiem żelazowym taki sam odczyn, jak i kwas gallusowy.

b) Strąca alkaloidy, klej i białka z roztworów.

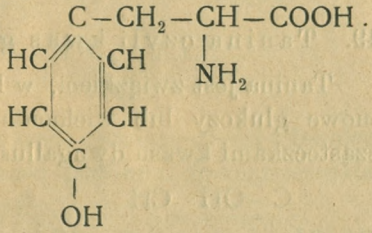
50. Feniloalanina, kwas β-fenilo-α-aminopropionowy.

$$C_6H_5-CH_2-\underset{\underset{NH_2}{|}}{CH}-COOH$$

a) Daje przy gotowaniu z węglanem miedziowym sól miedziową, która wykrystalizowuje z ciemno-niebieskiego roztworu.

b) Przy ogrzewaniu 2 cm.³ roztworu feniloalaniny z 10 kroplami kwasu siarkowego i odrobiną dwuchromianu potasu tworzy się aldehid feniloocztowy o charakterystycznym zapachu.

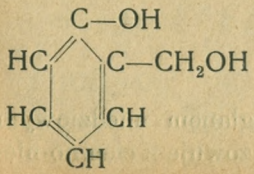
50. Tyrozyna, paraoksyfeniloalanina.



a) Tyrozyna jest trudno rozpuszczalną w wodzie.

b) Rozpuszczamy kryształki tyrozyny w rozcieńczonym amoniaku i dajemy zaschnąć na szkiełku. Tyrozyna wykrystalizowuje w pęczkach lub kuleczkach, złożonych z delikatnych igiełek. W tej formie krystalizuje tyrozyna wszędzie tam, gdzie się przy rozkładzie białka w większych ilościach wytwarza: w autolizującej tkance wątrobowej, w ropie lub białku, trawionem trypsyną.

c) Roztwór tyrozyny nawet bardzo rozcieńczony daje przy ogrzewaniu z odczynnikiem Millona silne czerwone zabarwienie (Próba Hofmanna).



Saligenina.

52. Salicyna, glukozyd, saligeniny czyli alkoholu salicylowego.

a) Jak wszystkie glukozydy salicyna rozszczepia się przy gotowaniu z roz-

cieńczonymi kwasami i daje cukier redukujący, który wykazujemy za pomocą próby Trommera.

52. Cholesteryna $C_{27}H_{45}OH$.

Cholesteryna jest alkoholem hydroaromatycznym nienasyconym, którego budowa nie jest jeszcze dokładnie znaną. Występuje jako składnik wszystkich komórek, w większych ilościach wchodzi w skład tkanki nerwowej; uchodzi jako wydalina w żółci; estry cholesteryny z kwasami tłuszczowymi znajdują się w surowicy krwi, w korze nadnerczy, w tłuszczu skóry (lanolina).

a) Cholesteryna jest nierozpuszczalną w wodzie, rozpuszcza się w alkoholu, krystalizuje z roztworów alkoholowych w tabliczkach rombowych.

b) Do roztworu cholesteryny w chloroformie dodajemy równą ilość kwasu siarkowego, który otrzymaliśmy przez rozcieńczenie 2 objętości stężonego kwasu siarczanego 1 objętością wody; występuje czerwone zabarwienie (Próba Salkowskiego).

c) Do roztworu cholesteryny w chloroformie dodajemy kilka kropli bezwodnika kwasu octowego, $O\begin{cases} OC-CH_3 \\ OC-CH_3 \end{cases}$, potem kroplę po kropli stężonego kwasu siarczanego; występuje zabarwienie czerwone, które przechodzi w niebieskie, potem w zielone (Próba Liebermanna-Burchardta).

d) Do alkoholowego roztworu cholesteryny dodajemy alkoholowego roztworu digitoniny, ciała, należą-

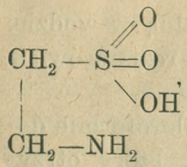
cego do klasy saponinów; tworzy się biały osad (Odczyn Windausa).

Estry cholesteryny dają reakcje Salkowskiego i Liebermanna, natomiast nie dają reakcji Windausa.

Na powinowactwie cholesteryny do saponinów polega działanie hemolizujące saponinów.

53. Kwas cholowy, $C_{24}H_{40}O_5$, czyli kwas trójoksycholanokarbonowy: $C_{23}H_{36}(OH)_3COOH$.

Kwas cholowy tworzy w połączeniu z tauryną,

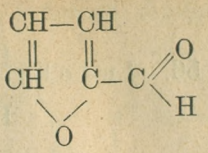


, kwas taurocholowy, w połączeniu z glikokolem — kwas glikocholowy, najważniejsze kwasy żółciowe. Budowa kwasu cholowego nie jest jeszcze określoną: wiemy tylko, że jest kwasem jednowartościowym, zawierającym trzy wodorotleny, a pochodnym węglowodoru hydroaromatycznego, cholanu $C_{23}H_{40}$.

a) Cholan sodowy i potasowy są rozpuszczalne w wodzie; sam kwas nie jest rozpuszczalny.

b) Na 2 cm.^{3} stężonego kwasu siarkowego nalewamy ostrożnie 1 cm.^{3} cholanu sodowego, do którego dodaliśmy kroplę rozcieńczonego cukru trzcinowego; mieszamy obydwa płyny bardzo ostrożnie, unikając zbytniego ogrzania; występuje wiśniowo-purpurowe zabarwienie (Próba Pettenkofera). Próbę tę dają wszystkie kwasy żółciowe.

54. Furfurol



a) Do bardzo rozcieńczonego roztworu furfurolu dodajemy zakwaszonego octanu anilinowego.

b) Do takiegoż roztworu furfurolu dodajemy kroplę 20% roztworu α-naftolu i stężonego kwasu siarkowego.

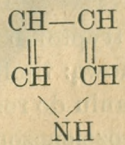
c) Do roztworu furfurolu dodajemy kroplę cholanu sodowego i dolewamy ostrożnie $^1/_2$ cm.^{3} stężonego kwasu siarkowego.

Podać przy jakich substancjach występowały te same odczyny.

d) Do roztworu furfurolu dodajemy roztworu floroglucyny w 12% rozczynie kwasu solnego; płyn barwi się na żółto, potem na zielono, wreszcie wypada osad nierozpuszczalnego floroglucydu furfurolowego.

$$C_5H_4O_2 + C_6H_6O_3 = C_{11}H_8O_4 + H_2O.$$

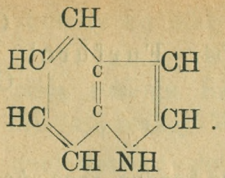
55. Pyrol



a) Pary pyrolowe barwią drzazgę jodłową, zwilżoną kwasem solnym, na kolor karminowy.

b) Z nitroprusydkiem sodowym i ługiem powstaje fijołkowe zabarwienie, a po zakwaszeniu—niebieskie.

56. Indol



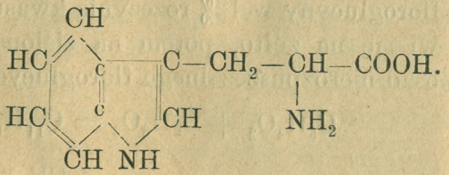
Indol powstaje przez rozkład gnilny tryptofanu w przewodzie pokarmowym.

a) Indol barwi drzazgę jodłową, zwilżoną kwasem solnym, na kolor wiśniowy.

b) Daje z nitroprusydkiem taką samą reakcję, jak pyrol.

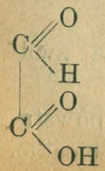
c) Do roztworu indolu dodajemy azotynu potasowego i rozcieńczonego kwasu siarkowego; płyn barwi się na czerwono i wypada czerwony krystaliczny osad, czerwień indolowa czyli czerwień choleryczna.

57. Tryptofan



a) Wolny tryptofan daje charakterystyczną reakcję z wodą bromową: fijołkowe zabarwienie.

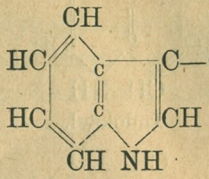
b) Po dodaniu do rozczynu tryptofanu kropli bardzo rozcieńczonego kwasu glioksylowego mieszamy ostrożnie z kwasem siarkowym stę-



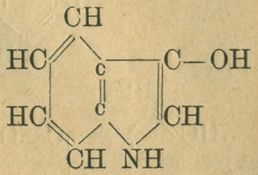
Kw. glioksylowy.

żonym; występuje piękne i trwałe fijołkowe zabarwienie.

58. Kwas indoksylosiarczany, indykan moczowy.

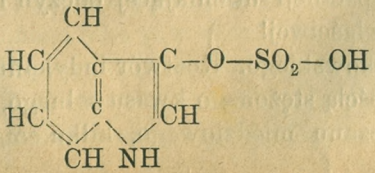


Indykan powstaje w ten sposób, że indol, wytworzony przez bakterje gnilne w jelicie, utlenia się w wątrobie na indoksyl, a indoksyl łączy się z kwasem siarczanym na kwas indoksylosiarczany, tworząc w ten sposób nieszkodliwą dla organizmu substancję.



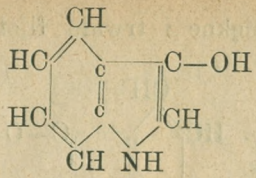
Indoksyl.

Próby na indykan wykonujemy przez rozszczepienie indykanu na indoksyl i kwas siarczany i utlenienie indoksylu na indygo. Jako środków utleniających używamy albo chlorku bielącego (próba Jaffego), albo chlorku żelazowego (kwas solny stężony, zawierający 0,2% chlorku żelazowego, stanowi odczynnik Obermayera), wreszcie siarczanu miedziowego (próba Salkowskiego).



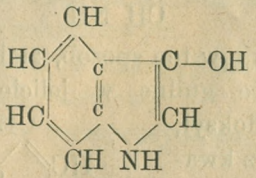
$+ H_2O =$

Indykan.

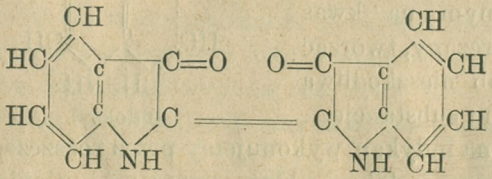


$= \qquad + H_2SO_4 .$

Indoksyl.



$+ O_2 =$



$= \qquad + 2H_2O .$

Indygo.

a) Próba Jaffego. Do roztworu, zawierającego indykan (moczu), dodajemy równą objętość stężonego kwasu solnego, kilka cm.³ chloroformu i kroplę rozcieńczonego chlorku bielącego, poczem silnie przetrząsamy; chloroform barwi się na kolor indygowy. W obecności nadmiaru substancji utleniającej odczyn nie występuje w barwie właściwej!

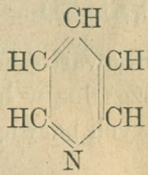
b) Próba Salkowskiego. Roztwór indykanu zadajemy równą objętością stężonego kwasu solnego, 1 cm.³ 10% rozczynu siarczanu miedziowego, kilku cm.³ chlo-

roformu i przetrząsamy. Chloroform barwi się na kolor indygowy.

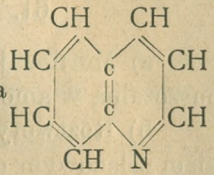
c) Do roztworu indykanowego dodajemy równą objętość odczynnika Obermayera i chloroformu; przetrząsamy przez 2 minuty; chloroform barwi się na kolor indygowy.

Alkaloidy:

59. Pirydyna



i chinolina



a) Kwaśne roztwory pirydyny lub chinoliny dają osady z następującymi odczynnikami: 1) z kwasem garbnikowym, 2) z roztworem jodu w jodku potasu, 3) z jodkiem rtęciowym w jodku potasu, 4) z kwasem fosforowolframowym, 5) z kwasem pikrynowym, 6) z kwasem fosforomolibdenowym. Wszystkie te odczynniki określamy jako ogólne odczynniki alkaloidowe.

60. Chinina $C_{20}H_{24}N_2O_2$.

Chinina jest zasadą i tworzy sole z 1 cząsteczką kwasu solnego albo równoważnikami innych kwasów.

a) Daje ogólne odczyny alkaloidowe.

b) Roztwór soli chininowych wykazuje po dodaniu kwasu siarkowego błękitną fluorescencję.

c) Amoniak, węglan sodowy lub wodorotlenek

sodowy wytrącają chininę z roztworów jej soli; osad jest rozpuszczalny w eterze.

d) Do kilku cm.^{3} roztworu chininy dodajemy kroplę wody bromowej, potem amoniaku; powstaje szmaragdowe zabarwienie, które po zakwaszeniu kwasem solnym przechodzi w czerwone (odczyn taleiochinowy).

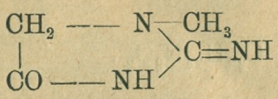
61. Morfina $C_{17}H_{17}NO_3$.

a) Morfina jest zasadą jednowartościową, nierozpuszczalną w amoniaku, rozpuszczalną w ługach.

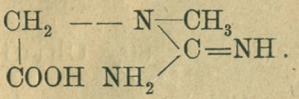
b) Roztwory soli morfinowych barwią się z chlorkiem żelazowym na niebiesko.

c) Ogrzewamy w parowniczce kryształek morfiny z kroplą kwasu siarkowego, aż do wywiązywania się białych dymów, potem dodajemy kryształek saletry; występuje fijoletowe zabarwienie (odczyn Hasemanna).

62. Kreatynina czyli bezwodnik kwasu metylo-guanidyno-octowego t. j. kreatyny.



Kreatynina.



Kreatyna.

a) Roztwór kreatyniny, zakwaszony kwasem solnym daje osad z kwasem fosforowolframowym.

b) Ze stężonych roztworów kreatyniny krystalizuje po zadaniu stężonym roztworem chlorku cyn-

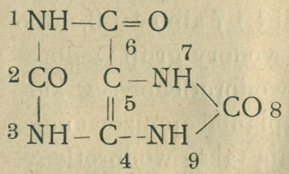
kowego połączenie kreatyniny z chlorkiem cynku $(C_4H_7N_3O)_2ZnCl_2$.

c) Roztwór kreatyniny, zadany kilku kroplami nitroprusydku, przyjmuje po dodaniu ługu sodowego kolor rubinowy (odczyn Weyla). Barwa rychło zanika.

d) Po dodaniu kwasu pikrynowego i ługu sodowego występuje w rozcieńczonym roztworze kreatyniny pomarańczowe zabarwienie (odczyn Jaffego).

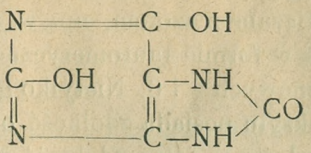
e) Kreatynina odbarwia przy gotowaniu płyn Fehlinga, tlenek miedziawy nie wydziela się przytem.

63. Kwas moczowy czyli 2-6-8-trójoksypuryna.



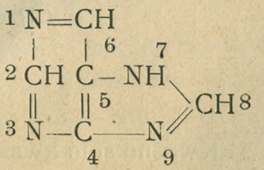
Wzór I.

albo



Wzór II.

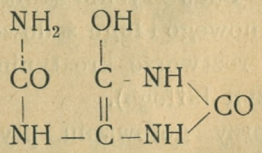
Kwas moczowy jest pochodną puryny; w ustroju ssaków powstaje przez utlenienie innych pochodnych purynowych, wchodzących w skład nukleoproteidów: adeniny czyli 6-aminopuryny, guaniny czyli 2-amino-6-oksypuryny oraz powstających przez utlenienie tych pierwszych zasad purynowych: hypo-



Puryna.

ksantyny czyli 6-oksypuryny i ksantyny czyli 2-6-dwuoksypuryny. Wyprowadzić wzory!

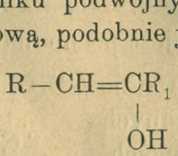
W ustroju ptaków kwas moczowy tworzy się drogą syntezy.



Alantoina.

Wszystkie ssaki, za wyjątkiem człowieka, utleniają kwas moczowy na alantoinę; człowiek tej zdolności nie posiada.

Kwas moczowy jest nierozpuszczalny w zimnej wodzie; jest kwasem dwuzasadowym. W kwasie tym mogą być wymienione na metale albo 2-atomy wodoru związane z azotem, np. w pozycji 1 i 7 albo 1 i 3, albo też w formie tautomerycznej (II) wodory grup wodorotlenowych 2 i 6. Nietylko grupa wodorotlenowa w karboksylu posiada zdolność odszczepiania zjonizowanego wodoru; tę samą zdolność posiadają także wodorotleny, stojące w pobliżu kilku podwójnych wiązań albo stanowiące grupę enolową, podobnie jak w fenolu:



Grupa enolowa.

