

**ФГБОУ ВПО «НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
БИОЛОГО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

Биохимия

Рабочая тетрадь

НОВОСИБИРСК 2015

УДК 577.1
ББК 28.072
Б 638

Кафедра физиологии и биохимии человека и животных

Составители: к.м.н., профессор *И.В. Тюньков*
к.б.н., доцент *О.С. Котлярова*
ст. преподаватель *Т.В. Гарматарова*

Рецензент: к.с.-х.н., доцент О.В. Рявкин

Биохимия: рабочая тетрадь/ сост.: И.В. Тюньков, О.С. Котлярова, Т.В. Гарматарова//
Новосиб. гос. аграр. ун-т; Биолого-технолог. ф-т. – Новосибирск, 2014. – 60 с.

Рабочая тетрадь по биохимии предназначена для студентов по специальности 36.05.01 Ветеринария и направлениям подготовки 06.03.01 Биология; 19.03.03 Продукты питания животного происхождения; 36.03.01 Ветеринарно-санитарная экспертиза; 27.03.01 Стандартизация и метрология; 38.03.07 Товароведение; 19.03.04 Технология продукции и организация общественного питания для всех форм обучения.

Утверждены и рекомендованы к изданию учебно-методическим советом БТФ (протокол №8 от 20 мая 2014).

Ответственный за выпуск: профессор Смирнов П.Н.

© Новосибирский государственный аграрный университет, 2014

Содержание

Введение	4
Организация работы студентов на лабораторных занятиях	6
Тема 1. Основы биохимии	11
Тема 2. Буферные системы.....	13
Тема 3. Основы химии высокомолекулярных соединений.....	17
Тема 4. Биохимия белков.....	19
Тема 5. Биохимия ферментов	29
Тема 6. Биохимия углеводов.....	35
Тема 7. Биохимия липидов (жиров)	39
Тема 8. Биохимия витаминов	42
Тема 9. Обмен веществ. Белковый обмен	47
Тема 10. Обмен углеводов.....	51
Тема 11. Обмен липидов	55
Список рекомендованной литературы	59

Введение

Целью изучения биохимии при подготовке специалистов и бакалавров является приобретение необходимых знаний и навыков и использование методов этой науки с целью контроля за обменом веществ и механизмом его регуляции.

Задачами биохимии являются:

- изучение механизмов и взаимосвязи различных этапов метаболических превращений в организме человека и животных. Определение их роли в решении актуальных проблем в биологической промышленности, сельском хозяйстве и медицине.

- приобретение навыков по качественному и количественному исследованию продуктов животноводства, а также жидкой среды организма.

Самое поразительное свойство живых организмов – это их способность к самовоспроизведению. Свойство, которое можно считать сущностью состояния, называемое «жизнью». Для явления жизни необходимо наличие постоянно идущих химических процессов в этих сложных структурах. Поэтому для изучения жизненных явлений вместе с морфологическими науками очень важное значение имеет биологическая химия.

Данная рабочая тетрадь создана для облегчения процесса изучения дисциплин биологического профиля для формирования компетенций у студентов следующих специальностей и направлений подготовки:

- 36.05.01 Ветеринария - использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности (ОК-11);
- 19.03.03 Продукты питания животного происхождения - способность использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности (ВПК-1);
- 27.03.01 Стандартизация и метрология - способность применять знание основных законов естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности (ВПК -1);
- 06.03.01 Биология - способностью применять знание принципов клеточной организации биологических объектов, биофизических и биохимических основ, мембранных процессов и молекулярных механизмов жизнедеятельности (ОПК- 5); - способностью применять современные экспериментальные методы работы с биологическими объектами в полевых и лабораторных условиях, навыки работы с современной аппаратурой (ОПК – 6- способностью эксплуатировать современную аппаратуру и оборудование для выполнения научно-исследовательских полевых и лабораторных биологических работ (ПК – 1);
- 36.03.01 Ветеринарно-санитарная экспертиза – способность использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности, применять методы математического анализа и моделирования, теоретического и экспериментального исследования (ОК-10);
- 38.03.07. Товароведение - возможность использовать знания основных законов естественнонаучных дисциплин для обеспечения качества и

безопасности потребительских товаров. (ПК-5); - способность применять знания в области естественнонаучных и прикладных инженерных дисциплин для организации торгово-технологических процессов (ПК-6).

