

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Щёкина Вера Витальевна

Должность: Ректор

Дата подписания: 31.05.2024 08:09:12

Уникальный программный модуль:

a2232a55157e576551a8099b1190892af53989420420336fbff573a434e5789



**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
**федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования**
«Благовещенский государственный педагогический университет»
ОСНОВНАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА
Рабочая программа дисциплины

УТВЕРЖДАЮ

**Декан естественно-географического
факультета ФГБОУ ВО «БГПУ»**


И.А. Трофимцова
«22» мая 2019 г.

**Рабочая программа дисциплины
ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

**Направление подготовки
04.03.01 ХИМИЯ**

**Профиль
«АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ»**

**Уровень высшего образования
БАКАЛАВРИАТ**

**Принята на заседании кафедры химии
(протокол № 8 от «15» мая 2019 г.)**

Благовещенск 2019

СОДЕРЖАНИЕ

Ошибка! Закладка не определена.

2 УЧЕБНО-ТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕОшибка!

Закладка не определена.

3 СОДЕРЖАНИЕ ТЕМ

(РАЗДЕЛОВ).....Ошибка! Закладка не определена.

4 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ (УКАЗАНИЯ) ДЛЯ СТУДЕНТОВ ПО ИЗУЧЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ.....12

5 ПРАКТИКУМ ПО

ДИСЦИПЛИНЕ.....Ошибка! Закладка не определена.

6 ДИДАКТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ Ошибка! Закладка не определена.....48

7 ПЕРЕЧЕНЬ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПРОЦЕССЕ ОБУЧЕНИЯОшибка! Закладка не определена.

8 ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ ИНВАЛИДАМИ И ЛИЦАМИ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯОшибка! Закладка не определена.

9 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ И ИНФОРМАЦИОННЫХ РЕСУРСОВОшибка!
Закладка не определена.

10 МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ БАЗА62

11 ЛИСТ ИЗМЕНЕНИЙ И ДОПОЛНЕНИЙОшибка! Закладка не определена.

1 ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

1. Цель дисциплины: сформировать фундаментальные знания об особенностях химического состава живой материи, основных принципах ее функционирования и понимании взаимосвязи: строение – свойства – биологические функции молекул.

1.2 Место дисциплины в структуре ООП:

Дисциплина «Химические основы биологических процессов» относится к дисциплинам обязательной части блока Б1 (Б1.О.24).

Для освоения дисциплины «Химические основы биологических процессов» обучающиеся используют знания, умения, сформированные в ходе изучения дисциплин «Неорганическая химия» и «Органическая химия». Дисциплина «Химические основы биологических процессов» предназначена для более глубокой естественно-научной подготовки химиков.

1.3 Дисциплина направлена на формирование следующих компетенций: ОПК-1, ОПК-2, ПК-1:

- **ОПК-1.** Способен анализировать и интерпретировать результаты химических экспериментов, наблюдений и измерений, **индикаторами** достижения которой является:

- ОПК-1.1 Систематизирует и анализирует результаты химических экспериментов, наблюдений, измерений, а также результаты расчетов свойств веществ и материалов.

- ОПК-1.2 Предлагает интерпретацию результатов собственных экспериментов и расчетно-теоретических работ с использованием теоретических основ традиционных и новых разделов химии.

- ОПК-1.3 Формулирует заключения и выводы по результатам анализа литературных данных, собственных экспериментальных и расчетно-теоретических работ химической направленности.

- **ОПК-2.** Способен проводить с соблюдением норм техники безопасности химический эксперимент, включая синтез, анализ, изучение структуры и свойств веществ и материалов, исследование процессов с их участием, **индикаторами** достижения которой является:

- ОПК-2.1 Работает с химическими веществами с соблюдением норм техники безопасности.

- ОПК-2.4 Исследует свойства веществ и материалов с использованием серийного научного оборудования.

- **ПК-1.** Владеет системой фундаментальных химических понятий и законов, **индикаторами** достижения которой является:

- ПК-1.1 Понимает основные принципы, законы, методологию изучаемых химических дисциплин, теоретические основы физических и физико-химических методов исследования;

- ПК-1.3 Интерпретирует полученные результаты, используя базовые понятия химических дисциплин.

1.4 Перечень планируемых результатов обучения. В результате изучения дисциплины студент должен

- знать:

- пути поиска информации для использования полученных теоретических и практических знаний в области химических процессов живых систем;
- методы и способы обработки информации результатов химического эксперимента, результатов наблюдений и измерений;
 - информационные источники справочного, научного, нормативного характера;
 - стандартные методы получения, идентификации и исследования свойств веществ и материалов, правила обработки и оформления результатов работы, нормы ТБ;
 - основные правила использования современной аппаратуры при проведении научных исследований с живыми системами;
 - взаимосвязь: строение – свойства – биологические функции молекул.
- уметь:
 - применять и анализировать основы поиска, критического анализа и синтеза информации, системного подхода для решения поставленных задач;
 - обрабатывать, анализировать и обобщать результаты наблюдений и измерений;
 - объяснять и анализировать на основе экспериментальных данных свойства веществ и процессы, протекающие при их взаимодействии;
 - ставить химический эксперимент, анализировать и оценивать лабораторные исследования;
 - применять основы и особенности правил техники безопасности при проведении химического эксперимента;
 - проводить самостоятельный поиск химической информации с использованием различных источников (научно-популярных изданий, компьютерных баз данных, ресурсов Internet).
- владеть:
 - навыками грамотно, логично, аргументированно формировать собственные суждения и оценки;
 - способностью определять и оценивать практические последствия возможных решений;
 - способами ориентации в профессиональных источниках информации (журналы, сайты, образовательные порталы);
 - навыками постановки эксперимента, анализа и оценки результатов лабораторных исследований;
 - методами определения возможности протекания химических превращений в различных условиях и оценки их последствий;
 - способами безопасного обращения с горючими и токсичными веществами, лабораторным оборудованием;
 - навыками использования современной аппаратуры при проведении научных исследований по химическим основам биологических процессов;
 - представлениями о молекулярных основах жизни и о тех конкретных путях, которыми живая природа решает важнейшие задачи приспособления организма к изменяющимся условиям среды.

1.5 Общая трудоемкость дисциплины «Химические основы биологических процессов» составляет 6 зачетных единиц (далее – ЗЕ) (216 часов).

Программа предусматривает изучение материала на лекциях и лабораторных занятиях. Предусмотрена самостоятельная работа студентов по темам и разделам. Проверка знаний осуществляется фронтально, индивидуально.

1.6 Объем дисциплины и виды учебной деятельности

Объем дисциплины и виды учебной деятельности		
Вид учебной работы	Всего часов	Семестр 7

Вид учебной работы	Всего часов	Семестр 7
Общая трудоемкость	216	216
Контактная работа	108	108
Лекции	52	52
Лабораторные работы	56	56
Самостоятельная работа	72	72
Вид итогового контроля:	36	36 экзамен

2 УЧЕБНО-ТЕМАТИЧЕСКОЕ ПЛАНИРОВАНИЕ

Учебно-тематический план

№	Наименование тем (разделов)	Всего часов	Контактная работа		Самостоятельная работа
			Лекции	Лабораторные занятия	
I	Введение	22	4	12	6
1	Клетка – элементарная единица живого.	4	2	-	2
2	Современные методы исследований.	2	2		
3	Методы экстракции. Центрифugирование. Фотоколориметрия	6		4	2
4	Микроскопия	5		4	1
5	Электрофорез. Хроматография	5		4	1
II	Строение и реакционная способность биомолекул	78	26	24	28
1	Химический состав клетки.	6	4		2
2	Исследование биологических жидкостей	6		4	2
3	Липиды.	5	2		3
4	Углеводы.	5	2		3
5	Липиды и углеводы и в продуктах питания	6		4	2
6	Белки.	6	4		2
7	Строение белков и их физико-химические свойства	6		4	2
8	Белки простые и сложные	6		4	2
9	Нуклеиновые кислоты.	12	8		4
10	Биологически активные вещества.	8	6		2
11	Витамины и ферменты	6		4	2
12	Биологически активные вещества	6		4	2
III	Биоэнергетика, метаболизм и их регуляция	80	22	20	38
1	Общее понятие об обмене веществ и энергии в организме	5	2		3
2	Биологическое окисление.	9	2	4	3
3	Обмен углеводов.	20	6	4	10
4	Обмен липидов.	6	2		4
5	Обмен белков.	4	2		2
6	Обмен липидов и белков	6		4	2

7	Молекулярные механизмы передачи наследственной информации.	10	6		4
8	ПЦР-анализ	6		4	2
9	Водно-солевой обмен.	2	-	-	2
10	Взаимосвязь обменных процессов и их регуляция.	6	2		4
11	Влияние физических нагрузок на биохимические процессы в организме	6		4	2
	Экзамен	36			
ИТОГО		216	52	56	72

Интерактивное обучение по дисциплине

№	Наименование тем (разделов)	Вид занятия	Форма интерактивного занятия	Кол-во часов
1	Клетка – элементарная единица живого.	ЛК	Лекция-беседа	2 ч.
2	Белки.	ЛК	Лекция с ошибками	4 ч
3	Нуклеиновые кислоты.	ЛК	Просмотр и обсуждение видеофильма	6 ч
4	Биологически активные вещества	ЛК	Лекция-дискуссия	4 ч
5	Современные методы исследований	ЛК	Лекция с ошибками	2 ч
6	Методы экстракции. Центрифугирование. Фотоколориметрия	ЛР	Работа в малых группах	4 ч
7	Микроскопия	ЛР	Работа в малых группах	4 ч
8	Белки.	ЛР	Работа в малых группах	4 ч
9	Обмен углеводов.	ЛР	Работа в малых группах	4 ч
10	Взаимосвязь обменных процессов и их регуляция	ЛР	Работа в малых группах	4 ч
	Итого:			38 ч

3 СОДЕРЖАНИЕ ТЕМ (РАЗДЕЛОВ)

I ВВЕДЕНИЕ

Тема 1. Клетка – элементарная единица живого. Что такое жизнь? Основные признаки жизни. Сравнение элементарного состава живой и неживой материи. Клетка – элементарная единица живого. Современные представления о составе и структуре клетки. Основное вещество цитоплазмы – гиалоплазма – внутренняя среда клетки.

Тема 2. Современные методы исследований. Методы биохимических исследований клетки и их характеристика. Использование в биохимии современных физико-химических методов анализа (микроскопия, центрифугирование, спектрофотометрия, хроматография, электрофорез, радиоавтография, ДНК-технологии, ПЦР-анализ). Нанотехнологии.

II СТРОЕНИЕ И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ БИОМОЛЕКУЛ

Тема 1. Химический состав клетки. Распространение химических элементов в живой природе. Макро- и микроэлементы, их значение в организме и роль в питании. Особенности строения макроэлементов. Органические и неорганические соединения в

живой природе. Химическая связь в органических соединениях живых систем с точки зрения квантово-механических представлений.

Роль воды в биохимических процессах. Вода как растворитель. Растворы и их классификация. Коллоидные растворы. Вода – участник химических реакций. Особые свойства воды в живом организме. Реакция (рН) среды. Кислотно-основное равновесие. Буферные растворы. Понятие о буферной ёмкости. Явление осмоса.

Кислородсодержащие соединения и их реакционная способность. Многообразие спиртов и их строение. Электронное строение функциональной группы и кислотно-основные свойства спиртов. Роль спиртов в живом организме. Влияние этилового спирта на физиологические и биохимические процессы. Антиалкогольная пропаганда. Карбонильные соединения. Электронное строение карбонильной и карбоксильной групп. Зависимость свойств веществ от строения. Многообразие альдегидов, кетонов и карбоновых кислот в природе. Важнейшие представители, их роль в живом организме.

Амины, их классификация, строение и реакционная способность. Амиды кислот и их строение. Химические свойства аминокислот, входящих в состав живой материи. Карбамид (мочевина) и его свойства. Азотсодержащие гетероциклические соединения. Пуриновые и пиримидиновые основания, входящие в состав нуклеиновых кислот. Нуклеотиды и нуклеозиды. Строение АТФ и роль в живых системах. Строение гема.

Тема 2. Липиды. Липиды, их классификация и реакционная способность. Многообразие в природе и биологические функции липидов. Классификация липидов. Жиры в природе, их значение и свойства. Воски. Фосфолипиды. Гликолипиды. Липопротеиды. Роль липидов в образовании мембран клеток.

Тема 3. Углеводы. Классификация углеводов, их биологическое значение и реакционная способность. Моносахарины, дисахарины, полисахарины и их производные. Гликозиды. Представители моносахаридов и нахождение их в природе. Дисахарины. Представители. Нахождение в природе. Полисахарины. Моно- и гетерополисахариды. Их строение, свойства, нахождение в природе. Роль углеводов в питании. Количественное обнаружение углеводов различными методами.

Тема 4. Белки. Роль белков в построении живой материи. Химический состав белковых молекул. Белки-полимеры. Пептидные связи, их роль в обнаружении молекул белков. Первичная структура белков. Пространственная структура белков. Химические связи белков (водородные, ионные, дисульфидные) определяющие структуры белков. Понятие о самосборке белков. Нативная структура белка. Самоорганизация третичной структуры белков. Основные физико-химические свойства белков. Масса и размер молекул. Гидролиз. Осаждение. Диализ, изоэлектрическая точка. Белки – амфотерные электролиты.

Белки простые и сложные. Функции белков в клетке. Структурная функция белков: роль белка в образовании органоидов клетки (мембран, рибосом). Строение коллагена и фиброна шелка. Транспортная функция белков: участие гемоглобина в обеспечении тканей кислородом. Структура белковой молекулы гемоглобина. Взаимосвязь структуры и функции гемоглобина. Катализическая функция белков. Участие белков в передаче наследственной информации. Нуклеопротеиды. Защитная функция белков. Антитела (иммуноглобулины) и антигены, образование их комплексов. Иммунитет. Интерфероны. Белки-антибиотики, их роль в осуществлении защитной функции организма. Сократительная функция белков. Строение актина и миозина. Энергетическая функция белков. Содержание белков в продуктах питания. Белки полноценные и неполноценные.

Тема 5. Нуклеиновые кислоты. История открытия и изучения нуклеиновых кислот. Доказательства генетической роли ДНК. Методы ее экстракции из биологического материала и способы депротеинизации.

ДНК – носитель наследственной информации и изменчивости. Современные представления о структуре гена. Проблема генетического кода. Строение нуклеотида.

Первичная структура ДНК. Полипуриновые и полипиримидиновые фрагменты в молекулах ДНК и их сблоченность. Секвенирование ДНК. Структура геномов прокариот. Картирование хромосом бактерий и фагов. Плазмиды. Строение вирусов и их классификация. Проникновение вирусов в клетку.

Структура эукариотических генов. Уникальные гены. Повторяющиеся гены и их биологическая роль. Умеренно повторяющиеся последовательности. Сателлитная ДНК. Палиндромы. Прерывистое строение генов.

Подвижные генетические элементы генома прокариот и эукариот и эволюция геномов. Бактериальные плазмиды, IS-элементы, транспозоны бактерий и концепция «эгоистической ДНК». Элементы генома эукариот, представляющие собой продукт обратной транскрипции клеточных РНК (ретропозоны и псевдогены). Подвижные элементы с длинными концевыми повторами (ретротранспозоны). Молекулярные основы мутаций и канцерогенеза.

Вторичная структура ДНК. Правила Э. Чаргаффа. Модель двойной спирали ДНК Дж. Уотсона и Ф. Крика. Принцип комплементарности пуриновых и пиримидиновых оснований в структуре ДНК. Природа сил, удерживающих молекулу ДНК в биспиральном состоянии. Полиморфизм двойной спирали ДНК.

Физико-химические свойства ДНК. Молекулярная масса, вязкость, оптические свойства, гипохромный эффект, упругость. Денатурация или плавление молекул ДНК. Плавучая плотность. Метод реассоциации в изучении генома эукариот.

Третичная структура ДНК. Сверхспирализация. Третичная структура ДНК и особенности организации хроматина в эукариотических клетках. Гистоны и негистоны белки. Нуклесомы. Организация нуклеосомных фибрилл. Конденсация хроматина и его доменная организация. Метафазные хромосомы. Структура активного хроматина. Понятие о гетеро- и эухроматине.

Рибонуклеиновые кислоты, их классификация (тРНК, рРНК, иРНК, яРНК, вРНК). Сравнительная характеристика видов РНК по молекулярной массе, нуклеотидному составу, локализации и функциям. Вирусные и фаговые РНК, успехи в исследовании их структуры и функции.

Тема 6. Биологически активные вещества

Ферменты, их химический состав и структура. Роль ферментов в регуляции процессов жизнедеятельности. Классификация и многообразие ферментов. Ферменты простые (гидролазы: амилаза, липаза, пепсин) и сложные (оксидоредуктазы: цитохромы, дегидрогеназы). Строение ферментов. Активный центр ферментов и его роль в образовании фермент-субстратного комплекса. Влияние условий среды на действие ферментов.

Витамины и гормоны. Классификация витаминов и роль в образовании активного центра сложных ферментов. Роль витаминов в питании. Авитаминозы. Роль гормонов в регуляции активности ферментов. Классификация гормонов. Заболевания, вызванные нарушением синтеза гормонов. Взаимосвязь витаминов, ферментов, гормонов. Низкомолекулярные биорегуляторы. Алкалоиды. Антибиотики. Гербициды и пестициды. Терпены. Стериды. Биофлавоноиды.

Биологически активные добавки. (Пищевые добавки). Общие сведения о пищевых добавках и их классификация. Безопасность пищевых добавок. Вещества, улучшающие внешний вид пищевых продуктов. Пищевые красители. Вещества, изменяющие структуру и физико-химические свойства пищевых продуктов. Загустители и гелеобразователи. Эмульгаторы. Вещества, влияющие на вкус и аромат пищевых продуктов. Подслащающие вещества. Ароматизаторы. Пищевые добавки, усиливающие и модифицирующие вкус и аромат. Пищевые добавки, замедляющие микробиологическую и

окислительную порчу пищевого сырья и готовых продуктов. Консерванты. Антибиотики. Пищевые антиокислители.

III БИОЭНЕРГЕТИКА, МЕТАБОЛИЗМ И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ

Тема 1. Общее понятие об обмене веществ и энергии в организме. Обмен веществ и энергии – основа процессов жизнедеятельности. Особенности процессов анаболизма и катаболизма, их единство. Автотрофы и гетеротрофы. Макроэргические соединения. Понятие об уровне свободной энергии в органических соединениях и его изменении в процессе преобразований веществ. Макроэргические соединения и макроэргические связи. Важнейшие представители макроэргических соединений: глюкозо-1-фосфат, уридин-дифосфоглюкоза, сахароза, ацетилкоэнзим-А, креатинфосфат, аденоинтрифосфорная кислота (АТФ), фосфоэнолпиривоградная кислота, 1,3-дифосфоглицериновая кислота. Особая роль атомов Р и S в образовании макроэргических связей. Строение АТФ и роль в энергетическом обмене. АТФ как аккумулятор, трансформатор и проводник энергии в процессе ее запасания и расходования в организме. Принципиальное отличие энергетики химических реакций в живой природе от таковой в неживой. Трансформация энергии в живых объектах. Общие принципы организации структур, ответственных за трансформацию энергии.

Тема 2. Биологическое окисление. Определение понятия «биологическое окисление». История развития представлений о механизме биологического окисления: теория активирования кислорода К. Шенбайна; перекисная теория А.Н. Баха; концепция дыхательных хромогенов В.И. Палладина и Х. Виланда; выделение и характеристика разнообразных дегидрогеназ; обнаружение цитохромов и цитохромоксидазы (Д. Кейлин и О. Варбург) и признание цитохромной системы доминирующей терминалной дыхательной системы; открытие явления окислительного фосфорилирования (В.А. Энгельгардт).

Классификация процессов биологического окисления. Два типа оксидоредуктаз в клетке: а) обеспечивающих дегидрирование субстратов и передачу атомов водорода и электронов на кислород и другие акцепторы; б) катализирующих реакции непосредственного включения в субстрат кислорода (оксигеназы и гидроксилазы).

Характеристика важнейших оксидоредуктаз: медьсодержащих оксидаз (аскорбатоксидаза, уреаза, цитохромоксидаза); флавопротеидов; НАД⁺-и НАДФ⁺-протеидов; железосодержащих переносчиков электронов (негеминовой природы – ферродоксины и геминовой природы – цитохромы). Ансамбли оксидоредуктаз.

АТФ-синтаза. Строение и механизм действия.

Сопряжение биологического окисления с фосфорилированием. Окислительное фосфорилирование на уровне субстрата (в процессах гликолиза и брожения) и на уровне электронотранспортной цепи. Дыхательная цепь ферментов, осуществляющих сопряжение окисления с фосфорилированием. Шкала редокс-потенциалов компонентов электронотранспортной цепи. Особенности строения дыхательной цепи у эукариотов и прокариотов. Локализация окислительного фосфорилирования в клетке. Митохондрии, их структура и функции; строение митохондриальной мембранны. Гипотезы о механизме сопряжения окисления с фосфорилированием: химическая (Ф. Липманн), конформационная (П.Д. Бойер) и хемиосмотическая (П. Митчелл, В.П. Скулачев). Роль мембранныго потенциала. Регуляция окислительного фосфорилирования в митохондриях.

Тема 3. Обмен углеводов. Переваривание углеводов в Ж.К.Т. Окисление углеводов в клетке бескислородным путем (анаэробное – гликолиз) В цитоплазме и с участием кислорода (аэробное) в митохондриях. Циклические реакции, их роль в образовании энергии. Энергетический эффект окисления глюкозы. Конечные продукты окисления.

Биосинтез углеводов. Механизм первичного биосинтеза углеводов в процессе фотосинтеза и хемосинтеза. Фотосинтез. Строение хлорофилла. Взаимодействие молекул хлорофилла со светом. Световая и темновая фаза. Потребление энергии и водорода в

процессах. Его энергетическое обеспечение. Роль восстановленного никотинамидадениндинуклеотидфосфата (НАДФН). Рибулозо -1,5-дифосфат как акцептор оксида углерода (IV) и источник 3-фосфоглицериновой кислоты. Иные пути акцептирования оксида углерода (IV) при первичном биосинтезе органического вещества (фосфоенол-пируватный и ацил-КоА-карбоксилазный). Схема превращения 3-фосфоглицериновой кислоты во фруктозо-6-фосфат.

Синтез гликогена и его регуляция. Сахарный диабет, его симптомы и причины возникновения.

Тема 4. Обмен липидов. Переваривание жиров в Ж.К.Т. Гидролиз их при участии липазы. Регуляция активности липазы при участии ц-АМФ. Роль желчи в эмульгировании жиров и всасывании ВЖК. Синтез собственного жира в стенках кишечника. Окисление глицерина и высших карбоновых кислот. Обмен ацетил-КоА. Глиоксиловый цикл. Механизм биосинтеза ВЖК: малонил-КоА как акцептор ацильных остатков. Строение и механизм действия синтетазы ВЖК. Локализация биосинтеза ВЖК в клетке. Механизм биосинтеза триглицеридов, роль ацилтрансфераз (моно-и диглицеридтрансацилаз) в этом процессе. Фосфатидные кислоты – промежуточные продукты в биосинтезе триглицеридов.

Конечные продукты окисления липидов. Энергетический эффект. Нервная и гуморальная регуляция обмена липидов. Нарушение обмена липидов и их последствия для здоровья.

Тема 5. Обмен белков. Значение белкового обмена. Азотистый баланс. Содержание белков в продуктах питания. Полноценные белки. Норма белка в питании.

Переваривание белков в Ж.К.Т. Характеристика ферментов, обеспечивающих осуществление гидролиза белков до пептидов и аминокислот. Метаболизм аминокислот. Активный перенос аминокислот через клеточные мембранны при посредстве α-глутамилтрансферазы. Преобразование аминокислот по аминогруппе, карбоксильной группе и радикалу. Механизм соответствующих реакций и характеристика ферментов, в них участвующих. Обмен аминокислот как источник возникновения биологически активных соединений (биогенных аминов, коферментов, ростовых веществ, витаминов, некоторых гормонов и т.п.). Метаболизм некоторых индивидуальных аминокислот. Пути связывания амиака в организме. Механизм биосинтеза мочевины (орнитиновый цикл). Роль аспарагина и глутамина в связывании амиака.

Нарушения белкового обмена в организме и роль питания в профилактике этих заболеваний.

Обмен сложных белков. Хромопротеиды. Распад экзогенного и эндогенного гемоглобина. Синтез гемоглобина.