Kwaśne sole kwasu moczowego z sodem, potasem i amonem są trudno rozpuszczalne; sole obojętne, trwałe tylko w roztworach alkalicznych, są łatwo rozpuszczalne. Dlatego kwas moczowy rozpuszcza się w łu-

gu lub węglanie sodowym. Moczan amonowy jest trudno rozpuszczalny także w nadmiarze amoniaku.

a) Rozpuszczamy próbę kwasu moczowego w ługu sodowym; po dodaniu kwasu solnego wypada kwas moczowy jako biały osad, który się rozpuszcza przy ogrzewaniu; przy ochładzaniu znów wypada.

b) Z zasadowego roztworu moczanu wytrącamy przez dodanie stężonego roztworu siarczanu amonowego osad moczanu amonowego.

c) Kwas fosforowolframowy strąca w roztworze kwaśnym kwas moczowy. Jeżeli dodajemy do bardzo rozcieńczonego roztworu nieco kwasu solnego i kwasu fosforowolframowego, to powstaje osad.

d) Do alkalicznego roztworu moczanów dodajemy kwasu fosforowolframowego; występuje niebieskie zabarwienie (odczyn Folina i Denisa).

e) Do bardzo rozcieńczonego roztworu moczanu sodowego dodajemy amoniaku, mieszaniny magnezowej i amoniakalnego roztworu srebra. Kwas moczowy wypada ilościowo jako biały żelatynowaty osad moczanu srebrowo-magnezowego.

f) Do alkalicznego roztworu kwasu moczowego dodajemy siarczanu miedziowego i dwusiarczynu sodowego. Dwusiarczyn redukuje sól miedziową na miedziawą, która strąca kwas moczowy, jako biały moczan miedziawy.

g) Kwas moczowy odtlenia na gorąco płyn Fehlinga.

h) Do okruszynki kwasu moczowego dodajemy w miseczce porcelanowej kroplę stężonego kwasu azotowego i ostrożnie ogrzewamy nad płomykiem; pozostały osad ma kolor żółty; ogrzewamy go tak długo, aż zaczyna nabierać od brzegu koloru czerwonego. Po ochłodzeniu dotykamy plamy z jednego końca kropelką ługu sodowego, z drugiej strony — kropelką amoniaku; ług wywołuje powstanie koloru fijołkowego, amoniak— kolor purpurowy (próba mureksydowa).

64. Guanina czyli 2-amino-6-oksypuryna. Wzór strukturalny?

Guanina jest zasadą purynową; ponieważ posiada o 2 grupy karbonilowe mniej niż kwas moczowy, a zawiera natomiast grupę aminową, przeto jej własności kwasowe są słabsze, występują natomiast własności zasadowe.

a) Guanina rozpuszcza się łatwo w kwasach mineralnych.

b) Z kwasem pikrynowym daje krystaliczny żółty osad.

c) Amoniakalny roztwór srebra strąca guaninę.

d) Przy próbie mureksydowej daje guanina żółtą pozostałość, która z ługiem sodowym daje na zimno zabarwienie czerwone, przy ogrzewaniu—fijoletowe.

65. Kofeina, 1-3-7-trójmetylo-2-6-dwuoksypuryna.

Skutkiem nagromadzenia grup metylowych w kofeinie własności kwasowe są osłabione, zasadowe przeważają:

a) Kofeina daje osad z kwasem fosforowolframowym.

b) Jeżeli odparujemy drobną ilość kofeiny z wodą bromową lub chlorową do sucha, to tworzy się pomarańczowa pozostałość, która pod wpływem par amoniaku przechodzi w purpurową.

66. Białka.

Własności ciał białkowych zależą: 1) od rodzaju aminokwasów, z których są złożone, 2) od sposobu sprzężenia tych aminokwasów, 3) od wielkości cząsteczki i związanego z nią stanu koloidalnego, 4) od charakteru amfoterowego cząsteczki białkowej, t. j. od zdolności tworzenia soli z kwasami i zasadami. Białko rozpada się pod działaniem kwasów lub ługów na produkta ostateczne, które należą do klasy aminokwasów. Zapoznaliśmy się już z najważniejszymi aminokwasami, które wyizolowano z białka, rozłożonego za pomocą kwasu solnego wrzącego lub trypsyny; podajemy jeszcze raz ich listę:

1) Kwasy jednoaminowe i jednokarboksylowe.

Glikokol, alanina, leucyna, izoleucyna, norleucyna, walina i kwas α-aminomasłowy. Wzory?

2) Kwasy jednoamino-dwukarboksylowe.

Kwas asparaginowy i glutaminowy. Wzory?

3) Kwasy dwuamino-jednokarboksylowe.

Ornityna czyli kwas α-δ-dwuaminowalerjanowy; ornityna, połączona z resztą $C\begin{matrix}=NH\\-NH_2\end{matrix}$, tworzy argininę. Wzory?

4) Kwasy oksytłuszczowe.

Seryna czyli kwas β-oksy-α-aminopropionowy. Wzór?

5) Kwasy tioaminowe.

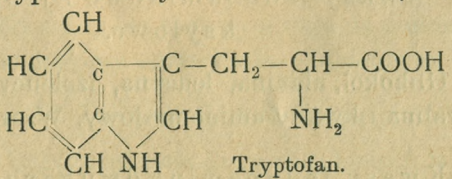
Cysteina czyli kwas β-tio-α-aminopropionowy, występuje w białku jako cystyna. Wzór?

6) Aminokwasy aromatyczne.

Feniloalanina i tyrozyna. Wzory?

7) Związki heterocykliczne.

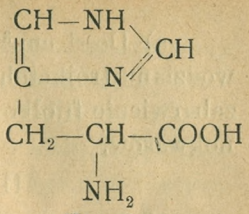
Prolina czyli kwas α-pyrolidynowo-karbonowy (nie jest we właściwem tego słowa znaczeniu aminokwasem), oksyprolina, tryptofan czyli kwas α-amino-β-indolopropionowy,



Tryptofan.

oksytryptofan i histydyna czyli kwas α-amino-β-imidazolopropionowy.

Aminokwasy są związane w białku w ten sposób, że grupy karboksylowe jednych złączone są z grupami aminowemi drugich jak w amidach kwasowych, tworząc w ten sposób bardzo długie i różnorodne łańcuchy, których najprostszym wzorem jest np.



Histydyna.

$$NH_2—CH_2—CO—NH—CH_2—COOH$$

Glicyloglicyna.

W związku z wielkością cząsteczki i charakterem koloidalnym białka pozostaje własność wielkiej zmienności stanu skupienia. Pod wpływem czynników pozornie nieznacznych, np. pod działaniem zaczynów, podwyższenia ciepłoty, rozcieńczonych kwasów lub ługów, alkoholu etylowego formy rozpuszczalne przechodzą w nierozpuszczalne, ścinają się.

Przez roztwory soli obojętnych możemy białka wysalać odwracalnie. Przez trawienie białka pepsyną otrzymujemy mieszaniny związków, zasadniczo podobnych do białka, lecz posiadających mniejszy ciężar cząsteczkowy. W miarę zmniejszania się ciężaru cząsteczkowego zatracają się własności ścinania i strącalności przez roztwory soli obojętnych.

Jako ogólne reakcje białkowe określamy te, które zależą od obecności ogólnych składników białka; odczyny te dają także produkta rozkładu białka.

I grupa reakcji.

a) Do 1 cm.^{3} roztworu białka dodajemy kroplę wodzianu trójketohydryndenu i ogrzewamy; występuje zabarwienie fijołkowe: ogólny odczyn wszystkich aminokwasów.

II grupa reakcji.

b) Do roztworu białka dodajemy ługu sodowego i kroplę po kropli bardzo rozcieńczonego roztworu siarczanu miedziowego; występuje zabarwienie czerwonofijołkowe. Odczyn biuretowy, ogólny odczyn aminokwasów sprzężonych.

III grupa reakcji.

Odczyn na obecność cystyny albo cysteiny.

c) Do roztworu białka dodajemy kroplę octanu ołowiawego i tyle ługu sodowego, ile potrzeba na rozpuszczenie wodorotlenku ołowiawego; przy ogrzewaniu występuje szaro-brunatne lub czarne zabarwienie. Dlaczego?

IV grupa reakcji.

Odczyny związków aromatycznych.

d) Gotujemy białko z kwasem azotowym stężonym i jeżeli powstał żółto zabarwiony kłak białkowy, to nadmiar kwasu azotowego zlewamy; do osadu dodajemy amoniaku lub ługu sodowego; występuje żółtobrunatne zabarwienie. Odczyn ksantoproteinowy, spowodowany obecnością grupy feniloalaninowej, tyrozynowej i tryptofanowej.

e) Gotujemy białko z odczynnikiem Millona, powstaje najpierw różowy, później brunatno-czerwony osad. Odczyn fenolowy, wywołany obecnością tyrozyny.

f) Do roztworu białka dodajemy kilka kropli bardzo rozcieńczonego kwasu glioksylowego i nalewamy na kwas siarkowy stężony; powstaje pierścień fijołkowy; przy ostrożnem zmieszaniu obydwu warstw, cały płyn przybiera tę barwę. Odczyn Hopkinsa właściwy grupie tryptofanowej.

V grupa reakcji.

Odczyny alkaloidowe.

g) Zakwaszone roztwory białka dają osady z kwasem fosforowolframowym, taniną, rozczynem jodu w jodku potasu, jodku bizmutu w jodku potasu, kwasem molibdenowofosforowym.

h) Żelazocjanek potasu strąca z roztworu białka, zakwaszonego kwasem octowym, biały osad.

VI grupa reakcji.

Wysalanie białka.

i) Do roztworu białka dodajemy sproszkowanego siarczanu amonowego; białko wypada, a po dodaniu wody rozpuszcza się ponownie.

j) Ogrzewamy przedializowane białko z kropelką 1% kwasu octowego, roztwór początkowo klarowny, staje się opalizującym, białko denaturuje się i tworzy koloidalną zawiesinę; po dodaniu drobnej ilości roztworu

soli kuchennej wytwarza się gęsty kłaczkowaty osad. W nadmiarze wody białko to już się nie rozpuszcza. Białko, ścięte w ten sposób, rozpuszcza się w ługu sodowym rozcieńczonym, tworząc albuminaty czyli białczany.

k) Ogrzewamy białko ostrożnie (nie do wrzenia!) z odrobiną ługu sodowego; pozornie nie zachodzi zmiana, ale po ochłodzeniu i ścisłem zobojętnieniu kwasem octowym powstaje osad; z wytworzonego białczanu uwalnia się kwas białkowy.

l) Jeżeli dodajemy do roztworu białka stężonego kwasu solnego, to może się wytworzyć osad, który się rozpuszcza po dodaniu wody; ze stężonym kwasem azotowym tworzy się zawsze osad nierozpuszczalny w wodzie.

ł) Z solami metali ciężkich, np. octanem ołowiawym, chlorkiem żelazowym, siarczanem miedziowym, powstają osady, które bywają rozpuszczalne w nadmiarze odczynnika. Pochodzi to ztąd, że między metalami a białkiem tworzą się szeregi soli, z których jedne są rozpuszczalne, a drugie nierozpuszczalne.

m) Białko jest nierozpuszczalnem w alkoholu etylowym i wypada pod jego działaniem z roztworów wodnych.

Oprócz tych grup, które wchodzą w skład wszystkich substancji białkowych, mogą jeszcze wchodzić w ich skład: grupy węglowodanowe, głównie glukozamin w glikoproteidach; kwas fosforowy w biał-

kach kwaśnych (kazeinie); kwasy nukleinowe w nukleoproteidach; grupy barwnikowe (np. hemochromogen).

Białko kurze.

Białko kurze zawiera glikoproteidy; daje odczyn Molischa, wskazujący na obecność grup węglowodanowych.

Do 1 cm.^{3} roztworu białka kurzego dodajemy kilka kropli 20% rozczynu α-naftolu i nalewamy na kwas siarkowy stężony; występuje czerwono-fijołkowe zabarwienie.

67. Kazeina.

Przykładem białka związanego z kwasem fosforowym, jako grupą dodatkową, jest kazeina. Obecność fosforu wykazywaliśmy przy jakościowej analizie elementarnej.

a) Sproszkowana kazeina rozpuszcza się bardzo powoli w rozcieńczonym węglanie sodowym, po zobojętnieniu kwasem octowym wypada napowrót jako osad łatwo rozpuszczalny w ługu, trudniej w kwasach silnych.

b) Kazeina daje silne reakcje Hopkinsa i Millona, a słabą próbę Molischa.

c) Roztwory kazeiny nie ścinają się przy gotowaniu.

68. Peptony (roztwór t. zw. peptonu Witte).

a) Peptony nie ścinają się przy gotowaniu.

b) Dają odczyn biuretowy (barwa czerwona!).

c) Dają odczyn z wodzianem trójketohydryndenu.
d) Strącają się z odczynnikami alkaloidowymi.

69. Mucyna.

Mucyna jest glikoproteidem kwaśnym.

a) Z roztworów wypada po dodaniu kwasu octowego już na zimno.

b) Daje ogólne odczyny białkowe. Wykazujemy własności mucyny na mucynie ze śliny.

70. Żelatyna.

Żelatyna jest białkiem niezupełnem, któremu brak tyrozyny i tryptofanu; zawiera wiele glikokolu.

a) Nie daje się strącić przez kwas azotowy stężony.

b) Nie strąca się przez działanie kwasu octowego i gotowanie.

c) Nie daje się strącić przez kwas octowy i żelazocjanek potasowy.

d) Nie daje odczynów Millona, ksantoproteinowego, Hopkinsa ani cystynowego.

e) Żelatyna pęcznieje w wodzie zimnej, rozpuszcza się w wodzie ciepłej; roztwory te ścinają się po ochłodzeniu.

71. Hemoglobina.

Hemoglobina składa się z części białkowej, wynoszącej 96% cząsteczki, i części barwnikowej (hemochromogenu), wynoszącej 4%.

Hemoglobina jest związkiem białkowym, złożonym z zasadowego białka, globiny, i części barwikowej (hemochromogenu). Oksyhemoglobina rozpada się pod działaniem słabych kwasów lub zasad na globinę, którą możemy z kwaśnego roztworu wytrącić, dodając amoniaku, i na hematynę, którą możemy wytrząsnąć z kwaśnego wodnego roztworu zapomocą mieszaniny eteru i acetonu. Hematyna przechodzi pod działaniem substancji odtleniających w roztworze alkalicznym w hemochromogen.

Hemoglobina zawiera żelazo, na 1 cząsteczkę hemoglobiny (16000) wypada 1 atom żelaza (56). Hematyna odszczepiona z hemoglobiny wynosi 4% pierwotnej cząsteczki hemoglobinowej. Wzór jej:

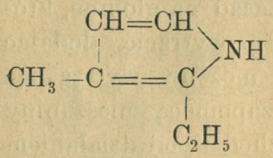
$$C_{32}H_{30}N_4(COOH)_2FeOH;$$

jest zatem kwasem dwuwartościowym; żelazo nie jest związane z grupami kwaśnemi, lecz z azotem, grupy kwaśne można zestryfikować z alkoholami. Grupę wodorotlenową, związaną z żelazem, możemy zastąpić przez chlor; powstaje chlorek hematyny czyli hemina. Hematyna ma się do hemochromogenu prawdopodobnie tak, jak methemoglobina (p. 72a) do hemoglobiny; nie odszczepia tlenu w próżni, lecz pod działaniem substancji odtleniających.

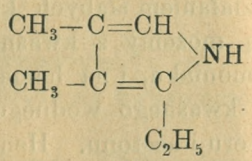
Pod działaniem silnych kwasów, siarczanego lub bromowodorowego, następuje odszczepienie żelaza z cząsteczki hematyny, otrzymujemy barwnik wolny od żelaza—hematoporfirynę:

$$C_{32}H_{36}O_2N_4(COOH)_2 .$$

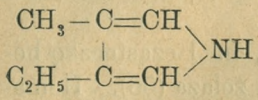
Przez działanie substancji odtleniających możemy zamienić hematoporfirynę na szereg związków hemopirolowych i kwasów hemopirolokarbonowych:



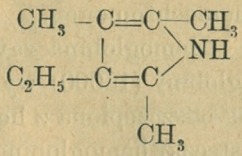
I.



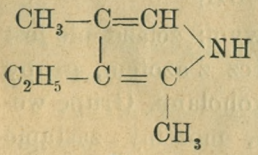
II.



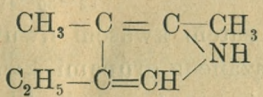
III.



IV.

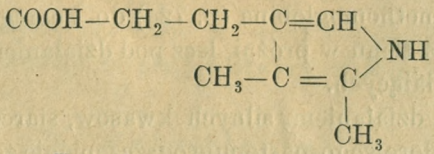


V.



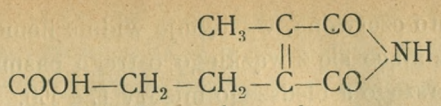
VI.

Hemopirole.

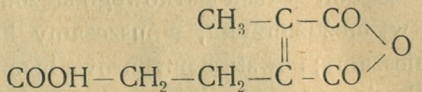


Kwas hemopirolokarbonowy.

Przez utlenienie tworzą się kwasy hematynowe, pochodne kwasu maleinowego:



Imid trójzasadowego kwasu hematynowego.