19.03.04. Технология продукции и организация общественного питания - способность использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности (ВПК-1)

Организация работы студентов на лабораторных занятиях

1. На лабораторное занятие студент приходит с теоретическими знаниями по данной теме. Для подготовки используется текст лекций и дополнительные источники информации.
2. Степень подготовленности к занятию систематически проверяется путем опроса в течение 15 мин в начале занятия.
3. Проверку результатов лабораторных занятий, выполненных студентами, преподаватель начинает за 10 мин до конца занятия.
4. Пропущенные или не зачтенные занятия студент должен отработать в течение ближайших двух недель.

Основные правила техники безопасности

1. Работать в лаборатории необходимо в халате, защищая одежду и кожу от попадания и разъедания реактивами.
2. Каждый должен работать на закрепленном за ним рабочем месте. Переход на другое место без разрешения преподавателя не допускается.
3. Рабочее место следует поддерживать в чистоте, не загромождать его посудой и побочными вещами.
4. Студентам запрещается работать в лаборатории без присутствия преподавателя или лаборанта, а также в неустановленное время без разрешения преподавателя.
5. До выполнения каждой лабораторной работы можно приступить только после получения инструктажа по технике безопасности и разрешения преподавателя.
6. Приступая к работе, необходимо: осознать методику работы, правила ее безопасного выполнения; проверить соответствие взятых веществ тем веществам, которые указаны в методике работы.
7. Опыт необходимо проводить в точном соответствии с его описанием в методических указаниях, особенно придерживаться очередности добавления реактивов.
8. Для выполнения опыта пользоваться только чистой, сухой лабораторной посудой; для отмеривания каждого реактива нужно иметь мерную посуду (пипетки, бюретки, мензурку, мерный цилиндр или мерный стакан); не следует выливать избыток налитого в пробирку реактива обратно в емкость, чтобы не испортить реактив.
9. Если в ходе опыта требуется нагревание реакционной смеси, надо следовать предусмотренным методическим указаниям способа нагрева: на водяной бане, на электроплитке или на газовой горелке и др. Сильно летучие горючие вещества опасно нагревать на открытом огне.
10. Пролитые на пол и стол химические вещества обезвреживают и убирают под руководством лаборанта (преподавателя) в соответствии с правилами.
11. При работе в лаборатории следует соблюдать следующие требования: выполнять работу нужно аккуратно, добросовестно, внимательно, экономно,

быть наблюдательным, рационально и правильно использовать время, отведенное для работы.

12. По окончании работы следует привести в порядок свое рабочее место: помыть посуду, протереть поверхность рабочего лабораторного стола, закрыть водопроводные краны, выключить электрические приборы.

Правила техники безопасности в лаборатории при работе с кислотами и щелочами

1. Кислоты и щелочи в большинстве относятся к веществам повышенного класса опасности и способны вызвать химические ожоги и отравления. Поэтому необходимо внимательно следить за тем, чтобы реактивы не попадали на лицо, руки и одежду.

2. Не ходить по лаборатории с концентрированными кислотами и щелочами, а наливать их только в отведенном для этого месте.

3. Запрещается набирать кислоты и щелочи в пипетку ртом. Для этого следует применять резиновую грушу и прочее оборудование для отбора проб.

4. Для приготовления растворов серной, азотной и других кислот необходимо их приливать к воде тонкой струей при непрерывном перемешивании, а не наоборот. Приливать воду в кислоту запрещается!

5. Растворять твердые щелочи следует путем медленного добавления их небольшими кусочками к воде при непрерывном перемешивании. Кусочки щелочи нужно брать только щипцами.

6. При смешивании веществ, которое сопровождается выделением тепла, необходимо пользоваться термостойким толстостенной стеклянной или фарфоровой посудой.

7. Разлитые кислоты или щелочи необходимо немедленно засыпать песком, нейтрализовать, и только после этого проводить уборку.

8. При попадании на кожу или одежду кислоты, надо смыть ее большим количеством воды, а затем 3-5% раствором пищевой соды или разбавленным раствором аммиака.

9. При попадании на кожу или одежду щелочи, после смывания ее большим количеством воды, нужно провести обработку 2-3% раствором борной, лимонной или уксусной кислотами.

10. Вещества, фильтры, бумагу, использованные при работе, следует выбрасывать в специальное ведро, концентрированные растворы кислот и щелочей также сливать в специальную посуду.

