

THỰC HÀNH : THÍ NGHIỆM NHẬN BIẾT MỘT SỐ THÀNH PHẦN HOÁ HỌC CỦA TẾ BÀO

I - MỤC TIÊU

Sau khi học xong bài này học sinh có khả năng :

- Nhận biết một số thành phần khoáng của tế bào như : K, S, P...
- Nhận biết một số chất hữu cơ của tế bào như cacbohidrat, lipit, prôtêin.
- Biết cách làm một số thí nghiệm đơn giản.

II - CHUẨN BỊ

1. Nguyên liệu :

Khoai lang, xà lách (hoặc đậu cove, cải bắp), sữa, dầu ăn, hồ tinh bột, lạc nhân, lòng trắng trứng, dưa tươi, gan lợn hoặc gan gà tươi, thịt lợn nạc.

2. Dụng cụ và hoá chất :

Ống nghiệm, đèn cồn, ống nhỏ giọt, cốc đong, thuốc thử Phêlinh, kali iốtđua, HCl, NaOH, CuSO_4 , giấy lọc, nước cất, AgNO_3 , BaCl_2 , amôn - magiê, dung dịch axit picric bão hoà, amôni ôxalat, cồn 70° , nước lọc lạnh, nước rửa bát, chén, máy sinh tố, dao, thớt, vải màn hay lưới lọc, giấy lọc, que tre.

III - CÁCH TIẾN HÀNH

(Chú ý : mỗi nhóm học sinh chọn một số thí nghiệm để làm rồi sau đó thảo luận kết quả với những nhóm khác).

1. Xác định các hợp chất hữu cơ có trong mô thực vật và động vật

a) Nhận biết tinh bột

Thuốc thử đặc trưng đối với tinh bột là dung dịch iốt trong kali iốtđua (tạo màu xanh tím).

Thí nghiệm 1 : Giã 50 gam củ khoai lang trong cối sứ, hoà với 20ml nước cất rồi lọc lấy 5ml dịch cho vào ống nghiệm 1. Lấy 5ml nước hồ tinh bột cho vào ống nghiệm 2. Thêm vài giọt thuốc thử iốt vào cả 2 ống nghiệm, đồng thời nhỏ vài giọt thuốc thử iốt lên phần cặn trên giấy lọc, quan sát sự thay đổi màu và giải thích.

Nhỏ thuốc thử Phêlinh vào ống nghiệm 2. Ghi màu sắc dung dịch và kết luận.

Thí nghiệm 2 : Đun 10ml dung dịch hồ tinh bột với 10 giọt HCl trong 15 phút. Để nguội, trung hoà bằng dung dịch NaOH (thử bằng giấy quỳ). Chia dung dịch làm hai phần bằng nhau vào hai ống nghiệm. Một ống nghiệm nhỏ thuốc thử iôt còn ống nghiệm kia nhỏ thuốc thử Phêlinh. Ghi nhận xét về sự đổi màu sắc khác nhau.

b) Nhận biết lipit

Thí nghiệm 1 : Nhỏ vài giọt dầu ăn lên tờ giấy trắng, một lát sau quan sát thấy gì ? Nêu nhận xét và giải thích.

Thí nghiệm 2 : Khi nghiền mẫu mô (lạc nhân) trong một ít rượu để hoà tan dầu mỡ bất kì rồi lọc và đổ 2ml dịch chiết vào 2ml nước trong ống nghiệm ta thu được kết quả hình thành như tương màu trắng sữa. Em hãy giải thích tại sao ?

c) Nhận biết prôtêin

Thí nghiệm : Lấy 3ml sữa hoặc 10ml dung dịch lòng trắng trứng (lấy lòng trắng một quả trứng + 0,5l nước + 3ml NaOH) cho vào ống nghiệm. Nhỏ vào vài giọt dung dịch CuSO_4 rồi lắc ống nghiệm. Quan sát hiện tượng xảy ra.

2. Xác định sự có mặt một số nguyên tố khoáng trong tế bào

Chuẩn bị dịch mẫu : Lấy 10 gam thực vật (xà lách, đậu cô ve, cải bắp...) hoặc thịt lợn nạc cho vào cối sứ già nhỏ với một ít nước cất, thêm 10 - 20ml nước cất rồi đun sôi khối chất thu được trong 10 - 15 phút ; ép qua mảnh vải lụa (hoặc nhiều lớp vải màn). Lọc dịch thu được qua giấy lọc. Thêm nước cất để thể tích được 20ml.

Lấy 5 ống nghiệm (đánh số từ 1 đến 5), cho vào mỗi ống nghiệm 4ml dịch đã chuẩn bị ở trên. Xếp 5 ống lên giá đựng ống nghiệm.

Thêm vào ống nghiệm 1 vài giọt thuốc thử bạc nitrat.

Thêm vào ống nghiệm 2 vài giọt thuốc thử bari clorua.