Bezwodnik kw. hematynowego.

a) Do roztworu hemoglobiny (krwi rozcieńczonej wodą) dodajemy kroplę po kropli rozcieńczonego kwasu solnego, barwa przechodzi w brunatną. Na 1 objętość roztworu dodajemy 2 objętości mieszaniny złożonej z 1 części acetonu i 2 części eteru i przetrząsamy; warstwa eterowa zawiera hematynę kwaśną, żółtawy płyn wodny zawiera globinę, składnik białkowy. Przez zobojętnienie rozcieńczonym amoniakiem strącamy globinę z roztworu wodnego.

Odczyny hematyny możemy wykonać na rozcieńczonej krwi. W ćwiczeniach z analizy elementarnej jakościowej wykazaliśmy obecność żelaza w hemoglobinie.

b) Do bardzo rozcieńczonej krwi dodajemy nieco ługu sodowego i ostrożnie podgrzewamy; barwa czerwona hemoglobiny przechodzi w barwę hematyny alkalicznej. W cienkich warstwach płyn ma barwę zielonawą, w warstwach grubszych — czerwoną. Spektroskopem obserwujemy widmo absorbcyjne między liniami Fraunhofera C a D.

c) Do zasadowego roztworu hematyny dodajemy siarczku amonowego, $(NH_4)_2S$, barwa roztworu przecho-

dzi w czysto-czerwoną, występuje widmo hemochromogenu, składające się z wązkiego ostrego pasma między D a E, szerszego a bledszego między E a Eb.

d) Do 10 cm.^{3} kwasu siarkowego stężonego, umieszczonych w moździerzyku, wpuszczamy kroplę krwi i szybko mieszamy; powstaje purpurowa hematoporfiryna, barwnik niezawierający już żelaza. Przelewamy płyn do probówki i oglądamy przez spektroskop wązkie pasmo przed linją D, szersze poza linją D w kierunku ku widmu niebieskiemu.

e) Roztwór hemoglobiny (krew rozcieńczona stokrotnie wodą) przetrząsamy w probówce z powietrzem i oglądamy w spektroskopie; 2 smugi absorbcyjne w części zielonej między D i E stanowią charakterystyczne widmo oksyhemoglobiny. Dodajemy świeżego roztworu siarczku amonowego, płyn nabiera koloru buraczkowego, a w widmie występuje jedna tylko smuga hemoglobiny. Przekonać się przez przetrząsanie roztworu z powietrzem o tem, że smugi oksyhemoglobiny występują, a potem pod działaniem siarczku amonowego znowu przechodzą w smugę jedną.

f) Przez roztwór oksyhemoglobiny przepuszczamy dwutlenek węgla: występuje widmo hemoglobiny, kolor ciemnieje.

72. Węglo-tlenkowa hemoglobina.

a) Do roztworu oksyhemoglobiny, umieszczonego w probówce, wprowadzamy przez chwilę gaz świetlny, zatykamy probówkę palcem i przetrząsamy. Jasno-

czerwona barwa oksyhemoglobiny przechodzi w barwę malinową. Różnicę barw widać dobrze na pianie płynów; występuje też ona bardzo wyraźnie, jeżeli działamy tlenkiem węgla nie na roztwór hemoglobiny, lecz na zawiesinę krwinek. Widmo hemoglobiny węglo-tlenkowej jest podobne do widma oksyhemoglobiny, lecz nieco przesunięte ku widmu fijołkowemu. W spektroskopach, dających widmo podwójne, pozwalających oglądać widma dwuch substancji jednocześnie, możemy porównać widmo węglo-tlenkowej hemoglobiny z widmem oksyhemoglobiny. Hemoglobina węglo tlenkowa jest o wiele trwalszą, niż oksyhemoglobina, rozpada się bardzo powoli w próżni, a nie rozpada się pod działaniem substancji redukujących; dlatego możemy odróżnić hemoglobinę węglo-tlenkową od oksyhemoglobiny, dodając do płynu siarczku amonowego; widmo oksyhemoglobiny przechodzi wtedy w widmo hemoglobiny; widmo hemoglobiny węglo-tlenkowej pozostaje niezmienionem. Hemoglobina węglo-tlenkowa daje jeszcze szereg innych odczynów, związanych z większą jej trwałością.

b) Próba Hoppe-Seylera. Krew, nasyconą tlenkiem węgla, mieszamy z połową jej objętości stężonego ługu sodowego i ogrzewamy ostrożnie; kolor czerwony pozostaje niezmienionym; barwa krwi zwykłej przechodzi w brudno-brunatną.

c) Do rozcieńczonej węglo-tlenkowej krwi dodajemy siarczku amonowego i zakwaszamy słabo kwasem octowym, barwa pozostaje czerwoną, natomiast barwa

krwi zwykłej przechodzi w zielono-brunatną (próba Salkowskiego).

d) Do krwi węglotlenkowej dodajemy roztworu taniny, powstaje osad jasno-czerwony; natomiast w krwi zwykłej—szaro-brunatny (próba Kunkla).

72a). Methemoglobina powstaje przez działanie substancji utleniających (żelazicjanek potasowy, chloran, chinon) na hemoglobinę lub oksyhemoglobinę, a przez działanie rozcieńczonych kwasów i aldehidów na oksyhemoglobinę. Przy tworzeniu się methemoglobiny z oksyhemoglobiny lub hemoglobiny węglotlenowej wywiązuje się związany z hemoglobiną tlen lub tlenek węgla jako gaz. Methemoglobina ma ten sam skład, co oksyhemoglobina, ale tlen w niej jest inaczej związany.

a) Do roztworu oksyhemoglobiny dodajemy nieco żelazicjanku potasowego: powstaje roztwór methemoglobiny o kolorze czekoladowym; przez spektroskop oglądamy cztery pasma w części widma między C a F; najciemniejsze pasmo leży między C a D.

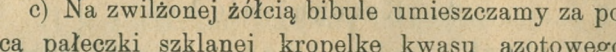
b) Zadajemy roztwór methemoglobiny świeżym siarczkiem amonowym: po kilku minutach występuje widmo hemoglobiny. Przetrząsamy z powietrzem: występuje widmo oksyhemoglobiny. Objaśnić reakcje, które tu zaszły.

73. Bilirubina ($C_{33}H_{36}N_4O_6$).

Próby wykonujemy na żółci.

a) Gotujemy roztwór bilirubiny z ługiem sodo-

wym, potem zakwaszamy; kolor brunatny zamienił się na zielony przez utlenienie bilirubiny na biliwerdynę:



$$C_{32}H_{36}N_4O_6 + O_2 = C_{32}H_{36}N_4O_8 .$$

b) Na stężony żółty kwas azotowy nalewamy żółci. Na granicy powstaje pierścień zielony (biliwerdyna), pod nim niebieski (cholecjanina), pod nim wreszcie fijołkowo-czerwony. Ostrożnie poruszając probówką, wprowadzamy płyny w ściślejszy kontakt; cały płyn przybiera kolejno te barwy (próba Gmelina).

c) Na zwilżonej żółcią bibule umieszczamy za pomocą pałeczki szklanej kropelkę kwasu azotowego; dookoła tej kropli występuje obwódka czerwona, niebieska, zielona.

d) Mieszanina kwasu solnego i kwasu azotowego, dodawana po kropli do $^1/_2$ cm.^{3} żółci, wywołuje po kolei barwę zieloną, niebieską, fijoletową (odczyn Hammarstena).

e) Bilirubina przechodzi z roztworów kwaśnych do chloroformu.

Bilirubina, barwnik żółciowy, znajduje się w świeżej żółci, niekiedy w kamieniach żółciowych jako bilirubinian wapniowy.

Powstaje ona w wątrobie z barwnika krwi; jest związkiem pokrewnym hematynie, zawiera ten sam układ jąder pirolowych (hemopirolów), co hematyna.

Przez redukcję przechodzi w mezobilirubinogen $C_{33}H_{44}N_4O_6$, związek identyczny z urobilinogenem, składnikiem kału i moczu; urobilinogen powstaje w kiszce z bilirubiny przez działanie bakterji gnilnych.

Przez utlenienie urobilinogenu, jego produktów rozkładu, lub hemopirolów, powstaje urobilina (reakcje ob. w rozdziale p. t. mocz).

CZĘŚĆ II.

Ćwiczenia fizjologiczno-chemiczne.

1. Krew.

A. Krzepnienie krwi.

a) Krew, wypuszczoną z żyły lub z naciętego palca lub ucha, wprowadzamy do probówki; po kilku minutach krew ścina się i tworzy skrzep, galaretowatą masę, która się powoli ściąga i wysącza żółtą surowicę.

b) Drugą próbę krwi „bijemy“ w miseczce pałeczką; na pałeczce wydzielają się elastyczne kłaczki włóknika, z płynnej pozostałości (krwi bitej) osadzają się krwinki; osadzanie się ich przyspieszamy przez wirowanie.

c) Wpuszczamy krew wprost do roztworu fizjologicznego soli, zawierającej $^1/_2$% szczawianu amonowego.

d) Do nasyconego roztworu siarczanu sodowego.

e) Do wyciągu z głów pijawek (hirudyny).

We wszystkich tych wypadkach (próby c, d i e) krew się nie ścina; krwinki osadzają się na dnie, nad nimi stoi osocze.

f) Krew, której ścięcie się powstrzymaliśmy przez dodanie szczawianu, ścina się po dodaniu chlorku wa-

pniowego; krew, w której osiągnęliśmy to samo przez dodanie siarczanu sodowego—po rozcieńczeniu wodą.

B. Osocze i surowica.

a) Probujemy oddziaływanie osocza i surowicy na papierek lakmusowy, na oranż metylowy i fenolftaleinę.

b) Strącamy obojętnym sproszkowanym siarczanem amonowym substancje białkowe i w przesączu badamy oddziaływanie.

c) Rozcieńczamy surowicę dwudziestokrotną ilością wody destylowanej i wprowadzamy dwutlenek węgla; powstaje osad euglobuliny; osad po odwirowaniu i oddzieleniu od surowicy rozpuszcza się w 5% roztworze soli kuchennej.

d) Do 10 cm.^{3} surowicy końskiej dodajemy 10 cm.^{3} nasyconego roztworu siarczanu amonowego, sączymy i dodajemy do przesączu ostrożnie kroplę po kropli dziesiąto-normalnego roztworu kwasu siarkowego tak długo, dopóki nie nastąpi zamętnienie; w temperaturze pokojowej wydziela się powoli w formie kryształków albumina surowiczna.

e) 10 cm.^{3} surowicy nasycamy sproszkowanym siarczanem amonowym, sączymy i ogrzewamy przesącz do 100^0; surowica tak ogrzana ścina się; przesącz z osadu, wytworzonego siarczanem amonowym, nie zawiera ścinającego się białka.

C. Krwinki.

a) W probówkach umieszczamy po 10 cm.^{3} soli kuchennej: 1) dwuprocentowej, 2) jednoprocentowej, 3) 0,6% i 4) 0,4% i do każdej dodajemy po 2 krople krwi bitej; przetrząsamy i odstawiamy; po kilkunastu minutach oglądamy zmiany, które zaszły. Zwrócić uwagę na jasny kolor próby c).

b) Rozcieńczamy krew bitą 9 objętościami roztworu 0,9% chlorku sodowego, rozmieszczamy w 5 probówkach i dodajemy do pierwszej eteru, do drugiej — amoniaku, do trzeciej — saponiny, do czwartej — oleinianu sodowego, do piątej—cholanu sodowego. Opisać zmiany, które zaszły!

D. Barwnik krwi.

a) Rozcieńczamy krew i oglądamy widmo oksyhemoglobiny lub hemoglobiny.

b) Dodajemy do kilku cm.^{3} rozcieńczonej krwi parę kropli rozcieńczonego ługu sodowego i ogrzewamy ostrożnie, aż wystąpi barwa brunatna hematyny; po dodaniu siarczku amonowego kolor brunatny przechodzi w ciemnowiśniowy i występuje charakterystyczne widmo hemochromogenu.

c) Rozcieńczoną krew zagotowujemy; tworzy się szaro-brunatny osad białka.

d) Kroplę krwi umieszczamy na szkiełku podstawowym, dodajemy pyłek chlorku sodowego i osuszamy ostrożnie nad płomykiem tak, aby zaschła krew utworzyła cienką warstewkę; dodajemy kroplę lodowatego kwasu octowego i nakrywamy szkiełkiem nakrywko-

wem; ogrzewamy nad małym płomykiem tak długo, aż w kwasie octowym wystąpią banieczki pary; natychmiast dodajemy od brzegu szkiełka nakrywkowego nową kroplę kwasu octowego. Widzimy w preparacie kryształki heminy czyli chlorku hematynowego,

$C_{33}H_{32}N_4FeClO_4$ (próba Teichmanna).

Do 20 cm.^{3} wody dodajemy kroplę krwi; tego roztworu używamy do następujących prób:

e) Do 1 cm.^{3} roztworu krwi dodajemy 1 cm.^{3} starej terpentyny, zawierającej nadtlenki terpentynowe i świeżej tynktury gwajakowej (alkoholowego roztworu żywicy gwajakowej); mieszaninę przetrząsamy przez dłuższy czas; występuje niebieskie zabarwienie.

f) Do reszty roztworu krwi dodajemy alkoholowego roztworu benzydyny, kilka kropli kwasu octowego i 3% wody utlenionej; występuje najpierw zielone, potem niebieskie zabarwienie. Wypróbować czułość tego odczynu!

Ilościowe określanie hemoglobiny za pomocą przyrządu Sahlego.

Do pipetki włoskowatej wprowadzamy krew (wypływającą bez naciskania z naciętego palca) aż do kreski, określającej 20 mm.^{3}; ssanie jest przytem niepotrzebne, jeżeli pipetkę trzymamy poziomo; nadmiar można łatwo wyciągnąć za pomocą bibuły. Krew z pipetki wydmuchujemy natychmiast do opatrzonej podziałką rurki w przyrządzie, nalawszy poprzednio aż do kreski „10“ dziesiątonormalnego kwasu solnego. Kilkakrotnie

wciągamy nieco kwasu do pipetki włoskowatej, ażeby całą zawartą w niej krew spłukać do rureczki. Po minucie rozcieńczamy otrzymany brunatny roztwór hematyny wodą destylowaną albo kwasem solnym dziesiątonormalnym tak długo, aż rozcieńczony płyn osiągnie ten sam kolor, co płyn porównawczy w zatopionej rurce. Przy dokładnych badaniach czekamy jeszcze minut 20 i wtedy doprowadzamy dopiero do równych kolorów.

Jeżeli słup cieczy rozcieńczonego płynu sięga do kreski n, to krew zawiera n% fizjologicznie normalnej zawartości hemoglobiny. Zwykle znajdujemy za pomocą przyrządu Sahlego u mężczyzn 80%, u kobiet — 70% (liczba 100% przedstawia tu fizjologiczną zawartość maksymalną).

Ilościowe określenie hemoglobiny za pomocą przyrządu Autenrietha.

Przyrząd Autenrietha składa się z przesuwalnego klina, wypełnionego barwnikiem o tym samym kolorze, co hematyna, i ze stałego naczyńka A o kształcie również klinowatym. Do pipetki, załączonej do przyrządu wciągamy 20 mm.^{3} krwi, potem aż do kreski, oznaczającej 2 cm.^{3} dziesiątonormalnego kwasu solnego. Zatykamy oba końce pipetki palcami i mieszamy krew z kwasem solnym, potem wypróżniamy pipetkę do otwartego stałego naczyńka A; przesuwamy klin dopóty, aż barwa klina i naczyńka, oglądanych przez

pryzmaty przyrządu na tle białej ściany, będzie jednakową. Im więcej hemoglobiny zawierała krew, tem szerszy przekrój klina będzie odpowiadał jej kolorem. Odczytujemy na skali, umieszczonej wewnątrz przyrządu, stan klina i na podstawie znalezionej liczby określamy z załączonej do aparatu krzywej kalibracyjnej zawartość hemoglobiny we krwi.

Krwinki.

Obejrzeć próbę krwi pod mikroskopem i rozróżnić krwinki czerwone i leukocyty.

Liczenie czerwonych krwinek za pomocą komory Thomy-Zeissa.

Do mieszalnika, opatrzonego podziałkami 05, 1 i 101, wprowadzamy krew do znaku 1 i ostrożnie, unikając wprowadzenia baniek powietrza, płynu Hayema [1]) do znaku 101; krew jest wtedy 100 razy rozcieńczoną. Zatykamy pipetkę z obydwu stron palcami i przetrząsając mieszamy za pomocą umieszczonej w mieszalniku kuleczki.

Usuwamy płyn, zawarty we włoskowatej części pipetki poczem wprowadzamy kroplę do komory Thomy, nakrywamy szkiełkiem pokrywkowem, które przyciskamy tak, ażeby między niem a podstawą wystąpiły pier-

---

[1]) 2 g. NaCl, 5 g. Na_2SO_4 i 0,5 g. $HgCl_3$ w 200 cm.^{3} wody.

ścienie Newtona. Wszystkie te rękoczyny należy wykonać bardzo szybko.