Обмен нуклеопротеидов. Пути распада нуклеиновых кислот до свободных нуклеотидов. Фосфодиэстеразы и их участие в деструкции нуклеиновых кислот. Типы нуклеаз по их отношению к вторичной и третичной структурам субстрата. Механизмы действия рибонуклеазы поджелудочной железы. Селективный характер действия эндорибонуклеаз. Обмен нуклеозидофосфатов. Пути их деструкции. Механизм реакции распада: пуриновых оснований до мочевой кислоты, аллонтозина, аллонтиновой кислоты, глиоксилевой кислоты и мочевины.

Тема 6. Молекулярные механизмы передачи наследственной информации. Перенос вещества, энергии и информации. Виды передачи генетической информации (репликация, транскрипция и трансляция) и их матричный механизм. Основная «догма» молекулярной биологии.

Биосинтез нуклеиновых кислот. Понятие о репликации. Консервативный и полу-консервативный механизм репликации ДНК (работы М. Мезельсона и Столя). Комплементарный механизм, обеспечение специфичности воспроизведения первичной структуры при биосинтезе ДНК. Механизм полимеризации. Три этапа – инициация,

элонгация и терминация. ДНК-полимеразы и их функции. Основные принципы репликации. Повреждения и репарация ДНК.

Биосинтез рибонуклеиновых кислот. Понятие о транскрипции. Три этапа транскрипции. Строение и функции РНК-полимеразы. Роль промоторных участков оперона. Процессинг первичных транскриптов. Сплайсинг и его виды. Рибозимы. Обратная транскрипция.

Биосинтез белка в клетке. Строение и функции рибосом. Аминоацильный и пептидильный центры. Активация аминокислот и связывание их с определенным РНК. Этап инициации и образование транслирующей рибосомы.

Этапы элонгации. Поступление аминоацил-тРНК в рибосому. Кодон-антикодоновое взаимодействие. Реакция транспептидирования. Ее химизм и энергетика. Транслокация. Передвижение матрицы при транслокации. Терминация. Кодоны терминации и последовательность событий. Посттрансляционные изменения (сворачивание, компартментализация и модификация белков). Синтез коллагена.

Передача наследственной информации у прокариот.

ДНК-технологии. Власть над геном. Опасения и надежды. Банки нуклеотидных последовательностей, программа «Геном человека». Геномная дактилоскопия. Генетически детерминируемые болезни.

Тема 7. Водно-солевой обмен. Понятие о гомеостазе. Водный баланс организма. Положительный и отрицательный эффект гидратации ионов на степень структурирования воды.

Участие минеральных веществ в формировании третичной и четвертичной структуры биополимеров. Ферменты-металлопротеиды. Становление ферментов-мультимеров в присутствии ионов Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} и Ca^{2+} . Ионы металлов и возникновение фермент-субстратных комплексов. Минеральные соединения и обмен нуклеиновых кислот, белков, углеводов и липидов. Обмен минеральных веществ и его регуляция.

Регуляция водно-солевого обмена и его нарушения.

Тема 8. Взаимосвязь обменных процессов и их регуляция.

Общее положение о взаимосвязи веществ в организме. Взаимосвязь обмена нуклеиновых кислот и белков. Первичность возникновения белков и вторичность появления нуклеиновых кислот в процессе развития живой материи. Взаимосвязь обмена нуклеиновых кислот и углеводов. Роль 5'-фосфорибулозо-1-пирофосфата в биосинтезе пуриновых и пиридиновых нуклеотидов. Сопряжение окисления углеводов и биосинтеза нуклеозидтрифосфатов. Нуклеозиддифосфатсахара как коферменты и субстраты в биосинтезе сложных углеводов. Взаимосвязь белкового и углеводного обмена. Роль ПВК в осуществлении перехода от углеводов к белкам и обратно. Иные формы связи белкового и углеводного обмена. Взаимосвязь обмена белков и липидов. Синтез аминокислот за счет превращения ацетил-КоА в глиоксилевом цикле трикарбоновых и дикарбоновых кислот. Взаимосвязь обмена углеводов и липидов; роль ацетил-КоА в этом процессе. Обмен веществ как единое целое.

Биохимические процессы в органах и тканях. Химический состав крови. Буферные системы крови и кислотно-основное равновесие. Дыхательная функция крови. Кровь как внутренняя среда организма. Нарушение кислотно-щелочного равновесия.

Биохимические особенности мышечной ткани. Строение мышечных белков. Экстрактивные вещества. Особенности метаболизма в мышцах. Механизм мышечного сокращения и его регуляция. Роль физических упражнений для здоровья.

Структура нейрона и строение миелина. Химический состав мозга. Особенности метаболизма нервной ткани. Химические основы возникновения и проведения нервных импульсов. Роль медиаторов в передаче нервных импульсов.

Химический состав печени, её роль в обменных процессах и детоксикации различных веществ. Химический канцерогенез. Экологические факторы и загрязнение пищи канцерогенными веществами. Влияние микроорганизмов и факторов окружающей среды

на качество продуктов. Вредные привычки (алкоголизм, наркомания, курение) и их влияние на биохимические процессы в организме.

Основные механизмы клеточной саморегуляции. Уровни регуляции жизненных процессов в живой природе: метаболитный, оперонный, клеточный, организменный и популяционный.

Метаболитный уровень регуляции. Регуляция ферментативных процессов за счет изменения активности ферментов: неспецифическая (температура, рН, ионная сила и т.д.) и специфическая (изостерическая и аллостерическая), регуляция обмена синтеза ферментов (индукция и репрессия). Оперонный уровень регуляции. Строение оперона. Роль промотора, оператора и гена регулятора. Энхансеры. Механизм действия лактозного оперона. Регуляция экспрессии генов. Клеточный уровень регуляции. Виды передачи клеточных сигналов. Иммуноглобулины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии: учебник для студ. вузов, обучающихся по спец. «Химия» и «Биология»/ Ю. Б. Филиппович. – М.: Агар, 1999.– 512 с.
2. Иваченко Л.Е. Введение в молекулярную биологию: учеб. пособие / Л. Е. Иваченко, С. И. Лаврентьева ; ФГБОУ ВО БГПУ. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2016. – 108 с.

4 МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ (УКАЗАНИЯ) ДЛЯ СТУДЕНТОВ ПО ИЗУЧЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

Дисциплина «Химические основы биологических процессов» развивает познавательный интерес студентов в области биологии на базе фундаментальных химических знаний. При его проведении широко используются межпредметные связи. Программа включает введение, разделы статической и динамической биохимии, изучающие классические вопросы, касающиеся характеристики основных классов соединений, входящих в состав живой материи и процессов их обмена. Предлагается более глубокое изучение строения, свойств, многообразия и распространения в природе основных классов органических соединений, образующих живую материю (кислородсодержащих соединений, липидов, углеводов, белков, ферментов, нуклеиновых кислот), а также химические процессы, протекающие в живом организме. Студенты знакомятся с обменом углеводов, жиров и белков, их ролью в пластическом и энергетическом обмене, рассматривают способы координации метаболических процессов и влияние на здоровье человека различных биохимических нарушений. В программу включен раздел «Биохимия тканей и органов», в котором рассматриваются биохимические основы организации клеток, тканей и органов, уделено внимание связям между строением, свойствами, выполняемыми функциями молекул и регуляторными механизмами. Тема «Молекулярные механизмы передачи наследственной информации» включает вопросы природы генетической информации её хранения и передачи, знакомство с инструментами генетических инженеров, клонированием, этапами создания трансгенных организмов, а также методами контроля за их распространением.

Дисциплина «Химические основы биологических процессов» способствует формированию на молекулярном уровне знаний студентов о роли питания, воды, воздуха, света и физических упражнений для сохранения здоровья. Рассматриваются биохимические механизмы адаптации организма к изменяющимся условиям среды на молекулярном уровне.

Успешному усвоению теоретического материала способствует выполнение большого числа лабораторных работ, решение расчетных задач и выполнение домашних самостоятельных работ (серий). При проведении лабораторных работ студенты знакомятся с современными методами исследования. Они изучают новые виды хроматографии, электрофорез, ПЦР-анализ, анализируют строение и свойства органических соединений, пищевые продукты, рассматривают основные химические процессы в живом организме, их зависимость от факторов среды. В ходе обучения студенты проводят

научные исследования, связанные с изучением химического состава продуктов питания. Одним из основных объектов исследования является соя – ведущая сельскохозяйственная культура Амурской области.

**Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы
студентов по дисциплине**

№	Наименование раздела (темы)	Формы/виды самостоятельной работы	Количество часов, в соответствии с учебно-тематическим планом
I	Введение	Изучение основной и дополнительной литературы Конспектирование изученных источников. Подготовка серий	6
II	Строение и реакционная способность биомолекул	Изучение основной и дополнительной литературы для подготовки к контрольным работам, собеседованиям и тестированию. Подготовка домашних самостоятельных работ (серий). Оформление лабораторных работ. Подготовка отчетов по лабораторной работе. Написание рефератов.	28
III	Биоэнергетика, метаболизм и их регуляция	Изучение основной и дополнительной литературы для подготовки к контрольным работам, собеседованиям, тестированию, написанию рефератов и эссе. Подготовка домашних самостоятельных работ (серий). Оформление лабораторных работ. Подготовка отчетов по лабораторным работам.	38
ИТОГО			72

5 ПРАКТИКУМ ПО ДИСЦИПЛИНЕ
План лабораторных занятий

№ п/п	Тема лабораторной работы	Всего часов
1.	Методы экстракции. Центрифугирование. Фотоколориметрия.	4
2.	Микроскопия.	4
3.	Хроматография. Электрофорез.	4
4.	Исследование биологических жидкостей.	4
5.	Углеводы и липиды в продуктах питания	4
6.	Строение белков и их физико-химические свойства	4

7.	Белки простые и сложные	4
8.	Витамины и ферменты.	4
9.	Взаимосвязь витаминов, ферментов и гормонов. Низкомолекулярные метаболиты.	4
10.	Биологическое окисление.	4
11.	Обмен углеводов.	4
12.	Обмен липидов и белков.	4
13.	ПЦР-анализ.	4
14.	Влияние физических нагрузок на биохимические процессы в организме.	4
		56

Лабораторная работа 1

Тема: Методы экстракции. Центрифугирование. Фотоколориметрия,

Цель: познакомиться с методами экстракции, выделения (центрифугирования) и обнаружения тканей растительных и животных (фотоколориметрия).

Объект исследования: кровь, капуста, томат, соя, дрожжи, мясо, виноград, красное вино.

Опыт 1. Приготовление растворов хлорида натрия

- а) Приготовьте 500 мл 0,15M, 0,15н и 0,15 %-ного раствора хлорида натрия
- б) Приготовьте 250 мл 1M, 1н и 1 %-ного раствора хлорида натрия
- в) Приготовьте 250 мл 2M, 2н и 2 % раствора хлорида натрия
- г) Приготовьте физиологический раствор

Опыт 2. Приготовление ацетатного буфера

Приготовьте исходные растворы, 1н раствор уксусной кислоты и 1н раствор гидроксида натрия.

Для приготовления буферного раствора требуемого значения pH отмеряют указанный объём 1н раствора уксусной кислоты (см. таблицу), прибавляют 50 мл раствора гидроксида натрия и разбавляют дистиллированной водой до 500 мл.

Таблица

pH	CH ₃ COOH (1н, мл)	pH	CH ₃ COOH (1н, мл)	pH	CH ₃ COOH (1н, мл)
3,8	421,5	4,67	100,0	5,5	57,4
3,9	345,1	4,7	96,8	5,6	55,9
4,0	284,4	4,8	87,2	5,7	54,7
4,1	236,2	4,9	79,5	5,8	53,7
4,2	197,9	5,0	73,4	5,9	53,0
4,3	167,4	5,1	68,6	6,0	52,3
4,4	143,3	5,2	64,8	6,1	51,9
4,5	124,1	5,3	6,7	6,2	51,5
4,6	108,9	5,4	69,3	6,3	51,2

Опыт 3. Приготовление 0,1M фосфатного буфера

Исходные растворы: а) 0,2M Na₂HPO₄ · 12H₂O б) 0,2M NaH₂PO₄ · 2H₂O

pH	0,2M Na ₂ HPO ₄	0,2M NaH ₂ PO ₄	pH	0,2M Na ₂ HPO ₄	0,2M NaH ₂ PO ₄
5,8	8,0	92,0	7,0	61,0	39,0
6,0	12,3	87,7	7,2	72,0	28,0
6,2	18,5	81,5	7,4	81,0	19,0
6,4	26,5	73,5	7,6	87,0	13,0
6,6	37,5	62,5	7,8	91,5	8,5

6,8	49,0	51,0	8,0	94,7	5,3
-----	------	------	-----	------	-----

После приготовления раствор разбавляют водой до 200 мл.

Опыт 4. Получение экстрактов

a) Получение экстракта капусты

Навеску капусты 0,5 г измельчают в фарфоровой ступке, добавляют 5 мл дистиллированной воды и гомогенизируют на льду, затем экстракт процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

б) Получение экстракта томата

В цельном плоде томата скальпелем или ножом делают надрез и выпускают околосеменную жидкость. Затем ее процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

в) Получение экстракта мышечной ткани

Навеску мышечной ткани 0,5 г измельчают в фарфоровой ступке, добавляют 5 мл дистиллированной воды и гомогенизируют на льду, затем экстракт процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

г) Получение экстракта винограда.

Навеску ягод винограда 5 г измельчают в фарфоровой ступке, добавляют 15 мл дистиллированной воды и в течении 10 минут гомогенизируют, затем экстракт центрифугируют при 3 тыс. об/мин (10 минут) или процеживают через слой марли и используют для дальнейшего исследования.

Опыт 5. Получение экстрактов растворимых белков из семян сои.

Для получения экстрактов белков семян сои навеску материала (500-700 мг или 5 семян) гомогенизировать в фарфоровых ступках в течение 15 мин при температуре 0+5°C (ступки ставят в кристаллизаторы со льдом). Растворимые белки экстрагировать 0,15M раствором хлорида натрия. На 5 семян взять 15 мл раствора хлористого натрия (через 5 минут вносить по 5 мл 3 раза).

Полученный экстракт внести в центрифужные пробирки, уравновесить и центрифугировать при 3000 об/мин в течение 10 минут. Осадок отбросить, а надосадочную жидкость отфильтровать через слой капроновой ткани для удаления липидной пленки и использовать для дальнейшего анализа.

Опыт 6: Определение содержания железа в вине или винограде колориметрическим методом

Оборудование: фотоэлектроколориметр; кюветы, 1 = 2 см, 2 шт; колбы мерные уф 100 мл; пипетки вместимостью 1, 2, 5, 10 мл; фильтры обеззоленные, синяя лента;

Реактивы: основной стандартный раствор железа FeCl_3 – 0,1 г/дм³ (0,1%); пероксид водорода – 30%-ный раствор; серная кислота – 100 г/л., раствор гексацианоферрата(II)калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (10%), $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, HCl (разб. в 2 раза).

Объекты исследования: 50 мл красного вина, красный виноград.

Метод основан на измерении интенсивности окраски раствора комплексного соединения трехвалентного железа с гексацианоферратом калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Построение градуировочного графика. В семь мерных колб вместимостью 100 см³ вносят 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 см³ основного стандартного раствора железа. В каждую колбу добавляют 5 см³ раствора HCl ; одну каплю раствора H_2O_2 ; 4 см³ раствора $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ и доводят до метки дистиллированной водой.

Раствор сравнения готовят без добавления раствора железа.

Через 30 минут измеряют оптическую плотность на фотоэлектроколориметре при длине волны 600 им (красный светофильтр).

Проведение опыта. 1. Вино фильтруют через складчатый фильтр. В 3 мерные колбы вместимостью 100 см³ отбирают пипеткой по 5 см³ вина. В каждую колбу добавляют по 5

см³ раствора HCl, одну каплю раствора H₂O₂, 4 см³ раствора K₄[Fe(CN)₆]. Доводят до метки дистиллированной водой.

Раствор сравнения готовят так же, но без добавления раствора K₄[Fe(CN)₆].

Через 30 мин измеряют оптическую плотность полученных растворов на фотоэлектро-колориметре при длине волны 600 нм (красный светофильтр). Оптическую плотность каждого раствора измеряют 3 раза и находят A_{ср}.

2. В две мерные колбы на 50 мл отбирают пипеткой по 2,5 см³ экстракта ягод винограда. В каждую колбу добавляют по 2,5 см³ раствора HCl, одну каплю раствора H₂O₂, 2 см³ раствора K₄[Fe(CN)₆]. Доводят до метки (50 мл) дистиллированной водой.

Раствор сравнения готовят так же, но без добавления раствора K₄[Fe(CN)₆].

Через 30 мин измеряют оптическую плотность полученных растворов на фотоэлектро-колориметре при длине волны 600 нм (красный светофильтр). Оптическую плотность каждого раствора измеряют 3 раза и находят A_{ср}.

По градуировочному графику определяют концентрацию железа (мг/дм³) в исследуемых растворах.

Расчет результатов анализа. Концентрацию железа в образце вина (или винограда) (мг/л) рассчитывают по формуле: $C_{Fe,x} = C_{Fe}^* \cdot (V_K / V_B)$,

где C_{Fe} – концентрация железа, найденная по градуировочному графику, мг/дм³;

V_K – вместимость мерной колбы, см³;

V_B – объем исследуемого образца вина, взятый на определение, см³.

Вывод:

Лабораторная работа 2

Тема: Микроскопия

Цель: познакомиться с методами выделения и фракционирования тканей растительных и животных объектов. Познакомиться со строением микроскопа и применением его для изучения объектов окружающей среды

Объект исследования: свекольный настой и сенная палочка (прижизненные препараты готовят зав лабораторией за неделю), молочнокислые продукты: сметана, ряженка, кефир, йогурт и другие, можно квашенную капусту.

Опыт 1. Правила работы с микроскопом

1. Работают с микроскопом всегда сидя.

2. Устанавливают микроскоп у левого плеча так, чтобы окуляр находился против левого глаза, и в течение работы его не передвигают. Тетрадь и все другие предметы, необходимые для работы, располагают справа от микроскопа.

3. Открывают полностью диафрагму, поднимают конденсор в крайнее верхнее положение так, чтобы его линза попала в центр отверстия предметного столика.

4. Ставят объектив х 8 (на малое увеличение) в рабочее положение – на расстоянии 1–1,3 см от предметного столика. Работу с микроскопом всегда начинают с малого увеличения.

5. Глядя левым глазом в окуляр и пользуясь вогнутой стороной зеркала, направляют свет от окна или электрической лампы в объектив и равномерно освещают поле зрения (поле должно быть чистое, молочно-белое, без линий и разводов). Правый глаз оставляют открытым.

Опыт 2. Строение эвглены.

Опыт 3. Приготовление прижизненных микропрепаратов

1. Метод раздавленной капли

На предметное стекло с ровной поверхностью при помощи микробиологической петли нанести каплю одного из настоев (разнотравье, картофель, навоз), накрыть осторожно покровным стеклом, не допуская образования пузырьков воздуха. Капля должна быть небольшой, чтобы после раздавливания жидкость не выступала за края покровного стекла.

Сначала при малом, а потом при большом увеличении рассмотреть под микроскопом форму, цвет, сочетание клеток различных бактерий, зарисовать.

2. Метод висячей капли.

На середину покровного стекла пипеткой нанести небольшую каплю настоя, осторожно перевернуть каплей вниз и поместить над лункой предметного стекла.

При малом увеличении микроскопа найти край висячей капли, после чего переместить его в центр поля зрения микроскопа и при большом увеличении рассмотреть форму, цвет, сочетания клеток различных бактерий, зарисовать.

Пронаблюдать за характером движения различных форм бактерий.

Опыт 4. Техника приготовления мазка (сенной палочки).

Прокалить микробиологическую петлю.

- Нанесение мазка: на середину предметного стекла нанести микробиологической петлёй небольшое количество микробной массы и тщательно растереть её. Этим достигается разъединение скоплений клеток, и равномерное распределение их на поверхности стекла.

- Высушивание мазка на воздухе:

- Фиксирование – (термическое) стекло провести плавно 3 раза через пламя спиртовки мазком вверх. Фиксация мазка вызывает гибель микроорганизмов, прилипание их к поверхности стекла и повышает восприимчивость микробов к красителям.

- Окрашивание – на поверхности мазка пипеткой наносят краситель: метиленовый синий на 4-5 минут.

- Промывание: водой из промывалки или многократным погружением мазка в склянку с водой.

- Высушивание: на воздухе или высоко над пламенем спиртовки. Готовый мазок микроскопируют, пользуясь объективом масляной иммерсии (МИ-90).

Опыт 5. Рассмотрение фиксированных и окрашенных бактерий с помощью иммерсионного объектива

1. Поставьте на стол микроскоп и найдите наилучшее освещение

2. Поместите на предметный столик, фиксированный препарат и закрепите его зажимами

3. Рассмотрите препарат при сухих объективах и отыщите лучшее место для детального исследования

4. Поднимите тубус микроскопа, поставьте иммерсионный объектив и нанесите каплю иммерсионного (кедрового) масла на препарат

5. Погрузите в масло нижнюю фронтальную линзу иммерсионного объектива, смотря на препарат с боку

6. Глядя в окуляр, медленно поднимите тубус микроскопа до появления в поле зрения изучаемого объекта

7. Уточните фокус с помощью микрометрического винта

8. Изучите и зарисуйте препарат

9. Поднимите тубус и удалите масло с иммерсионного объектива.

Опыт 6. Молочнокислое брожение

Для изучения морфологических особенностей молочнокислых бактерий используют готовые молочнокислые продукты: кефир, ряженку, бифидок и др., а также овощные рассолы. Из указанных продуктов готовят тонкий мазок, высушивают на воздухе. Мазок фиксируют и одновременно обезжиривают смесью Никифорова в течение 10 минут. Сухой мазок окрашивают в течение 4-5 минут водным раствором метиленового синего, промывают, высушивают, микроскопируют с объективом МИ-90. делают зарисовки микроорганизмов исследуемого продукта.

Опыт 7. Изучение морфологии микроорганизмов на мазках зубного налёта.

Приготовление мазка зубного налёта:

- на середину предметного стекла в каплю воды нанести шпателем небольшое количество микробной массы зубного налёта и тщательно растереть её;

- высушить мазок на воздухе;

- зафиксировать мазок, проведя предметное стекло плавно 3 раза через пламя спиртовки мазком вверх;
 - окрасить генцианвиолетом (1-2 мин.);
 - промыть мазок водой из промывалки или многократным погружением в склянку с водой;
 - высушить мазок на воздухе или высоко над пламенем спиртовки;
 - готовый мазок микроскопируют, пользуясь объективом масляной иммерсии (МИ-90), обращая внимание на форму, сочетание клеток, соотношение размеров; делают зарисовки.
- Вывод:**

Лабораторная работа 3

Тема: Электрофорез. Хроматография

Цель: Познакомиться с методом экстракции растворимых белков, разделением их в электрическом поле и обнаружением белковых фракций и активности ферментов. Познакомиться с различными видами хроматографии и их значением.

Объекты исследования: семена сои, сыворотка крови, хлорофилл (традесканция), глюкоза, фруктоза, мед, сахароза, голубой декстран, бихромат калия, яичный альбумин.

Оборудование. Прибор для электрофореза, прибор для обесцвечивания красителя, шприцы, пробирки, колбы на 100, 1000мл, дозаторы на 0,1мл и 0,05мл, центрифуга, центрифужные весы и пробирки, ступки с пестиками, воронки, палочки, мельничный газ, пипетки на 5мл, кристаллизаторы со льдом.

Реактивы. Рабочие растворы №1, №2, №3 для приготовления 7,5% геля, бромфеноловый синий, 0,001% раствор, трис-глициновый буфер ($\text{pH}=8,3$), амидовый черный 10Б, 1% в 7% растворе уксусной кислоты CH_3COOH , уксусная кислота CH_3COOH , 7% раствор, ТХУ, 7% раствор, хлорид натрия, 0,15M раствор пероксида водорода, 0,1%-ный раствор; бензидин в ацетатном буфере ($\text{pH}=4,7$).

1 Электрофорез

Электрофорез в поликариламидном геле (ПААГ) представляет собой один из наиболее удобных методов для анализа смеси белков. Высокая разрешающая способность этого метода определяется тем, что разделение веществ по их электрофоретической подвижности удачно сочетается с эффектом молекуллярного сита. Таким образом, скорость движения белковых молекул через гель определяется не только зарядом молекулы, но также ее размером и формой.