Правила техники безопасности в лаборатории с легковоспламеняющимися и горючими жидкостями (ЛВЖ и ГЖ)

1. Все работы с ЛВЖ и ГЖ должны осуществляться в вытяжном шкафу при включенной вентиляции, отключенных газовых проводках и электронагревательных приборов.

2. Запрещается нагревать на водяных банях вещества, которые могут вступать между собой в реакцию, которая сопровождается взрывом или выделением паров и газов.

3. При случайном пролипании ЛВЖ (сероуглерод, бензин, диэтиловый эфир и др.), а также при потерях горючих газов необходимо немедленно отключить все источники открытого огня, электронагревательные приборы.

4. Сосуды, в которых проводились работы с ЛВЖ и ГЖ, после окончания исследований должны быть немедленно освобождены от оставшейся жидкости и промыты.

5. Опыты с ядовитыми веществами и веществами, которые имеют сильно выраженный запах, можно проводить только в вытяжном шкафу.

6. При тушении бензина, спирта, эфира, пользоваться песком, которым следует засыпать на вспыхнувшее пламя.

7. При распознавании газа по запаху, который выделяется, нюхать газ только на определенном расстоянии, направляя его струю движением руки от сосуда к себе.

Правила техники безопасности в лаборатории с бытовым газом, спиртовкой и сухим горючим

1. В связи с опасностью взрыва газовой смеси, применение бытового газа для нагрева в лабораториях допускается в крайних случаях, когда отсутствуют электронагревательные приборы.

2. Перед зажиганием спиртовки нужно убедиться, что корпус ее исправлен, фитиль выпущен на нужную высоту и развернутый, а горловина и черенок фитиля сухие.

3. Зажженную спиртовку не переносить с места на место; нельзя зажигать одну спиртовку от другой.

4. Тушить спиртовку нужно накрывая пламя колпачком. Задувать пламя запрещается.

5. В спиртовках используется только этиловый спирт; пользоваться бензином или другими горючими жидкостями запрещается.

6. Брикеты (таблетки) сухого горючего иногда могут использоваться для нагрева. Зажигать их следует на керамических пластинках, тушить – колпачками для спиртовок или керамическими тиглями. Брикеты, которые не догорели, после тушения надо убрать в вытяжной шкаф.

7. Нагревание реакционных смесей в пробирках и других стеклянных сосудах нужно проводить осторожно, предварительно насухо вытереть внешние стенки сосуда и, не допуская разбрызгивания смеси из сосуда. Горловина сосуда должна быть направлена в сторону, как от себя, так и от тех, кто работает рядом. Пробирку следует держать под наклоном. Нельзя наклоняться над жидкостью, которая нагревается, так как иногда ее может выкипать из сосуда. При нагревании пробирки над спиртовкой необходимо использовать специальный держатель для пробирок.

8. При возникновении пожара, прежде всего надо выключить все нагревательные приборы, затем тушить пламя. Его нельзя задувать. Если

горят органические вещества, не следует заливать пламя водой. Используйте песок, пожарные одеяла, огнетушители (лучше углекислотные).

9. При незначительных ожогах (горячими предметами, веществами или паром) место ожога необходимо обработать спиртом или крепким раствором перманганата калия, а при более тяжелых ожогах следует немедленно обратиться к врачу.

Правила техники безопасности в лаборатории с химической посудой

1. Основным травмирующим фактором, который связан с использованием стеклянной посуды, аппаратов и приборов, являются острые осколки стекла, способные вызвать порезы тела работающего, а также ожоги рук при неосторожном обращении с нагретыми до высокой температуры частями стеклянной посуды.

2. Размешивать реакционную смесь в сосуде стеклянной палочкой или шпателем надо осторожно, не допуская разлома сосуда. Держать сосуд при этом необходимо за ее горловину.

3. Перенося сосуды с горячей жидкостью, надо держать их двумя руками: одной – за дно, другой – за горловину, используя при этом полотенце (чтобы избежать ожогов кистей и пальцев рук).

4. При закрывании толстостенной посуды пробкой следует держать ее за верхнюю часть горловины. Нагретый сосуд нельзя закрывать притертой пробкой пока он не охладится.

5. В опытах с нагревом необходимо пользоваться посудой, которая имеет соответствующую маркировку.

6. В случае пореза стеклом нужно сначала внимательно осмотреть рану и извлечь из нее осколки стекла, если они есть, а затем обмыть раненное место 2% раствором перманганата калия, смазать йодом и завязать бинтом или заклеить лейкопластырем.