Pierścień, na którym opiera się szkło nakrywkowe jest wyższy o $^1/_{10}$ mm. od płyty, na której wyrytą jest podziałka. W podziałce 1 mm.^{2} podzielony jest przez 20 podłużnych i 20 poprzecznych kresek na 400 kwadracików, każdy z nich ma powierzchnię $^1/_{400}$ mm.^{2}, a część komory nad nim pojemność $^1/_{4000}$ mm^3. Liczymy przy pomocy objektywu d lub 5 krwinki w kwadratach, złożonych z 4 małych sąsiadujących kwadracików tak, że w ogóle przeliczamy około 80 kwadratów; z otrzymanych liczb bierzemy przeciętną liczbę krwinek, leżących w 4 kwadracikach; otrzymaną wartość mnożymy przez 100 000 i otrzymujemy ilość krwinek w 1 mm.^{3} krwi.

Liczenie krwinek białych za pomocą komory Thomy-Zeissa.

Krwinki białe liczymy w tej samej komorze; zamiast płynu Hayema rozcieńczamy krew 0,3% roztworem kwasu octowego, do którego dodaliśmy nieco fijoletu gencjanowego, i używamy mieszalnika, w którym rozcieńczamy krew nie 100 lecz 10-krotnie. Należy przeliczyć około 100 leukocytów.

Oglądanie płytek krwi.

W wilgotnej komorze (płytka szklana, przykryta zlewką, na której ściance wewnętrznej umieściliśmy wilgotny kawałek bibuły) stawiamy starannie wygła-

dzony bloczek parafinowy; z naciętego, przedtem starannie oczyszczonego eterem palca wypuszczamy kroplę krwi na parafinę i przykrywamy zlewką. Przygotowujemy starannie oczyszczone kwasem solnym, alkoholem i eterem szkiełka podstawowe i nakrywkowe; muszą one być bezwzględnie czyste i suche. Po 15 minutach ujmujemy pincetką szkiełko nakrywkowe i zdejmujemy niem delikatnie ze szczytu kropelki krwi nieco płynu, poczem natychmiast umieszczamy je na szkiełku podstawowem i oglądamy pod mikroskopem przy oświetleniu przyćmionem przez zwężoną diafragmę. Widzimy silnie łamiące światło nieruchome płytki, które już po krótkim czasie zaczynają pęcznieć i rozpadać się; każda staje się ośrodkiem splotów nitek fibrynowych, których tworzenie się można śledzić.

Trawienie.

Ślina.

Ślinę otrzymujemy w ten sposób, że bierzemy zwykłą probówkę między wargi i, zlekka poruszając językiem w jamie ustnej, wpuszczamy ślinę do probówki. Natoczywszy około 15 cm.^{3} śliny, sączymy ją i wykonujemy następujące próby:

a) Strącamy kwasem octowym mucynę.

b) Do 1 cm.^{3} śliny dodajemy 4 cm.^{3} alkoholu etylowego; z osadem wykonujemy próby na białko i próbę Molischa.

c) Do próby śliny dodajemy kwasu azotowego i kroplę rozcieńczonego chlorku żelazowego; czerwone

zabarwienie wskazuje na obecność kwasu rodanowodorowego, HCNS. Zauważyć wielkie różnice w intensywności barwy otrzymanej w ślinie różnych osób.

d) Do 3 probówek, zawierających po 10 cm.^{3} roztworu skrobji dodajemy: do pierwszej — 1 cm.^{3} śliny świeżej, do drugiej — 1 cm.^{3} śliny przegotowanej, do trzeciej — 1 cm.^{3} śliny świeżej i 2 krople stężonego kwasu solnego. Wszystkie umieszczamy w łaźni, ogrzanej do 40^0. Co 10 minut odlewamy z probówek po 1 cm.^{3} płynu i probujemy roztworem jodu w jodku potasu na obecność skrobji. Jeżeli próba na skrobję wypada ujemnie, to badamy za pomocą próby Trommera na obecność cukrów redukujących.

Trawienie żołądkowe.

Na odpreparowaną z żołądka świńskiego i rozdrobnioną błonę śluzową nalewamy $^1/_2$% roztworu kwasu solnego; po 24 godzinach sączymy przez płótno i otrzymujemy w ten sposób „sztuczny sok żołądkowy“. Do prób poniższych można też używać roztworu pepsyny w 0,3% roztworze kwasu solnego.

a) Do sztucznego soku żołądkowego wprowadzamy kłaczek fibryny; drugi taki kłaczek do 0,3% kwasu solnego; trzymamy obydwie probówki w temperaturze 37^0; w kwasie solnym fibryna pęcznieje; w soku żołądkowym pęcznieje i rozpuszcza się.

b) Wykonujemy analogiczne próby z fibryną, zabarwioną karminem. Płyn, zawierający pepsynę, barwi się na czerwono. Przy trwających przez

dłuższy czas próbach trawiennych należy dodać nieco chloroformu, tymolu lub toluolu (dlaczego?).

Ilościowe ocenianie pepsyny za pomocą rurek Metta.

Rureczki szklane o średnicy 2 mm., wypełnione ściętem białkiem surowicznem i pokrajane na kawałeczki długości 1 cm., wkładamy do płynu, zawierającego pepsynę. Po upływie 24 godzin mierzymy ile mm. ze słupa białkowego uległo strawieniu. Wykonać tę próbę na roztworze danym, oraz czterokrotnie i dziewięciokrotnie rozcieńczonym.

b) Sztuczny sok żołądkowy zobojętniamy dokładnie sodą; dodajemy równą objętość $^1/_2$% roztworu kwasu solnego i kłaczek fibryny, potem wstawiamy do cieplarki; wykonujemy doświadczenie kontrolne za pomocą kwasu solnego o tem samem stężeniu i fibryny.

Podpuszczka.

a) Zobojętniamy sok żołądkowy rozcieńczonym węglanem sodowym, bardzo starannie unikając nadmiaru zasady, mieszamy z 5 objętościami surowego mleka i wstawiamy do cieplarki; po kilku minutach mleko się ścina. Wykonać tę próbę po zagotowaniu soku.

Produkta trawienia.

a) 10 cm.^{3} sztucznego soku żołądkowego dodajemy do jednakowej objętości wilgotnego włóknika, dodajemy również nieco tymolu i pozostawiamy w cieplarce tak długo, aż włóknik się rozpuści; zobojętniamy rozcieńczonym węglanem sodowym, aż wytworzy

się osad (acydalbumina), poczem gotujemy i sączymy. Płyn daje silną reakcję biuretową.

Przesącz nasycamy siarczanem amonowym; otrzymujemy osad złożony z albumoz. Jeżeli do przesączu dodamy wiele ługu sodowego i bardzo mało siarczanu miedziowego, to możemy, dzięki obecności peptonów, spostrzedz odczyn biuretowy.

Do dalszych prób używamy 10% roztworu peptonu Witte, preparatu wyrabianego przez działanie nalewu żołądkowego na włóknik.

b) Do 20 cm.^{3} takiego roztworu dodajemy 20 cm.^{3} nasyconego roztworu siarczanu amonowego; powstaje osad złożony z protoalbumozy i heteroalbumozy. Sączymy, płyn słabo zakwaszamy kwasem siarkowym i nasycamy stałym siarczanem amonowym. Osad zawiera glikoalbumozy i drugorzędowe albumozy, natomiast przesącz—peptony i niższe wielopeptydy.

Kwasy żołądkowe.

Kwas solny. a) Czerwony papierek „kongo“ barwi się w obecności wolnego kwasu solnego na niebiesko. Roztwór tropeoliny OO zmienia kolor z żółtego na czerwony; tak samo reaguje dwumetylaminoazobenzol.

b) Roztwór fijoletu metylowego przyjmuje po dodaniu 0,1% rozczynu kwasu solnego kolor stalowoniebieski. Przekonać się, że obecność albumozy reakcję tę hamuje.

c) Kroplę odczynnika Günzburga[1]) dodajemy do kilku cm.^{3} soku żołądkowego i ogrzewamy na miseczce porcelanowej ostrożnie nad płomieniem; w obecności kwasu solnego pozostałość ma kolor szkarłatny. Wykonać te próby z 0,1% kwasem solnym, z mieszaniną tego kwasu z równą objętością 10% roztworu peptonu, z 0,5% kwasem mlecznym, z mieszaniną równych objętości 0,5% kwasu solnego i 0,5% kwasu mlecznego.

Kwas mleczny. 5 cm.^{3} soku żołądkowego, silnie zakwaszonego kwasem siarkowym, przetrząsamy z równą objętością eteru. Po rozdzieleniu się płynów eter zlewamy, odparowujemy, z pozostałością wykonujemy próbę na kwas mleczny.

Trzustka.

a) Rozcieramy 10 gr. świeżej trzustki z tymolem i piaskiem kwarcowym, przetrząsamy z 100 cm.^{3} wody i sączymy przez płótno. Do przesączu dodajemy nieco roztworu lakmusowego, zobojętniamy rozcieńczonym ługiem sodowym, dodajemy 10 kropli maślanu etylowego, silnie przetrząsamy i umieszczamy w cieplarce (37^0). Skutkiem działania lipazy odszczepia się kwas masłowy i występuje kwaśne oddziaływanie.

b) Rozcieramy 10 gr. trzustki z tymolem, piaskiem kwarcowym i 20 cm.^{3} fizjologicznego roztworu soli. Do emulsji dodajemy gęstego klajstru skrobji

---

[1]) 1 g. floroglucyny i 2 g. waniliny w 100 cm.^{3} alkoholu. Wanilina jest pochodną aldehidu bendźwinowego:

$$C_6H_3\begin{matrix}(1)CHO\\(3)O\,.\,CH_3\\(4)OH\end{matrix}.$$

i pozostawiamy przez 15 minut przy temperaturze 37°. Po 15 minutach wykazujemy w przesączu cukier za pomocą próby Trommera.

c) Do posiekanej trzustki dodajemy toluolu i pozostawiamy przy temperaturze 37°; następuje samostrawienie. Płyn wykazuje silną reakcję biuretową; za pomocą reakcji z wodą bromową wykazujemy obecność tryptofanu; w osadzie na dnie naczyńka widzimy kryształki tyrozyny.

Wątroba.

a) Glikogen. Wyjmujemy wątrobę świeżo zabitej żaby i wrzucamy do równej objętości ogrzanego na łaźni do 100° 60% roztworu ługu potasowego; ogrzewamy przez godzinę, dodajemy do otrzymanego płynu równą objętość wody, a do tak otrzymanego roztworu równą objętość alkoholu etylowego. (96%) Zlewamy z osadu płyn i przemywamy osad kilkakrotnie alkoholem, potem eterem. Otrzymujemy w ten sposób glikogen, jako biały proszek, który, rozpuszczając się w wodzie, daje opalizujący, silnie skręcający płaszczyznę światła spolaryzowanego płyn, a przy ogrzewaniu z rozcieńczonym kwasem solnym rozpada się na cukier gronowy (wykazać próbą Trommera).

b) Wątrobę rozcieramy z wodą, dodajemy toluolu i pozostawiamy przez kilka dni przy temperaturze 40° w cieplarce. Następuje *autoliza*. Rozcieńczamy kilkakrotną objętością wody, gotujemy i sączymy; w przesączu wykazujemy amoniak, zasady purynowe, ewentualnie aminokwasy.

Żółć.

Zbadać oddziaływanie.
Wykazać kwasy żółciowe.
Wykazać obecność bilirubiny.

Mleko.

Określamy ciężar gatunkowy za pomocą areometru.

Stwierdzamy oddziaływanie.

Świeże mleko możemy przegotować bez ścięcia się zawartych w niem ciał białkowych.

Do 10 cm.^{3} dodajemy kroplę po kropli kwasu octowego, wytworzony kłaczkowaty osad sączymy, a w przesączu (kwaśnej serwatce) wykazujemy białko, cukier i fosforany. Jakie białko ścięło się, a jakie pozostało w roztworze? Jaki cukier jest zawarty w mleku?

Z 3 probówek, zawierających po 10 cm.^{3} mleka, zadajemy: pierwszą 1 cm.^{3} roztworu świeżej podpuszczki, drugą—1 cm.^{3} podpuszczki przegotowanej, trzecią—1 cm.^{3} podpuszczki świeżej i 1 cm.^{3} 5% roztworu szczawianu amonowego. Wszystkie 3 próby stawiamy do cieplarki (37^0). W próbie pierwszej mleko się ścina, w obydwu drugich nie ścina się. Jeżeli do trzeciej dodamy ostrożnie chlorku wapniowego, to mleko się zetnie.

Czy osad, powstały przy ścięciu mleka za pomocą podpuszczki, jest identycznym z osadem powstałym pod wpływem kwasu octowego? czem się różnią?

f) Do kilku cm.^{3} mleka dodajemy równą objętość

eteru i przetrząsamy; tłuszcz zawarty w kuleczkach mleka nie przechodzi do eteru, przechodzi dopiero po dodaniu drobnej ilości ługu sodowego. Dlaczego?

g) Próbę mleka pozostawiamy przy temperaturze pokojowej albo w cieplarce; wydziela się osad kazeinowy. Czy osad ten jest identyczny z osadem, powstałym pod wpływem podpuszczki, czy z tym, który powstał pod wpływem kwasu?

Mocz.

A. Próby jakościowe.

a) Badamy oddziaływanie moczu.

b) Określamy ciężar gatunkowy.

c) Wykazujemy obecność chlorków i siarczanów.

d) Próbę moczu alkalizujemy amoniakiem, strącamy fosforany magnezowe i wapniowe; sączymy; w przesączu wykazujemy mieszaniną magnezową pozostałe fosforany metalów alkalicznych.

e) Odparowujemy 100 cm.^{3} moczu na łaźni, pozostałość wyciągamy alkoholem, roztwór alkoholowy odparowujemy i do pozostałego syropu dodajemy stężonego kwasu azotowego; krystalizuje azotan mocznikowy.

f) Dodajemy do moczu $^1/_{10}$ jego objętości stężonego kwasu solnego i pozostawiamy na kilka godzin; krystalizuje kwas moczowy. Strącenie kwasu moczowego przez kwas solny jest niezupełne; po zalkalizowaniu amoniakiem i strąceniu fosforanów mieszaniną magnezową można w przesączu wykazać za pomocą

amoniakalnego roztworu srebra obecność kwasu moczowego.

g) Przerobić odczyny na kwas moczowy.

h) Wykazać za pomocą próby Jaffego obecność kreatyniny.

B. Mocze nienormalne.

Zwrócić uwagę na barwę, klarowność lub mętność, woń, oddziaływanie i ciężar gatunkowy; w przesączu należy zawsze sprawdzić obecność cukru i białka. Jeżeli wykażemy cukier, to należy zawsze poszukiwać kwasu acetooctowego i acetonu; z koloru moczu wnosimy o obecności krwi, żółci, methemoglobiny, hematoporfiryny lub urobiliny.

I. Próby na białko.

a) Kilka cm.^{3} przesączonego moczu, który musi oddziaływać obojętnie lub bardzo słabo kwaśno, ogrzewamy do wrzenia i dodajemy kilka kropli 1% roztworu kwasu octowego; w moczu normalnym nie zachodzą żadne zmiany, a jeżeli podczas gotowania mocz normalny zmętnieje, to po dodaniu kwasu octowego staje się znowu klarownym; mocz, zawierający białko, mętnieje albo też, jeżeli stężenie białka jest większe, to tworzy się w nim trwały osad.

b) Do kilku cm.^{3} moczu dodajemy kilka kropli kwasu azotowego stężonego. W moczu normalnym zachodzi najwyżej zmiana barwy i po kilku godzinach

krystalizuje kwas moczowy; w moczu, zawierającym białko, tworzy się osad. Próba Hellera.

c) Na dno probówki nalewamy pipetką nieco kwasu azotowego stężonego, potem ostrożnie po suchej ściance zupełnie pochyło trzymanej probówki nieco badanego moczu; w normalnym moczu niema na pograniczu płynów osadu, dopiero w pewnej odległości ponad tą granicą powstaje zamętnienie skutkiem wydzielenia się kwasu moczowego lub mucyny; w moczu, zawierającym białko, tworzy się na granicy ostro zarysowany osad ściętego białka.

d) Zakwaszamy mocz silnie kwasem octowym i dodajemy kilka kropli 10% roztworu żelazocjanku potasowego; w moczu normalnym występuje niekiedy już po dodaniu kwasu octowego lekkie zmętnienie, dodanie żelazocjanku nie wywołuje zmiany; w moczu, zawierającym białko, tworzy się po dodaniu żelazocjanku silne zmętnienie i osad.