Применяемый для электрофореза поликариламид получают полимеризацией двух мономеров: акриламида и метилен-бис-акриламида в присутствии катализатора, представляющего собой смесь раствора персульфата аммония с П,П,П,П-тетраметилэтилендиамином (ТЕМЭД). Мономеры и катализаторы сначала смешивают в буфере, а затем заливают в стеклянные трубочки для полимеризации. При этом линейные цепи поликариламида сшиваются метиленовыми мостиками. Гель обладает ярко выраженным гидрофильными свойствами благодаря наличию в структуре правильно чередующихся амидных групп.

Заливка колонок для электрофореза. Все растворы перед работой вынимают из холодильника и оставляют на столе для нагревания их до комнатной температуры. Сухие, хорошо вымытые стеклянные трубочки устанавливают в штатив строго вертикально. На нижний конец каждой трубочки надевают резиновую втулку (или используют лейкопластырь и воск).

Для приготовления геля в стакан наливают последовательно растворы №1(2мл), №2(4мл), №3(8мл) и воду (2мл). Приготовленный раствор шприцем разливают по трубочкам. Затем в каждую трубочку на поверхность раствора по стенке осторожно насылаивают шприцем дистиллированную воду, не взмучивая геля. Воду добавляют для избежания образования мениска на поверхности геля. Конец полимеризации определяют по появлению четкой границы раздела гель-вода, воду удаляют встряхиванием.

Ход электрофореза. Прибор для электрофореза состоит из двух камер, которые устанавливают одну под другой. В верхней камере укрепляют трубочку с гелем, нижние концы которой опущены в нижнюю камеру. В верхнюю и нижнюю камеры прибора наливают электродный трисглициновый буфер pH 8,3, так, чтобы концы трубочек погружались в буфер в верхней и нижней камерах, в центре камеры укреплены электроды: верхний – катод (-), нижний – анод (+).

1. Прибор соединяют с выпрямителем, тщательно соблюдая правильность подключения электродов к соответствующим полюсам выпрямителя (БПЭ) (блок питания электронный).
2. Ручку БПЭ «Электрофорез» устанавливают в крайнее левое положение, тумблер «Сеть» выключают.
3. Подключают БПЭ в сеть с напряжением 220 В.
4. Ручку «Электрофорез» – обесцвечивание устанавливают в положение «Электрофорез». Ручку БПЭ «Режим работы» устанавливают в положение 25-50mA. Ручку БПЭ «Измерение» устанавливают в положение х1mA.
5. Включают тумблер «Сеть», при этом должна загореться сигнальная лампочка на панели БПЭ.
6. Поворачивают ручку «Электрофорез» по часовой стрелке до тех пор пока измерительный прибор не будет показывать ток из расчета 2mA на трубочку (20 mA на десять трубочек); спустя 15 мин увеличивают силу тока на 4 mA на трубочку (40mA на десять трубочек) и поддерживают заданный режим работы до окончания процесса электрофореза. Электрофорез продолжают 1-1,5ч. За это время краситель в виде узкой фиолетовой полоски располагается на 0,5 см выше верхнего конца трубочки.
7. Закончив работу, прибор выключают. Для этого выключают тумблер «Сеть» на БПЭ, отключают БПЭ от сети и камеру от БПЭ.

Буфер из верхней камеры сливают в одну колбу, буфер из нижней камеры в другую. Буфера могут быть использованы до 10 раз (хранят в холодильнике).

Трубочки вынимают из камеры, помещают в пронумерованные пробирки. Гель из них извлекают с помощью воды, вводимой шприцем с длинной иглой между столбиком геля и стенкой трубочки, при этом гель выскользывает из трубочки.

Опыт 1. Получение экстрактов растворимых белков из семян сои.

Белковый комплекс в семенах представлен различными фракциями-группами близких белков, которые отличаются разными физико-химическими свойствами компонентов. Одной из особенностей белков является их неодинаковая растворимость в растворах солей, щелочей и органических соединений. 88-90% белков семян сои составляют водорастворимые белки и 2-5% - солерастворимые, что зависит от сорта и условий выращивания. Основная часть белков сои легкорастворима и именно она содержит большую часть ферментов. На принципе растворения и основан метод выделения белков.

Для получения экстрактов белков семян сои навеску материала (500-700 мг или 5 семян) гомогенизировать в фарфоровых ступках в течение 15 мин при температуре 0+5°C (ступки ставят в кристаллизаторы со льдом). Растворимые белки экстрагировать 0,15M раствором хлорида натрия. На 5 семян взять 15 мл раствора хлористого натрия (через 5 минут вносить по 5 мл 3 раза).

Полученный экстракт внести в центрифужные пробирки, уравновесить и центрифугировать при 5000 об/мин в течение 10 минут. Осадок отбросить, а надосадочную жидкость отфильтровать через слой капроновой ткани для удаления липидной пленки и использовать для дальнейшего анализа.

Опыт 2. Разделение белков сыворотки крови методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ).

На поверхность геля в каждую трубочку дозатором на 0,05мл наносят белок. Затем шприцем каплю индикатора бромфеноловый синий и шприцем, осторожно буфер (трисглициновый pH 8,3). Трубочки закрепляют в верхней камере прибора для электрофореза,

избегая встряхивания. Втулки с нижних концов снимают. Проводят разделение белков на приборе для электрофореза.

Столбик геля помещают в пробирку с ТХУ на 10 мин для фиксации белка в геле, а затем в пробирку с красителем на 10 мин для окрашивания и фиксации белковых полос, при этом окрашивается и гель. Затем краситель сливают в склянку (для многократного использования), а гель заливают 7% раствором уксусной кислоты для отмычки от избытка красителя. Пробирки оставляют на сутки, при этом несколько раз заменяют раствор уксусной кислоты. В результате гель обесцвечивается, а белковые полосы остаются окрашенными.

Избыток красителя можно удалить с помощью прибора для обесцвечивания (прибор для электрофореза имеет приставку). В этом случае процесс обесцвечивания занимает 10-20 мин.

Опыт 3. Разделение изоэнзимов пероксидазы и обнаружение активности фермента.

Фермент пероксидаза играет большую роль в процессе дыхания растений. Наиболее распространеными субстратами, на которые действуют пероксидаза в тканях растений, являются полифенолы в свободном состоянии или в форме разнообразных соединений (гликозиды, дубильные вещества) и ароматические амины. Те или иные соединения пероксидаза окисляет с помощью перекиси водорода или каких-либо органических перекисей, в том числе перекиси ненасыщенных жирных кислот и каротина. (В нашем опыте идет окислениеベンзидина перекисью водорода до образования синего продукта окисления:ベンзидинового синего).

Пероксидаза, как правило, состоит из множественных форм (изоизимов), которые различаются по молекулярной массе, заряду и другим свойствам. Вариабельность изоизимного состава определяется принадлежностью ферментной системы конкретной ткани, органу, возрастом органа, а также влиянием различных стрессовых факторов абиотического и биотического происхождения.

При изучении изоизимов-пероксидазы разных органов растений важно знать характер изменчивости их активности. Это стало возможным после широкого внедрения в практику метода энзим-электрофореза.

Для проведения электрофореза использовать прописи для опыта 1 (только вместо сыворотки крови внести 0,1 мл экстракта растворимых белков сои, а также необходимо использовать охлаждение буферных систем, чтобы фермент не денатурировал т.к. при проведении электрофореза температура в геле может быть повышена).

Выявление изоизимов пероксидазы после электрофореза провестиベンзидиновым реагентом в ацетатном буфере pH=4,7. В пробирку сベンзидином поместить гели из трубочек на 20 минут, а затем перенести в 0,1%-ный водный раствор перекиси водорода. Через несколько минут в зависимости от активности проявляются изоформы пероксидазы в виде четких синих полос.

2 Хроматография

Опыт 1. Обнаружение ионов Fe³⁺ методом бумажной хроматографии

Одну чайную ложку растительного сырья размельчают в ступке с 10 мл воды и фильтруют. Фильтрат упаривают до объема 2 мл (готовим заранее). Готовят полоски фильтровальной бумаги 10x3 см для каждого вида растения. Отмечают стартовые линии на расстоянии 1 см от нижнего края полоски. Наносят капилляром на бумагу раствор хлорида железа (III) и рядом, на расстоянии 1,5 см от первого пятна, наносим другим капилляром исследуемый раствор (например: сок яблока, мёд, шоколад на кончике ножа, растворённый в 2 мл воды). Помещают бумагу в прибор, содержащий смесь растворителей: спирт, соляная кислота (разб. в 2 раза) в соотношении 1:4 так, чтобы смесь касалась нижнего края бумаги, но была не выше стартовой линии. Через 30-60 минут бумагу достают из прибора и обнаруживают ионы Fe³⁺ опрыскиваем из пульверизатора раствором гекса-

циано-ІІ-феррат калия. При наличии Fe^{3+} появляется синее окрашивание – образование берлинской лазури.

Опыт 2. Тонкослойная хроматография на пластинах. Разделение вытяжки хлорофилла на компоненты. Хроматографический метод анализа открыт русским ученым М.С. Цветом в 1903 г. С помощью хроматографии Цвет доказал, что хлорофилл является смесью разных белков.

Лист традесканции тщательно растирают в ступке с небольшим количеством этанола. Затем фильтруют в пробирку через небольшой слой ваты. Спиртовую вытяжку хлорофилла капилляром нанести на фильтровальную бумагу и хроматографическую бумагу, ватман № 1, а затем разогнать 2-3 каплями спирта. Растворитель продвигаясь между бумажных волокон, разносит окрашенные вещества от пятна во все стороны. В зависимости от природы вещества и его молекулярной массы, на бумаге оказывается несколько колец.

Можно провести множество вариантов этого опыта используя различные смеси и подходящие растворители. Размешивают крахмал в небольшом количестве спирта, выливают смесь на стекло и дают растворителю испариться. Когда пластинка станет сухой, в ее центр, как и на бумагу, капают одну каплю исследуемой смеси (вытяжку хлорофилла или другую окрашенную смесь). Дают пятну подсохнуть и капают 1-2 капли растворителя. Сравнивают результаты с опытом на бумаге.

Опыт 3. Разделение углеводов методом тонкослойной хроматографии.

Разделение углеводов методом тонкослойной хроматографии может быть осуществлено на таких сорбентах, как силикагель, оксид алюминия, целлюлоза. Часто для тонкослойной хроматографии используют силуфоловые пластинки (Чехословакия), матрицей которым служит алюминиевая фольга. На матрицу нанесен широкопористый силикагель, связующий материал – крахмал.

Силуфоловую пластину поделить на равные части и разрезать. От края пластинки отступить 1,2 см (линия старта). На линию старта нанести карандашом 4 еле заметных пятна. Метки можно пронумеровать, чтобы запомнить порядок нанесения углеводов. Пластинки положить для активации на 10-15 минут в сушильный шкаф при $T=110^{\circ}\text{C}$. Хроматографическую камеру заполнить проявителем системы БУВ (4:1:1), так, чтобы высота слоя достигала 0,5-0,7 см. Крышку камеры хорошо притереть вазелиновым маслом. На активированную силуфоловскую пластинку нанести капиллярами три известных углевода (фруктозу, глюкозу, сахарозу), в 4-ую точку – мед. Диаметр каждого пятна должен быть 1-2 мм. Хроматограмму нужно хорошо высушить, затем быстро, но аккуратно поставить в хроматографическую камеру. Через 1,5 часа хроматограмму необходимо вынуть и высушить под тягой в наклонном положении (линией старта наверху). Высушеннную хроматограмму протащить через анилидинфениловый реактив (10 мл реактива смешать с 1 мл фосфорной кислоты), затем подсушить под тягой и положить на 7-10 мин в сушильный шкаф при $T=130^{\circ}\text{C}$. Зоны углеводов проявляются в виде: разноцветных пятен на белом фоне (глюкоза – серо-голубой; сахароза - коричневый; рибоза – голубой; фруктоза – карминовый).

Для разделения углеводов можно приготовить пластинки 20x10 см с тонким слоем целлюлозы. 1 г целлюлозы смешивают с 9 мл воды и растирают до однородной массы. Затем с помощью пипетки на 10 мл наливают суспензию на один край пластинки и, наклоняя пластинку, равномерно распределяют всю суспензию на ее поверхности. Пластинку с сорбентом помещают на горизонтальную поверхность и сушат сначала воздухе, а затем непосредственно перед работой в сушильном шкафу при 110°C в течение 10 минут. На расстоянии 1 см от края пластины карандашом или иглой намечают 4 едва заметные точки старта и наносят в них с помощью капилляров растворы сахаров. Затем пластинку помещают в хроматографическую камеру, погружая ее стартовым краем в проявитель на 0,5 см. Через 60-90 минут хроматограмму вынимают и опрыскивают анилинфталатным реагентом, после чего выдерживают на воздухе, а затем прогревают в сушильном шкафу при

130 °C в течение 10 минут. Позиции углеводов на хроматограмме выявляются в виде коричневых пятен на светлом фоне.

Опыт 4. Колоночная гель-фильтрация.

Метод гель-фильтрации является очень удобным для изучения макромолекул, т.к. хроматографическое поведение белков в геле определяется формой и молекулярной массой и не зависит от температуры, pH, ионной силы, состава буфера. Для метода гель-фильтрации используются так называемые молекулярные сите – инертные гидратированные полисахаридные материалы, представляющие собой пористые, гранулы – сефадексы. Их получают чаще из бактериальных полисахаридов. Молекулы разных размеров различают по способности проходить через поры внутрь гранул геля. Небольшие молекулы, эффективно проникающие внутрь гранул сквозь поры, проходят через колонку, заполненную гелем, медленнее, чем вещества, молекулы которых велики.

При работе с колонкой необходимо соблюдать несколько правил:

1. Колонку устанавливают в штативе строго вертикально.
2. Над гелем всегда должен находиться слой жидкости, чтобы гель не пересыхал.
3. В колонку постоянно должен поступать раствор через капельницу.
4. При разделении смеси для гель-фильтрации необходим следить, чтобы в колонке был ток жидкости.

В хроматографическую колонку на стеклянный пористый фильтр вносят небольшой по размеру фильтр, затем воду которую осторожно шприцем прокачивают через стеклянный фильтр, чтобы удалить воздух. Затем в колонку вносим сефадекс (предварительно перерешать) до половины объема колонки. Когда почти вся жидкость, над гелем уйдет, на поверхность геля нанести 2-3 капли фракционирующего раствора, состоящего из смеси двух веществ: насыщенного раствора голубого декстрана (относительная молекулярная масса= 10^7) и насыщенного раствора дихромата калия (относительная молекулярная масса = 294,22). Фракционирующий раствор должен сначала впитаться гелем, Затем к колонке подключают капельницу с изотоническим раствором хлорида натрия (предварительно необходимо отрегулировать ток жидкости). По мере прохождения через колонку изотонического раствора хлорида натрия смесь разделяется на фракции, окрашенные в различные цвета. Каждую фракцию собирают в отдельную пробирку. В соответствии с относительной молекулярной массой быстрее всего элюируется голубой декстрин, затем желтый дихромат калия.

Опыт 5. Определение молекулярной массы гемоглобина

1. Выделение гемоглобина из эритроцитов крови

Эритроциты человека (и других млекопитающих) не содержат ядер, митохондрий, а следовательно, белков и других веществ, характерных для этих органелл. Около 90% белков эритроцита приходится на долю гемоглобина. Поэтому получить чистые препараты гемоглобина довольно легко, достаточно отделить от плазмы эритроциты центрифугированием и разрушить клеточную оболочку. Это может быть достигнуто несколькими способами, например неоднократным замораживанием и размораживанием эритроцитов в дистиллированной воде либо действием растворов детергентов, способствующих удалению липидов из оболочки.

1. В мерную центрифужную пробирку поместить 3 мл крови и центрифугировать в течение 10 минут при 25000 об/мин для осаждения эритроцитов. Центрифужные пробирки уравновесить на центрифужных весах, добавляя по каплям физраствор.
2. Надосадочную жидкость (плазму крови) слить в чистый стакан для работы на последующих занятиях. Осадок эритроцитов 2 раза промыть физраствором. Для этого к осадку в центрифужные пробирки каждый раз добавлять по 5 мл физраствора, осторожно перемешивать стеклянной палочкой и центрифугировать в тех же условиях. Надосадочную жидкость слить и отбросить.
3. После 3-го центрифугирования тщательно удалить фильтровальной бумагой надосадочную жидкость и примерно оценить объем осадка эритроцитов

(центрифугировать в мерных пробирках).

4. К осадку прилить дистиллированную воду из расчета 2 мл на 1 мл клеток, добавить по 1 капле раствора детергента (тритон-100) и смесь тщательно перемешать стеклянной палочкой. Наступает быстрый лизис эритроцитов. Раствор приобретает при этом равномерную ярко-розовую окраску.

5. После этого к раствору добавить 1 мл хлороформа, пробирку закрыть корковой пробкой и энергично встряхивать в течение 5 минут. Раствор центрифугировать 15 минут при 3 000 об/мин. Для уравновешивания центрифужных пробирок использовать дистиллированную воду. Верхний водный слой, содержащий гемоглобин должен быть ярко-красный и прозрачный. Раствор использовать в дальнейшей работе.

2. Определение молекулярной массы гемоглобина методом гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-100

Фракционирование на гелях основано на различиях в размерах молекул, этим методом можно с достаточной степенью точности определить молекулярную массу белка. Для сефадексаG-100 экспериментальным путем получено уравнение для расчета молекулярной массы:

$$G-100 \lg M_r = 5,941 - 0,847 \frac{V_{\vartheta}}{V_q},$$

где, M – молекулярная масса;

V_{ϑ} – объем раствора, в котором выходят из колонки исследуемое вещество;

V_q – объем водной фазы колонки.

Для определения в колонку ввести небольшое количество вещества с высокой молекулярной массой. Затем через колонку пропустить растворитель. Объем растворителя, которым затем элюируется это вещество равен объему водной фазы колонки. В качестве вещества с высокой молекулярной массой обычно используют голубой декстран, молекулярная масса которого равна 2×10^6 .

Для определения использовать колонку объемом 13,5 куб.см, наполненную гелем сефадексаG-100 и промытую 0,1 н р-ром хлорида натрия.

1.Определение значения V_0

Открыть зажим на колонке и слить 0,1 н р-р хлорида натрия, находящийся над гелем. Зажим закрыть и на поверхность геля аккуратно, по стенке с помощью пипетки нанести 0,5 мл р-ра голубого декстрина. Открыть зажим, собрать вытекающую из колонки жидкость в мерный цилиндр и сохранить до конца опыта. Наблюдать за проникновением нанесенного р-ра в гель (поверхность геля не должна оставаться сухой, поэтому по мере вытекания жидкости из колонки необходимо доливать хлорид натрия либо подсоединить к колонке склянку с р-ром).

Заранее приготовить 5 чистых пробирок. Как только из колонки начнет вытекать окрашенный (голубой) раствор, в эти пробирки собрать окрашенные фракции, по 20 капель в каждую пробирку. Элюат из этих пробирок от начала ряда, включая пробирку с самой интенсивной окраской, слить в цилиндр, где уже собраны предыдущие (неокрашенные) фракции. Объем остальных пробирок, в которых окраска начинает ослабевать, не учитывается.

Таким образом, объем элюата от начала опыта до появления наиболее яркой голубой окраски составляет объем водной фазы колонки (V_0).

Закончив определение, отмыть колонку от следов голубого декстрина.

2.Определение V_{ϑ}

Ход работы повторить полностью, но вместо р-ра декстрина в колонку внести 0,1 мл раствора гемоглобина (1%). Объем элюата от начала опыта с гемоглобином и до появления в пробирке максимальной розовой окраски определить как

Расчет:Полученные значения V_0 и V_{ϑ} подставить в приведенное выше уравнение и найти молекулярную массу, используя таблицу антилогарифмов.

По литературным данным молекулярная масса гемоглобина равна 64500.

Теоретическое задание №1

Определение молекулярной массы множественных молекулярных форм сorbitолдегидрогеназы (СДГ-1, СДГ-2) методом электрофореза в градиенте концентрации полиакриламидного геля

Формы	M _r	LgM _r	a	Rf
Тироглобулин	669000		6,0	
Ферритин	440000		8,5	
Каталаза	232000		15,0	
Лактат ДГ	140000		32,0	
Альбумин	67000		55,0	
СДГ-1	X ₁		27,0	
СДГ-2	X ₂		23,0	
Длина колонки (L)			120 мм	

Теоретическое задание №2

Определение молекулярной массы субъединиц сorbitолдегидрогеназы (СДГ-1, СДГ-2) методом электрофореза в ПААГ (в присутствии додецилсульфата натрия)

Формы	M _r	LgM _r	a ₁	a ₂	Rf
Фосфорилаза «В»	94000		11	12	
Альбумин	67000		20	20	
Овальбумин	43000		25	27	
Карбоксиангидраза	30000		32	34	
Трипсин	20100		37	40	
Лактоальбумин	14000		45	49	
			L=55	L 1=62	
СДГ-1	X ₁		32	38 L=59	
СДГ-2	X ₂		34	35L=57	
Длина колонки			L=50		

Задание 3: Нарисовать графики и полученные электрофореграммы. Rf = a / L

Лабораторная работа 4

Тема: Исследование биологических жидкостей

Цель: Познакомиться с химическим составом живых организмов. Роль воды в организме. Роль микро- и макроэлементов. Рассмотреть взаимосвязь организма с окружающей средой.

1. Моча – как показатель здоровья

Объекты исследования: Моча, молоко и другие продукты.

Ход работы:

Опыт 1. Физико-химические свойства мочи

A. Физические свойства

1. Определение удельного веса мочи

Удельный вес нормальной мочи при температуре 15°C составляет 1,010 – 1,025.

Определение удельного веса мочи имеет большое диагностическое значение при сахарном диабете, нарушениях функции почек и ряде других заболеваний. Удельный вес мочи зависит также от количества потребленной воды.

Определение обычно ведут с помощью специальных ареометров небольшого размера, которые называются **урометрами**. Существует два типа урометров: для низкого удельного веса мочи (с делениями от 1,000 до 1,030) и для высокого удельного веса мочи (с делениями от 1,030 до 1,060).

Все определения ведутся обычно при температуре 15^0 , так как шкала урометров большей частью градуируется на эту температуру. Если моча имеет другую температуру и привести ее к 15^0 трудно, то на каждые 3^0 выше этой температуры нужно прибавить, а на каждые 3^0 ниже – убавить по 0,001 от показания шкалы урометра.

Исследуемую мочу наливают по стенке (во избежания образования пены) в цилиндр и осторожно погружают в нее урометр (в зависимости от объема мочи выбирают тип урометра). Производят отсчет, беря ту линию на шкале урометра, которая соответствует нижнему мениску.

2. Исследование цвета мочи

Моча обычно бывает желтого цвета различных оттенков – от бледно-желтого до красновато-желтого. Цвет нормальной мочи в основном зависит от содержания в ней **урохрома** наряду с небольшим количеством уробилина, копропорфирина, уроэритрина и других пигментов. Интенсивность окраски обычно соответствует удельному весу мочи. Исключение составляет диабет, когда моча при высоком удельном весе слабо окрашена вследствие того, что пигмент разведен большим объемом мочи, удельный вес которого высок из-за содержания сахара. Если моча содержит кровяные пигменты, она окрашена в розоватый или коричневый цвет; при содержании желчных пигментов – в зеленый или желто-коричневый. Окраска мочи может сильно изменяться при употреблении различных лекарственных и некоторых пигментных веществ. Так, после приема пирамидона моча обычно окрашена в красноватый цвет, после приема Александрийского листа – в зеленово-желтый и т.д.

Характеристику цвета мочи обычно дают в следующих выражениях: соломенно-желтый, янтарно-желтый, шафранно-желтый, кроваво-красный, буро-красный, бурый, зеленовато-бурый и т.д.

3. Исследование прозрачности мочи

Свежевыпущенная нормальная моча обычно прозрачна; при стоянии в ней появляется небольшая муть в виде облачка, состоящего в основном из эпителиальных клеток, слизи и т.п. Щелочная моча бывает мутной чаще всего от осадка фосфатов кальция и магния-аммония, выпадающих в щелочной среде. При подкислении эта муть исчезает. Моча богатая мочекислыми солями, при отстаивании образует красноватый осадок, состоящий из кислого мочекислого натрия. В некоторых патологических случаях моча человека выделяется из мочевого пузыря мутной.

Характеристику прозрачности мочи обычно дают в следующих выражениях: прозрачная, мутная, мутноватая и молочно-мутная.