Правила техники безопасности в лаборатории с электрооборудованием и электроприборами

1. Химические лаборатории (включая биохимические и микробиологические) согласно степени опасности поражения электрическим током относятся к помещениям с повышенной или особой опасностью, которая обусловлена возможностью воздействия на электрооборудование химически активных сред.

2. Все работы, связанные с применением электроприборов должны проходить под наблюдением преподавателя (лаборанта).

3. При работе с водяной баней нельзя пробовать степень нагрева воды рукой.

4. При неисправности в работе электроприбора (например, подсветка в микроскопе) необходимо обратиться к преподавателю. Чинить самостоятельно приборы запрещается.

5. При поражении электрическим током, если пострадавший остается в соприкосновении с токоведущими частями, необходимо немедленно

выключить ток с помощью пускателя или вывернуть охранную пробку или перерубить токопроводящий провод изолированным инструментом. К пострадавшему, пока он находится под током, нельзя касаться незащищенными руками (без резиновых перчаток). Если пострадавший потерял сознание, после выключения тока нужно немедленно, не дожидаясь врача, делать искусственное дыхание.

Правила техники безопасности в лаборатории при работе с реактивами

1. Если к работе не дано указаний относительно дозировки реактивов, то брать их для проведения опытов необходимо в возможно меньшем количестве (экономия материалов и времени, которое затрачивается на опыт).

2. Избыток реактива нельзя высыпать и выливать обратно в сосуд, из которого он был взят.

3. После расходования реактива банку или стакан необходимо сразу закрыть пробкой и поставить на место.

4. Сухие реактивы брать с помощью лопаток, пластмассовых или металлических шпателей. Шпатель должен быть всегда сухим и чистым. После расходования следует его тщательно обтереть.

5. Когда реактив отбирается пипеткой, ни в коем случае нельзя той же пипеткой, не вымыв ее, брать реактив с другой емкости.

6. При наливании реактивов нельзя наклоняться над сосудом, предотвращая попадания брызг на лицо или одежду.

7. Нельзя держать банку или стакан с реактивом, которую нужно открыть, держа в руках, ее надо поставить на лабораторный стол и только после этого открывать.

Меры первой помощи при отравлениях неорганическими веществами:

Азотной кислотой. Свежий воздух, покой, тепло. Вдыхание кислорода. Сульфадимезин или иной сульфаниламидный препарат (2 г), аскорбиновая кислота (0,5 г), кодеин (0,015 г). Искусственное дыхание. Консультация врача.

Серной кислотой. Свежий воздух. Промыть верхние дыхательные пути 2%-ым раствором пищевой соды. В нос – 2-3 капли 2% раствора эфедрина. Теплое молоко с содой, кодеин (0,015 г) или дионин (0,01 г). При попадании в органы пищеварения смазать слизистую рта 2% раствором дикаина. Промывание желудка большим количеством воды. Внутрь принять: столовую ложку оксида магния на стакан воды каждые 5 минут, яичный белок, молоко, крахмальный клейстер, кусочки сливочного несоленого масла, кусочки льда. Нельзя вызывать рвоту и применять карбонаты. Консультация врача.

Щелочами. Вдыхание теплого водяного пара (в воду добавить немного лимонной кислоты). Внутрь – теплое молоко с медом, кодеин (0,015 г) или дионин (0,01 г). Горчичники. При попадании в органы пищеварения смазать

слизистые оболочки рта и горла 1% раствором новокаина. Внутрь – по столовой ложке 1% раствора лимонной кислоты каждые 3-5 минут, крахмальный клейстер с добавлением лимонной или уксусной кислоты, 2-3 столовые ложки растительного масла, кусочки льда. Консультация врача.

Дата проведения инструктажа: _____ Подпись инструктируемого _____
Подпись преподавателя _____

Тема 1. Основы биохимии

Лабораторная работа 1. Диффузия.

Реактивы. Крупные кристаллы марганцовокислого калия, двуххромовокислого калия, кристалвиолет или другие окрашенные вещества. Жидкий силикатный клей.

Ход работы. Кристаллик окрашенного вещества на несколько секунд погружают в силикатный клей и переносят в цилиндр с водой. По мере растворения клея частички окрашенного вещества постепенно распространяются по всему объему растворителя в цилиндре, окрашивая равномерно раствор в соответствующий цвет.