II. Próby na cukier.

a) Próba Trommera. Dodajemy do moczu ługu sodowego i kroplę po kropli, ciągle przetrząsając, tyle 10% roztworu siarczanu miedziowego, ile się rozpuszcza; potem ogrzewamy górną część cieczy; w obecności cukru występuje czerwono-żółty osad. Jeżeli dodaliśmy za mało miedzi, to osad nie wystąpi (dlaczego?). Jeżeli dodaliśmy za dużo miedzi, tak że utworzył się nierozpuszczalny wodorotlenek miedziowy, to przy goto-

waniu powstaje brunatny tlenek miedziowy, który może przysłonić osad tlenku miedziawego. Jeżeli przy próbie Trommera nastąpi tylko odbarwienie płynu, to nie jest to dowodem obecności cukru. Skutkiem obecności jakich związków odtleniających występuje odbarwienie?

b) Próba Nylandera. Przy gotowaniu przez kilka minut z odczynnikiem Nylandera w moczu normalnym zmiana nie występuje; mocz, zawierający cukier, barwi się w tym wypadku na brunatno lub czarno.

c) Próba fenilohidrazynowa. Do 5 cm.^{3} moczu dodajemy odczynnika fenilohidrazynowego (fenilohidrazyna w kwasie octowym) i wstawiamy na $^1/_2$ godziny do wrzącej łaźni. Po ochłodzeniu oglądamy osad pod mikroskopem i stwierdzamy obecność osazonu glukozy.

d) Wprowadzamy mocz do aparatu fermentacyjnego (np. Einhorna), dodajemy drożdży i pozostawiamy w temperaturze pokojowej; z moczu, zawierającego cukier, wydziela się dwutlenek węgla. Sprawdzić, czy drożdże mają zdolność fermentacyjną i czy, rozrobione z wodą, nie wydzielają same dwutlenku węgla.

III. Próby na kwas acetooctowy.

Wykonać próbę Gerharda z chlorkiem żelazowym i przekonać się, że wywołująca ją substancja rozpada się pod wpływem gotowania z kwasem solnym.

IV. Próby na aceton.

Wykonujemy próbę Legala z nitroprusydkiem.

V. Próby na indykan.

Wykonujemy jedną z prób na indykan (Obermayera lub Jaffego).

VI. Próby na kwasy fenolosiarczane.

Mocz, słabo zalkalizowany węglanem sodowym, zadajemy chlorkiem barowym w nadmiarze, sączymy, zakwaszamy przesącz kwasem solnym i gotujemy przez 2 minuty; kwas siarczany odszczepia się ze związków organicznych i tworzy ponownie osad siarczanu barowego.

VII. Próby na barwniki krwi.

a) Stwierdzamy w spektroskopie smugi oksyhemoglobiny albo methemoglobiny.

b) Zadajemy mocz tynkturą gwajakową i starą terpentyną; w razie obecności krwi ciecz błękitnieje.

c) Gotujemy mocz i dodajemy kroplę rozcieńczonego kwasu octowego; osad, powstały w moczu zawierającym białko, jest biały; osad, powstały w moczu zawierającym krew, jest brunatny.

d) Dodajemy ługu sodowego i gotujemy; z normalnego moczu wypada biały osad fosforanów; z moczu, zawierającego krew, wypada osad czerwony.

VIII. Próby na barwnik żółciowy.

a) Wykonujemy próbę Gmelina. Wystąpienie pierścienia zielonego dowodzi obecności bilirubiny.

b) Przesączywszy mocz przez mały sączek, umieszczamy na sączku kroplę stężonego kwasu azotowego; jak w odczynie Gmelina, tak i tu występuje odczyn barwników żółciowych, zielony pierścień.

IX. Urobilina i urobilinogen.

Urobilinogen powstaje w kiszce przez działanie odtleniające drobnoustrojów gnilnych na bilirubinę; przez utlenienie urobilinogenu pod działaniem powietrza i światła powstaje urobilina. Dla urobilinogenu jest charakterystycznym odczyn z aldehidem para-dwumetyloamino-bendźwinowym. Dla urobiliny jest charakterystycznem widmo i występowanie fluorescencji po dodaniu chlorku cynku i amoniaku w alkoholowym roztworze.

X. Próba na urobilinogen.

Ogrzewamy mocz z 2% roztworem para-dwumetyloamino-bendźwinowego aldehidu w 5% rozczynie kwasu solnego; normalny mocz daje zabarwienie czerwone; jeżeli zabarwienie czerwone nie występuje, to w moczu brak urobilinogenu, jeżeli występuje już bez ogrzewania, to zawartość urobilinogenu jest patologicznie zwiększoną.

XI. Próby na urobilinę.

a) Zakwaszamy mocz rozcieńczonym kwasem solnym i przetrząsamy z połową jego objętości alkoholu amylowego. W różowo zabarwionej warstwie amylo-

woalkoholowej stwierdzamy widmo urobiliny: smugę w kolorze niebieskim między liniami E i F.

b) Zlewamy tak otrzymany roztwór urobiliny w alkoholu amylowym, dodajemy równą objętość alkoholu etylowego, potem kilka kropel alkoholowego roztworu chlorku cynku i kroplę rozcieńczonego amoniaku. Jeżeli tworzy się osad, to sączymy go, a w przesączu stwierdzamy zieloną fluorescencję, rzucając na przesącz za pomocą soczewki pęk światła.

C. Osady moczowe.

W moczu normalnym unosi się delikatny lekki osad (obłoczek), składający się z nabłonków i śladów substancji białkowych, związanych z kwasami nukleinowymi i z kwasem chondroitynosiarczanym.

Z moczów stężonych wypadają przy oddziaływaniu kwaśnem następujące osady:

1) kwas moczowy w postaci brunatnych lub żółtych kryształków („osełek“ lub „beczułek“). Osad ten rozpuszcza się przy gotowaniu albo po dodaniu ługu sodowego;

2) moczany sodowe jako czerwonawy lub ceglasty osad bezpostaciowy, rozpuszczalny w ługu sodowym lub przy ogrzewaniu;

3) szczawian wapniowy w ośmiościanach („kopertach“), niekiedy w kształcie ciężarków gimnastycznych; osad ten jest rozpuszczalny w kwasie solnym, nierozpuszczalny w kwasie octowym;

4) rzadko spotykamy w moczu kwaśnym kryształy siarczanu wapniowego, nierozpuszczalne w kwasach i amoniaku;

5) kryształy kwasu hipurowego, rozpuszczalne w amoniaku;

6) tyrozyny (pęczki delikatnych igiełek), rozpuszczalne w amoniaku i kwasach;

7) cystyny (sześcioboczne tabliczki), rozpuszczalne w amoniaku i kwasach.

Drobnoustroje moczognilne zamieniają mocznik na węglan amonowy i mocz nabiera oddziaływania zasadowego. Wtedy występują w moczu nowe osady:

1) bezpostaciowy fosforan wapniowy, $Ca_3(PO_4)_2$;

2) fosforan magnezowo-amonowy czyli „trypelfosforan“, $MgNH_4PO_4$ („trumienki“);

3) bezpostaciowy węglan wapniowy;

4) moczan amonowy w postaci żółtych, niekiedy kolczastych kul, rozpuszczalnych w ługu sodowym i kwasach;

5) niekiedy indygo.

CZĘŚĆ III.

Metody ilościowe.

Przyjmując, że podstawowe metody analizy miareczkowej są znane z ćwiczeń chemicznych, podajemy tylko zastosowanie ich do analizy fizjologicznej.

I. Mianowanie chlorków metodą Mohra.

Zasada: Jeżeli roztwór zawiera chlorki i chromiany, to azotan srebra strąca najpierw cały chlor, potem dopiero czerwony chromian srebrowy.

Odczynniki: Do mianowania używamy dziesiąto-normalnego roztworu azotanu srebra. Jakiej ilości chlorku sodowego odpowiada każdy zużyty cm.^{3} dziesiątonormalnego roztworu azotanu srebra?

Jako wskaźnika używamy 10% roztworu chromianu potasowego, K_2CrO_4.

Wykonanie: Do 20 cm.^{3} moczu, rozcieńczonego 40 cm.^{3} wody, dodajemy kilka kropli chromianu potasowego, a potem, ciągle mieszając, tyle roztworu azotanu srebra, dopóki płyn nie nabierze koloru czerwono-brunatnego, który przy kłóceniu nie znika.

II. Mianowanie chlorków sposobem Volharda.

Zasada: Strącamy chlorki azotanem srebra, a nadmiar dodanego azotanu mianujemy rodankiem potasu, KCNS.

Odczynniki: Dziesiąto-normalny roztwór azotanu srebra, dziesiąto-normalny roztwór rodanku potasowego, czysty kwas azotowy stężony i nasycony roztwór ałunu żelazowego.

Wykonanie: 10 cm.^{3} moczu wprowadzamy do kolbki miarowej stucentymetrowej, dodajemy 4 cm.^{3} kwasu azotowego stężonego i za pomocą dokładnej pi-

petki 20 cm.^{3} roztworu azotanu srebra, poczem wypełniamy kolbkę wodą aż do znaku (100 cm.^{3}). Mieszamy i sączymy przez suchy sączek do suchego naczynia; z przesączu bierzemy 50 cm.^{3} i mianujemy, po dodaniu kilku kropli ałunu żelazowego, rodankiem potasowym dopóty, dopóki nie wystąpi czerwone zabarwienie (pierwsza kropla rodanku niezużytego na strącenie srebra daje czerwony rodanek żelazowy).

Obliczenie: Pamiętać, że mianowanie rodankiem odbywa się w połowie płynu, otrzymanego przez rozcieńczenie 10 cm.^{3} moczu.

III. Mianowanie fosforanów.

Zasada: Octan uranilowy albo azotan uranilowy w obecności octanu sodowego strąca fosforany jako fosforan uranilowy:

$$UrO_2(C_2H_3O_2)_2 + NaH_2PO_4 =$$
$$= UrO_2HPO_4 + CH_3COOH + CH_3COONa.$$

Skoro azotan uranilowy znajdzie się w nadmiarze, wtedy dodana jako wskaźnik tynktura koszenilowa zmienia barwę z czerwonej na zieloną.

Odczynniki: № 1: roztwór azotanu albo octanu uranilowego, którego 1 cm.^{3} odpowiada 5 mg. P_2O_5; № 2: roztwór, zawierający 100 g. octanu sodowego i 30 g. kwasu octowego w 1 litrze wody; № 3: tynktura koszenilowa, t. j. wyciąg alkoholowy z czerwi koszenilowych.

Wykonanie: 50 cm.^{3} moczu zaprawiamy 5 cm.^{3} odczynnika № 2 i kilku kroplami koszenili, poczem ogrzewamy do wrzenia i dodajemy tak długo roztworu uranilowego, aż kolor czerwony przejdzie w zielony.

IV. Kwasowość moczu.

a) Do 25 cm.^{3} moczu dodajemy 15 g. sproszkowanego szczawianu potasowego i kroplę fenolftaleiny. Przetrząsamy przez 2 minuty i mianujemy zimny płyn dziesiąto-normalnym ługiem sodowym, aż wystąpi trwałe czerwone zabarwienie. Ilość cm.^{3} dziesiąto-normalnego ługu, zużytego na 100 cm.^{3} kwasu, daje nam kwasowość moczu i jest miarą ilości fosforanów pierwszorzędowych, zawartych w moczu.

b) Dodajemy do moczu oranżu metylowego i mianujemy dziesiąto-normalnym kwasem solnym, dopóki nie wystąpi zabarwienie czerwone. Ilość zużytych cm.^{3} kwasu daje nam miarę zawartych w moczu fosforanów drugorzędowych.

Stosunek ilości zużytego w próbie a) ługu sodowego do zużytego w próbie b) kwasu daje nam stosunek fosforanów kwaśnych do zasadowych.

V. Całkowity azot.

Sposób Kjeldahla.

Zasada: Substancje organiczne, zawierające azot, rozkładają się przy gotowaniu z kwasem siarkowym stężonym w obecności katalizatorów, np. siarczanu mie-

dziowego, tak, że cały ich węgiel i wodór ulega spaleniu, a azot przechodzi w siarczan amonowy.

Wykonanie: 5 cm.^{3} moczu ogrzewamy z 10 cm.^{3} stężonego kwasu siarkowego i kryształkiem siarczanu miedzi tak długo, aż płyn stanie się klarowny i nabierze słabo-żółtej lub niebieskiej barwy. Rozcieńczamy go 200 cm.^{3} wody i wprowadzamy do kolby erlenmajerowskiej, połączonej ze specjalną rurą destylacyjną i chłodnicą. Części zstępujące chłodnicy muszą być ze szkła twardego; korek, którym zamknięta jest kolba, jest zaopatrzony w wentyl rtęciowy, pozwalający powietrzu zzewnątrz wchodzić do kolby, niewypuszczający natomiast powietrza z wnętrza kolby nazewnątrz. Koniec rurki destylacyjnej zanurzamy w kolbie, zawierającej 50 cm.^{3} dziesiąto-normalnego kwasu. Do kolby zawierającej substancję wrzucamy kawałek cynku, wlewamy 60 cm.^{3} 30% ługu sodowego, natychmiast łączymy ją z chłodnicą i destylujemy. Po przedestylowaniu około 100 cm.^{3} płynu przekonywujemy się za pomocą papierka lakmusowego, czy uchodzący z rurki destylat ma jeszcze odczyn alkaliczny; jeżeli nie, to destylacja jest skończoną. Mianujemy wtedy kwas w odbieralniku ługiem sodowym, używając jako wskaźnika czerwieni metylowej (nie fenolftaleiny!). Różnica daje ilość cm.^{3} amoniaku dziesiąto-normalnego.

Obliczenie: Ponieważ użyte odczynniki: kwas siarkowy, wodorotlenek sodowy, woda mogą zawierać amoniak, przeto musimy określić w doświadczeniu kontrolnem zawartość w nich amoniaku i tę

zawartość odjąć od wartości, otrzymanych we właściwem doświadczeniu.

VI. Określanie mocznika.

Sposób Folina.

Zasada: Przez ogrzewanie moczu z kwasem solnym do temperatury 150° możemy rozłożyć mocznik na amoniak i dwutlenek węgla.

Wykonanie: 5 cm.³ moczu wprowadzamy do kolbki erlenmajerowskiej, dodajemy 20 g. chlorku magnezowego, 5 cm.³ kwasu solnego stężonego, mały kawałeczek parafiny i kilka kropli czerwieni alizarynowej. Kolbkę zamykamy korkiem, w którym osadzona jest rurka, jaką zwykle nakłada się na aparaty Kippa, i gotujemy tak długo, dopóki krople, spadającej z powrotem cieczy, nie wywołują silnego syczenia, poczem utrzymujemy zawartość kolbki przy tej temperaturze (150°) około godziny, uważając, aby nie przybrała oddziaływania zasadowego. Do ochłodzonej masy dodajemy 700 cm.³ wody i 20 cm.³ 10% roztworu wodorotlenku sodowego i destylujemy, jak przy metodzie Kjeldahla, do odmierzonej ilości kwasu solnego.

Przy określeniach, wymagających wielkiej ścisłości, przed wykonywaniem hidrolizy mocznik wyodrębniamy, wyciągając go z obojętnego, odparowanego prawie do sucha moczu alkoholem. Ponieważ przy określaniu mocznika metodą Folina określamy zarazem amoniak, który, jako taki, znajdował się w moczu,

przeto analiza taka musi być połączoną z określeniem amoniaku w tym samym moczu.

Chlorek magnezowy dodajemy, aby podwyższyć temperaturę płynu; parafinę — ażeby zapobiedz pienieniu się; alizarynę — ażeby skontrolować, czy oddziaływanie jest kwaśne: przy reakcji alkalicznej alizaryna przybiera kolor purpurowy.

VII. Określanie amoniaku.

Sposób Folina.

Zasada: Z moczu słabo zalkalizowanego wypędzamy amoniak za pomocą silnego prądu powietrza, które następnie przechodzi przez odmierzoną ilość mianowanego kwasu solnego.

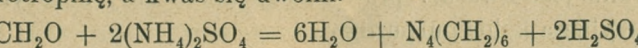
Wykonanie: Łączymy 2 specjalne płuczki w sposób odpowiadający powyższej zasadzie, wprowadzając do pierwszej 25 cm.^{3} moczu, 10 g. chlorku sodowego i 1 g. węglanu sodowego, ponadto kilka kropel nafty. Między jedną a drugą płuczką umieszczamy rurkę, luźnie wypełnioną watą. Przepędzamy za pomocą miecha (pompki Stuhla) albo przesysamy za pomocą pompki wodnej ssącej przez $^1/_2$ godziny silny prąd powietrza, poczem mianujemy w płuczce-odbieralniku niezwiązany przez amoniak kwas solny.

Obliczenie?

VIII. Określanie amoniaku.

Metoda Schiffa-Malfattiego.

Zasada: Jeżeli do roztworu soli amonowych dodamy formaliny, to amoniak utworzy z formaliną urotropinę, a kwas się uwolni:



$$6CH_2O + 2(NH_4)_2SO_4 = 6H_2O + N_4(CH_2)_6 + 2H_2SO_4.$$

Wykonanie: 25 cm.^{3} moczu i 100 cm.^{3} wody zadajemy kilkoma kroplami fenolftaleiny i taką ilością dziesiąto-normalnego ługu sodowego, ile go potrzeba, aby płyn nabrał koloru różowego (określamy kwasowość moczu); dodajemy 10 cm.^{3} 40% formaliny, rozcieńczonej 30 cm.^{3} wody i zobojętnionej ługiem sodowym przy użyciu fenolftaleiny jako wskaźnika. Po zmieszaniu alkaliczne oddziaływanie znika. Mianujemy wytworzoną ilość kwasu dziesiąto-normalnym ługiem sodowym.