4. Исследование запаха мочи

Запах свежей мочи слабо ароматический, несколько напоминающий запах мясного бульона или свежих яиц. После употребления в пищу хрена или чеснока моча делается зловонной. При наличии большого количества ацетоновых тел моче свойственен “плодовый запах”. Загнившая моча, подвергшаяся щелочному брожению, приобретает неприятный едкий запах аммиака.

Запах определяют терминами: нормальный, амиачный, плодовый (при обилии ацетона).

5. Определение реакции мочи

Реакция мочи зависит от наличия в ней ряда органических и неорганических кислот и оснований.

В значительной мере активная реакция мочи определяется соотношением содержания “кислого” ($H_2PO_4^-$) и “щелочного” (HPO_4^{2-}) фосфатов.

В норме кислотность мочи зависит от пищи. При обычном питании моча человека имеет слабокислую реакцию (рН около 6). Мясная пища сдвигает реакцию мочи в кислую сторону (**ацидоз**), растительная – в щелочную (**алкалоз**).

Ацидоз возникает вследствие того, что мясная пища богата фосфатами и серой (в белках). Сера в процессе обмена окисляется до серной кислоты и в результате получается

перевес кислотных остатков фосфорной и серной кислоты над органическими катионами. Растительная пища наоборот, содержит много неорганических катионов в виде солей ненеорганических кислот. Так как последние окисляются в организме до углекислоты и воды, то в моче преобладают основания.

При подагре, диабете, лихорадке и других заболеваниях реакция мочи может сдвигаться в кислую сторону от присутствия недоокисленных кислых органических соединений (ацетоновые тела и др.).

Каплю мочи наносят на лакмусовую бумажку. Кислотность мочи может быть кислой, слабокислой, нейтральной, слаботщелочной или щелочной.

Б. Химические свойства

1. Реакция на хлорид-ионы

Человек выделяет с мочой в среднем 8 - 15 г хлорида натрия в сутки. Это количество колеблется в зависимости от приема поваренной соли в пищу. Лихорадочные заболевания, а также кахексия (при раке) вызывает задержку хлоридов в организме.

Хлориды в моче можно легко обнаружить по образованию характерного творожистого осадка хлорида серебра.

К 1-2 мл мочи добавляют 0,5-1 мл разведенной азотной кислоты и 8-10 капель нитрата серебра. Осадок хлорида серебра указывает на присутствие хлоридов в моче.

2. Реакция на сульфат-ионы

В среднем человек выделяет в сутки около 2,5 г сульфатов. Сернокислые соли в моче образуются главным образом за счет окисления серы аминокислот: цистеина и метионина, поступающих в организм в составе белков пищи. Повышенное выделение сульфатов с мочой бывает связано с ацидозом.

Помимо неорганических сульфатов, часть серной кислоты выделяется с мочой в виде так называемых эфирно-серных кислот, т.е. эфиров серной кислоты с фенолом, крезолом, индоксилем и другими продуктами бактериального разложения аминокислот в кишечнике. Эфирно-серные кислоты образуются в печени и в значительной мере нейтрализуют ядовитое действие продуктов гниения. Некоторая часть серы не окисляется в организме до сульфатов и выделяется с мочой в виде так называемой нейтральной серы в составе различных соединений.

Сульфаты в моче можно обнаружить по образованию осадка BaSO_4 под действием BaCl_2 в присутствии соляной кислоты HCl .

К 1-2 мл мочи добавляют 0,5-1 мл разведенной соляной кислоты HCl и 8-10 капель раствора хлорида бария BaCl_2 . Образование мелкого кристаллического осадка сульфата бария BaSO_4 указывает на присутствие солей серной кислоты.

3. Реакция на ионы фосфора

Человек выделяет с мочой в сутки около 2,5 г P_2O_5 в виде фосфатов. Фосфаты мочи главным образом происходят из сложных белков (нуклеопротеидов и фосфопротеидов), а также из фосфатидов и некоторых других пищевых веществ, содержащих фосфор. Повышенное выделение фосфатов с мочой обычно имеет место при обильной белковой пище, и также как и в случае сульфатов, бывает связано с ацидозом.

Фосфаты щелочноземельных металлов выпадают в осадки при подщелачивании мочи и могут быть обнаружены по реакции с молибденовокислым аммонием. Фосфаты щелочных металлов открывают в фильтре путем осаждения магнезиальной смесью.

В пробирку наливают 3-5 мл мочи добавляют около 1 мл раствора молибденово-кислого аммония и нагревают. Выпадает желтый осадок фосфорнокислой соли магния-аммония.

4. Реакция на ионы кальция

В пробирку помещают 1 мл мочи и добавляют 4 капли насыщенного раствора щавелевокислого аммония. Сразу же выпадает осадок щавелевокислого кальция. (Можно обнаружить ионы кальция пробой с мурексидом, при добавлении нескольких кристаллов образуется розовое окрашивание).

5. Качественные реакции на белок в моче

Нормальная моча практически не содержит белка. В действительности в ней имеются следы белка, которые не открываются обычными реакциями, применяемыми в клинической лаборатории. В ряде патологических случаев в моче может появиться заметное количество белков, начиная с долей грамма до 25 г в сутки. Такое выделение белка с мочой называется альбуминурией.

Различают почечную (истинную) и случайную (ложную) альбуминурию. При истинной альбуминурии белок попадает в мочу в почках. Это указывает чаще всего на заболевания почек или иногда на некоторые формы повышенного кровяного давления. В этих случаях в моче обычно появляется сывороточный альбумин и сывороточный глобулин.

Случайная альбуминурия имеет место при попадании в мочу слизи, крови, гноя и т.п. не из почек.

Цветные реакции мало пригодны для обнаружения белка в моче, так как нормальная и патологическая моча содержит ряд веществ, мешающих этим реакциям.

Для обнаружения в моче белков обычно применяют три реакции на их осаждение: 1) проба кипячением, 2) осаждение концентрированной азотной кислотой, 3) осаждение сульфосалициловой кислотой.

Проба с азотной кислотой более чувствительна, чем проба кипячением, и открывает до 0,0033% белка.

Цветные, но прозрачные кольца на границе могут появиться от изменения мочевых или желчных пигментов под влиянием азотной кислоты. Моча, богатая солями мочевой кислоты, дает кольцо, которое получается не на границе азотной кислоты и мочи, а несколько выше. Моча, богатая мочевиной, может дать осадок, состоящий из плохо растворимой азотникислой мочевины. Такое кольцо имеет кристаллический вид, кольцо же белка аморфно. Если при повторении реакции мочу предварительно развести водой, то кольца от мочевины не получится. Наконец, слабо заметная муть может получиться от осаждения муцина мочи. Такая муть располагается не на границе моча - азотная кислота, а выше и не так резко ограничена.

а) Проба с сульфосалициловой кислотой

В пробирку вносят 1 мл мочи и добавляют 2 капли 20% раствора сульфосалициловой кислоты. При наличии в моче белка появляется помутнение или осадок.

б) Проба с концентрированной азотной кислотой

В пробирку наливают 1-2 мл концентрированной азотной кислоты HNO_3 и осторожно насыпают на кислоту 1-2 мл профильтрованной исследуемой мочи. При наличии белка на самой границе двух жидкостей появляется мутный белый слой (кольцо). Если белка в моче мало, то кольцо образуется не сразу, а через 2-4 минуты.

6. Качественные реакции на сахар в моче

В нормальной моче всегда находится глюкоза в незначительных количествах (около 0,02%), которые нельзя обнаружить обычными реакциями, применяемыми при исследовании мочи. После обильного принятия сахара в пищу количество глюкозы в моче может кратковременно увеличиваться (пищевая глюкозурия). Длительное выделение глюкозы с мочой говорит о патологической глюкозурии. Это может быть вызвано заболеванием почек или диабетом.

Количественно глюкозу в моче можно открыть с помощью реакций восстановления **металлов** (Троммера, с фелинговой жидкостью и Ниландера), получением глюкозазона или пробой на брожение. Реакции Троммера и Ниландера являются наиболее употребительными для открытия глюкозы в моче.

Следует отметить, что восстанавливать медь в моче может не только сахар, но и другие соединения (мочевая кислота, креатинин, глюкуроновая кислота и др.). Вследствие этого реакции Троммера и с фелинговой жидкостью недостаточно специфичны, в особенности при неточном их проведении. Проба на брожение – доступная и верная реакция на открытие глюкозы в моче. Эта проба специфична для глюкозы, так как дает возможность

отличить глюкозу от восстанавливающих веществ неуглеводной природы, от сахаров не способных к брожению (пентоз, которые могут попасть в мочу при соответствующем питании). С фруктозой и некоторыми другими сахарами (редко встречаются в моче) проба на брожение дает положительную реакцию.

Фруктоза и пентозы, кроме того, могут быть обнаружены в моче при помощи специальных реакций.

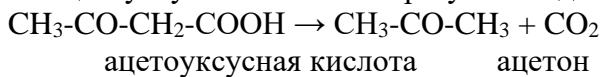
В пробирку наливают 5 мл мочи и добавляют 2 мл 10% раствора NaOH, затем 1-2 капли 5% раствора сульфата меди CuSO₄ (реакция Троммера). Осторожно нагревают верхнюю часть содержимого пробирки до закипания (при продолжительном кипячении медь может быть восстановлена под действием мочевой кислоты и некоторых других соединений). Реакция на глюкозу считается положительной, если желтый осадок гидроксида меди (I) CuOH или красный осадок оксида меди (I) Cu₂O появляется не позже, чем через минуту после прекращения нагревания.

7. Реакции на ацетоновые тела в моче

Ацетоновыми телами называют β-оксимасляную кислоту CH₃-CH(OH)-CH₂-COOH, ацетоуксусную кислоту CH₃-CO-CH₂-COOH и ацетон CH₃-CO-CH₃.

Эти вещества являются продуктами неполного окисления жиров. При нормальном обмене углеводов β-оксимасляная кислота и ацетоуксусная кислота окисляются почти полностью.

При нарушении окисления этих веществ они обнаруживаются в моче наряду с ацетоном, который образуется из ацетоуксусной кислоты в результате декарбоксилирования.



В моче здорового человека содержится обычно незначительное количество ацетоновых тел. Они появляются в моче при нарушениях жирового или углеводного обмена, в частности при диабете, а также при голодании и неправильном режиме питания.

Обнаружение ацетоновых тел в моче дает возможность установить нарушение обмена веществ и неправильный пищевой режим.

При диабете исследования мочи важны не только для диагностики заболевания, но и для контроля эффективности лечения.

Ацетон, ацетоуксусная кислота, β-оксимасляная кислота (после окисления ее в ацетоуксусную) обнаруживаются по пурпурно-фиолетовому окрашиванию с нитропруссидом натрия.

Наливают в одну пробирку 1-2 мл раствора ацетона CH₃-CO-CH₃, добавляют 0,4-0,5 мл концентрированной уксусной кислоты CH₃COOH и 5-7 капель раствора нитропруссида натрия Na₂[Fe(CN)₅NO]. Встряхивают содержимое пробирки и осторожно насылаивают 1-2 мл концентрированного раствора аммиака NH₄OH. В присутствии ацетона образуется пурпурно-фиолетовое кольцо. Проделывают эту же реакцию с мочой (вместо ацетона).

8. Качественная реакция на мочевину

Мочевина H₂N-CO-NH₂, главный конечный продукт обмена белков, синтезируется в печени и выводится преимущественно с мочой.

Мочевина представляет собой полный амид угольной кислоты. Мочевина нейтральна на лакмус. С кислотами образует плохо растворимые соли (нитраты и оксалаты).

Под действием фермента уреазы мочевина гидролизуется.



Действием уреазы бактерий объясняется аммиачный запах постоянной мочи (аммиачное брожение). Гидролиз мочевины можно произвести и нагреванием со щелочами.

В пробирку помещают 1 мл мочи, добавляют 6 капель 10% NaOH и осторожно кипятят. У верхнего края пробирки укрепляют смоченную водой лакмусовую бумажку.

Вследствие выделения аммиака, образующегося при гидролизе мочевины, лакмусовая бумагка синеет.

Опыт 2. Трилонометрическое определение ионов Ca^{2+} титрованием

При титровании рекомендуется придерживаться следующих обязательных правил:

- 1) скорость выливания жидкости из бюретки не должна превышать 4-5 капель в секунду, так как при быстром титровании часть жидкости будет задерживаться на стенке бюретки;
- 2) каждое титрование следует производить только с нулевой точки, ибо различные части бюретки (по длине) имеют неодинаковые объемы;
- 3) объемы жидкости, которые будут расходоваться при титровании, должны составлять половинный объем бюретки, т.к. процентные ошибки при титровании находятся в обратной зависимости от объема, который затрачивается на титрование.

К 100 мл дист. воды прибавляют 2 мл (10%) раствора щелочи (КОН) и немного мурексида, затем взбалтывают, появляется сине-фиолетовая окраска.

Разливают жидкость в 2 колбы емкостью 100-150 мл. В одну из колб приливают 1мл биологической жидкости (молоко, моча, сыворотка, яйцо, вытяжка растения), цвет в колбе становится малиново-красным.

Содержимое колбы медленно титруют 0,0002н раствором трилона Б до перехода малиново-красной окраски в сине-фиолетовую. Сравнивают с окраской раствора во второй колбе на белом фоне.

Рассчитывают содержание кальция в 100 мл исследуемой жидкости по формуле:

$$X = 20,04 \cdot A \cdot 0,0002 \cdot 0,97 \cdot 100 / V$$

где X – содержание кальция (мг %);

A – количество (в мл) трилона Б, пошедшего на титрование;

0,0002 – нормальность трилона Б;

0,97 – поправочный коэффициент к титру раствора трилона Б;

20,04 – молярная масса эквивалента Ca^{2+} ;

V – объем (мл) исследуемой жидкости.

Например:

1) на титрование молока ушло 30,8 мл трилона Б:

$$20,04 \cdot 30,8 \cdot 0,0002 \cdot 0,97 \cdot 100 / 1 = 12 \text{ (мг%).}$$

2 Качественный анализ продуктов питания на содержание минеральных веществ

Оборудование: штатив с пробирками, пипетки, спиртовки, медная проволока без изоляции с петелькой на конце, шпатель, держатель для пробирок, вата, воронки, фильтровальная бумага, стаканы, ступки с пестиками, фарфоровые чашки. камера с крышкой для хроматографии, пульверизатор, хроматографическая бумага или пластиинки с крахмалом (целлюлозой или оксидом алюминия).

Реактивы: растворы $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ (1%), NaOH (10%), BaCl_2 (1%), аммиачный раствор AgNO_3 (1%), $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ (3%), конц. раствор NH_3 , NH_3 (10%), CH_3COOH (3%), $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (1%), мурексид (сухой), HCl (1%), конц. HCl , конц. HNO_3 , красная лакмусовая бумага, KCNS (в мерной колбе на 200 мл растворяют 40 г KSCN и доводят до метки), H_2O , 1%-ные растворы: FeCl_3 , CuCl_2 , CoCl_2 , NiCl_2 , раствор гексацианоферрата (II) калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (5% и 10%) (желтая кровяная соль), $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, ацетон.

Объекты исследования: молоко, сыворотка, белок куриного яйца, тыква, капуста, яблоко, банан, виноград, помидор, чеснок, свекла, лук, картофель, соевая мука, укроп, петрушка, сельдерей, кондитерские изделия и другие продукты.

Ход работы

Опыт 1. Получение экстрактов продуктов питания

Продукты питания (2 г) растирают в ступке с 10 мл воды. Раствор фильтруют. Фильтрат используют в опытах.

Опыт 2. Обнаружение галогенов

а) В петле медной проволоки укрепляют кусочек пористой керамики («кипелку»). Прокаливают этот конец проволоки в несветящейся части пламени спиртовки. Затем погружают петельку в исследуемую жидкость или помещают на нее пробу твердого вещества. Вновь вносят проволоку в несветящуюся часть пламени. Присутствие йода обнаруживается по зеленому, хлора и брома по голубовато-зеленому окрашиванию пламени.

б) Определение хлорид-ионов (Cl⁻)

В пробирку вносят 0,2 мл фильтрата и добавляют 8-10 капель аммиачного раствора нитрата серебра. Появляется белый осадок.

Опыт 3. Обнаружение фосфат-ионов (PO₄³⁻)

В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого фильтрата и добавляют 8-10 капель молибденово-кислого аммония. При необходимости подогревают. Появляется осадок желтого цвета при наличии фосфат-ионов.

Опыт 4. Обнаружение катионов кальция (Ca²⁺)

В пробирку вносят 0,5 мл исследуемого фильтрата, добавляют 5-6 капель 10%-ного раствора NaOH и несколько кристалликов мурексида. При наличии катионов кальция появляется ярко-вишнёвое окрашивание.

Опыт 5. Обнаружение солей меди в растениях

А.3-5 г измельченного материала помещают в фарфоровую чашку и прибавляют столько же 10%-ного раствора аммиака. При наличии меди появляется синее или синеватое окрашивание.

Б.В химический стаканчик помещают 20-30 г измельченного исследуемого материала, заливают водой (дист.), подкисляют CH₃COOH до кислой реакции, прибавляют по каплям 5%-ный раствор желтой кровяной соли. При наличии меди появляется красно-бурый осадок или красное окрашивание жидкости (от образующегося ферроцинида меди).

Опыт 6. Обнаружение тяжелых металлов в продуктах питания методом хроматографии

50 мл молока упаривают до объема 5-10 мл. Для обнаружения ионов металлов в молоке методом ТСХ на стартовую линию одной пластинки (заранее приготовленной как в Практической работе № 1, Опыт 2) наносят пробы: а) молока; б) нитрата кобальта; в) нитрата никеля, г) хлорида железа (III), д) хлорида меди (II).

Проводят процесс разделения хроматограмм для ионов Fe³⁺ и Cu²⁺ системой растворителей: этанол : соляная кислота, разбавленная в 2 раза (4:1); для ионов Co²⁺ и Ni²⁺ - ацетон : 3М соляная кислота (9:1). Время хроматографирования 20-25 минут. Обнаружить ионы Fe³⁺ и Cu²⁺ можно 10%-ным раствором гексацианоферрата (II) калия, ионы Co²⁺, Ni²⁺ - конц. аммиаком. Делают выводы о количественном содержании тяжелых металлов в молоке и других продуктах.

Опыт 7. Обнаружение роданидов

В слюне курильщиков содержатся роданиды, которые образуют в кислой среде с хлоридом железа комплексное соединение железа с роданидом красного цвета. В пробирку вносят слюну, добавляют 2 капли соляной кислоты и 0,5 мл хлорида железа (III). В зависимости от интенсивности окраски раствора делают выводы.

Вывод:

Лабораторная работа 5

Тема: Липиды и углеводы в продуктах питания

Цель: познакомиться с функциями углеводов и липидов, их строением, классификацией и содержанием в продуктах питания.

Оборудование: электроплитка, штатив с пробирками, пипетки, ватные фильтры, спиртовки, фильтровальная бумага, стакан (50 мл).

Реактивы: конц. серная кислота, α -нафтол, гидроксид меди (II), и едкий натрий (0,1н), реактив Селиванова, C_2H_5OH , ацетон, раствор $NaOH$ (10%), CCl_4 , H_2O , камфора, раствор лецитина, растворы Na_2CO_3 (10%) и $KMnO_4$ (2%).

Объекты исследования: продукты питания содержащие углеводы: хлеб (чёрный и белый), картофель, бананы, мандарины, рис, мед, яблоко (зелёное и спелое), тыква, морковь, молоко вареный желток куриного яйца, ядра орехов, семена мака, мозг с гипсом, подсолнуха, облепихи и другие продукты, содержащие жир, оливковое, подсолнечное, соевое, льняное, кунжутное, пихтовое, кукурузное, облепиховое масло.

1 Обнаружение жиров в продуктах питания

Ход работы:

Опыт 2. Обнаружение жиров

А. Малое количество исследуемого образца измельчают, помещают в пробирку, добавляют 3-4 мл четыреххлористого углерода и нагревают несколько минут (тяга). Ввиду опасности пожара нельзя применять эфир или ацетон. Несколько капель полученного раствора наносят на полоску фильтровальной бумаги. При наличии жира образуется жирное пятно.

Б. Наливают в химический стакан 20 мл воды, помещают на её поверхность очень маленькие частицы камфоры, они начинают кружиться («танцуют»). Как только добавляют в воду мельчайшие частицы жира, этот «танец» прекращается.

Сложные липиды

Лецитины принадлежат к моноаминофосфатидам. В лецитинах две гидроксильные группы глицерина связаны по типу сложного эфира с двумя молекулами жирных кислот (пальмитиновая, стеариновая, олеиновая и некоторые др.), а третий гидроксил – с фосфорной кислотой, которая соединена по типу сложного эфира со спиртовой группой холина (основание).

Свойство лецитина давать стойкую эмульсию в воде благоприятствует его перевариванию, а также используется в маргариновой и кондитерской промышленности.

Чистый лецитин – это белая воскообразная масса, быстро желтеющая на воздухе. Лецитин хорошо растворим в спирте, хлороформе, эфире, сероуглероде, бензине, но не растворим в ацетоне, что позволяет отделять лецитин от других липидов. Каждая клетка организма содержит то или иное количество лецитина. Большое количество лецитина содержится в яичном желтке (до 10%), в нервах, сперме, головном и костном мозгу, надпочечниках, легких, сердце, а также в грибах и дрожжах.

Опыт 3. Выделение лецитина из желтка куриного яйца

В стакан помещают половину куриного желтка и, помешивая, прибавляют 40 мл горячего спирта. Раствор охлаждают и фильтруют в сухую пробирку. Фильтрат должен быть прозрачным.

А) Свойства лецитина

В сухую пробирку вносят 10 капель ацетона и 1-2 капли раствора лецитина. Выпадает осадок. При добавлении лецитина в воду образуется эмульсия. Результат опыта и его объяснение записывают в тетрадь. Чем отличается лецитин по свойствам от других жиров?

Б) Гидролиз лецитина

В оставшийся фильтрат вносят 2-3 мл гидроксида натрия и нагревают до кипения. **Осторожно!** Исследуют выделяющийся газ. Ощущается запах селедочного рассола (это запах аминов). Сделайте вывод о составе лецитина.

Опыт 4. Сравнение свойств разнообразных масел

Наливают в пробирку 0,5 мл масла, 1 мл раствора карбоната натрия и по каплям добавляют раствор перманганата калия (примерно 2 мл). Содержимое пробирки энергично встряхивают. Отмечают изменение окраски.

Сравнивают объем перманганата калия, который может быть обесцвечен различным маслом (объем масла должен быть одинаковым). Делают вывод о степени непредельности подсолнечного и оливкового масла.

Опыт5. Выделение холестерола из мозга (выполняет дежурный).

В сухую пробирку внести 2-5 г мозга + 6 г гипса, прилитить 5-6 мл хлороформа, тщательно перемешать, отфильтровать (фильр смыть хлороформом). (Все пробирки должны быть сухие!)

Качественная реакция на холестерол – реакция Шиффа:

К фильтрату осторожно, по стенке пробирки наслойти 1мл серной кислоты (конц.) – на границе раздела фаз – кольцо красного цвета.

1. Обнаружение углеводов в продуктах питания

Ход работы:

Опыт 1. Качественный анализ продуктов питания на содержание углеводов

Приготовление вытяжки продуктов

Хлеб, яблоко (зелёное и спелое), тыкву, морковь растирают в ступке до однородной массы, разбавляют водой (1:1). Фасоль, рис тщательно растирают до консистенции муки и разбавляют водой (1:1). Апельсин и помидор разрезают и используют для анализа сок. Мёд разбавляют водой в соотношении (1:1).

а) Обнаружение рибозы

К 0,5 мл вытяжки исследуемого продукта добавляют 2 капли α-нафтола и по стенке пробирки осторожно, без встряхивания, наливают 2 мл конц. серной кислоты. На границе двух жидкостей образуется кольцо красно-зелёного цвета при наличии рибозы.

б) Обнаружение глюкозы в соке растений реакцией Троммера

Яблоко натирают на тёрке, отжимают сок. Разбавляют его водой (1:1). Свежеосаждённый гидроксид меди (II) делят на две части, добавляют к каждой несколько капель разбавленного яблочного сока. Содержимое первой пробирки встряхивают, отмечают изменение. Осадок во второй пробирке нагревают.

в) Обнаружение фруктозы в мёде

В две пробирки наливают по 2 мл реактива Селиванова. Затем в одну пробирку прибавляют 2 капли 5%-ного раствора мёда, а в другую 2 капли 1% раствора глюкозы. Обе пробирки одновременно помещают в водянную баню с температурой воды 80°C и выдерживают при этой температуре в течение 8 минут. Сравнивают окраску растворов (в пробирке с мёдом появляется розово-красное окрашивание). В пробирке с глюкозой также может появиться окрашивание, но гораздо медленнее.