Thêm vào ống nghiệm 3 khoảng 4ml thuốc thử amôn - magiê.

Thêm vào ống nghiệm 4 khoảng 1ml dung dịch axit picric bão hoà.

Thêm vào ống nghiệm 5 vài giọt amôn i oxalat.

Ghi kết quả ở 5 ống và nhận xét.

3. Tách chiết ADN

Để tiến hành thí nghiệm tách chiết ADN từ các tế bào gan ta cần thực hiện các bước sau :

Bước 1 : Nghiền vật mẫu

Trước hết ta cần loại bỏ lớp màng bao bọc lấy gan rồi thái nhỏ gan cho vào cối nghiền hoặc cối xay sinh tố để tách rời và phá vỡ tế bào gan. Nếu nghiền gan trong cối xay sinh tố thì khi nghiền cần cho vào cối một lượng nước lạnh gấp đôi lượng gan. Nếu nghiền bằng chày cối thì khi nghiền xong đó thêm một lượng nước gấp đôi lượng gan rồi khuấy đều.

Sau đó tiến hành lọc dịch nghiền qua giấy lọc hoặc vải màn hay lưới lọc, loại bỏ các phần xơ để lấy dịch lỏng.

Bước 2 : Tách ADN ra khỏi tế bào và nhân tế bào

Dùng kiềm (chất tẩy rửa) để phá vỡ màng tế bào và màng nhân nhằm giải phóng ADN ra khỏi tế bào.

- Lấy một lượng dịch lọc cho vào ống nghiệm rồi cho thêm vào dịch nghiền tế bào một lượng chất tẩy rửa (nước rửa chén bát) với khối lượng bằng 1/6 khối lượng dịch nghiền tế bào. Sau đó khuấy nhẹ rồi để yên trong vòng 15 phút trên giá ống nghiệm. Chú ý, tránh khuấy mạnh làm xuất hiện bọt.
- Chia hỗn hợp dịch nghiền tế bào đã được xử lý bằng chất tẩy rửa vào các ống nghiệm mỗi ống chứa khoảng 1/3 lượng hỗn hợp dịch nghiền.
- Cho tiếp vào ống nghiệm một lượng nước cốt dừa bằng khoảng 1/6 hỗn hợp dịch nghiền tế bào đang chứa trong ống nghiệm và khuấy thật nhẹ nhằm loại bỏ hết các prôtêin ra khỏi ADN. (Nước cốt dừa được tách chiết bằng cách : dừa tươi được gọt sạch, thái nhỏ và nghiền nát bằng máy xay sinh tố hoặc bằng chày cối sứ, sau đó lọc lấy nước chiết bằng lưới lọc hoặc giấy lọc và cho vào ống nghiệm sạch).
- Để ống nghiệm trên giá trong thời gian từ 5 - 10 phút.

Bước 3 : Kết tủa ADN trong dịch tế bào bằng cồn :

- Nghiêng ống nghiệm và rót cồn étanol dọc theo thành ống nghiệm một cách cẩn thận sao cho cồn tạo thành một lớp nổi trên bề mặt hỗn hợp với một lượng bằng lượng dịch nghiền có trong ống nghiệm.
- Để ống nghiệm trong giá khoảng 10 phút và quan sát lớp cồn trong ống nghiệm. Chúng ta có thể thấy các phân tử ADN kết tủa lơ lửng trong lớp cồn dưới dạng các sợi trắng đục.

Bước 4 : Tách ADN ra khỏi lớp cồn :

Dùng que tre đưa vào trong lớp cồn, khuấy nhẹ cho các phân tử ADN bám vào que tre rồi vớt ra và quan sát. Chú ý các sợi ADN kết tủa sẽ dễ gãy nên phải rất nhẹ nhàng mới vớt ADN ra khỏi ống nghiệm được.

IV - THU HOẠCH

1. Thi nghiệm xác định các hợp chất hữu cơ có trong mô thực vật và động vật

Làm tường trình về kết quả các thí nghiệm theo mẫu sau :

Chất hữu cơ cần nhận biết	Cách tiến hành thí nghiệm	Kết quả và giải thích
1. Tinh bột 2. Lipit 3. Prôtêin		

2. Xác định sự có mặt một số nguyên tố khoáng trong tế bào

Quan sát hiện tượng xảy ra ở 5 ống nghiệm và hoàn thành bảng sau :

Ống nghiệm + Thuốc thử	Hiện tượng xảy ra	Nhận xét - kết luận
1. Dịch mẫu + bạc nitrat		
2. Dịch mẫu + bari clorua		
3. Dịch mẫu + amôn - magiê		
4. Dịch mẫu + axit picric		
5. Dịch mẫu + amôni ôxalat		

3. Tách chiết ADN

Mô tả các bước thí nghiệm và giải thích tại sao phải làm như vậy ?