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Влияние температуры на скорость диффузии.

Реактивы. Кристаллы крупные марганцовокислого калия. Кристаллы двуххромовокислого калия.

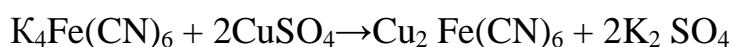
Ход работы. Наливают 25-30 мл воды в два химических стакана. В одном стакане воду нагревают до кипения на электроплитке. Затем в оба стакана помещают пинцетом кристаллы одного из окрашенных веществ. Диффузия в стакане с горячей водой идет значительно быстрее.

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Искусственные полупроницаемые мембраны.

Реактивы. 2% раствор железосинеродистого калия; 16% раствор сернокислой меди на 10% растворе сахарозы; кристаллы хлористых солей меди, кобальта, марганца и железа, силикатный клей с водой (1:3).

Ход работы. Опыт 1. В химический стакан наливают 3-4 мл раствора железосинеродистого калия и осторожно пипеткой вносят в него каплю раствора сернокислой меди так, чтобы капля находилась у поверхности жидкости. При взаимодействии железосинеродистого калия и сернокислой меди на границе растворов образуется резко очерченная мембрана в виде ячейки коричневого цвета – осадок железосинеродистой меди. Это образовалась осадочная мембрана с характерными свойствами полупроницаемой мембраны.



Раствор, окружающий мембрану, имеет меньшее осмотическое давление, чем осмотическое давление внутри ячейки, поэтому вода будет проникать через полупроницаемую мембрану внутрь ячейки. В результате ячейка лопается. Вытекающий из лопнувшей ячейки железосинеродистый калий при соприкосновении с сернокислой медью раствора опять образует мембраны железосинеродистой меди.

Опыт 2. В химический стакан наливают водный раствор силикатного клея (1:3), затем пинцетом опускают в него кристаллы хлористых солей меди, кобальта, марганца и железа. В результате реакции между солями и растворимым стеклом около кристаллов возникают полупроницаемые мембраны кремневокислых солей меди, кобальта, железа, марганца образуя ячейки с заключенными в них солями. Осмотическое давление более высокое внутри ячеек, чем в окружающем растворе, поэтому вода насасывается в ячейки, и они лопаются. В стакане в результате этого возникают разного цвета деревца причудливой формы.

Выводы: _____

Лабораторная работа 4. Влияние растворов с разным осмотическим давлением на эритроциты и растительные клетки.

Реактивы. Цитратная кровь, лук; хлористый натрий (0,1%; 0,8% и 10% растворы).

Ход работы. Опыт 1. Наливают в три пробирки по 2-3 мл следующих растворов хлористого натрия: в пробирку №1 – 10%, в пробирку №2 – 0,8%, в пробирку №3 – 0,1%. Приливают в каждую пробирку по 1-2 капли цитратной крови. Тщательно перемешивают содержимое всех пробирок и сразу же берут стеклянной палочкой каплю содержимого из пробирки №3 на предметное стекло, покрывают его покровным стеклом и рассматривают под микроскопом при большом увеличении. При быстром выполнении работы в поле зрения микроскопа можно увидеть отдельные эритроциты, быстро увеличивающиеся в объеме и постепенно теряющие очертания в связи с наступлением гемолиза.

Затем берут по капле содержимого из пробирок №1 и №2, помещают на предметные стекла, покрывают покровными стеклами и рассматривают под микроскопом при большом увеличении.

Опыт 2. Наливают в три пробирки по 2-3 мл растворов хлористого натрия разных концентраций, как в предыдущем опыте. Препарируют иглой тоненькие плёнки лука и опускают их в каждую из пробирок, помещают на предметные стекла, накрывают покровными стеклами и рассматривают под микроскопом при большом увеличении.

Выводы: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Тема 2. Буферные системы

Лабораторная работа 1. Приготовление буферных растворов

Реактивы: Калий фосфорнокислый, однозамещенный, 0,15Н раствор; натрий фосфорнокислый, однозамещенный, 0,15Н раствор; уксусная кислота, 0,1Н раствор; уксуснокислый натрий, 0,1Н раствор; универсальный индикатор.