Obliczenie: Metoda ta daje wyższe rezultaty, niż sposób Folina. Ponieważ aminokwasy reagują z formaliną tak samo, jak sole amonowe, to ilość aminokwasów możemy określić tym samym sposobem, jeżeli poprzednio z zalkalizowanego moczu usuniemy amoniak silnym prądem powietrza.

IX. Określanie kreatyniny.

Zasada: Z intensywności odczynu Jaffego możemy przy pomocy kolorymetru Autenrieta określić ilość kreatyniny.

Wykonanie: 5 cm.^{3} moczu zadajemy w litro-

wej kolbie 15 cm.^{3} 1,2% kwasu pikrynowego i 10 cm.^{3} 10% ługu sodowego; pozostawiamy przez 5 minut i rozcieńczamy wodą do litra. Próbę płynu umieszczamy w naczyńku otwartem kolorymetru Autenrieta; ustawiamy klin tak, żeby kolory były równe i z krzywej kalibracji przyrządu odczytujemy zawartość kreatyniny w użytych 5 cm.^{3} moczu.

X. Określanie kwasu moczowego.

Metoda Hopkinsa-Folina.

Zasada: Strącamy kwas moczowy amoniakiem w obecności soli amonowych jako moczan amonowy, a potem mianujemy go w rozczynie kwaśnym nadmanganianem potasu.

Odczynniki: Nr. 1: 500 g. siarczanu amonowego, 5 g. octanu uranilowego i 60 cm.^{3} 10% kwasu octowego w 650 cm.^{3} wody;

Nr. 2: 10% roztwór siarczanu amonowego;

Nr. 3: $^1/_{20}$-normalny roztwór nadmanganianu potasowego; 1 cm.^{3} odpowiada 3,75 mg. kwasu moczowego.

Wykonanie: 200 cm.^{3} moczu zadajemy 50 cm.^{3} odczynnika Nr. 1; po pół godzinie zlewamy płyn przez suchy sączek do suchej erlenmajerki, pozostawiając, o ile możności, osad na dnie naczynia; odmierzamy 125 cm.^{3} przesączu i zaprawiamy 5 cm.^{3} 20% amoniaku. Po upływie 24 godzin sączymy, przemywamy pozostały w naczyniu oraz spłukany na sączek osad odczynnikiem

Nr. 2, wyjmujemy sączek z lejka i spłukujemy osad cienkim strumieniem wody z tryskawki do zlewki (najlepiej do tego samego naczynia, w którem przedtem osad wytworzyliśmy). Dopełniamy objętość wody do 100 cm.^{3}, dodajemy 15 cm.^{3} stężonego kwasu siarkowego i mianujemy natychmiast ciepły płyn nadmanganianem potasu, dopóki po dodaniu 2 kropli nadmanganianu cały płyn przez chwilę nie pozostanie czerwony.

Nadmanganian utlenia kwas moczowy na alantoinę.

XI. Ilościowe określanie glukozy.

Metoda polarymetryczna.

Glukoza skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego na prawo tak, że 100% roztwór skręciłby ją w rurze długości 1 dm. o 52,5^0. Roztwór a% w rurze o długości l dm. skręca zatem o kąt $\alpha = \left(\frac{52,5 \cdot a \cdot l}{100}\right)^0$; kąt α odpowiada stężeniu $\frac{100 \cdot \alpha}{52,5 \cdot l}$. Jeżeli stosujemy rurę o długości $\frac{100}{52,5}$ dm., to kąt skręcania daje nam bezpośrednio odsetki cukru w moczu (dlaczego?)

Przed wprowadzeniem do rury polarymetru musimy mocz wyklarować przez dodanie sproszkowanego octanu ołowiawego i odsączenie powstałych fosforanów i węglanów, które porywają za sobą wszystkie męty.

XII. Mianowanie cukru w moczu.

a) Sposobem Benedicta.

Zasada: W obecności soli rodanowych tworzą się przy redukcji soli miedziowych białe rodanki miedziawe, które nie utleniają się w zetknięciu z powietrzem.

Odczynnik: 200 g. cytrynianu sodowego, 200 g. krystalicznej sody i 125 g. rodanku potasowego rozpuszczamy w 700 cm.^{3} wody. Sączymy i dodajemy, mieszając starannie roztwór, 18 g. krystalicznego siarczanu miedzi, rozpuszczonego w 100 cm.^{3} wody. Po dodaniu 5 cm.^{3} 5% roztworu żelazocjanku potasowego dopełniamy wodą do litra.

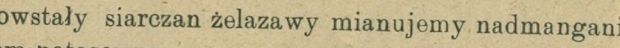
Wykonanie: 25 cm.^{3} odczynnika umieszczamy w parowniczce porcelanowej, dodajemy 10 g. węglanu sodowego i kilka odłamków nieglazurowanej porcelany, ogrzewamy na wolnym płomieniu do wrzenia i do wrzącego płynu dopuszczamy z biuretki badany mocz, najpierw szybko, a kiedy płyn zaczyna blednąć, po 2 krople na minutę. Koniec reakcji jest osiągnięty wtedy, kiedy zniknął wszelki ślad koloru niebieskiego.

25 cm.^{3} płynu Benedicta (odczynnika) odpowiada 50 mg. glukozy albo 53 mg. fruktozy.

b) Określanie cukru gronowego sposobem Bertranda.

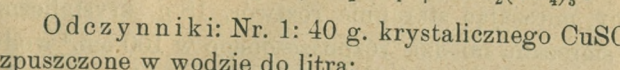
Zasada: Redukuje się alkaliczny roztwór tlenku miedziowego badaną ilością cukru; wydzielony tlenek miedziawy odsącza się, wymywa i rozpuszcza w kwaś-

nym roztworze siarczanu żelazowego. Z tlenku miedziawego i siarczanu żelazowego powstaje w tych warunkach siarczan miedziowy i siarczan żelazawy:



$$Cu_2O + H_2SO_4 + Fe_2(SO_4)_3 = H_2O + 2CuSO_4 + 2FeSO_4 .$$

Powstały siarczan żelazawy mianujemy nadmanganianem potasowym:



$$2KMnO_4 + 8H_2SO_4 + 10FeSO_4 = \\ = 2MnSO_4 + 8H_2O + K_2SO_4 + 5Fe_2(SO_4)_3 .$$

Odczynniki: Nr. 1: 40 g. krystalicznego $CuSO_4$, rozpuszczone w wodzie do litra;

Nr. 2: 200 g. soli Seignetta i 150 g. NaOH w wodzie do litra;

Nr. 3: 50 g. siarczanu żelazowego w 20 cm.^{3} stężonego H_2SO_4, rozcieńczone wodą do litra;

Nr. 4: dziesiąto-normalny nadmanganian potasu.

Wykonanie: Rozcieńczamy badany płyn tak, żeby zawierał nie więcej, aniżeli $^1/_2$% cukru gronowego; z tego płynu odmierzamy pipetą 20 cm.^{3} do erlenmajerki, dodajemy po 20 cm.^{3} odczynników Nr. 1 i Nr. 2, ogrzewamy do wrzenia i utrzymujemy równo przez 3 minuty we wrzeniu; odstawiamy na bok i pozwalamy osiąść czerwonemu tlenkowi miedziawemu; płyn musi być wyraźnie niebieski od siarczanu miedziowego. Niebieski płyn przelewamy przez sączek azbestowy, ewentualnie tygielek Goocha, tak, ażeby możliwie jaknajmniej osadu dostało się na sączek, osad w erlenmajerce przemywamy wodą, którą odlewamy przez sączek; po-

Tablica.

Cu w mg.	d-glukoza w mg.	Cu w mg.	d-glukoza w mg.	Cu w mg.	d-glukoza w mg.	Cu w mg.	d-glukoza w mg.	Cu w mg.	d-glukoza w mg.
20,4	10	57,2	29	91,8	48	124,7	67	155,6	86
22,4	11	59,1	30	93,6	49	126,4	68	157,2	87
24,3	12	60,9	31	95,4	50	128,1	69	158,8	88
26,3	13	62,8	32	97,1	51	129,8	70	160,4	89
28,3	14	64,6	33	98,9	52	131,4	71	162,0	90
30,2	15	66,5	34	100,6	53	133,1	72	163,6	91
32,2	16	68,3	35	102,3	54	134,7	73	165,2	92
34,2	17	70,1	36	104,1	55	136,3	74	166,7	93
36,2	18	72,0	37	105,8	56	137,9	75	168,3	94
38,1	19	73,8	38	107,6	57	139,6	76	169,9	95
40,1	20	75,7	39	109,3	58	141,2	77	171,5	96
42,0	21	77,5	40	111,1	59	142,8	78	173,1	97
43,9	22	79,3	41	112,8	60	144,5	79	174,6	98
45,8	23	81,1	42	114,5	61	146,1	80	176,2	99
47,7	24	82,9	43	116,2	62	147,7	81	177,8	100
49,6	25	84,7	44	117,9	63	149,3	82		
51,5	26	86,4	45	119,6	64	150,9	83		
53,4	27	88,2	46	121,3	65	152,5	84		
55,3	28	90,0	47	123,0	66	154,0	85		

tem dodajemy do tlenku miedziawego w erlenmajerce 20 cm.^{3} odczynnika Nr. 3, pozwalamy tlenkowi miedziawemu rozpuścić się *bez ogrzewania*, przelewamy płyn przez sączek azbestowy, przyczem rozpuszczają się tu cząstki tlenku, które przedostały się na sączek, wymywamy erlenmajerkę i sączek zimną wodą i natychmiast mianujemy przesącz nadmanganianem, dodając go dopóty, aż zielona barwa płynu przejdzie w różową. Z ilości zużytych cm.^{3} nadmanganianu obliczamy ilość miedzi w osadzie tlenku miedziawego. Centymetr dziesiąto-normalnego $KMnO_4$ odpowiada 6,3 mg. miedzi; z ilości mg. miedzi odczytujemy w podanej tablicy ilość mg. glukozy w użytych do doświadczenia 20 cm.^{3} płynu.

XIII. Określanie cukru przy pomocy fermentacji w przyrządzie Lohnsteina.

Wykonujemy podług objaśnień, załączonych do każdego przyrządu.

XIV. Ilościowe określanie białka w moczu.

Gotujemy około 100 cm.^{3} przesączonego moczu, zadajemy kwasem octowym, sączymy, wymywamy starannie osad na sączku wodą; w osadzie wraz z sączkiem określamy ilość azotu sposobem Kjeldahla. W analizie kontrolnej określamy ilość azotu w takim samym sączku. Znalezioną w osadzie ilość azotu mnożymy przez liczbę 6,25; otrzymujemy w ten sposób ilość białka.

XV. Ocenianie białka sposobem Essbacha.

Do specjalnej rurki nalewamy słabo kwaśnego moczu do kreski U, następnie odczynnika Essbacha (mieszanina 20% kwasu cytrynowego i 1% kwasu pikrynowego) do kreski R i pozostawiamy w temperaturze pokojowej na 24 godziny; z wysokości słupa osadu odczytujemy na podziałce ilość odsetkową białka: sposób ten daje rezultaty przybliżone.

XVI. Określanie acetonu i kwasu acetooctowego w moczu.

I. Sposób Folina.

Zasada: Używamy przyrządu tego samego, który stosowaliśmy przy określaniu amoniaku; wypędzamy szybkim prądem powietrza aceton z słabo kwaśnego moczu i chwytamy go w płynie pochłaniającym, złożonym z ługu potasowego i dziesiąto-normalnego roztworu jodu w jodku potasu. Ilość jodu niezużytego określamy przez mianowanie tiosiarczanem.

Wykonanie: Do 20 cm.^{3} moczu dodajemy 0,25 g. kwasu szczawiowego, 10 g. soli kuchennej i nieco nafty. Do odbieralnika nalewamy 150 cm^3 wody, 4 g. wodorotlenku potasowego i 40 cm^3 dziesiąto-normalnego roztworu jodu w jodku potasu. Przez $^1/_2$ godziny przepędzamy przez aparat bystry prąd powietrza, potem zakwaszamy zawartość odbieralnika stężonym kwasem solnym, a wydzielony jod mianujemy dziesiąto-normalnym tiosiarczanem sodowym. Ponieważ na wytwo-

rzenie jodoformu z 1 cząsteczki acetonu potrzeba 6 atomów jodu, przeto 1 cm³ jodu zużytego oznacza 0,97 mg. acetonu.

II. Określanie sumy kw. acetooctowego i acetonu.

20 cm.³ świeżego moczu (w którym wykazaliśmy jakościową próbą obecności większych ilości acetonu) zadajemy 0,5 cm.³ 50% kw. octowego i 150 cm.³ wody i destylujemy z obszernej kolbki, połączonej z dobrą chłodnicą i silnie chłodzonym odbieralnikiem dopóty, aż otrzymamy około 50 cm.³ destylatu. Do przekroplonej cieczy dodajemy nieco węglanu wapniowego, przetrząsamy i destylujemy ponownie; po dodaniu do nowego przekropu 1 cm.³ ośmiokrotnie rozcieńczonego kwasu siarczanego destylujemy go po raz trzeci. W innej próbie określamy ilość acetonu jodometrycznie, jak podano powyżej.

Analiza II daje nam sumę acetonu, zawartego w moczu jako kwas acetooctowy i jako aceton wolny. Analiza I daje nam sam tylko wolny aceton.

XVII. Określanie cukru we krwi.

Metoda Michaelisa.

Rozcieńczamy $1^1/_2$ cm.³ krwi w małej kolbce do 12 cm.³, ogrzewamy na siatce azbestowej prędko do wrzenia i przez 2 sekundy gotujemy; potem dodajemy, ciągle mieszając, kroplę po kropli 7,5 cm.³ koloidal-

nego wodorotlenku żelazowego (roztwór 2%), a po zadaniu zawartości kolbki $^1/_2$ cm.^{3} 0,5% roztworu siarczanu magnezowego, sączymy przez suchy sączek do suchego naczynia. Odmierzamy 10 cm.^{3} przesączu, dodajemy 0,7 cm.^{3} roztworu soli Seignetta i ługu sodowego (odczynnik Bertranda Nr. 2) i 0,5 cm.^{3} siarczanu miedziowego (odczynnik Nr. 1); mieszaninę ogrzewamy w erlenmajerce 50 cm.^{3} do wrzenia i podtrzymujemy wrzenie przez 3 minuty. Płyn z ponad powstałego osadu przelewamy do naczynia wirówkowego, wymywamy starannie poprzednio użyte naczynie 2 razy 1 cm.^{3} wygotowanej wody, którą też zlewamy do naczyńka wirówkowego, i wirujemy, aż osad tlenku miedziawego osiądzie silnie na dnie; wtedy zlewamy większą część płynu, pozostałą zaś ilość wirujemy powtórnie. Teraz zlewamy resztę płynu jak najdokładniej, ale bez straty osadu. Nalewamy do naczyńka wirówkowego 1 cm^3 odczynnika Nr. 3, rozpuszczamy tlenek miedziawy, przelewamy rozczyn do kolbki zawierającej resztę osadu i spłukujemy naczynie wirówkowe wodą destylowaną. Gdy osad się rozpuści mianujemy natychmiast otrzymany roztwór setno-normalnym rozczynem nadmanganianu potasowego dodając go z mikrobiuretki dopóty, dopóki po dodaniu naraz 2 kropli różowy kolor płynu trwa przez 5 do 7 sekund.

Odczynniki: jak w XII b.

Obliczenie: Na podstawie następującej tablicy:

Tablica.

Ilość cm.³ nadmanganianu potasu odpowiada mg. cukru:

0,5	cm.³. . . .	0,39	mg.
0,6	„	0,42	„
0,7	„	0,45	„
0,8	„	0,48	„
0,9	„	0,51	„
1,0	„	0,55	„
1,1	„	0,58	„
1,2	„	0,62	„
1,3	„	0,65	„
1.4	„	0,69	„
1,5	„	0,72	„
1,6	„	0,76	„
1,7	„	0,80	„
1,8	„	0,84	„
1,9	„	0,88	„
2,0	„	0,93	„
2,1	„	0,97	„
2,2	„	1,01	„
2,3	„	1,04	„
2,4	„	1,08	„
2,5	„	1,12	„
2,6	„	1,15	„
2,7	„	1,19	„
2,8	„	1,23	„

2,9 cm.³ . . . . 1,27 mg.
3,0 „ . . . . . 1,31 „

Otrzymaną ilość cukru należy pomnożyć przez 2!