г) Обнаружение крахмала

Готовят срезы картофеля, яблок, бобов, семян пшеницы, крахмальный клейстер. Обрабатывают их йодом. Сравниваем окраску.

Вывод по теме:

Лабораторная работа 6

Тема: Строение белков и их физико-химические свойства

Цель: Познакомиться со свойствами и строением аминокислот, входящих в состав белков. Рассмотреть методы количественного определения белков, факторы устойчивости, гидролиз, виды осаждения, диализ, изоэлектрическую точку белков.

1. Цветные реакции на аминокислоты и белки

Объекты исследования: белок яйца, молоко, дрожжи, сыворотка крови, водный раствор аминокислот, раствор тирозина в азотной кислоте.

Белки – важнейшая и необходимая составная часть всех живых организмов. Они составляют главную массу сухого вещества тканей человека и почти всех животных. Это

очень сложные, высокомолекулярное соединения, находящиеся в организме в коллоидном состоянии.

Реакции на присутствии белка основаны на открытии в нем тех или иных химических групп и на его физико-химических свойствах. Некоторые реакции присущи не только белкам, но и другим веществам, содержащим те же группы. Так, ряд цветных реакций на белок является по существу реакциями на ту или иную аминокислоту, входящую в состав белка. Поэтому для установления наличия белка недостаточно какой-нибудь одной реакции. В медицинской точки зрения важно определить белок в моче, а в некоторых случаях также в спинномозговой жидкости и в крови.

Опыт 1. Цветные реакции на белки

Присутствие белка можно обнаружить рядом цветных реакций. Эти реакции свойственны составным частям белка – аминокислотам или образуемым ими группировкам. Так полипептиды, а также все пептоны и белки дают биуретовую реакцию, характерную для наличия пептидных связей. Все аминокислоты, полипептиды и белки дают окрашивание (обычно фиолетовое) при нагревании с нингидрином. Некоторые аминокислоты (тирозин, триптофан, фенилаланин, цистин, аргинин, гистидин) и их остатки (например в молекуле белка) дают характерные цветные реакции. В большинстве белков при помощи чувствительных реакций можно обнаружить углеводные компоненты.

а) Нингидриновая реакция (на α -аминокислоты)

Белки, а в еще более сильной степени аминокислоты и полипептиды дают синее или фиолетовое окрашивание с нингидрином (трикетогидриндегидратом). Нингидриновая реакция характерна для аминогруппы в α -положении.

1. В пробирку вносят около 1 мл раствора глицина, добавляют 5-6 капель раствора нингидрина и нагревают. Появляется сине-фиолетовое окрашивание.
2. Также производят нингидриновую реакцию с 1-2 мл раствора белка, взяв 0,3-0,5 мл раствора нингидрина. Получается фиолетовое (иногда фиолетово-розовое) окрашивание; с течением времени раствор синеет.

б) Ксантопротеиновая реакция (на циклические аминокислоты)

Подавляющее большинство белков при нагревании с крепкой азотной кислотой дает желтое окрашивание, переходящее в оранжевое при добавлении щелочи или аммиака. По-гречески «ксантос» - желтый, отсюда название ксантопротеиновой. Такое желтое окрашивание можно наблюдать при попадании крепкой азотной кислоты на кожу, ногти, шерсть и т.п. Эта реакция характерна для бензольного ядра циклических аминокислот (тирозина и триптофана), которые содержатся почти во всех белках. При добавлении концентрированной азотной кислоты происходит нитрование бензольного кольца с образованием нитросоединений желтого цвета. Ксантопротеиновую реакцию, помимо белков, дают также многие более простые ароматические соединения (например, фенол).

В пробирку помещают 1 мл раствора белка, приливают 5-6 капель концентрированной азотной кислоты HNO_3 . Появляется осадок свернувшегося (под влиянием кислоты) белка, который окрашивается при нагревании (осторожно!) в желтый цвет. Дают пробирке остить и осторожно приливают избыток концентрированного раствора аммиака NH_4OH или 20% раствор гидроксида натрия $NaOH$. Желтая окраска при подщелачивании переходит в оранжевую.

в) Реакции Миллона (на тирозин)

Фенолы, например, карболовая кислота, и их производные дают ртутные соединения красного цвета. Эти соединения получают при нагревании со специально приготовленным раствором ртути в азотной кислоте, содержащей азотистую кислоту.

Большинство белков дают миллиновую реакцию, так как в их состав входит аминокислота тирозин, являющаяся одновременно фенолом.

1. Наливают в пробирку около 1 мл раствора тирозина, приливают около 0,5 мл реактива Миллона и осторожно нагревают. Появляется розовое окрашивание.

2. В пробирку помещают 1-2 мл раствора белка и прибавляют 5-6 капель реактива Миллона. Появляется осадок свернувшегося белка, так как реактив Миллона содержит соли ртути и азотную кислоту. Содержимое пробирки осторожно нагревают. Осадок окрашивается в кирпично-красный цвет. Следует избегать прибавления избытка реактива Миллона, так как этот реактив содержит азотную кислоту, которая может дать желтое окрашивание (ксантопротеиновую реакцию), маскирующее реакцию Миллона.

3. Проделывают аналогичным образом миллонову реакцию с раствором желатина. Если желатин достаточно чист, реакция не получается, так как в молекуле желатина остаток тирозина отсутствует.

г) Реакция Адамкевича (на триптофан)

При добавлении к белку нескольких капель глиоксиловой кислоты на границе с концентрированной серной кислотой получается красно-фиолетовое окрашивание. Эта реакция зависит от присутствия в молекуле белка аминокислоты триптофан.

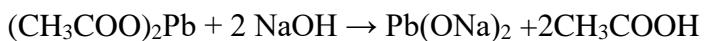
В пробирку помещают несколько капель белка, прибавляют около 1 мл концентрированной уксусной кислоты CH_3COOH и, сильно наклонив пробирку, очень осторожно, по стенке пробирки подсыпают около 1 мл концентрированной серной кислоты H_2SO_4 так, чтобы обе жидкости не смешались. При стоянии на границе двух жидкостей получается красно-фиолетовое кольцо.

д) Реакция Фоля (на серусодержащие аминокислоты: цистин и цистеин)

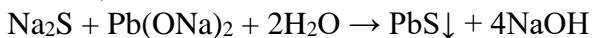
В состав молекул большинства белков входят содержащие серу аминокислоты – цистин и цистеин.

При кипячении белка с раствором гидроксида натрия NaOH и ацетатом свинца $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ раствор начинает темнеть. Крепкая щелочь разрушает цистин и цистеин и отщепляет серу в виде сульфида натрия Na_2S .

Ацетат свинца $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ реагирует с гидроксидом натрия NaOH с образованием плюмбита натрия:



Сульфид натрия Na_2S при взаимодействии с плюмбитом натрия $\text{Pb}(\text{ONa})_2$ дает черный осадок сульфида свинца PbS :



В одну пробирку наливают 5 капель 1% раствора яичного белка, в другую – 5 капель 1 % раствора желатина. В каждую пробирку добавляют по 6 капель реактива Фоля. При интенсивном кипячении жидкость темнеет.

е) Биуретовая реакция (на белок)

В щелочной среде в присутствии солей меди белки дают фиолетовое окрашивание. Окраску дает комплексное соединение меди с пептидными группами: - CO - NH -. Биуретовая реакция получается также с продуктами неполного гидролиза белка-пептонами и полипептидами.

Своё название биуретовая реакция получила от производного мочевины - биурета, который дает эту реакцию. Биурет образуется при нагревании мочевины с отщеплением от нее аммиака. Биуретовую реакцию дают: аминокислота гистидин и амид аспарагиновой кислоты – аспарагин.

В пробирку помещают около 1 мл раствора белка, 1-2 мл 10% раствора гидроксида натрия NaOH и 1-2 капли 5% раствора сульфата меди CuSO_4 . При взбалтывании образуется фиолетовое окрашивание.

Написать механизмы реакций.

2 Физико-химические свойства белков

Объекты исследования: белок куриного яйца, молоко, дрожжи, сыворотка крови.

Ход работы:

Опыт 1. Кислотный гидролиз шелка и обнаружение тирозина

Шелк почти полностью состоит из белков. Из них 53% приходится на фибронин, в котором 13% тирозина.

Для выделения и обнаружения тирозина в фибронине шелка в большую пробирку помещают несколько шелковых нитей, приливают 5 мл серной кислоты (25% р-р), закрывают ватным тампоном и ставят на кипящую водяную баню на 1,5 часа. По истечении времени с содержимым пробирки проделывают реакцию Миллона. По изменению окраски раствора в красно-кирпичный цвет судят о гидролизе фибронина и наличии аминокислоты – тирозина

Опыт 2. Диализ белков

Диализ – способ очистки коллоидных растворов белков от низкомолекулярных органических и минеральных примесей, основанный на способности одних веществ проникать через полупроницаемую мембрану, а других – нет.

Для диализа готовят целлофановый мешочек в виде фильтра, наливают в него р-р белка и добавляют кристаллы хлорида натрия. Мешочек помещают в стакан с дистиллированной водой на 30 минут. Затем целлофановый мешочек вынимают, а из воды берут 2 пробы, одну – на хлорид-ионы, другую – на биуретовую реакцию.

Опыт 3. Высаливание белков

Белки являются гидрофильными коллоидами, их частицы проявляют большое сродство к воде. Водная оболочка не дает белковым частицам соединяться вместе и удерживает их в растворе в устойчивом состоянии.

При добавлении к раствору белков неорганических солей (NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и др.), последние адсорбируются на белковых молекулах, делают их электронейтральными, понижая устойчивость коллоидного раствора. При большой концентрации солей происходит дегидратация белковых частиц, и их осаждение. Таким же действием обладают некоторые органические вещества: спирты, ацетон, эфир.

Осадки белков, полученные высаливанием, могут быть растворены вновь после уменьшения концентрации солей диализом или разведением водой.

A) Осаждение белков сернокислым аммонием

В пробирку наливают 1 мл мясной вытяжки, добавляют 1 мл насыщенного р-ра $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и перемешивают. Наблюдают помутнение раствора.

Б) Осаждение белков хлоридом натрия и спиртом

В две пробирки наливают по 1 мл яичного белка, затем в одну прибавляют немного хлорида натрия, а в другую спирта и взбалтывают. Наблюдают выпадение мелкого осадка.

Опыт 4. Осаждение белков солями тяжелых металлов

Соли тяжелых металлов в небольших концентрациях легко осаждают белки из растворов, образуя с ними комплексные соединения. Белковые осадки, полученные действием солей тяжелых металлов (свинца, меди, серебра, ртути и др.), нерастворимы в первоначальном растворителе. Такое осаждение следует отнести к необратимым реакциям, связанным с денатурацией белка.

Этим свойством белков пользуются в медицинской практике, употребляя белки (молоко, яйца) как противоядие при отравлении солями ртути, свинца или меди, пока эти соли не успели всосаться.

В 2 пробирки наливают по 1 мл белка, в одну добавляют раствор ацетата свинца, в другую сульфата меди. Наблюдают образование осадков.

Опыт 5. Осаждение белков алкалоидами

При добавлении алкалоидных реагентов (танин, пикриновая кислота, железосиннеродистый калий и др.) растворы белков образуют осадки. Это объясняется наличием сходных азотистых группировок как в белках, так и в алкалоидах, которые взаимодействуя между собой, образуют нерастворимые солеобразные соединения. В последних белок является катионом, алкалоид – анионом, поэтому осаждение проводят в кислой среде (частицы белка перезаряжаются и переходят в состояние катионов). В щелочной среде осадки растворяются.

В 2 пробирки наливают по 1 мл белка, подкисляют 0,5 мл уксусной кислоты (1% р-р). В одну добавляют насыщенный раствор танина, в другую – пикриновую кислоту. Наблюдают выпадение белка в осадок.

Опыт 6. Осаждение белков минеральными кислотами

Концентрированные минеральные кислоты вызывают необратимое осаждение белков из растворов, что связано не только с дегидратацией белковых частиц, но и образованием солей в радикалах аминокислот (это ведет либо к перезарядке, либо к потере заряда).

Реакция осаждения белков азотной кислотой применяется при клинических исследованиях мочи.

В 3 пробирки осторожно наливают по 1 мл серной, соляной, азотной кислот. В каждую добавляют по 1 мл белка. На границе двух жидкостей появляется белое кольцо.

Опыт 7. Осаждение белков органическими кислотами

Различные органические кислоты по-разному действуют на растворы белков. В практике часто используют для полного осаждения белков трихлоруксусную кислоту (ТХУ). Действуя на белки, она при этом не влияет на продукты распада белков. Это свойство применяют, когда необходимо определить содержание азота продуктов обмена (аминокислот, мочевины и др.)

В пробирку наливают 1 мл белка и добавляют несколько капель р-ра ТХУ (3%). Наблюдают выпадение осадка белка.

Вывод:

Лабораторная работа 7

Тема: Белки простые и сложные

Цель: Познакомиться с классификацией, строением и свойствами сложных белков и методами их обнаружения. Познакомиться с классификацией, строением и свойствами нуклеиновых кислот.

Объект исследования: белок яйца, молоко, кровь.

1 Выделение сложных белков

Белки разделяются на две группы: протеины, или простые белки, не содержащие белковых групп, и протеиды, или сложные белки, содержащие, помимо собственно белка, еще и небелковую (простетическую) группу. Среди простых белков животного происхождения чаще всего приходится встречаться с альбуминами и глобулинами. Альбумины растворимы в воде, осаждаются при насыщении раствора сернокислым аммонием, обычно не содержат аминокислоты – глицина. Примерами альбуминов являются альбумины сыворотки крови, молока, яичного белка. Глобулины не растворимы в воде, но растворимы в присутствии нейтральных солей: осаждаются в полунасыщенном растворе сернокислого аммония, т.е. при добавлении к раствору белка равного объема раствора этой соли (насыщенного). К глобулинам относятся белки сыворотки крови, молока, куриного яйца и др.

Среди сложных белков следует отметить: хромопротеиды – соединения белка с пигментами, например гемоглобин; нуклеопротеиды – соединения белка с нуклеиновыми кислотами; фосфопротеиды – белки, содержащие фосфор, например казеин; мукопротеиды (гликопротеиды) – соединения белка со сложными углеводами – мукополисахаридами, например муцин слюны (простые углеводные группировки содержатся во многих белках).

Ход работы:

Опыт 1. Выделение казеина из молока

В молоке до 80% содержится специфический белок – казеин, содержащий фосфор. Этот белок обладает кислыми свойствами и находится в молоке в виде растворимой кальциевой соли. При подкислении казеин выпадает в осадок в виде белых рыхлых хлопьев. Для доказательства наличия фосфора в казеине проводится щелочной гидролиз белка и обнаружение фосфора молибденовым реактивом.

В чистую пробирку наливают 1 мл молока, добавляют 1 мл молибденового реактива и кипятят. В присутствии фосфорной кислоты жидкость окрашивается в лимонно-желтый цвет - $(\text{NH}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3)$.

Опыт 2. Обнаружение углеводных компонентов в сложных белках

Многие белки содержат в своем составе углеводные компоненты. В присутствии концентрированной серной кислоты последние дают характерное окрашивание с α -нафтолом. Из углеводов под действием серной кислоты H_2SO_4 образуются фурфурол и его производные.

В пробирку вносят 1 мл слюны, содержащий гликопротеин-муцин, добавляют 0,5 мл α -нафтола. Осторожно (по стенке) приливают 2 мл концентрированной серной кислоты H_2SO_4 , наблюдают фиолетовое окрашивание на границе раздела серной кислоты и белка.

Опыт 3. Обнаружение гемоглобина

a) Получение кристаллов гемина

Гемоглобин является сложным белком, состоящий из глобина и небелковой части – гема. При действии кислот на гемоглобин гем отщепляется и в присутствии солей переходит в гемин, в котором железо трехвалентное.

На предметное стекло наносят каплю крови, размазывая ее по стеклу, подсушивают на газовой горелке. На стекло наносят 1-2 капли уксусной кислоты CH_3COOH с галогенами и осторожно нагревают до закипания. Добавляют еще 1-2 капли уксусной кислоты CH_3COOH , накрывают покровным стеклом и рассматривают выделившиеся кристаллы гемина под микроскопом при большом увеличении. Результаты опыта зарисовать.

б) Бензидиновая проба на кровь

Эта проба основана на окислении бензидина за счет кислорода перекиси водорода с помощью кровяного пигмента. Получившиеся продукты имеют синюю или зеленую окраску, что служит указанием на присутствие крови. Бензидиновая проба очень чувствительна и проявляется при разбавлении крови 1:200 000.

В пробирку помещают 1 мл сильно разбавленной крови, добавляют 1 мл бензидина и несколько капель перекиси водорода H_2O_2 . Наблюдают появление синего окрашивания, которое переходит в зеленое.

2 Нуклеиновые кислоты

Оборудование и реагенты: электроплитка, ступки с пестиками, воронка, фильтровальная бумага, стакан (50 мл, 700 мл), палочка стеклянная, цилиндр на 10 и 25 мл, кристаллизаторы со льдом, центрифуга, пробирки центрифужные, дрожжи сухие, NaCl (растворы 1M и 2M), гидроксида натрия (растворы 0,4% и 10%), сульфат меди (1%), дифениламиновый реагент (1%), песок, пробирки с воздушным холодильником, стаканы (500, 800 мл), ступки с пестиками, песок, лед воронки, вата; амм. раствор AgNO_3 (р-р 2%), H_2SO_4 (конц. и р-р 5%)., α -нафтол (р-р 1% спиртовой), молибденовый реагент, диэтиловый эфир, NaOH (р-р 0,04%), лакмус, CH_3COOH (р-р 5%), тимол (спиртовой 1% р-р), индикатор универсальный

Объекты исследования: дрожжи

Ход работы:

Опыт 1: Выделение дезоксирибонуклеопротеидов из дрожжей

В ступку помещают 1 г дрожжей с равным количеством песка, ставят на лед и растирают в течение 15 минут, постепенно добавляя через каждые 5 минут по 5 мл 1M-ного раствора хлорида натрия (охлажденного). Образовавшуюся гомогенную массу переносят в центрифужные пробирки, уравновешивают их и центрифицируют в течение 15 минут при 3000 об/мин. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают в мерный цилиндр. В цилиндр вносят шестикратный объем воды и медленно тонкой струйкой (по стеклянной палочке) хлорид натрия (2 M р-р) при постоянном помешивании. ДНК выделяется в виде нитей, наматывающихся на стеклянную палочку. ДНК хорошо преломляет солнечный свет и видна на свету.

Переносят в пробирку нити выделенного дезоксирибонуклеопротеида и, помешивая растворяют их в 1 мл 0,4 % р-ра гидроксида натрия. К раствору (15-20 капель) добавляют равный объем дифениламинового реагента. Смесь нагревают на кипящей водяной бане 15 минут. Освободившаяся при гидролизе дезоксирибоза реагирует с дифениламином и дает синее окрашивание.

Опыт 2. Обнаружение компонентов нуклеопротеидов

Нуклеопротеиды – сложные белки, состоящие из полипептида и нуклеиновых кислот. Нуклеиновые кислоты представлены мононуклеотидами, состоящими из пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований, пентоз и фосфорной кислоты.

а) Биуретовая реакция на полипептиды

К 1 мл гидролизата дрожжей приливают 1 мл 10% раствора гидроксида натрия NaOH и 2-3 капли 5% раствора сульфата меди CuSO₄. Появляется розово-фиолетовое окрашивание.

б) Проба на азотистые основания

К 1 мл гидролизата дрожжей добавляют 2 капли раствора гидроксида аммония NH₄OH и 0,5 мл 1% раствора нитрата серебра AgNO₃. Нагревают. Через 3-5 минут образуется рыхлый осадок бурого цвета.

в) Проба на пентозы

К 1 мл гидролизата дрожжей прибавляют 0,5 мл раствора α-нафтола и по стенке пробирки 2 мл концентрированной серной кислоты H₂SO₄. На границе раздела жидкостей наблюдают фиолетовое окрашивание.

г) Молибденовая проба на фосфорную кислоту

К 1 мл гидролизата дрожжей прибавляют 2 мл молибденового реагента и кипятят. После охлаждения на дне пробирки образуется желтый кристаллический осадок фосфорной соли молибдата аммония.

Выводы:

Лабораторная работа 8

Тема: Витамины и ферменты

Цель: познакомиться с составом, биологической ролью, авитаминозами и содержанием витамина С в продуктах питания. Познакомиться с методами обнаружения активности ферментов и их свойствами.

1 Содержание витамина С в овощах и фруктах

Оборудование: фарфоровые ступки с пестиками, пипетки градуированные, весы.

Реактивы: спиртовой раствор J₂ (5%), раствор крахмала (1 %), раствор HCl (1%), насыщенный раствор пикиновой кислоты. 2. 10%-ный раствор гидроокиси натрия.

Объекты исследования: яблоко красное и зеленое, капуста свежая и квашеная, томат свежий и соленый, картофель свежий и вареный, шиповник, хвоя и др.

Ход работы

Опыт 1. Количественное определение содержания витамина С в продуктах питания иодометрическим методом

Взвешивают 1 г исследуемого продукта и растирают его в ступке, добавляют 5 мл воды, несколько капель крахмала и немного 1% соляной кислоты для инактивации фермента аскорбиноксидазы. В качестве окислителя используют йод. Для удобства 5%-ный раствор йода разбавляют водой в 40 раз, при этом получают 0,125%-ный раствор, 1 мл которого соответствует 0,875 мг аскорбиновой кислоты. Затем производят титрование этим раствором йода исследуемой жидкости в ступке до появления устойчивого синего окрашивания крахмала, которое говорит о том, что вся аскорбиновая кислота окислилась. Замечают количество раствора йода, пошедшего на титрование и производят расчет. Для этого составляют пропорцию, зная, что 1 мл 0,125%-ного раствора йода окисляет 0,875 мг аскорбиновой кислоты. Это можно посмотреть на примере яблока.

На титрование 1 г яблока ушло 0,6 мл раствора йода. Составляют пропорцию:

1 мл йодного раствора - 0,875 мг аскорбиновой кислоты

0,6 мл ----- X -----

$$X = 0,6 \cdot 0,875 / 1 = 0,525 \text{ (мг)}$$

Итак, в 1 г яблока содержится 0,525 мг аскорбиновой кислоты. Тогда в 100 г яблока содержится $0,525 \cdot 100 = 52,5$ (мг) аскорбиновой кислоты. Полученные результаты анализируют, сравнивают между собой и с суточной потребностью организма в витамине С, равной 50-70 мг.

Заполните таблицу:

Продукт (1 г)	йода на 1 г продукта (мл)	Витамина С в 1 г продукта (мг)	Витамина С в 100 г продукта (мг)	Суточная норма продукта (г) (70 мг вит С)
1.				
2.				

2 Строение свойства и обнаружение ферментов

Объекты исследования: слюна, соевая мука, дрожжи, картофель, кровь, яблоко, молоко, пепсин желудочного сока, мясо.

Ход работы:

I. Определение активности ферментов

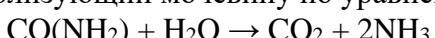
a) Гидролазы

Опыт 1. Обнаружение активности амилазы слюны

В пробирку вносят 1 мл слюны, 1 мл раствора крахмала, 2-3 капли йода (йод в йодистом калии), отмечают окраску. Перемешивают и ставят на водяную баню на 10 минут при температуре $+37^{\circ}\text{C}$. Результаты опыта, уравнение гидролиза крахмала, вывод записывают.

Опыт 2. Обнаружение активности уреазы сои

Уреаза – фермент, гидролизующий мочевину по уравнению:



Уреаза содержится в некоторых бактериях, много уреазы в бобах сои. При стоянии мочи в ней развиваются бактерии, содержащие уреазу, от действия которой мочевина начинает выделять аммиак, и моча становится щелочной (аммиачное брожение мочи).

Уреаза является очень устойчивым ферментом и активна в довольно широких пределах pH. Оптимум ее действия находится близко к нейтральной среде.

В пробирку вносят 1 шпатель соевой муки, 2 мл раствора мочевины и 2-3 капли фенолфталеина, перемешивают и ставят на водяную баню на 10 минут при температуре $+37^{\circ}\text{C}$. Отмечают окраску содержимого пробирки. Результаты опыта, уравнение гидролиза мочевины, вывод записывают.