Ход работы: Нумеруют шесть пробирок, наливают в них растворы уксусной кислоты и уксуснокислого натрия в следующих соотношениях:

Раствор	Номер пробирки					
	1	2	3	4	5	6
0,1Н р-р уксусной кислоты	9	8	5	3	2	1
0,1Н р-р уксуснокислого натрия	1	2	5	7	8	9
Значение рН, вычисленное	3,7	4,0	4,6	5,0	5,2	8,6
Значение рН, найденное в опыте						

К приготовленным смесям добавляют 2 капли универсального индикатора и по характеру окраски судят о значении рН для каждой смеси.

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Определение общей кислотности.

Общую кислотность составляет сумма активной и потенциальной кислотности. Титруемая или аналитическая кислотность определяется титрованием щелочью и называется общей кислотностью. Общая кислотность выражается количеством миллилитров 0,1Н раствора гидроксида натрия (NaOH), которая идет на нейтрализацию 100 мл исследуемого раствора.

Реактивы: Соляной кислоты 0,1Н раствор; уксусная кислота 0,1Н раствор; едкий натр 0,1Н раствор; фенолфталеин, спиртовой раствор.

Ход работы: Наливают в колбу 5 мл соляной кислоты, приливают 2-3 капли спиртового раствора фенолфталеина и титруют раствором едкого натра до появления розовой окраски. Повторяют титрование еще раз, берется для расчета среднеарифметическая величина. Между результатами титрования расхождение не должно составлять 0,1 мл.

Общую кислотность раствора уксусной кислоты определяют аналогичным способом.

Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{y \cdot 100}{y_1}, \text{ где}$$

X – общая кислотность, выраженная в мл раствора NaOH;

y – количество мл раствора NaOH, пошедшее на титрование (среднее значение);

y_1 – количество мл кислоты, взятое для титрования.

Общая кислотность одинакова у всех кислот равной нормальности, соотношение потенциальной и активной кислотности определяется степенью диссоциации.

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Буферное действие растворов.

Реактивы: Уксусной кислоты 0,1Н раствор; уксуснокислый натрий 0,1Н раствор; универсальный индикатор; раствор фенолфталеина; раствор Конго красный; едкий натр 0,1Н раствор; соляной кислоты 0,1Н раствор; дистиллированная вода.

Ход работы: В колбу отмеряют 4 мл уксусной кислоты и 16 мл уксуснокислого натрия, тщательно перемешивают. Нумеруют 4 пробирки. В пробирку №1 и №3 отмеряют по мл приготовленной буферной смеси, а в пробирки №2 и №4 по 5 мл дистиллированной воды. В пробирки №1 и №2 добавляют по 1-2 капли фенолфталеина и титруют щелочью, ведя счет каплям до появления розового окрашивания.

В пробирки №3 и №4 добавляют по 1-2 капли Конго красного и титруют соляной кислотой, считая капли до появления синего окрашивания.

Объяснить, почему при изменении реакции в пробирку №1 надо добавить больше щелочи, чем в пробирку №2, а в пробирку №3 больше кислоты, чем в пробирку №4.

Вывод: _____

Лабораторная работа 4. Влияние разведения на pH буферного раствора.

Реактивы: уксуснокислый натрий 0,1Н раствор; вода дистиллированная; универсальный индикатор; раствор фенолфталеина; едкий натр 0,1Н раствор.

Ход работы: Берут 3 колбы. В каждую из них отмеряют по 5 мл уксуснокислого натрия. Содержимое колбы №1 оставляют неразбавленным,

содержимое колбы №2 разбавляют в 2 раза, для чего к полученной буферной смеси добавляют равный объем воды (10 мл), и содержимое колбы №3 разбавляют в 4 раза, для чего добавляют 30 мл воды. Растворы в каждой колбе перемешивают и используют для опытов.

Опыт 1. Нумеруют 3 пробирки и в них соответственно отмеряют по 2 мл буферных растворов: неразбавленный, разбавленный в 2 раза и разбавленный в 4 раза. Затем к каждому из растворов добавляют по 3 капли универсального индикатора и по окраске учитывают реакцию (рН) буферного раствора. Изменяется ли рН буферного раствора? Изменяется ли рН буферного раствора при разведении? Изменяется ли рН? Если нет, то почему?

Опыт 2. Нумеруют 3 пробирки и в них отмеряют по 2 мл соответственно, разведенного в 2 и в 4 раза буферных растворов. В каждую пробирку добавляют по 2-3 капли фенолфталеина и титруют щелочью, ведя счет каплям до появления розового окрашивания. Как влияет разведение на буферную емкость раствора?