XVIII. Określanie tlenu związanego we krwi metodą Haldane'a i Barcroft'a.

Zasada: W odpowiedniem naczyńku, połączonem z manometrem, wypędzamy żelazicjankiem potasowym związany w oksyhemoglobinie tlen i mierzymy jego ilość na podstawie przyrostu ciśnienia. (Opis przyrządu patrz w drugiej części „Fizjologji człowieka" Becka i Cybulskiego, str. 176). Jako cieczy w manometrze używamy roztworu, zawierającego 5 g. żółcianu sodowego i 23 g. chlorku sodowego w 500 g. wody, płyn ten ma ciężar gatunkowy 1,034. Do doświadczenia używamy dwuch jednakowych przyrządów, z których jeden służy do kontroli zmian ciepłoty i stanu barometrycznego. Napełniamy obydwa aparaty temi samemi substancjami w tych samych ilościach; obydwa naczyńka zawieszamy w jednym garnku z wodą o ciepłocie pokojowej. Objętość naczyńka musi być określoną przez ważenie naczyńka próżnego i wypełnionego wodą destylowaną; tak samo musi być znaną objętość tego ramienia manometru, które łączy się z naczyńkiem, aż do jakiejś raz na zawsze przyjętej podziałki.

Potrzebne odczynniki: Nr. 1: rozcieńczony amoniak (4 cm. 10% amoniaku w litrze wody).

Nr. 2: nasycony roztwór żelazicjanku potasowego.

Zadanie A.

Określanie pojemności krwi dla tlenu.

Wykonanie. Na dno naczyńka nalewamy $1^1/_2$ cm.^{3} amoniaku i 1 cm.^{3} badanej krwi, mieszamy i przetrząsamy z powietrzem; krew musi stać się zupełnie lakowatą. Na łyżeczkę, przylutowaną do pokrywki naczyńka, nalewamy 0,3 cm.^{3} żelazicjanku, zamykamy naczyńko nakrywką i łączymy z manometrem, którego kurek jest otwarty ku atmosferze; tak samo napełniamy manometr kontrolny i zawieszamy obydwa w wymienionym garnku z wodą. Po upływie kwadransa nastawiamy za pomocą śrubki płyn w manometrach na poziom, który odpowiada znanej martwej przestrzeni manometru, zamykamy kurki manometrów i przetrząsamy krew w jednym z nich tak, ażeby żelazicjanek z górnego naczyńka zmieszał się z nią i wypędził tlen z oksyhemoglobiny. Przyrząd musi przytem być zamknięty i jego połączenie niezmienione. Wtedy zanurzamy naczyńko manometru napowrót do wody, otwieramy kurek i po kilku minutach doprowadzamy poziom płynu w ramieniu manometru, połączonem z naczyńkiem, do poziomu pierwotnego; tak samo otwieramy kurek i doprowadzamy do pierwotnego stanu poziom płynu w manometrze kontrolnym, w którym krwi z żelazicjankiem nie mieszaliśmy. Teraz odczytujemy różnicę poziomów w obydwu ramionach każdego manometrn i otrzymujemy w ten sposób zmianę ciśnienia gazowego w naczyńkach przy niezmienionej objętości. Zmianę (dodatnią lub ujemną) w manome-

trze kontrolnym musimy odjąć od zmiany w tym manometrze, w którym doświadczenie wykonywaliśmy. Jeżeli Vn oznacza sumę objętości naczyńka i martwej przestrzeni, Vp — objętość w cm.^{3} wprowadzonych do naczyńka płynów, Pz określa zmianę ciśnienia w mm. słupa żółcianów już po odciągnięciu zmiany ciśnienia w manometrze kontrolnym, to objętość tlenu wydzielonego przy temperaturze użytej kąpieli wodnej równa się:

$$\frac{(Vn - Vp) \cdot Pz}{10000} \text{ cm.}^3;$$

mnożąc przez $\frac{b}{(1 + \alpha t)\, 760}$, otrzymujemy w cm.^{3} pojemność krwi dla tlenu.

Zadanie B.

Określanie zawartości tlenu w danej próbce krwi.

Wykonanie. Wprowadzamy tak samo, jak w zadaniu A, badaną próbę krwi pod amoniak tak, ażeby nie zetknęła się z powietrzem; potem możemy albo 1) przetrząsnąć bez użycia żelazicjanku w zamkniętem naczyniu krew z tlenem i zmierzyć przez obniżenie ciśnienia ilość tlenu związanego k, a z krwi tak nasyconej wypędzić żelazicjankiem całą ilość zawartego w niej tlenu p; wtedy (p — k) da nam ilość tlenu, związanego w danej próbce krwi; albo 2) możemy odrazu wypędzić żelazicjankiem tlen związany w danej próbce i zmierzyć jego ilość.

Określenie zawartości dwutlenku węgla w powietrzu.

Zasada: Z odmierzonej ilości powietrza pochłaniamy dwutlenek węgla za pomocą odmierzonej ilości mianowanej wody barytowej; w wodzie barytowej określamy za pomocą miarowanego kwasu szczawiowego ilość zużytej zasady.

Odczynniki: Nr. 1) Roztwór kwasu szczawiowego dziesiąto-normalny. Nr. 2) Roztwór wodorotlenku barowego ($Ba(OH)_2 . 8H_2O$) dziesiąto-normalny.

Wykonanie: Flaszkę z korkiem szklanym wymierzamy starannie za pomocą wody, napełniamy badanem powietrzem i wprowadzamy do niej 50 cm.^{3} odczynnika Nr. 2. Korkujemy, przetrząsamy i pozostawiamy na $^1/_2$ godziny. Roztwór barytu zlewamy do flaszeczki 50 cm.^{3}, zatykamy, a po osadzeniu się węglanu barowego bierzemy pipetą 25 cm.^{3} klarownego płynu i mianujemy go kwasem szczawiowym (odczynnik Nr. 1) używając fenolftaleiny jako indykatora. Przy każdej analizie sprawdzamy miano barytu, mianując go kwasem szczawiowym.

Obliczenie: Uwzględnić temperaturę powietrza i ciśnienie barometryczne. Do mianowania wzięto tylko połowę barytu użytego do analizy!

Określenie zawartości dwutlenku węgla w powietrzu pęcherzykowem.

Sposób Hendersona i Russela.

Przyrząd: Długa rura szklana średnicy 4 cm. a długości 2 m. jest z jednej strony zakończona węższą rurką ($1^1/_2$ cm. średnicy); blizko tego końca połączona jest ona za pomocą bocznego wylotu i korka gumowego z pipetą, złożoną z trzech połączonych ze sobą kulek, z których każda ma 50 cm.^{3} pojemności. Dolna kulka jest oddzielona od środkowej znakiem. Dolny koniec pipety jest zamknięty wężem gumowym i zaciskiem. Pipeta jest otoczona płaszczem napełnionym wodą, w której jest zanurzony termometr.

Odczynniki: Nr. 1. $^1/_{40}$ normalny ług barytowy. Nr. 2. $^1/_{40}$ normalny kwas szczawiowy.

Wykonanie: Do pipety wsysamy baryt do pełna, zamykamy zacisk i łączymy ją z bocznym wylotem rury głównej. Ujmujemy cieńszy koniec rury między wargi, robimy jaknajgłębszy wydech i zatykamy koniec rury językiem; natychmiast wypuszczamy, otwierając zacisk, baryt z dwuch górnych kulek aż do znaku. Otrzymaliśmy w ten sposób próbę powietrza pęcherzykowego; czekamy pół minuty na wyrównanie temperatury, odczytujemy i notujemy temperaturę płaszcza wodnego, odłączamy pipetę i, zatkawszy jej koniec palcem, odwracamy ją, poczem przetrząsamy przez 2 minuty. Baryt spuszczamy do 30 cm.^{3} suchej flaszeczki, zamykamy, a po osadzeniu się węglanu mianujemy

w 20 cm.^{3} płynu pozostały baryt za pomocą odczynnika Nr. 2.

Obliczenie: Jak w poprzedniem ćwiczeniu.

Określenie tlenu i dwutlenku węgla w powietrzu.

Przyrząd Pettersona-Tobiesena.

Zasada: Z odmierzonej ilości powietrza pochłaniamy najpierw dwutlenek węgla za pomocą ługu potasowego, a z pozostałej reszty tlen za pomocą zasadowego roztworu pirogallolu. Po absorbcji każdego ze składników mierzymy zmianę objętości gazu.

Przykład: Gaz wciągamy do biurety pierwszej, przesuwamy go oraz wypędzamy do naczyń absorbcyjnych za pomocą rtęci, podnosząc i opuszczając połączony z biuretą zbiornik. Aby módz wykonywać wszystkie pomiary przy tem samem ciśnieniu, oraz wykluczyć wpływ zmian temperatury przyrząd posiada następujące urządzenie. Obok biurety mierniczej znajduje się druga biureta zamknięta u dołu, a otoczona wraz z pierwszą wspólnym płaszczem wodnym. Obie te biurety łączą się po przez wązką rurkę poziomą opatrzoną podziałką, w której znajduje się kropelka nafty. Kropelka ta, ustawiona na początku doświadczenia pośrodku podziałki, kiedy w obydwu biuretach panowało ciśnienie atmosferyczne, służy później, kiedy komunikacja z powietrzem zewnętrznem zostaje przerwaną, do stwierdzenia, czy gaz w biurecie mierniczej posiada te same ciśnienie, jakie miał na początku doświadczenia.

Odczynniki: Do absorbcji dwutlenku węgla służy 75% ług potasowy (KOH). Do absorbcji tlenu roztwór 10 g pirogallolu w 100 cm.^{3} 75% ługu potasowego.

Wykonanie: Podczas napełniania biurety mierniczej powietrzem, biureta kompensacyjna komunikuje się z rurką poziomą i z atmosferą zewnętrzną; obydwa kurki między rurką poziomą a atmosferą zewnętrzną są otwarte, kurek łączący ją z biuretą mierniczą — zamknięty. Po napełnieniu biurety mierniczej otwieramy też i ten ostatni, zamykamy kurki łączące rurkę poziomą z atmosferą, potem kurki łączące ją z biuretami. Po absorbcji dwutlenku węgla i wprowadzeniu gazu z powrotem do biurety mierniczej ustawiamy poziom rtęci w tej ostatniej tak, ażeby przy bardzo ostrożnem otworzeniu kurków, łączących ją z rurką poziomą, kropelka nafty nie przesunęła się. Ostatecznie ustawiamy poziom rtęci w biurecie po zamknięciu kurka łączącego ją ze zbiornikiem przez naciskanie śrubką rurki gumowej u jej dna. To samo powtarzamy po absorbcji tlenu.

Obliczenie: Uwzględnić ciśnienie barometryczne i temperaturę!

XXII. Określanie glikogenu.

W rurce wirówkowej ogrzewamy 1 cm^3 60% ługu potasowego we wrzącej łaźni; wrzucamy około 1 g mięsa, albo innej badanej tkanki. Mieszając cieniutką pałeczką, przyspieszamy rozpuszczenie się. Po półgodzinnem ogrzewaniu ochładzamy, dodajemy 2 cm^3 wo-

dy i 5 cm^3 alkoholu 96%; po 2 godzinach wirujemy, płyn zlewamy z osadu, osad przemywamy, wirując za każdym razem, kolejno 60%, 80%, 96% alkoholem i potem eterem; do przemywania używamy po 2 cm^3 płynu. Po odparowaniu eteru rozpuszczamy pozostały proszek w 10 cm^3 wody, dodajemy 0,5 cm^3 36% kwasu solnego i ogrzewamy we wrzącej łaźni przez 3 godziny. Roztwór zawierający już cukier gronowy sączymy do kolbki miarowej 50 cm^3 i rozcieńczamy go do tej objętości; w próbach po 10 cm^3 określamy cukier sposobem Bertrand-Michaelisa.

XXIII. Określanie tłuszczów.

I Metoda (Soxhleta).

Kilka gramów wysuszonej i sproszkowanej tkanki umieszczamy w gilzie papierowej aparatu Soxhleta i wyciągamy przez 48 godzin eterem. Po odparowaniu eteru suszymy pozostałość w eksikatorze aż do osiągnięcia stałej wagi.

II Metoda.

5 g badanej tkanki gotujemy przez $^1/_2$ godziny z 30 cm^3 50% ługu potasowego; ochładzamy, dodajemy 30 cm^3 96% alkoholu i gotujemy jeszcze przez 10 minut. Otrzymany płyn ochładzamy i rozkładamy zawarte w nim mydła przez dodanie 100 cm^3 20% kwasu siarczanego. Kwasy tłuszczowe wytrząsamy za pomocą 50 cm^3 benzyny wrącej poniżej 60^0. Do całej tej mieszaniny dodajemy tyle nasyconego NaCl, ażeby cała objętość wynosiła 240 cm^3, a po oddzieleniu się war-

stwy benzynowej bierzemy z niej pipetą 20 cm^3 (ostrożnie!).

Do tej ilości dodajemy 40 cm^3 90% alkoholu, nieco fenolftaleiny i mianujemy dziesiąto-normalnym ługiem potasowym. Zamiast mianować możemy także benzynę odparować, a pozostałość zważyć.

Uwaga: W ten sposób określamy nie ilość tłuszczu lecz ilość kwasów tłuszczowych zawartych w tłuszczach obojętnych, ciałach tłuszczowatych oraz cholesterynę, jeżeli ważymy pozostałość.

XXIV. Określanie ilości białka w surowicy za pomocą refraktometru.

Zasada: Ze współczynnika załamania światła (n) danego wodnego roztworu możemy określić ilość rozpuszczonych w nim substancji. Białko załamuje światło bardzo silnie.

Przyrząd. Używamy refraktometru Pulfricha-Zeissa, którego pryzmat możemy zanurzać wprost do płynu badanego, jeżeli mamy do rozporządzenia dostateczną jego ilość. Jeżeli natomiast rozporządzamy tylko małemi ilościami (kropelką) badanej cieczy, to umieszczamy jej kropelkę pomiędzy pryzmatem refraktometru, a pryzmatem pomocniczym. Pomiary wykonujemy przy temperaturze 17,5°, która musi być zachowana z największą ścisłością. Dla wody destylowanej przy tej temperaturze granica ciemnego i jasnego pola znajduje się przy podziałce „15“.

Zawartości białka w surowicy umieszczonej między pryzmatami refraktometru odczytujemy ze stopnia podziałki, na której leży granica pól w refraktometrze na podstawie następującej tablicy:

n	Liczba odczytana na podziałce.	%% białka.	Różnica w %% białka na jednostkę podziałki.
1,33705	25	0,63	
1,33806	30	1,74	0,220
1,34086	35	2,84	0,220
1,34275	40	3,94	0,220
1,34463	45	5,05	0,218
1,34650	50	6,12	0,218
1,34836	55	7,20	0,216
1,35021	60	8,28	0,216
1,35205	65	9,35	0,214
1,35388	70	10,41	0,212

W surowicy normalnej człowieka: n = 1 · 3476 do 1 · 3512, odpowiada to zawartości białka od 6 · 3% do 8 · 8%.

W próbie surowicy określamy zawartość białka; odbiałczamy przez b. słabe zakwaszenie i zagotowanie; w próbce przesączu ponownie określamy refraktometrem współczynnik załamywania.

n_D dla wody destylowanej wynosi 1 . 33320

Δn_D dla związków niebiałkowych surowicy: 0 . 00277.

XXV. Określanie napięcia powierzchniowego surowicy za pomocą stalagmometru Traubego.

Zasada: Ciężar kropli, odrywającej się od ujścia rurki, jest proporcjonalny do średnicy rurki i do napięcia powierzchniowego płynu. Jeżeli różne płyny wypływają z tej samej rurki, to ciężary kropli są proporcjonalne do napięcia powierzchniowego każdej cieczy; jeżeli jednakowe ilości różnych płynów wypływają z tej samej rurki, to napięcia powierzchniowe tych płynów będą odwrotnie proporcjonalne do ilości kropel, w których wypłynęły.

Przyrząd: Pipeta o starannie oszlifowanem, szerokiem ujściu, zawierająca między dwoma znakami określoną objętość płynu. Pipeta musi być przed każdem określeniem starannie oczyszczoną kwasem chromowym i wypłukana wodą wodociągowa.

Przyrządy pomocnicze: a) Dźwignia pisząca, zakończona z tyłu ukośnie przytwierdzonem, parafinowanem szkiełkiem nakrywkowem.

b) Kimograf. Krople spadające na szkiełko zapisują się na okopconym kimografie.

Określamy ilość kropel wytworzonych przez objętość wody, zawartej między kreskami stalagmometru (liczymy je albo zapisujemy na kimografie).

Taksamo określamy ilość kropel wytworzonych przez roztwór 1% mydła i przez surowicę.

Napięcie powierzchniowe badanego płynu równa się:

$$75 \cdot \frac{\text{ilość kropel płynu}}{\text{ilość kropel wody}} \; \frac{\text{dyn}}{\text{cm}}.$$

Pomiary muszą być wykonane przy tej samej temperaturze!

XXVI. Określanie stężenia cząsteczkowego krwi (surowicy) za pomocą metody kryoskopowej.

Jeżeli równe ilości rozpuszczonych cząsteczek znajdują się w równych ilościach roztworu, to wywołują one w danym rozpuszczalniku jednakowe obniżenie punktu tajania (albo zamarzania). Ażeby określić stężenie cząsteczkowe roztworu musimy określić punkt tajania rozpuszczalnika i punkt tajania roztworu.