Опыт 3. Обнаружение активности сахаразы дрожжей

В пробирку вносят 1 мл гидролизата дрожжей, 1 мл раствора сахарозы, перемешивают 1-2 минуты. Затем проделывают реакцию Троммера, отмечают окраску раствора. Результаты опыта, уравнение гидролиза сахарозы, вывод записывают.

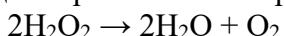
Опыт 4. Обнаружение активности пепсина желудочного сока

В пробирку помещают 0,5 мл желудочного сока, несколько кусочков мяса и ставят на водяную баню на 10 минут. Результаты опыта, уравнение гидролиза сахарозы, вывод записывают.

б) Оксидоредуктазы

Опыт 5. Обнаружение активности каталазы крови

Каталаза – фермент, участвующий в разложении пероксида водорода:



Каталаза широко распространена и содержится в большем или меньшем количестве во всех тканях и жидкостях организма. Биологическая роль каталазы заключается в разрушении вредной для организма перекиси водорода, которая накапливается в тканях при окислительных процессах.

В пробирку наливают 1 мл разбавленной крови и 1 мл пероксида водорода H_2O_2 . Наблюдают изменения в пробирке.

Результаты опыта, уравнение реакции, вывод записывают.

Опыт 6. Обнаружение активности тирозиназы (фенилоксидазы)

Чистый сырой картофельный клубень очищают от кожуры. Верхние слои клубня кусочками нарезают в ступку (2 г). Добавляют 10 мл дистиллированной воды, растирают содержимое ступки и фильтруют. Наливают в пробирку 2-3 мл раствора тирозина, добавляют 1-2 мл отфильтрованной водной вытяжки из картофеля, встряхивают и ставят пробирку на водяную баню при $+37^0C$. Периодически встряхивают пробирку для лучшего со-прикосновения раствора с кислородом воздуха. Окраска постепенно становится розовато-красной, бурой и через 1-2 часа переходит в черную. Результаты опыта, уравнение гидролиза сахарозы, вывод записывают.

Опыт 7. Определение активности пероксидазы

Пероксидазы – ферменты, вызывающие окисление ряда веществ за счет кислорода перекиси водорода или других перекисей. Реакцией на присутствие пероксидаз служит реакция окисления растворимого в воде пирогаллола в бурый нерастворимый и выпадающий в осадок пурпурогаллин

В пробирку помещаем 1-2 мл водной вытяжки картофеля, добавляют несколько капель пирогаллола и перекиси водорода H_2O_2 .

в) Дегидрогеназы

Опыт 8. Обнаружение активности сукцинатдегидрогеназы

В две пробирки помещают мышечную ткань, в одну приливают 1 мл янтарной кислоты, в другую 1 мл дистиллированной воды. В обе пробирки добавляют 2-3 капли метиленовой сини, наслаживают растительное масло и ставят на водяную баню на 10 минут при температуре $+37^0C$. Отмечают изменение окраски содержимого пробирки. Результаты опыта, механизм действия фермента, вывод записывают.

Опыт 9. Обнаружение активности дегидрогеназы молока

В пробирку наливают 1 мл свежего молока, 1 мл формальдегида и 2-3 капли метиленовой сини, перемешивают и наслаживают растительное масло. Наблюдают изменение интенсивности окраски.

II. Специфические свойства ферментов

Опыт 10. Влияние условий среды на активность ферментов

Ферменты – оксидазы и пероксидазы участвуют в окислении органических веществ кислородом воздуха и H_2O_2 соответственно. Капустный сок содержит фермент, который окисляет гидрохинон с образованием окрашенного соединения.

Провести эксперимент, создав различные условия для химической реакции и зафиксировать результаты в таблицу

№ пробирок	Гидрохинон	Капустный сок	T, 0C	H_2O_2 (1 мл)	H_2O (1 мл)	Наблюдения
1	+	+	Кипятить 3 мин	-	+	
2	+	+	Кипятить 2-3 мин, остудить	+	-	
3	+	+	$+37^0C$	-	+	
4	+	+	$+37^0C$	+	-	
5	+	+	0^0C , лед	+	-	
6	+	- (H_2O)	$+37^0C$	-	+	
7	+	- (H_2O)	$+37^0C$	+	-	
8	+	- (H_2O)	Кипятить	+	-	

Ответить на следующие вопросы:

Может ли перекись водорода окислить гидрохинон в отсутствии капустного сока? (сравнить пробирки 4-ю с 7-ой и 8-ой).

Окисляется ли гидрохинон без перекиси водорода? (сравнить пробирку 3-ю и 6-ю).

Окисляется ли гидрохинон под действием сока капусты без перекиси водорода? (пробирка 3-я).

Сохраняется ли активность ферментов в соке после кипячения? (пробирки 1-я и 2-я). При сильном охлаждении? (пробирка 5-я).

Приведите примеры объектов, содержащих оксидазы, и как доказать их наличие? Сделать вывод об условиях работы ферментов.

Опыт 8. Влияние pH среды на активность амилазы слюны

В три пробирки приливают по 1 мл растворов соответственно: NaOH, HCl, H₂O. В каждую добавляют по 1 мл раствора крахмала и слюны, перемешивают и ставят на водяную баню на 5 минут при температуре +37° С. Затем во все пробирки приливают по 2-3 капли йода. Наблюдения и вывод записывают.

Опыт 9. Специфичность ферментов

В одну пробирку наливают 1 мл свежего раствора крахмала, в другую 1 мл раствора сахарозы, в обе добавляют по 1 мл дрожжевого гидролизата, перемешивают и ставят на водяную баню на 5 минут при температуре +37° С. Затем проделывают реакцию Троммера с содержимым обеих пробирок. Результаты опыта и вывод записывают

Вывод:

Лабораторная работа 9

Тема: Биологически активные вещества

Цель работы: Познакомиться с биологически активными веществами, регуляцией активности ферментов, со строением, механизмом действия гормонов и методами их обнаружения. Обнаружить алкалоиды, дубильные вещества и гормоны в растительных объектах.

1 Взаимосвязь витаминов, ферментов и гормонов

Оборудование и реагенты: штатив с пробирками, фильтровальная бумага, воронка для фильтрования; раствор йода в йодиде калия, раствор танина, раствор соляной кислоты (10%), серная кислота (раствор), сульфат железа (II)

Объект исследования: слюна, мясная вытяжка, растворы адреналина и инсулина перец, кактус, чай, картофель, табак, бобы, кора дуба, ивы, листья бруслики и облепихи.

Ход работы:

Опыт 1: Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы

Вносят в пробирку слюну (1 мл) и разводят ее водой в 10 раз. Берут для опыта 3 пробирки. В первую вносят 10 капель воды, во вторую 8 капель воды и 2 капли 1%-ого раствора NaCl, в третью 8 капель воды и 2 капли 1%-ого раствора CuSO₄. Затем во все пробирки вносят по 5 капель крахмала и по 20 капель разбавленной слюны. Даем раствору постоять 5 минут. В это время готовим еще три пробирки. В каждую вносим по 1 мл дистиллированной воды и по 1 капли J₂ в KJ, а затем добавляем 2-3 капли содержимого опытных пробирок соответственно. Наблюдают изменение окраски йода в пробирках. Делят выводы, какие ионы активируют, а какие ингибируют амилазу. Почему перед приемом пищи полезно съесть немного квашеной капусты?

Опыт 2. Качественные реакции на инсулин.

а) Обнаружение пептидных связей.

К 0,5 мл инсулина прибавляют 0,5 мл гидроксида натрия и 1 каплю сульфата меди. Перемешивают. Записывают наблюдения.

б) Обнаружение ароматических аминокислот.

К 0,5 мл инсулина прибавляют 5-6 капель концентрированной азотной кислоты до появления мути от свернувшегося белка. При нагревании и растворе осадок окрашиваются в ярко-желтый цвет.

в) Обнаружение цистеина.

В пробирку вносят 0,5 мл инсулина, затем добавляют двойной объем концентрированного раствора щелочи и 0,5 мл уксуснокислого свинца. Нагревают. Записывают наблюдения.

Опыт 3: Качественные реакции на адреналин.

К 0,5 мл адреналина прибавляют 2 мл воды и 1 каплю раствора хлорида железа (III). Содержимое пробирки окрашивается в изумрудно-зеленый цвет. От прибавления 1 капли 10% раствора аммиака окраска переходит в вишнево-красную, а затем в коричневую.

Опыт 4. Активирование сукцинатдегидрогеназы мышц фосфатами.

В две пробирки помещают мышечную ткань, в одну приливают 1 мл янтарной кислоты, затем в одну добавляют 1 мл фосфатного буфера, в другую 1 мл дистиллированной воды. В обе пробирки добавляют 2-3 капли метиленовой сини, насыпают растительное масло и ставят на водяную баню на 10 минут при температуре +37⁰ С. Отмечают изменение окраски содержимого пробирки. Результаты опыта, механизм действия фермента, вывод записывают.

2 Низкомолекулярные биорегуляторы

Оборудование и реагенты: штатив с пробирками, фильтровальная бумага, воронка для фильтрования; раствор йода в йодиде калия, раствор танина, раствор соляной кислоты (10%), серная кислота (раствор), сульфат железа (II), перец, кактус, чай, картофель, табак, бобы, кора дуба, ивы, листья бруслики и облепихи, растворы адреналина и инсулина.

Ход работы:

Опыт 1: Обнаружение алкалоидов.

1. Готовят водную вытяжку из исследуемых объектов (п-рец, кактус, чай, картофель, табак, бобы).

2. Вытяжку фильтруют.

3. Фильтр подкисляют и обрабатывают раствором йода в йодиде калия.

Наблюдают образование шоколадно-коричневого осадка двойной соли алкалоидов. Причем, скорость развития осадка и его количества различны, т.к. различно содержание алкалоидов в исследуемых объектах.

Результаты исследования оформляют в виде таблицы, поскольку данная методика позволяет провести качественный анализ. Данные о процентном содержании алкалоидов в растениях берут из литературы.

4. Раствор танина (1 г танина, 1 г спирта и 8 частей воды) подкисляют серной кислотой. Алкалоиды выпадают в осадок.

5. На млечный сок семейства маковых (мак, чистотел) действуют 10%-ным раствором соляной кислоты. Выпадают кристаллики в виде звездочек, призм, игл, окрашенные в оранжевый или желто-коричневый цвет. Реакция наглядна на свежем материале.

Опыт 2: Обнаружение дубильных веществ.

Для приготовления отваров растительного сырья (коры дуба, ивы, листьев бруслики, облепихи) материал измельчают (размер частиц 3-5 мл) помещают сырье в эмалированную посуду, добавляют воды (1:10), накрывают крышкой и ставят па водяную баню. Если сырье - стебли и листья растений, то время приготовления 15 минут, если кора или корни -30 минут. Раствор охладить, процедить и использовать в работе.

К полученным растворам приливают несколько капель водного раствора сульфата железа (II). В присутствии дубильных веществ жидкость становится почти черной или приобретает синевато-зеленоватый оттенок.

Выводы:

Лабораторная работа 10

Тема: Биологическое окисление

Цель: Познакомиться с понятием обмена веществ и энергии, строением макроэргических соединений, видами биологического окисления.

Объект исследования: дрожжи, мясо, рыба, моча.

Ход работы:

Опыт 1. Использование неорганического фосфата для синтеза АТФ.

Лопаточку дрожжей и лопаточку глюкозы внести в пробирку. Добавить 5 мл дистиллированной воды и 10 мл фосфатного буфера, хорошо встряхнуть. Через 15 минут определить содержание фосфатов. Отмерить 3 мл смеси в цилиндр на 25 мл, осадить белки 2 мл 10 % раствора ТХУ, нейтрализовать 10 % раствором гидроксида аммония в присутствии капли фенолфталеина до слаборозовой реакции. Прилить 0,5 мл молибдата аммония. Встряхнуть, прилить 0,25 мл 1 % раствора аскорбиновой кислоты (свежеприготовленной), перемешать и долить водой до 10 мл (это первая проба). Затем через 30 минут выполнить вторую пробу, затем третью. Наблюдаем синюю окраску разной интенсивности.

Опыт 2. Количественное определение фосфата в мышцах.

Навеску 1 г мышц хорошо растереть в ступке, прибавить 5 мл дистиллированной воды и 2 мл 10 % раствора ТХУ. Отфильтровать раствор через фильтр в пробирку. Отмерить 2 мл фильтрата и внести в колбу на 50 мл. Разбавить дистиллированной водой до ½ колбы, внести одну каплю фенолфталеина, 10 % амиаком до слаборозовой окраски и выполнить реакцию на определение неорганического фосфата. (1 мл молибдата аммония, 0,5 мл 1 % раствора аскорбиновой кислоты, тщательно перемешать и довести водой до метки). Если есть осадок, то через 15 минут отфильтровать. Определяем на ФЭК при красном фильтре ($\lambda=670$ нм, $l=10\text{мм}$). По калибровочному графику определить содержание фосфатов в мышцах.

Опыт 3. Анализ АТФ.

а) Обнаружение аденина.

К 0,5 мл гидролизата дрожжей добавляют 2 капли аммиачного раствора оксида серебра. Затем раствор нагревают.

б) Обнаружение рибозы.

К 0,5 мл гидролизата дрожжей добавляют 0,5 мл α -нафтоля, а затем осторожно, по стенке пробирки, не перемешивая 0,5 мл конц. серной кислоты. В результате взаимодействия образуются зелёное и малиновое кольца.

В) Обнаружение фосфорной кислоты.

К 0,5 мл гидролизата дрожжей добавляют 2 капли раствора молибдата аммония в азотной кислоте. Пробирку нагревают (осторожно, не кипятить). Жидкость окрашивается в жёлтый цвет, а затем выпадает осадок.

Опыт 4. Обнаружение креатина и креатинина.

В пробирку помещают 0,5 мл мясной вытяжки или мочи, добавляют 1 каплю 10 % раствора гидроксида натрия и 1 каплю пикриновой кислоты. Появляется оранжево-красная окраска.

Лабораторная работа 11

Тема: Обмен углеводов

Цель: познакомиться с перевариванием углеводов в ЖКТ, рассмотреть пути окисления глюкозы в клетке, вычислить энергетический эффект окисления углеводов.

Объекты исследования: глюкоза (1%), крахмал (1%), сахароза (1%), мышца, молоко (свежее).

Ход работы:

Опыт 1. Переваривание углеводов амилазой слюны

В пробирку вносят 0,5 мл р-ра амилазы, добавляют 1 мл 1% р-ра крахмала, помещают на 30 минут на водянную баню. К содержимому пробирки добавляют 2-3 капли сульфата меди и 8-10 капель гидроксида натрия, р-р нагревают. Появление оранжевой окраски свидетельствует о появлении в растворе молекул глюкозы.

Опыт 2. Проба на брожение

Некоторые моносахариды под влиянием ферментов различных микроорганизмов подвергаются процессам распада, известным под названием брожение. Брожение бывает: спиртовое, молочнокислое, маслянокислое, уксуснокислое, ацетоновое и др. Процессы брожения сахаров имеют большое технологическое значение в виноделии, пивоварении, производстве уксуса пр. Под действием обыкновенных дрожжей глюкоза распадается на винный спирт и углекислый газ по схеме:



К спиртовому брожению способны только гексозы (а также триозы и нононозы). Другие моносахариды (например, пентозы) не бродят. Кроме того, различные конфигурации моносахаридов отражаются на способности их к брожению, из двух оптических изомеров, например гексоз, легче бродит тот изомер, который встречается в природе, например, D-глюкоза.

Для качественной пробы на брожение обычно пользуются специальными бродильными трубками, куда помещают исследуемый раствор и свежие дрожжи. Образующийся в результате брожения углекислый газ накапливается в трубке и узнаётся по поглощению его щёлочью. Присутствие в трубке этилового спирта обнаруживается с помощью реакции получения йодоформа:



1. Лопаточку дрожжей вносят в пробирку, добавляют 5 мл H_2O и тщательно перемешивают.

2. Так как брожение лучше всего идёт в слабо кислой среде, добавляют около 1 мл 1% раствора виннокаменной кислоты (до кислой реакции на лакмус). Благодаря добавлению слабой органической (виннокаменной) кислоты реакция среды не сдвигается слишком сильно в кислую сторону, как это бы от минеральной кислоты, и устанавливается при $\text{pH}=5-6$.

3. Делят содержимое пробирки на две пробирки (одна контрольная, другая опытная) и в опытную вносят 1 мл 5% глюкозы.

4. Обе пробирки помещают в термостат при температуре 30 - 35°C на 1 час (в зависимости от активности дрожжей).

5. Вынимают обе пробирки из термостата, и если дрожжи активны и сами не содержат сбраживаемых сахаров, то наблюдается отсутствие образования газа (или появление ничтожного количества газа) в одной пробирке и накопление газа в другой.

6. Для того чтобы убедиться в том, что газ, образовавшийся в опытной пробирке, представляет собой CO_2 , необходимо внести горящую лущину, которая погаснет.

7. Для обнаружения этилового спирта, в пробирку с реакционной смесью добавляют несколько капель раствора $\text{NaOH} - 10\%$, а затем несколько капель раствора йода до появления желтого окрашивания и сильно подогревают. Через некоторое время ощущается характерный запах йодоформа.

Опыт 3. Обнаружение молочной кислоты

В пробирку внести 0,5 мл раствора фенола, добавляют такое же количество хлорида трехвалентного железа. К появившемуся фиолетового цвета содержимому пробирки добавить несколько капель молока. Появление зеленовато-коричневой окраски свидетельствует о присутствии в молоке молочной кислоты.

Результат опыта объясняют и записывают.

Опыт 4. Качественная реакция на пировиноградную кислоту

В пробирку наливают 1 мл раствора, содержащего пировиноградную кислоту, и добавляют 0,5 мл 0,1% раствора 2,4-дифенилгидрозина. Перемешивают и через 5 минут до-

бавляют 2,5мл водонасыщенного тимола. Содержимое пробирки встряхивают и оставляют в вертикальном положении для расслоения тимола и воды. Верхний слой отбирают пипеткой в другую пробирку и добавляют 2мл 2,5% спиртового раствора едкого калия. В течение нескольких минут образуется характерное окрашивание.

Опыт 4 Количество определение хлорофилла в растениях методом Т. Н. Годнева

Для изготовления стандарта в мерную колбу V=100 мл точно отмеривают растворы: CuSO₄ – 28,5 мл, K₂Cr₂O₇ – 50 мл, NH₄OH – 10 мл, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

Приготовленный таким образом раствор колориметрически эквивалентен раствору кристаллического хлорофилла, содержащего 85 мг в литре. Полученный раствор колориметрируют на КФК-2. Расчет содержания хлорофилла производится по формуле:

где: x – искомая концентрация хлорофилла в мг на 100 г экстракта,

r – концентрация хлорофилла в мг в 1 мл стандарта,

v – объем экстракта в мл,

g - навеска материала в г.

При вычислении объема надо учитывать, какая часть экстракта была взята для колориметрирования.

Выводы:

Лабораторная работа 12

Тема: Обмен липидов и белков

Цель: познакомиться с перевариванием жиров и белков в ЖКТ, превращением глицерина, высших карбоновых кислот и аминокислот в клетке и продуктами их обмена. Рассчитать энергетический эффект окисления жиров и белков.

1 Обмен липидов

Объекты исследования: растительное масло, молоко, мозг, желток куриного яйца.

Опыт 1. Гидролиз жира липазой и роль желчи

Гидролиз жиров удобнее всего наблюдать при помощи липазы панкреатического сока. В качестве субстрата лучше всего взять молоко, жир которого, находясь в эмульгированном состоянии, быстро расщепляется на глицерин и жирные кислоты. Последние можно оттитровать щелочью.

1. В 2 колбы (№1 и 2) отмерить цилиндром по 10 мл молока и добавить в каждую по 0,5 мл вытяжки липазы (панкреатин). В колбу №1 добавить 2 капли желчи (для активирования липазы).

2. Быстро перемешать содержимое каждой колбы. Отобрать по 1 мл жидкости и перенести их в 2 другие колбы (для титрования).

3. Первые две колбы (№1 и 2) поместить в водянную баню при +37°C.

4. В колбы для титрования прибавить по 5 мл воды (дист.) и по 2 капли р-ра фенолфталеина.

5. Оттитровать содержимое каждой колбы 0,1 н щелочью до слабо-розового окрашивания при непрерывном и тщательном помешивании. По окончании титрования записать результаты; содержимое вылить, и колбы помыть.

6. Еще 3-4 раза через каждые 15 минут взять из колбы №1 и 2 пробы по 1 мл и оттитровать их с водой и фенолфталеином, как описано выше.

7. Сравнить объемы 0,1 н щелочи, пошедшие на титрование каждой пробы из колб №1 и 2, и, отложив их по времени, вычертить кривые расщепления жира.

Так как гидролиз идет постепенно, количество освобождающихся жирных кислот нарастает во времени. Желчь (составленно соли желчных кислот) имеет большое значение для переваривания даже такого сильно эмульгированного жира, как жир молока. Роль желчи для переваривания других жиров еще важнее, так как, помимо активации липазы,

желчь переводит жиры в эмульгированное состояние (а также способствует всасыванию жирных кислот). При недостаточном поступлении желчи в кишечник жиры переходят в кал почти неизмененными.

Опыт 2. Эмульгирование жиров.

В 4 сухие пробирки поместить по 0,5 мл подсолнечного масла, добавить по 0,5 мл в 1 пробирку р-р мыла, во – вторую – р-р карбоната натрия 10%, в третью – желчь, в четвертую – воду. Содержимое пробирок интенсивно перемешать. Эмульсия образуется в трех первых пробирках.

Опыт 3. Качественная реакция на желчные кислоты.

В пробирку внести 8-10 капель желчи, добавить 0,5 мл р-ра сахарозы 1% и осторожно по стенке пробирки серную кислоту (конц.). Р-р не встряхивать. Появление кольца коричневого цвета подтверждает присутствие в растворе желчных кислот.

2 Обмен белков

Объекты исследования: моча, мясо, мочевина.

Опыт 1. Ферментативный гидролиз белков, роль соляной кислоты.

В 4 пробирки поместить мышечную ткань. Прилить в 1-ю – 2 мл соляной кислоты (2%); во 2-ю – пепсин кислый; в 3-ю – пепсин нейтральный; в 4-ю – пепсин щелочной. Установить пробирки в водянную баню на 10-20 минут, затем провести биуретовую реакцию во 2-й, 3-й, 4-й пробирках.

Результаты опыта, уравнение гидролиза белка и вывод записать.

Опыт 2. Качественные реакции на мочевину. Получение кристаллов азотнокислой мочевины.

1. На предметное стекло поместить несколько кристаллов мочевины, прибавить каплю воды и осторожно покачать стекло до растворения мочевины.

2. Добавить каплю азотной кислоты – образуются кристаллы азотнокислой мочевины. Закрыть покровным стеклом и рассмотреть под микроскопом при увеличении в 200-250 раз. Зарисовать.

Опыт 3. Качественные реакции на мочевину. Получение кристаллов щавелевокислой мочевины.

Получить кристаллы, как в опыте 2, нанося на предметное стекло вместо азотной кислоты р-р щавелевой кислоты. Рассмотреть кристаллы под микроскопом при увеличении в 50 раз. Зарисовать.

Опыт 4. Качественная реакция на карнозин.

Поместить в пробирку 0,5 г мышечной кашицы, добавить 2 мл воды, перемешать. Прилить 2 мл р-ра сульфосалициловой кислоты для осаждения белка. Осадок белка отфильтровать. Прилить в пробирку 0,5 мл фильтрата, добавить 1 мл диазореактива и 2 мл р-ра соды. Наблюдать оранжево-красное окрашивание.

Выводы:

Лабораторная работа 13

Тема: ПЦР-анализ

Цель: Познакомиться с методом обнаружения гена белка лектина

Оборудование и реагенты: Термостат для пробирок типа эппendorф ТЕРМО 24-15, Микроцентрифуга-вортекс ТЭТА-2, набор автоматических пипеток (дозаторов), буфер ЛБ, буфер ОБ-1, буфер ОБ-2, буфер ТЕ, сорбент, амплификатор АМПЛИ-4, УФ-бокс, прибор для горизонтального электрофореза НИП-300, видеосистема «VITran» с компьютером для сканирования гелей, набор автоматических пипеток (дозаторов), пробирки «ПЦР-ядро», ПЦР-растворитель, смесь праймеров, положительный контроль, буфер для электрофореза, агароза, бромистый этидий, краска-лидер.

Опыт 1: Выделение ДНК сои

ДНК сои (ген белка лектина) определяют с помощью наборов реагентов «LEC-ПЦР ядро» производства ООО «Компания Биоком» (Москва). Реагенты предназначены для специфической амплификации и детекции наиболее распространенных компонентов синтетических ДНК-конструкций.

Пробоподготовка

1. В пробирку вносили немного исследуемой пробы. Добавляли лизирующий буфер, а затем пробу гомогенизировать до однородного состояния.
2. Пробирку с полученным гомогенатом помещали в термостат на 40 мин при температуре 65°C.
3. Встряхивали содержимое на вортексе и затем центрифугировали при 10 тыс. оборотов в минуту. Надосадочную жидкость перенесли в чистую пробирку.
4. Добавляли в пробу сорбента и тщательно перемешивали, используя центрифугу на 10 тыс об/мин.
5. Надосадочную жидкость удаляли, а к осадку добавляли буфер ОБ-1 и центрифугировали при 2 тыс об/мин несколько секунд.
6. Надосадочную жидкость удаляли и вновь промывали выделенную ДНК.
7. Добавляли буфер ОБ-2 и вновь центрифугировали при 2 тыс об/мин, затем надосадочную жидкость удаляли.
8. Осадок сушили в термостате.
9. Добавляли к осадку буфер ТЕ, встряхивали на вортексе, помещали в термостат на 10 минут и центрифугировали при 10 тыс об/мин.
10. Надосадочную жидкость переносили в чистую пробирку.

Опыт 2: Обнаружение гена белка лектина.

Амплификация

1. Добавляли в пробирки «ПЦР – ядро» растворителя и смесь праймеров, встряхивали и вносили исследуемые образцы. В одну пробирку вносили отрицательный контроль (ТЕ – буфер), в другую – положительный контроль. Затем центрифугировали при 2 тыс об/мин.
2. Пробирки с ПЦР смесью помещали в прибор для ПЦР - анализа и запускали программу, состоящую из 35 циклов ПЦР.

Детекция амплифицированных фрагментов ДНК

Для выявления амплифицированных фрагментов ДНК использовали электрофорез на пластинах агарозного геля с добавлением бромистого этидия. Напряжение 100-150В, время 30 мин. Используя программу «Биоком» через трансиллюминатор полученный результат переводим на экран компьютера и сохраняем.

Выводы:

Лабораторная работа 14

Тема: Влияние физических нагрузок на биохимические процессы в организме

Цель: Познакомиться с химическим составом мышечной ткани, энергетическим обменом в мышечной клетке и рассмотреть влияние физических нагрузок на биохимические процессы.

Оборудование и реактивы: штатив с пробирками, аммиачный раствор азотнокислого серебра, р-р хлорида бария (5%), р-р молибденово-кислого аммония (3%), мурексид сухой, р-р NaOH (10%), р-р CuSO₄ (1%), мясная вытяжка; универсальная индикаторная бумага, хроматографическая бумага, нингидрин (0,1% спиртовой).

Ход работы:

Опыт 1. Определение неорганических соединений в мышечной ткани:

- а) хлорид-ионов (Cl⁻): в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель раствора нитрата серебра;
- б) сульфат-ионов (SO₄²⁻): в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель хлорида бария;
- в) фосфат-ионов (PO₄³⁻): в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель молибденовокислого аммония. Затем нагревают раствор.

г) катионов кальция (Ca^{2+}): в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта, добавляют 5-6 капель 10% раствора щелочи и несколько пылинок мурексида.

Опыт 2. Определение органических соединений в мышечной ткани:

а) реакция на белок: в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель 10% раствора щелочи и 1-2 капли 1% раствора CuSO_4 . Наблюдают фиолетовое окрашивание;

б) реакция на глюкозу: в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта и добавляют 8-10 капель 10%-ного раствора щелочи и 1-2 капли 1%-ного раствора CuSO_4 . Нагревают. наблюдают желтое окрашивание;

в) реакция на молочную кислоту: в пробирку вносят 0,5 мл мясного экстракта, добавляют 0,5 мл раствора фенола, затем такое же количество хлорида железа (III). Появляется зеленовато-коричневая окраска.

Опыт 3. Определение продуктов анаэробного окисления.

Вносят слюну в пробирку. Смачивают индикаторную универсальную бумагу слюной. Отмечают значение pH. Выполняют в течение 50-60 секунд силовые упражнения (приседания, отжимания). Вносят слюну во вторую пробирку. Снова смачивают индикаторную универсальную бумагу слюной и отмечают значение pH, сравнивая показатели pH. Затем в обеих пробирках проводят качественную реакцию на активность амилазы слюны. Делают вывод о состоянии буферной системы своего организма.

Опыт 4. Определение продуктов аэробного окисления.

На полоске хроматографической бумаги с одного края ставят карандашом точку, а затем отпечаток большого пальца (левой руки). В течение 1,5-2 минут выполняют рукой силовые упражнения и наносят отпечаток (этого же пальца) с противоположного края. Бумагу опускают в раствор нингидрина и помещают в сушильный шкаф или сушат над горячей электроплиткой. По четкости отпечатков судят о количестве выделившегося пота.

Выводы:

6 ДИДАКТИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ (САМОКОНТРОЛЯ) УСВОЕННОГО МАТЕРИАЛА

6.1 Оценочные средства, показатели и критерии оценивания компетенций

Индекс компетенции	Оценочное средство	Показатели оценивания	Критерии оценивания сформированности компетенций
ОПК-1 ОПК-2 ПК-1	Собеседование	Низкий (неудовлетворительно)	Студент отвечает неправильно, нечетко и неубедительно, дает неверные формулировки, в ответе отсутствует какое-либо представление о вопросе
		Пороговый (удовлетворительно)	Студент отвечает неконкретно, слабо аргументировано и не убедительно, хотя и имеется какое-то представление о вопросе
		Базовый (хорошо)	Студент отвечает в целом правильно, но недостаточно полно, четко и убедительно
		Высокий (отлично)	Ставится, если продемонстрированы знание вопроса и самостоятельность мышления, ответ соответствует

			требованиям правильности, полноты и аргументированности.
Контрольная работа	Низкий (неудовлетворительно)		опустил число ошибок и недочетов превосходящее норму, при которой может быть выставлена оценка «3»
	Пороговый (удовлетворительно)		если студент правильно выполнил не менее половины работы или допустил: не более двух грубых ошибок; или не более одной грубой и одной негрубой ошибки и одного недочета; или не более двух-трех негрубых ошибок; или одной негрубой ошибки и трех недочетов; или при отсутствии ошибок, но при наличии четырех-пяти недочетов.
	Базовый (хорошо)		студент выполнил работу полностью, но допустил в ней: не более одной негрубой ошибки и одного недочета или не более двух недочетов
	Высокий (отлично)		работа выполнена без ошибок, указаны все расчетные формулы, единицы измерения, без ошибок выполнены математические расчеты
Тест	Низкий (неудовлетворительно)		Количество правильных ответов на вопросы теста менее 60 %
	Пороговый (удовлетворительно)		Количество правильных ответов на вопросы теста от 61-75 %
	Базовый (хорошо)		Количество правильных ответов на вопросы теста от 76-84 %
	Высокий (отлично)		Количество правильных ответов на вопросы теста от 85-100 %
Реферат	Низкий (неудовлетворительно)		Тема реферата не раскрыта, обнаруживается существенное непонимание проблемы.
	Пороговый (удовлетворительно)		Имеются существенные отступления от требований к реферированию. В частности: тема освещена лишь частично; допущены фактические ошибки в содержа-

			ния реферата или при ответе на дополнительные вопросы; во время защиты отсутствует вывод.
	Базовый (хорошо)		Основные требования к реферату и его защите выполнены, но при этом допущены недочёты. В частности, имеются неточности в изложении материала; отсутствует логическая последовательность в суждениях; не выдержан объём реферата; имеются упущения в оформлении; на дополнительные вопросы при защите даны неполные ответы.
	Высокий (отлично)		Выполнены все требования к написанию и защите реферата: обозначена проблема и обоснована её актуальность, сделан краткий анализ различных точек зрения на рассматриваемую проблему и логично изложена собственная позиция, сформулированы выводы, тема раскрыта полностью, выдержан объём, соблюдены требования к внешнему оформлению, даны правильные ответы на дополнительные вопросы.
	Низкий (неудовлетворительно)		опустил число ошибок и недочетов превосходящее норму, при которой может быть выставлена оценка «3»
Самостоятельные письменные работы (серии)	Пороговый (удовлетворительно)		студент правильно выполнил не менее половины работы или допустил: не более двух грубых ошибок; или не более одной грубой и одной негрубой ошибки и одного недочета; или не более двух-трех негрубых ошибок; или одной негрубой ошибки и трех недочетов; или при отсутствии ошибок, но при наличии четырех-пяти недочетов.
	Базовый (хорошо)		студент выполнил работу полностью, но допустил в ней: не более одной негру-

			бой ошибки и одного недочета или не более двух недочетов
		Высокий (отлично)	работа выполнена без ошибок, указаны все формулы, ферменты, протекающие реакции приведены полностью.
	Отчет по лабораторной работе	Низкий (неудовлетворительно)	Ставится, если студент допустил 3-4 ошибки (в проведении лабораторной работы, в объяснении, в оформлении наблюдений и выводов, по технике безопасности), которые не исправляются даже по указанию преподавателя.
		Пороговый (удовлетворительно)	Если студентом допущены одна-две существенные ошибки (в ходе эксперимента, в объяснении, в оформлении работы, по технике безопасности, в работе с веществами и приборами), которые исправляются с помощью преподавателя; Подбор оборудования, объектов, материалов и работы по началу опыта провел с помощью преподавателя; В ходе проведения опыта и измерений были допущены ошибки в описании наблюдений, формулировании выводов; Допускает грубую ошибку в ходе эксперимента (в объяснении, в оформлении работы, в соблюдении правил техники безопасности при работе с материалами и оборудованием), которая исправляется по требованию преподавателя.
		Базовый (хорошо)	Работа выполнена правильно, без существенных ошибок, сделаны выводы; Допустимы: неполнота проведения или оформления эксперимента, одна-две несущественные ошибки в проведении или оформлении

			эксперимента, в правилах работы с веществами и приборами.
Эссе		Высокий (отлично)	<p>Работа выполнена полно, научно грамотно, логично описаны наблюдения; правильно, без существенных ошибок, поставлена цель и сделаны выводы;</p> <p>Эксперимент осуществлен по плану с учетом техники безопасности и правил работы с веществами и приборами;</p> <p>Имеются организационные навыки (поддерживается чистота рабочего места и порядок на столе, экономно используются реактивы);</p> <p>В представленном отчете правильно и аккуратно выполнил все записи, таблицы, рисунки, чертежи, графики, вычисления и правильно выполнил анализ погрешностей.</p>
		Низкий (неудовлетворительно)	Тема эссе не раскрыта, обнаруживается существенное непонимание проблемы.
		Пороговый (удовлетворительно)	Представлена собственная точка зрения при раскрытии проблемы, но проблема раскрыта формально, аргументация приведена без теоретического обоснования.
		Базовый (хорошо)	Представлена собственная точка зрения при раскрытии проблемы, но теоретические связи не прослеживаются.
		Высокий (отлично)	Представлена собственная точка зрения при раскрытии проблемы, раскрытоей на высоком теоретическом уровне с правильным использованием понятий в контексте ответа. Даётся аргументация собственного мнения.

6.2 Промежуточная аттестация студентов по дисциплине

Промежуточная аттестация является проверкой всех знаний, навыков и умений студентов, приобретённых в процессе изучения дисциплины. Формой промежуточной аттестации по дисциплине является экзамен.

Для оценивания результатов освоения дисциплины применяется следующие критерии оценивания.

Критерии оценивания устного ответа на экзамене

Оценка «5» (отлично) ставится, если студент:

1. Полнο раскрыто содержание материала билета.
2. Материал изложен грамотно, в определенной логической последовательности, точно используется терминология.
3. Показано умение иллюстрировать теоретические положения конкретными примерами, применять их в новой ситуации.
4. Продемонстрировано усвоение ранее изученных сопутствующих вопросов, сформированность и устойчивость компетенций, умений и навыков.
5. Ответ прозвучал самостоятельно, без наводящих вопросов.
6. Допущены одна-две неточности при освещении второстепенных вопросов, которые исправляются по замечанию.

Оценка «4» (хорошо) ставится, если:

1. Ответ удовлетворяет в основном требованиям на оценку «5», но при этом имеет один из недостатков:
2. В изложении допущены небольшие пробелы, не искажившие содержание ответа.
3. Допущены один-два недочета при освещении основного содержания ответа, исправленные по замечанию экзаменатора.
4. Допущены ошибки или более двух недочетов при освещении второстепенных вопросов, которые легко исправляются по замечанию экзаменатора.

Оценка «3» (удовлетворительно) ставится, если:

1. Неполно или непоследовательно раскрыто содержание материала, но показано общее понимание вопроса и продемонстрированы умения, достаточные для дальнейшего усвоения материала.
2. Имелись затруднения или допущены ошибки в определении понятий, использовании терминологии, исправленные после нескольких наводящих вопросов.
3. При неполном знании теоретического материала выявлена недостаточная сформированность компетенций, умений и навыков, аспирант не может применить теорию в новой ситуации.

Оценка «2» (неудовлетворительно) ставится, если:

1. Не раскрыто основное содержание учебного материала.
2. Обнаружено незнание или непонимание большей или наиболее важной части учебного материала.
3. Допущены ошибки в определении понятий, при использовании терминологии, которые не исправлены после нескольких наводящих вопросов.
4. Не сформированы компетенции, умения и навыки.

6.3 Типовые контрольные задания или иные материалы, необходимые для оценки результатов освоения дисциплины

КОМПЛЕКТ ЗАДАНИЙ ДЛЯ КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЫ П СТРОЕНИЕ И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ БИОМОЛЕКУЛ Контрольная работа № 1

Вариант – 1

1. Напишите образование пептида ала-асп-тир. Каков суммарный заряд пептида в кислой, щелочной и нейтральной среде. Укажите роль этих процессов.
2. Строение и механизм действия декарбоксилазы. Что такое активный центр ферментов?

3. Что понимают под третичной структурой белка гемоглобина. Какова ее роль? Какие виды взаимодействий поддерживают третичную структуру белковой молекулы? Приведите примеры формулами.
4. Напишите мононуклеотид АМФ

III БИОЭНЕРГЕТИКА, МЕТАБОЛИЗМ И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ

Контрольная работа №3

Вариант – 1

1. Строение внутренней мембранны.
2. Переваривание углеводов в ЖКТ.
3. Анаэробное окисление глюкозы
5. Рассчитать энергетический эффект окисления молекулы гемоглобина.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ ПИСЬМЕННОЙ РАБОТЫ (Серии)

I ВВЕДЕНИЕ

Тема: Электрофорез. Хроматография.

1. Напишите классификацию дезинтегрирующих воздействий по их природе.
2. Опишите методы, используемые для разрушения клеточных стенок (гомогенизация клеточного материала). Укажите условия экстракции белков.
3. Укажите методы фракционирования белков.
4. Опишите методы очистки белков от низкомолекулярных примесей.
5. Напишите ряд катионов и анионов, обладающих хорошим растворяющим действием.
6. Укажите буферные смеси, применяемые для растворения белков.
7. Напишите формулы основных детергентов, применяемых для извлечения белков из биологического материала. Какова их роль?
8. На каких свойствах белков основан метод фракционирования белков солевыми растворами. Что такое высаливание?
9. На каких свойствах белков основан метод осаждения ионами тяжелых металлов?
10. В чем заключается метод электрофореза?
11. Какие среды используются для электрофореза?
12. Напишите формулу красителя для электрофореза.
13. Напишите химическое строение полиакриламидного геля и его роль.
14. Укажите направление движения белков с известной изоточкой в процессе электрофореза (к катоду, аноду или останутся на месте при различных значениях pH, при заданном значении pH. Яичный альбумин $pI=4,6$ при $pH=5,0$; $pH=7,0$; пепсин $pH \sim 1,0$ при $pH=1,0$; $pH=7,0$; химотрипсиноген $pH=9,0$ при $pH=5,0$; $pH=9,5$; $pH=11,0$.
15. Что такое изоэлектрическая точка и особенности метода изоэлектрофокусирования?
16. В чем заключается сущность метода хроматографии? Укажите ее роль для развития науки и промышленности.
17. Укажите основные виды хроматографии и принципы разделения смесей.
18. Чем отличается тонкослойная хроматография?
19. Напишите строение сефадекса. Каким способом его получают?
20. На чем основан метод центрифугирования? Укажите условия центрифугирования для разделения экстрактов клеток на субклеточные компоненты.
21. В чем суть метода радиоавтографии и метода меченых атомов:
22. Как определить константу седиментации и в чем она выражается?
23. Какова роль радиоавтографии?
24. Что такое метод гибридом.
25. ПЦР-анализ.

ВОПРОСЫ К СОБЕСЕДОВАНИЮ

II СТРОЕНИЕ И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ БИОМОЛЕКУЛ

Собеседование 1: «Белки – основа жизни»

1. Аминокислоты, классификация и свойства
2. Структура белковой молекулы на примере гемоглобина.
3. Строение нуклеиновых кислот. Мононуклеотиды.
4. Строение и механизм действия ферментов.
5. Свойства ферментов.
6. Строение и механизм действия сложных ферментов на примере декарбоксилазы, трансферазы, НАД и ФАД дегидрогеназ.
7. Подготовить сообщения о строении и функции любого белка (коллаген, лизоцим, миозин, миоглобин, иммуноглобулины, цитохромы и т. д.).
8. Взаимосвязь витаминов, ферментов и гормонов.

ПРИМЕРЫ ТЕСТОВЫХ ЗАДАНИЙ

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ БЛАГОВЕЩЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Тест по дисциплине «Химические основы биологических процессов №1-1

Инструкция для студента

Тест содержит 25 заданий, из них 15 заданий – часть А, 5 заданий – часть В, 5 заданий – часть С. На его выполнение отводится 90 минут. Если задание не удается выполнить сразу, перейдите к следующему. Если останется время, вернитесь к пропущенным заданиям. Верно выполненные задания части А оцениваются в 2 балла, части В – 2 балла, части С – 5 баллов.

Часть А

К каждому заданию части А даны несколько ответов, из которых только один верный. Выполнив задание, выберите верный ответ и укажите в бланке ответов.

- А 1. Какая аминокислота в водном растворе имеет суммарный положительный заряд:
- а) серин
 - б) глутаминовая кислота
 - в) лизин
 - г) лейцин
 - д) аспарагин
- А 2. Найдите правильный ответ: вазопрессин – это
- а) антибиотик, активный против пневмококков.
 - б) циклический декапептид.
 - в) продукт, образующийся при гидролизе белков.
 - г) гормон, стимулирующий сокращение гладких мышц кровеносных сосудов и регулирует водный обмен.
 - д) ядовитое вещество, которое выводится из организма.
- А 3. Какое утверждение неправильное:
- а) α – спиральная конформация полипептидной цепи характеризуется предельно плотной упаковкой.
 - б) на каждый виток правозакрученной α – спирали приходится 3,6 аминокислотных остатков.
 - в) на свойства белков не влияют изменения рН и температуры среды.
 - г) вирус табачной мозаики состоит из большого числа субъединиц.
 - д) в формировании α – спирали и β – структуры главная роль принадлежит водородным связям.
- А 4. Полиневрит – это

а) В₁ – авитаминоз.

б) полиавитаминоз, вызванный отсутствием витаминов РР и В₆ и зависящий от количества триптофана в диете.

в) нарушение нормального отложения фосфата кальция в костной ткани из – за отсутствия кальциферолов.

г) болезнь, выражаясь в повышении проницаемости и хрупкости кровеносных сосудов вследствие недостаточности витамина.

д) заболевание роговицы глаза, вызванное авитаминозом.

А 5. Каталитический центр – это

а) участок молекулы фермента, в результате присоединения к которому какого – либо вещества изменяется третичная структура молекулы фермента и , как следствие этого, изменяется каталитическая активность.

б) участок молекулы фермента, ответственный за присоединение вещества, подвергающегося ферментативному превращению.

в) комплекс нескольких ферментов работающих как единый энзим.

г) участок молекулы фермента, ответственный одновременно и за присоединение субстрата, и за осуществление каталитического процесса.

д) уникальное сочетание аминокислотных остатков, располагающихся в какой – то части белковой молекулы и принимающих непосредственное участие в осуществлении каталитического процесса.

А 6. Каталаза ускоряет реакцию:

а) H₂O₂ + AH₂ → 2 H₂O + A

б) AH₂ + O₂ → A + H₂O₂

в) 2 H₂O₂ → 2 H₂O + O₂

г) AH₂ + B → A + BH₂

д) R – CH₂ – CH (OH) - R' ↔ R – CH = CH - R' + H₂O.

А 7. Соединением, содержащим макроэргическую связь, является:

а) глюкозо – 6 – фосфат

б) глицин

в) глицерофосфат

г) янтарная кислота

д) ацетил – Ко А.

А 8. ФАД

а) Кофермент дегидрогеназ.

б) Кофермент аминотрансфераз.

в) Кофермент декарбоксилаз кетокислот.

г) Кофермент ацилтрансфераз.

д) Кофермент карбоксилаз.

А 9. По количественному содержанию в биологических объектах первое место принадлежит:

а) белкам

б) воде

в) углеводам

г) липидам

д) минеральным веществам

А 10. Найдите неправильное утверждение: в ходе ферментативного катализа при образовании

фермент – субстратного комплекса:

а) Изменяется конформация субстрата.

б) Образуются нековалентные связи между ферментом и субстратом.

в) Сближаются функциональные группы участвующие в катализе.

г) Изменяется порядок соединения аминокислот.

д) Усиливается комплементарность между ферментом и субстратом.

А 11. Выберите фермент, катализирующий реакцию, непосредственно сопряжённую с синтезом АТР в митохондриях:

- а) АТР – синтаза.
- б) NADH – дегидрогеназа.
- в) QH₂ – дегидрогеназа.
- г) NAD – зависимая дегидрогеназа.
- д) Цитохромоксидаза.

А 12. Гликогенсинтаза участвует в процессе:

- а) Образование глюкозо – 6 – фосфата.
- б) Расщепление связей в точках ветвления.
- в) Образование свободной глюкозы.
- г) Образование глюкозо – 1 – фосфата.
- д) В качестве субстрата использует уридинифосфатглюкозу.

А 13. В организме основное количество холестерина используется на:

- а) Синтез желчных кислот.
- б) Построение мембран.
- в) Образование кортикоидов.
- г) Синтез витамина D₃.
- д) Образование половых гормонов.

А 14. Фермент пепсин ускоряет реакцию:

- а) гидролиза белков
- б) гидролиза жиров
- в) гидролиза крахмала
- г) гидролиза лактозы
- д) гидролиза целлюлозы

А 15. Центральным метаболитом обмена веществ и энергии является

- а) Аминоуксусная кислота.
- б) Мочевая кислота.
- в) Молочная кислота.
- г) Активная уксусная кислота.
- д) Глюкоза.

Часть В

Будьте внимательны! Задания части В могут быть трех типов:

- 1) задания, содержащие несколько верных ответов;**
- 2) задания на установление соответствия;**
- 3) задания, ответ на которые должен быть дан в виде числа, символа, слова**

В 1. Аминокислоты, способные образовывать ионную связь с лизином.

- а) Глицин.
- б) Аспарагиновая кислота.
- в) Лейцин.
- г) Аргинин.
- д) Глутаминовая кислота

В 2. Установите соответствие между классами ферментов и их реакциями:

- | | |
|--------------------|--------------------------------------|
| 1. Оксидоредуктазы | а) Взаимопревращения субстратов. |
| 2. Гидrolазы | б) Окислительно – восстановительные. |
| 3. Изомерахзы | в) Гидролитического распада. |
| 4. Декарбоксилазы | |

г) Переноса функциональных групп

В 3. К стероидным гормонам относятся:

- а) адреналин,
- б) андрогены,
- в) инсулин,
- г) кортизол,
- д) тестостерон

В 4. Определите суммарный заряд пептида при рН 7,0: Глу – Лиз – Вал – Асп.

В 5. Сколько молекул АТФ образуется при аэробном окислении глюкозы.

Часть С

Ответы к заданиям части С формулируете в свободной краткой форме и записываете в бланк ответов.

С 1. Укажите составные компоненты фермента декарбоксилазы.

С 2. Перечислите основные этапы гликолиза.

С 3. Укажите условия работы ферментов в ротовой полости.