Przyrząd: Składa się ze zlewki przeznaczonej na mieszaninę mrożącą, umieszczonej w niej szerokiej probówki i wreszcie umieszczonego w tej probówce nieco węższego naczynia opatrzonego u góry bocznym wylotem. W tym naczyniu tkwi termometr.

Temperaturę mierzymy, jeżeli chodzi o pomiary dla celów fizjologicznych, termometrem o skali obejmującej kilka stopni około zera; każdy stopień jest podzielony na części. Odczytujemy za pomocą lupy. Ogólniejsze zastosowanie ma termometr różnicowy Beckmanna, którego rurka jest opatrzona na górze zbiornikiem, do którego możemy zlewać część rtęci; termometr ten o skali obejmującej kilka stopni możemy przystosować do każdej temperatury.

Wykonanie pomiaru: Do naczyńka wprowadzamy 10 cm^3 wody. Wtykamy termometr i mieszadełko, napełniamy zlewkę mieszaniną mrożącą i, mieszając ciągle wodę, obserwujemy termometr. Woda z początku ulega przechłodzeniu, potem zaczyna nagle za-

marzać: wtedy temperatura podnosi się. Odczytujemy najwyższy punkt, do którego termometr wtedy dochodzi, i notujemy tę temperaturę, jako temperaturę zamarzania wody (rozpuszczalnika).

Powtarzamy to samo doświadczenie, wprowadziwszy do naczynia wewnętrznego zamiast wody krew. W odpowiednio zbudowanych przyrządach mogą wystarczyć do doświadczenia 3 cm^3 krwi. Ochładzamy i obserwujemy temperaturę zamarzania; termometr idzie wtedy w górę tak, jak w poprzedniem doświadczeniu. Najwyższa temperatura, do której dochodzi, daje nam w przybliżeniu punkt zamarzania roztworu. Aby go ustalić powtarzamy doświadczenie, ochładzając ciecz tylko nieznacznie poniżej poprzednio zaobserwowanej temperatury, i wywołując potem zamarznięcie przez „zaszczepienie“ krwi odrobinką lodu, który wytwarzamy w małej rurce włoskowatej i wrzucamy przez boczny otwór; wtedy dopiero odczytujemy prawdziwą temperaturę zamarzania. Normalna krew ludzka zamarza o $0{,}56^0$ niżej od wody.

Roztwór wodny, zawierający jedną gram-cząsteczkę jakiejkolwiek substancji w litrze roztworu, zamarza przy temperaturze — $1{,}85^0$.

Ile rozpuszczonych gram cząsteczek zawiera litr krwi?

Wykonać określenie stężenia cząsteczkowego:

a) na surowicy;

b) na krwi odbiałczonej;

c) na moczu.

XXVII. Określanie stężenia jonów wodorowych za pomocą indykatorów i sporządzanie roztworów soli o określonem stężeniu jonów wodorowych.

Iloczyn ze stężenia jonów wodorowych przez stężenie jonów wodorotlenowych jest w każdym wodnym roztworze liczbą stałą, zależną tylko od ciepłoty; stała ta wynosi przy temperaturze 24°: 10^{-14}.

W wodzie i w roztworach obojętnych stężenie jonów wodorowych jest równe stężeniu jonów wodorotlenowych. W roztworach kwaśnych stężenie jonów wodorowych jest większe od stężenia jonów wodorotlenowych, w roztworach zasadowych rzecz ma się na odwrót; jeżeli znamy stężenie jonów wodorowych, możemy oczywiście obliczyć także stężenie jonów wodorotlenowych.

Roztwory o ściśle określonem, a nizkiem (podobnie jak w płynach fizjologicznych) stężeniu jonów wodorowych możemy sporządzić przez mieszanie słabych kwasów z solami. W takich roztworach stężenie jonów wodorowych:

$$(H) = k \times \frac{\text{stężenie cząsteczkowe kwasu}}{\text{stężenie cząsteczkowe soli}},$$

gdzie k oznacza stałą dysocjacji kwasu.

Mieszając naprzykład roztwory fosforanu pierwszorzędowego z drugorzędowym, możemy otrzymać szereg roztworów, w których stężenie jonów wodorowych leży między 10^{-5} a 10^{-9}.

Odczynniki: Nr. 1: $^1/_3$-cząsteczkowy roztwór pierwszorzędowego fosforanu sodowego.

Nr. 2: $^1/_3$-cząsteczkowy roztwór drugorzędowego fosforanu sodowego. Obydwa roztwory sporządzić z kwasu fosforowego!

Przez mieszanie tych roztworów w stosunkach podanych w następującej tabliczce otrzymujemy płyny o następujących stężeniach (H):

Pierwszorzędowy fosforan / Drugorzędowy fosforan	(H)
1/32	$5 . 10^{-9}$
1/16	$1 . 10^{-8}$
1/8	$2 . 10^{-8}$
1/4	$5 . 10^{-8}$
1/2	$1 . 10^{-7}$
1/1	$2 . 10^{-7}$
2/1	$4 . 10^{-7}$
4/1	$8 . 10^{-7}$
8/1	$1.5 . 10^{-6}$
16/1	$3 . 10^{-6}$
32/1	$6 . 10^{-6}$

Tabliczka ta obejmuje większość roztworów odpowiadających stężeniem jonów wodorowych płynom fizjologicznym (za wyjątkiem soku żołądkowego).

Płyny o innych stężeniach jonów wodorowych otrzymujemy przez mieszanie naprzykład glikokolu z kwasem solnym (10^{-1} do 10^{-5}), cytrynianu z ługiem sodowym (10^{-5} do 10^{-7}).

Ścisłe określenie jonów wodorowych możemy wykonać tylko za pomocą ogniw wodorowych. Metodą łatwą i wykonalną w każdej pracowni jest określenie stężenia jonów wodorowych za pomocą indykatorów. Indykatory są to barwniki o charakterze słabych kwasów albo zasad; przeważnie są to jednak słabe kwasy, których anion jest zabarwiony inaczej, aniżeli cząsteczka niezdysocjowana. Stosunek koncentracji anionu do koncentracji cząsteczek niezdysocjowanych wyraża się wzorem:

$$\frac{(\text{anion})}{(\text{kwas niezdysocjowany})} = \frac{k}{(H)},$$

gdzie k oznacza stałą dysocjacji indykatora.

Wynika z tego, że zależnie od stężenia jonów wodorowych w danym płynie indykator będzie istniał jako cząsteczka niezdysocjowana albo jako anion. Ponieważ stała dysocjacji poszczególnych indykatorów ma wartości bardzo różne, przeto można poszczególne z nich stosować do sprawdzania różnych stężeń jonów wodorowych.

Jeżeli naprzykład do badanego roztworu dodamy fenolftaleiny a zabarwienie nie wystąpi, to wiemy, że (H) jest wyższe niż 10^{-9}; ten sam płyn barwi natomiast czerwień neutralną za żółto, stężenie jonów wodorowych zatem jest niższe niż 10^{-7}. Zastosowanie indykatorów do przybliżonego określenia stężenia jonów wodorowych opiera się na następującej tabelce:

Indykator:	Zmienia kolor przy (H).	
Fiolet metylowy	10^{-2} do 10^{-1}	z żółtego na zielony.
„ „	10^{-3}	z stalowo niebieskiego na fioletowy.
Czerwień Kongo	10^{-4}	z niebieskiego na czerwony.
Czerwień metylowa	10^{-5}	z czerwonego na żółty.
Nitrofenol	10^{-6}	z żółtego na bezbarwny.
Czerwień obojętna	$10^{-7.5}$	z czerwonego na żółty.
Naftolftaleina	10^{-8}	z bezbarwnego na niebieski.
Fenolftaleina	10^{-9}	z bezbarwnego na czerwony.

jeżeli przechodzimy od wyższych do niższych stężeń jonów wodorowych.

Jeżeli chcemy za pomocą indykatorów określić stężenie jonów wodorowych dokładniej, to, zorjentowawszy się w przybliżeniu, sporządzamy sobie w sposób wyżej podany szereg płynów o (H·) ściśle określonych, a blizkich badanego płynu; dodajemy do tych płynów i do płynu badanego po kropli indykatora, który w tej dziedzinie barwę zmienia, i rozpoznajemy, który z tych płynów przyjmuje barwę tę samą, co płyn badany. Ten płyn, który przybierze barwę najbardziej zbliżoną do

płynu badanego, ma to samo stężenie jonów wodorowych.

W płynach, które zawierają wielkie ilości białka albo soli, metody tej nie można zastosować!

Zadanie: Sporządzić tak zwane płyny fizjologiczne, mianowicie płyn Ringera, zawierający w 1000 cm^3 6,5 g. NaCl, 0,2 g. KCl, 0,2 g. $CaCl_2$, 0,1 g. $NaHCO_3$; i płyn Tyrode'a, zawierający 8 g. NaCl, 0,2 g. KCl, 0,2 g. $CaCl_2$, 0,2 g. $MgCl_2$ i 1 g. $NaHCO_3$. Przy pomocy podanych powyżej mieszanin fosforanów oraz indykatorów fenolftaleiny, czerwieni obojętnej i naftolftaleiny określić stężenie jonów wodorowych i wodorotlenowych w tych płynach.

Przemiana materyi zwierzęca.
(Przemiana związków azotowych).

Umieszczamy królika (samca) w klatce specjalnej, która umożliwia dokładne zbieranie kału i moczu: przez kratę dna spadający kał zatrzymuje się na leżącej pod nią siatce, mocz przecieka do jeszcze niższej szufladki, z której ukośnego dna ścieka do podstawionej flaszki. Obserwator zamyka klatkę na klucz.

Prowadzimy dokładny bilans związków azotowych spożytych i wydalonych przez zwierzę. W tym celu analizujemy i ważymy pokarm spożyty, kał i mocz wydalony; określamy ilość ogólną i zawartość azotu, ew. także w moczu rodzaj związków azotowych; określamy wtedy codziennie ilość amoniaku, kwasu moczowego, aminokwasów, kreatyniny.

Rozpoczynamy doświadczenie przez okres głodowy: przez trzy albo cztery dni dajemy zwierzęciu tylko wodę, codziennie określając wagę zwierzęcia, ilość moczu i kału, oraz ilość wydalonego azotu. W poprawnych doświadczeniach wydobywamy mocz z pęcherza kateterem. Zaobserwować przebieg wydalania głodowego azotu aż do t. zw. przedśmiertnego zwiększenia wydalania.

Po okresie głodowym karmimy królika brukwią albo kartoflami, dodając do tego owsa albo jęczmienia: ilość pokarmu dokładnie ważymy, ew. także ilość pozostawioną albo rozrzuconą przez zwierzę. Jeżeli karmimy pokarmem, którego zapas na cały okres doświadczenia posiadamy, to wystarczy jednorazowo stwierdzić zawartość azotu.

Doprowadzić zwierzę do wagi, którą miało przed okresem głodowym i ułożyć bilans azotowy z całego okresu doświadczenia.

SPIS ODCZYNNIKÓW.

Aceton
Acetooctowy kwas (przez zmydlenie estru acetooctowego rozcieńczonym ługiem sodowym)
Adrenalina
Aldehid dwumetylaminobendźwinowy
Alkohol etylowy
Amoniak (10%)
Amonowy chlorek
Amonowy molibdenian (15 gr. molibdenianu w 100 cm³. wody + 100 cm³. stężonego kwasu azotowego).
Amonowy siarczan (stały)
Amonowy siarczan (roztwór nasycony)
Amonowy siarczek (roztwór)
Amonowy szczawian (5%)
Amylowy alkohol
Anilina
Arabinoza
Asparaginowy kwas
Azotowy kwas

Barowy chlorek
Barytowa woda
Bendźwinowy kwas
Benzoilowy chlorek
Benzol
Benzydyna
Benzyna
Białko kurze, przedializowane i sączone
Bilirubina
Bizmutowy azotan
Brom
Bromowa woda
Bursztynowy kwas

Cerebron
Chinina
Chinolina
Chlorek bielący (zawiesina 10%, przesączona)
Chloroform
Chlorowa woda
Chloralowy wodzian
Cholesteryna
Cholowy kwas
Cynawy chlorek
Cynchonina
Cynk granulowany
Cynk w sztabkach
Cynkowy chlorek (roztwór wodny)
Cynkowy chlorek (roztwór alkoholowy)
Cynkowy octan
Cynkowy siarczan
Cynkowy węglan
Cystyna
Czerwień obojętna

Dekstryna
Digitonina

Essbacha odczynnik
Eter etylowy

Fehlinga płyn
Feniloalanina
Fenilohidrazyna
Fenilosiarczany kwas
Fenol
Fenolftaleina
Fibryna
Fibryna karminowa
Fijolet metylowy
Floroglucyna

Floroglucyna (1 gr.) oraz wanilina, zmieszane i rozpuszczone w 30 cm³. absolutnego alkoholu.
Fosforowolframowy kwas
Fruktoza
Furfurol

Gallogarbnikowy kwas
Gallusowy kwas
Gliceryna
Glikogen
Glikokol
Glioksylowy kwas. Rozcieńczony roztwór otrzymuje się przez działanie amalgamatu sodowego na wodny roztwór kwasu szczawiowego
Globulina surowicza
Glukoza
Glukozamin
Glukuronowy kwas
Günzburga odczynnik
Guanina
Gwajakowa tynktura

Hammarstena odczynnik (1 część 25% kwasu azotowego + 19 części 25% kwasu solnego). Przed użyciem rozcieńczyć poczwórną objętością alkoholu
Hematyna, hemoglobina albo krew
Hipurowy kwas

Indol

Jod
Jod w jodku potasu (4 gr. KJ+ 2 gr. J w 100 cm³. wody)
Jodek potasu
Jodowa tynktura

Kazeina
Kefalina
Klej
Kofeina
„Kongo" papier
„Kongo" roztwór
Koszenilowa tynktura
Kreatynina
Krew

Lakmoid
Lakmus
Lakmusowy papier
Lecytyna
Leucyna

Magnezowy siarczan
Magnezowa mieszanina
Marmur
Metylowa czerwień
Metylowy alkohol
Metylowy oranż
Miedziowy tlenek
Miedziowy węglan
Miedziowy wodorotlenek
Miedziowy siarczan
Millona odczynnik (Roztwór rtęci w równej wagowo ilości dymiącego kwasu azotowego rozcieńcza się podwójną objętością wody)
Mleczny cukier
Mleczny kwas
Mleko
Mocznik
Moczowy kwas
Morfina
Mrówczany aldehid
Mydło w alkoholu

Nitrobenzol
Nukleinowy kwas
Naftol α
Nafta
Naftolftaleina

Obermeyera odczynnik (2 gr. FCl_3 w 500 cm³. stęż. HCl)
Octowy aldehid
Octowy amid
Octowy bezwodnik
Octowy kwas lodowaty
Octowy kwas 50%
Octowy kwas 3%

Oliwa
Ołowiawy octan
Orcyna
Orto-nitrobenzol

Para-aminoacetofenon
Pepsyna
Pepton Witte
Pikrynowy kwas
Pirydyna
Potas
Potasowo-sodowy winian
Potasowy azotan
Potasowy azotyn
Potasowy chlorek
Potasowy chromian
Potasowy cjanek
Potasowy dwuchromian
Potasowy fosforan
Potasowy nadmanganian
Potasowy nitroprusydek
Potasowy kwaśny siarczan
Potasowy rodanek
Potasowy węglan
Potasowy wodorotlenek stały i roztwór wodny
Potasowy wodorotlenek, roztwór alkoholowy
Potasowy żelazicjanek
Potasowy żelazocjanek
Pyrogallol
Pyrokatechina
Pyrol

Rezorcyna
Rtęć
Rtęciawy azotan
Rtęciowy azotan
Rtęciowy chlorek
Rtęciowy chlorek w jodku potasu (6 gr. Hg. Cl_2. i 25 gr. KJ rozpuszcza się w 500 cm³. wody)
Salicyna
Salicylowy kwas
Saponina
Siarkowy kwas stężony
Siarkowy kwas rozcieńczony (1 cz. H_2SO_4 stęż. na 6,4 części wody)
Siarkowy kwas normalny.
Skrobja
Skrobjowy klajster
Sodowane wapno
Sodowy amalgamat
Sodowy β-oksymaślan
Sodowy dwusiarczyn
Sodowy chlorek
Sodowy cytrynian
Sodowy fluorek
Sodowy fosforan 1 i 2-rzędowy
Sodowy kwaśny siarczan
Sodowy ług
Sodowy octan
Sodowy oleinian
Sodowy węglan
Sodowy wodorosiarczek
Sodowy wodorotlenek
Sodowy tiosiarczan
Solny kwas
Srebrowy azotan
Stearyna
Sulfanilowy kwas

Tarczycowy preparat
Terpentyna
Tiofen
Trójketohydrynden (roztwór 1%)
Tryptofan
Trzcinowy cukier
Tymol
Tyrozyna

Uranilowy octan
Utleniona woda

Wapniowy chlorek (5%)
Wapniowy glicerofosforan

Żelazawy siarczan
Żelazowy chlorek (10%)
Żelazowy siarczan
Żelazowy wodorotlenek koloid.
Żelatyna
Żółć.
Żółcian sodowy