С 4. Напишите гидролиз АТФ и укажите какие вещества входят в ее состав

С 5. Напишите механизм образования трипептида: Гли – Лиз – Фен

ТЕМЫ ЭССЕ

III БИОЭНЕРГЕТИКА, МЕТАБОЛИЗМ И ИХ РЕГУЛЯЦИЯ

«Технологии на основе информации из ДНК и культур клеток и тканей»

1. Клеточные технологии. (Отличительные особенности каллусных клеток. Основные факторы необходимые для индукции процесса каллусогенеза? Технология получения культуры протопластов). Основные направления развития клеточной инженерии.

2. Способы получения иммобилизованных клеток.

3. От генов к геномам:

- а) библиотеки ДНК – специализированные каталоги генетической информации;
- б) использование полимеразной цепной реакции для проекта Геном человека

3. От геномов к протеомам:

- а) как взаимосвязь структуры и последовательности дают информацию о функционировании белка;
- б) паттерны клеточной экспрессии проясняют функцию гена в клетке;
- в) обнаружение белок-белковых взаимодействий для определения клеточной и молекулярной функции.

4. Клонирование ДНК: основные понятия:

- а) эндонуклеазы рестрикции и ДНК-лигаза создают рекомбинантную ДНК;
- б) клонирующие векторы позволяют амплифицировать встроенные сегменты ДНК;
- в) специфические последовательности ДНК определяют при гибридизации;
- г) экспрессия клонированных генов дает большое количество белка;
- д) изменения в клонированных генах приводят к получению модифицированных белков;
- е) концевые последовательности обеспечивают участки связывания для аффинной хроматографии.

5. Технологии рекомбинантных ДНК.

6. Нужны ли нам трансгенные растения?

7. Изменение геномов и новые продукты биотехнологии:

- а) бактериальные паразиты растений способствуют клонированию растений;
- б) манипулирование с геномами клеток и информация о структуре хромосом и экспрессии генов.

ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ

II СТРОЕНИЕ И РЕАКЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ БИОМОЛЕКУЛ **Нуклеиновые кислоты**

1. Биохимия нуклеиновых кислот
2. Гены эукариот
3. Виды РНК
4. Подвижные элементы генома растений .
5. Виды переноса генетической информации
6. Механизмы клеточной саморегуляции.
7. Генетические рекомбинации
8. Репарация генов
9. Геномные болезни растений

ТРЕБОВАНИЯ К ФОРМЕ ОТЧЕТА ПО ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЕ

Отчет должен содержать название, цель работы, описание хода работы, схемы приборов, расчеты, таблицу, графики зависимости, вывод.

ВОПРОСЫ К ЭКЗАМЕНУ

Химический состав клетки

1. Клетка – элементарная единица живого. Особенности клеточной организации про- и эукариот. Гиалоплазма – внутренняя среда клетки. Ее строение и свойства.
2. Минеральный обмен. Макро- и микроэлементы, их роль в обмене веществ.
3. Роль воды в живой природе.
4. Классификация липидов. Строение и биологическая роль.
5. Роль углеводов в живой природе. Классификация, строение и свойства
6. Аминокислоты. Строение. Классификация. Свойства. Биологическая роль.
7. Характеристика пуриновых и пиридиновых оснований, входящих в состав нуклеиновых кислот. Строение мононуклеотидов.
8. Современные представления о структуре нуклеиновых кислот. Первичная структура ДНК. Принцип комплементарности в строении ДНК. Биологическая роль.

Белки

9. Белки. Строение. Характеристика и биологическое значение первичной, вторичной, третичной и четвертичной структуры.
10. Роль белков в построении живой материи и осуществлении процессов жизнедеятельности. Примеры. Элементарный состав и молекулярная масса белков. Сущность пептидной теории строения белка.
11. Физико-химические свойства белков. Белки – коллоиды, их амфотерные и буферные свойства. Изоэлектрическая точка белка. Диализ. Понятие о нативном белке. Сущность процессов высыпивания и денатурации.
12. Классификация белков. Строение и характеристика простых белков. Примеры.
13. Классификация сложных белков. Строение, характеристика и биологическая роль.
14. Сложные белки – хромопротеиды. Строение и свойства гемоглобина. Роль в обмене веществ. Изомеризация мультимерных белков.
15. Сложные белки – нуклеопротеиды. Сходство и различие нуклеиновых кислот. Их биологическая роль. Белки хроматина. Упаковка ДНК в хромосомах.
16. Строение и роль биологических мембран. Сложные белки липопротеиды.

Витамины

17. Витамины. Классификация. Их значение в обмене веществ. Примеры. Строение коферментной группы.
18. Витамин В₁. Строение ТПФ. Значение в обмене веществ.
19. Витамин В₂.. Строение ФАД. Механизм действия. Участие в обмене веществ
20. Витамин РР. Участие НАД⁺ в обменных процессах.

21. Витамин С. Строение. Участие в обмене веществ.
22. Витамин А. Строение. Участие в обмене веществ. Каротины.
23. Витамин Д. Строение. Роль в обмене веществ.
24. Строение HS-КоА. Роль в обмене веществ

Ферменты

25. Химическая природа ферментов. Примеры ферментов протеинов и протеидов. Лизоцим. Роль ферментов в адаптации живых организмов к условиям среды.
26. Свойства ферментов: термолабильность, зависимость действия от pH среды, специфичность, отличие от неорганических катализаторов. Регуляция активности ферментов.
27. Механизм действия ферментов. Примеры. Теория ферментативного катализа.
28. Коферменты. Строение и биологическая роль. Связь с витаминами. Примеры.
29. Классификация ферментов. Примеры. Механизм действия.
30. Характеристика декарбоксилазы. Строение и механизм действия. Биологическая роль.
31. Характеристика оксидоредуктаз. Дегидрогеназы. Их биологическая роль.

Гормоны

32. Гормоны. Классификация. Примеры, роль в организме. Простагландины.
33. Гормоны пептидной природы. Строение, механизм действия и роль в организме.
34. Стероидные гормоны. Примеры. Строение. Механизм действия и роль в организме.
35. Гормоны, производные аминокислот.
36. Взаимосвязь витаминов, гормонов и ферментов
37. Низкомолекулярные биорегуляторы. Алкалоиды. Антибиотики. Гербициды.

Обмен веществ и энергии

38. Круговорот веществ в природе. Закон сохранения материи и энергии. Приложение его к биологическому миру.
39. Макроэргические соединения.
40. Современные представления о биологическом окислении.
41. Строение внутренней мембранных митохондрий. Синтез АТФ.
42. Переваривание углеводов по ходу ЖКТ. Характеристика ферментов, участвующих в гидролизе углеводов.
43. Переваривание жиров по ходу ЖКТ. Роль желчи в переваривании жиров. Строение желчных кислот.
44. Переваривание белков по ходу ЖКТ. Механизм действия гидролаз. Проферменты.
45. Гликолиз. Анаэробное окисление углеводов. Энергетический эффект.
46. Аэробное окисление углеводов. Пируватдегидрогеназный комплекс. Энергетический эффект.
47. Фотосинтез. Обеспечение клеток энергией. Роль хлоропластов в фотосинтезе. Химические процессы, протекающие в световой и темновой стадиях фотосинтеза.
48. Окисление высших карбоновых кислот в тканях (β -окисление). Энергетическая ценность окисления ВЖК. Синтез высших жирных кислот, участие малонил-КоА в этом процессе. Строение и механизм действия синтетазы ВЖК.
49. Роль цикла Кребса в аэробном окислении и обеспечении клетки энергией и метаболитами. Энергетический эффект.
50. Обмен жиров. Синтез жира в стенке кишечника. Специфичность жиров. Окисление глицерина в тканях. Энергетическая ценность окисления жиров.
51. Азотистый баланс в организме. Пути превращения аминокислот. Переаминирование. Синтез мочевины.
52. Механизмы передачи генетической информации. Репликация. Транскрипция. Трансляция. Оперонный уровень регуляции экспрессии генов.
53. Соотношение среды и наследственности. Мутагены. Молекулярные механизмы мутаций. Наследственные болезни. Иммунитет.
54. Генетическая инженерия. Инструменты генетических инженеров. Методы создания и обнаружения генетически модифицированных организмов.

55. Химический состав и особенности метаболизма мышечной ткани. Механизм мышечного сокращения и его регуляция. Источники энергии для мышечной работы Биохимическое обоснование принципов спортивной тренировки. Роль физических упражнений для здоровья.
56. Химический состав печени. Обмен веществ в печени. Ее роль в обменных процессах и детоксикации организма. Синтез углеводов в печени. Участие УДФ в этом процессе. Фосфоролиз. Регуляция содержания глюкозы в крови.
57. Кровь как внутренняя среда организма. Химический состав крови. Электролитный состав плазмы крови. Буферные системы крови и кислотно-щелочное равновесие.
58. Строение и особенности метаболизма нервной ткани. Биохимические особенности нервной ткани. Химический состав мозга. Химические основы возникновения и проведения нервных импульсов. Роль медиаторов в этом процессе.
59. Значение ацетил-КоА в осуществлении перехода от углеводов к жирам, белкам и обратно.
60. Взаимосвязь между обменом белков, жиров и углеводов

7 ПЕРЕЧЕНЬ ИНФОРМАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПРОЦЕССЕ ОБУЧЕНИЯ

Информационные технологии – обучение в электронной образовательной среде с целью расширения доступа к образовательным ресурсам, увеличения контактного взаимодействия с преподавателем, построения индивидуальных траекторий подготовки, объективного контроля и мониторинга знаний студентов.

В образовательном процессе по дисциплине используются следующие информационные технологии, являющиеся компонентами Электронной информационно-образовательной среды БГПУ:

- 1.Официальный сайт БГПУ;
- 2.Система электронного обучения ФГБОУ ВО «БГПУ»;
- 3.Система тестирования на основе единого портала «Интернет-тестирования в сфере образования www.i-exam.ru»;
- 4.Система «Антиплагиат. ВУЗ»;
- 5.Электронные библиотечные системы;
- 6.Мультимедийное сопровождение лекций.

8 ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ ИНВАЛИДАМИ И ЛИЦАМИ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯ

При обучении лиц с ограниченными возможностями здоровья применяются адаптивные образовательные технологии в соответствии с условиями, изложенными в разделе «Особенности реализации образовательной программы для инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья» основной образовательной программы (использование специальных учебных пособий и дидактических материалов, специальных технических средств обучения коллективного и индивидуального пользования, предоставление услуг ассистента (помощника), оказывающего обучающимся необходимую техническую помощь и т. п.) с учётом индивидуальных особенностей обучающихся.

Для обучающихся с ограниченными возможностями здоровья предусмотрены следующие формы организации педагогического процесса и контроля знаний:

- для слабовидящих:

обеспечивается индивидуальное равномерное освещение не менее 300 люкс;

для выполнения контрольных заданий при необходимости предоставляется увеличивающее устройство;

задания для выполнения, а также инструкции о порядке выполнения контрольных заданий оформляются увеличенным шрифтом (размер 16-20);

- для глухих и слабослышащих:

обеспечивается наличие звукоусиливающей аппаратуры коллективного пользования, при необходимости обучающимся предоставляется звукоусиливающая аппаратура индивидуального пользования;

- для лиц с тяжелыми нарушениями речи, глухих, слабослышащих все контрольные задания по желанию могут проводиться в письменной форме.

Основной формой организации педагогического процесса является интегрированное обучение инвалидов, т.е. все обучающиеся учатся в смешанных группах, имеют возможность постоянно общаться со сверстниками, легче адаптируются в социуме.

9 СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ И ИНФОРМАЦИОННЫХ РЕСУРСОВ

9.1 Литература

Основная литература

1. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии : учебник для студ. вузов, обучающихся по спец. «Химия» и «Биология»/ Ю. Б. Филиппович. – М.: Агар, 1999.– 512 с. (13).
2. Ивченко Л.Е. Введение в молекулярную биологию : учеб. пособие / Л. Е. Ивченко, С. И. Лаврентьев ; ФГБОУ ВО БГПУ. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2016. – 108 с. (15)

Дополнительная литература

1. Биологическая химия: учеб.пособие для студ. вузов / [Ю. Б. Филиппович [и др.]]; под ред. Н. И. Ковалевской. – М.: Академия, 2005. – 254 с. (4).
2. Биологическая химия: учеб. пособие для студ. вузов / [Ю. Б. Филиппович и др.] ; под ред. Н. И. Ковалевской. – 3-е изд., испр. – М. : Академия, 2009. – 254 (5).
3. Зубаиров, Д. М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии: учебное пособие для вузов / Д. М. Зубаиров, В. Н. Тимербаев, В. С. Давыдов. – М.: ГЭОТАР- Медиа, 2005. – 392 с. (5).
4. Кнорре Д.Г., Биологическая химия. Учебник для студ. химич., биологич.и мед.спец.вузов / Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. – 3-е изд.,испр. – М. : Высш. шк., 2002. – 478 с. (23).
5. Комов, В. П.Биохимия: учебник для студ. вузов / В. П. Комов. – М.: Дрофа, 2004. – 638 с. (7).
6. Кунижев, С. М. Краткий словарь биохимических терминов / С. М. Кунижев. – М.: Вузовская книга, 2005. – 85 с. (5).
7. Методы изучения полиморфизма ферментов сои: учеб.пособие / Л. Е. Ивченко [и др.]. – Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2008. – 142 с. (31)
8. Нельсон А. Основы биохимии Лениндженера / А. Нельсон; М. Кокс. Пер. с англ. – Т. 1. – М.: Бином, 2014. – 692 с. (1). 8. Нужны ли нам генетически модифицированные растения? / Л. Е Ивченко [и др.]. Благовещенск: Изд-во БГПУ, 2008. – 129 с. (1)
9. Рогожин, В. В. Практикум по биологической химии: Учебно-методическое пособие / В. В. Рогожин. – СПб.: Лань, 2006. – 254 с. (5).
10. Пищевая химия / А. П. Нечаев. [и др.]. – под ред. А.П. Нечаева. Изд-е 4-е, испр. и доп. – СПб.: ГИОРД, 2007. – 635 с. (8).
11. Тюкавкина, Н.А. Биоорганическая химия / Н.А. Тюкавкина, И.Ю. Бауков. – М.: Дрофа, 2006. – 542 с. (3).
12. Эллиот, В. Биохимия и молекулярная биология / В. Элиот, Д. Элиот. – М.: Майк Наука, Интерпериодика, 2002. – 446 с. (4).

9.2 Базы данных и информационно-справочные системы

1. Сайт о химии <http://www.xumuk.ru>
2. Каталог образовательных интернет-ресурсов <http://www.edu.ru>
3. Электронная библиотека по химии <http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/>
4. Портал научной электронной библиотеки <http://elibrary.ru/defaultx.asp>

9.3 Электронно-библиотечные ресурсы

1. Polpred.com Обзор СМИ/Справочник <https://polpred.com/news>
2. ЭБС «Юрайт» <https://urait.ru>

10 МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКАЯ БАЗА

Для проведения занятий лекционного типа, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации используются аудитории, оснащённые учебной мебелью, аудиторной доской, компьютерами с установленным лицензионным специализированным программным обеспечением, коммутатором для выхода в электронно-библиотечную систему и электронную информационно-образовательную среду БГПУ, мультимедийными проекторами, экспозиционными экранами, учебно-наглядными пособиями (таблицы, мультимедийные презентации). Для проведения лабораторных занятий также используется:

Ауд. 333 «А» Лаборатория биологической химии

- Стол лабораторный 1-мест. (8 шт.)
- Стол письменный 1-мест. (2 шт.)
- Стол преподавателя (1 шт.)
- Стул (11 шт.)
- Ноутбук с установленным лицензионным программным обеспечением (1 шт.)
- 8 - портовый коммутатор для выхода в электронно-библиотечную систему и электронную информационно-образовательную среду БГПУ (1 шт.)
- Мультимедийный проектор (1 шт.)
- вертикальная камера для электрофореза (1 шт.)
- КФК-2 (1 шт.)
- Облучатель бактериологический (1 шт.)
- Одноканальная пипетка (4 шт.)
- Весы для уравновешивания пробирок (1 шт.)
- Весы лабораторные ЕК-410 (1 шт.)
- Микроскоп «Биолам» (1 шт.)
- Прибор для гельэлектрофореза (2 шт.)
- Термостат (2 шт.)
- Фотоэлектроколориметр (1 шт.)
- Хроматограф (1 шт.)
- Центрифуга (2 шт.)
- Поляриметр (1 шт.)
- Секундомер (1 шт.)
- Спектрофотометр ПЭ- 5400УФ (1 шт.)
- Холодильник LG Elektronics (1 шт.)
- Водяная баня (1 шт)
- Сушильный шкаф (1 шт)
- Вытяжной шкаф (1 шт)
- Люксометр (1шт)
- pH-метр (1 шт)
- Прибор для определения удельной активности каталаз газометрическим методом (1 шт)
- Штативы для пробирок, химическая посуда и нагревательные приборы
- Химические реагенты по тематике лабораторных работ

Ауд. 106 «А» Лаборатория экологической биохимии и биотехнологии

- Амплификатор «AMPLY-4» (2 шт)
- Весы HR-60 (аналитические) (1 шт)
- Видеосистема для регистрации агарозных гелей (1 шт)
- Компьютер (2 шт)
- Настольная центрифуга (2шт)
- Облучатель бактерицидный ОББ-92 У с ламп. (4 шт)
- Облучатель ОБН(2шт)
- Одноканальная пипетка (6 шт)

- Принтер (1 шт)
- МФУ RICOH (1 шт)
- Центрифуга / вортекс TETA 2 (3 шт)
- Источник напряжения для электрофореза (1 шт)
- Набор для обнаружения ДНК лектина LEC ПЦР-ядро. (1 шт)
- Набор для обнаружения трансгенной ДНК NOS ПЦР-ядро (1 шт)
- Набор для обнаружения трансгенной ДНК 35 S ПЦР-ядро (1 шт)
- Холодильный агрегат ПГИЖ. 697411.001-01 (1 шт)
- Холодильник «Морозко 3» (1 шт)
- Холодильник (1 шт)
- Термостат TERMO (1 шт).
- Прибор для вертикального электрофореза с охлаждением BIO-RED PROTEAN II-xi Cell (1 шт)
- Прибор для горизонтального электрофореза (1шт)
- Система «ViTran Photo»
- Учебно-наглядные пособия - слайды, таблицы, мультимедийные презентации по дисциплине «Химические основы биологических процессов»

Самостоятельная работа студентов организуется в аудиториях оснащенных компьютерной техникой с выходом в электронную информационно-образовательную среду вуза, в специализированных лабораториях по дисциплине, а также в залах доступа в локальную сеть БГПУ.

Лицензионное программное обеспечение: операционные системы семейства Windows, Linux; офисные программы Microsoft office, Libreoffice, OpenOffice; Adobe Photoshop, Matlab, DrWeb antivirus и т.д.

Разработчик: Иваченко Л.Е., доктор биологических наук, профессор кафедры химии.

10 ЛИСТ ИЗМЕНЕНИЙ И ДОПОЛНЕНИЙ

Утверждение изменений и дополнений в РПД для реализации в 2020/2021 уч. г.

РПД обсуждена и одобрена для реализации в 2020/2021 уч. г. на заседании кафедры химии (протокол № 9 от «11» июня 2020 г.). В РПД внесены следующие изменения и дополнения:

В рабочую программу внесены следующие изменения и дополнения:

№ изменения: 1	
№ страницы с изменением: титульный лист	
Исключить: МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ	Включить: МИНИСТЕРСТВО ПРОСВЕЩЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Утверждение изменений в РПД для реализации в 2021/2022 уч. г.

РПД пересмотрена, обсуждена и одобрена для реализации в 2021/2022 учебном году на заседании кафедры химии (протокол № 7 от 14 апреля 2021 г.).

В рабочую программу внесены следующие изменения и дополнения:

№ изменения: 2	
№ страницы с изменением: 62	
Исключить:	Включить:

	В пункт 9.3: ЭБС «Юрайт» https://urait.ru/
--	---

РПД пересмотрена, обсуждена и одобрена для реализации в 2021/2022 учебном году на заседании кафедры химии (протокол № 4 от 29 декабря 2021 г.).

В рабочую программу внесены следующие изменения и дополнения:

№ изменения: 3 № страницы с изменением: 62	
Исключить:	Включить:
	<p>В пункт 10:</p> <p>Ауд. 118 «А». Лаборатория естественно-научной направленности педагогического технопарка «Кванториум-28» им. С.В. Ланкина</p> <ul style="list-style-type: none"> • Доска 1-элементная меловая магнитная (1 шт.) • Парта лабораторная с надстройкой и выдвижным блоком (2 шт.) • Письменный стол (4 шт.) • Стол пристенный химический (3 шт.) • Стол для преподавателя (угловой) правосторонний (1 шт.) • Стеллаж книжный, 12 ячеек (1 шт.) • Полка навесная, белая (1 шт.) • Пуф 80*80 (2 шт.) • Пуф 52*52 (2 шт.) • Диван трёхместный (1 шт.) • Кресло для руководителя Директ плюс (1 шт.) • Тумба с мойкой накладной для кухонного гарнитура (белая) (2 шт.) • Кулер Silver Arrow 130 (1 шт.) • Ноутбук (4 шт.) • МФУ принтер Brother DCP-L5500 (1 шт.) • Аппарат Киппа (2 шт.) • Стерилизатор для лабораторной посуды воздушный (1 шт.) • Лабораторное оборудование по химии (6 шт.) • Магнитная мешалка (1 шт.) • Цифровая лаборатория по химии «Releon» (6 шт.) • Цифровая лаборатория по физике «Releon» (6 шт.) • Цифровая лаборатория по биологии «Releon» (6 шт.) • Учебно-исследовательская лаборатория биосигналов и нейротехнологий (6 шт.) • Учебная лаборатория точных измерений (6 шт.) • Микроскоп учебный «Эврика» (6 шт.)

Утверждение изменений и дополнений в РПД для реализации в 2022/2023 уч. г.

РПД пересмотрена, обсуждена и одобрена для реализации в 2022/2023 учебном году на заседании кафедры химии (протокол № 8 от 26 мая 2022 г.).

В рабочую программу внесены следующие изменения и дополнения:

№ изменения: 4	
№ страницы с изменением: 62	
Из пункта 9.3 исключить:	В пункт 9.3 включить:
1. Polpred.com Обзор СМИ/Справочник (http://polpred.com/news.) 2. ЭБС «Лань» (http://e.lanbook.com)	1. Научная электронная библиотека eLIBRARY.RU (https://elibrary.ru/defaultx.asp?)

РПД пересмотрена, обсуждена и одобрена для реализации в 2022/2023 учебном году на заседании кафедры химии (протокол № 1 от 14 сентября 2022 г.).

В рабочую программу внесены следующие изменения и дополнения:

№ изменения: 5	
№ страницы с изменением: 61-62	В Раздел 9 внесены изменения в список литературы, в базы данных и информационно-справочные системы, в электронно-библиотечные ресурсы. Указаны ссылки, обеспечивающие доступ обучающимся к электронным учебным изданиям и электронным образовательным ресурсам с сайта ФГБОУ ВО «БГПУ».

Утверждение изменений и дополнений в РПД для реализации в 2023/2024 уч. г.

РПД пересмотрена, обсуждена и одобрена для реализации в 2023/2024 учебном году на заседании кафедры химии (протокол № 9 от 28 июня 2023 г.).

Утверждение изменений и дополнений в РПД для реализации в 2024/2025 уч. г.
РПД пересмотрена, обсуждена и одобрена для реализации в 2024/2025 учебном году на заседании кафедры химии (протокол № 8 от 30 мая 2024 г.).

В рабочую программу внесены следующие изменения и дополнения:

№ изменения: 1	
№ страницы с изменением: 62	
Исключить:	Включить:
В пункт 10:	<p>В пункт 10:</p> <p>Ауд. 118 «А». Лаборатория естественнонаучной направленности педагогического технопарка «Кванториум» им. С.В. Ланкина</p> <ul style="list-style-type: none">• Микроскоп биологический Микромед 1• Лупы ручные• Цифровая лаборатория по химии для учителя STEM• Цифровая лаборатория по экологии для реализации сети школьного экологического мониторинга STEM• Робототехнический комплекс НАУРОБО «Умная теплица»• Микролаборатория для химического эксперимента

- Столик подъемный
- Набор реактивов для ГИА по химии
- Прибор для получения галоидоалканов и сложных эфиров
- Пчелка-У/хим мини-экспресс лаборатория учебная
- КПЭ комплект-практикум экологический
- Учебно-лабораторный комплекс «Химия в школе»
- Наконечники
- Бюretka 25 мл.
- Биологическая микролаборатория и т.д.