Выводы: _____

Лабораторная работа 5. Буферная емкость биологических жидкостей

Реактивы: едкий натр 0,1Н раствор; соляной кислоты 0,1Н раствор; фенолфталеин, спиртовой раствор; раствор Конго красный; универсальный индикатор; вода, молоко, сыворотка крови, слюна.

Ход работы: При помощи универсального индикатора определяют рН растворов в фарфоровой чашке, для того чтобы убедиться, что они нейтральны, т.е. рН=7.

Отмеряют по 5 мл исследуемых растворов в пробирки, к каждой добавляют по 2-3 капли фенолфталеина и титруют щелочью, ведя счет каплям до появления розового окрашивания. Результат записывают в тетрадь. После этого снова отмеряют по 5 мл жидкости и добавляют 2-3 капли Конго красного и титруют кислотой, ведя счет каплям до появления синего окрашивания. Результат записывают в тетрадь.

Написать отчет о работе. Сопоставить буферную емкость сыворотки крови по кислоте и щелочи. Исходя из соотношения соли и кислоты в карбонатной и фосфатной буферных системах крови, объяснить, почему буферная емкость сыворотки крови по кислоте больше емкости щелочи.

Вывод: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Тема 3. Основы химии высокомолекулярных соединений

Практическое занятие 3. Получение золь и эмульсий

Лабораторная работа 1. Получение золь йодистого серебра

Реактивы: 0,1Н раствор йодистого калия; 0,1Н раствор азотного серебра.

Ход работы: Наливают в колбу 2 мл 0,1Н КJ и разбавляют водой до 25 мл. В другую колбу наливают 1 мл 0,1Н AgNO₃ и доливают водой до 25 мл. При взбалтывании постепенно вливают раствор AgNO₃ в раствор КJ. Написать формулу мицеллы.

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Получение золь берлинской лазури

Реактивы: 0,1% раствор K₄Fe(CN)₆; 2% раствор FeCl₃.

Ход работы: При энергичном взбалтывании к 20 мл 0,1% раствора K₄Fe(CN)₆ приливают 5-6 капель 2% раствора FeCl₃. Получается золь темно-синего цвета.

В колбу наливают 20 мл 2% раствора, при взбалтывании (FeCl₃) содержимого колбы прибавляют 5-6 капель 0,1% раствора K₄Fe(CN)₆. Получают золь, окрашенный в зеленый цвет.

Для синего и зеленого золь берлинской лазури написать формулы мицеллы.

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Получение золя железосинеродистой меди

Реактивы: 0,1% раствор $K_4Fe(CH)_6$; 1% раствор $CuSO_4$.

Ход работы: В колбу наливают 20 мл 0,1% раствора $K_4Fe(CH)_6$, приливают 1 мл 1% раствора $CuSO_4$. Золь окрашивается в красно-коричневый цвет. Написать формулу мицеллы.

Вывод: _____

Лабораторная работа 4. Получение золя гидроокиси железа

Реактивы: вода; 2% раствор $FeCl_3$.

Ход работы: К 50 мл кипящей воды быстро, но по частям приливают 10 мл 2% раствора $FeCl_3$. Получают золь, окрашенный в красно-бурый цвет. Написать формулу мицеллы.

Вывод: _____

Лабораторная работа 5. Получение золя канифоли

Реактивы: вода; 1% спиртовой раствор канифоли.

Ход работы: К 20 мл воды, нагретой до появления пара, приливают 1 мл 1% спиртового раствора канифоли. Наблюдают образование коллоидного раствора.

Вывод: _____

Лабораторная работа 6. Получение разбавленной эмульсии

Реактивы: вода; 1% спиртовой раствор касторового масла.

Ход работы: Наливают в пробирку 6 мл воды и 2 мл 1% спиртового раствора касторового масла, встряхивают и наблюдают образование эмульсии. Объясните, почему получается эмульсия без применения эмульгатора.

Вывод: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Вопросы к итоговому контролю

1. Диффузия.
2. Осмос и осмотическое давление.
3. Адсорбция.
4. Влияние осмотического давления на растительные и животные клетки.
5. Активная реакция среды и методы ее определения.
6. Титруемая, активная и резервная кислотность.
7. Буферные системы. Их свойства.
8. Буферная емкость растворов.
9. Дисперсные системы. Дисперсная фаза и дисперсная среда.
10. Коллоидные растворы. Их свойства.
11. Строение коллоидной частицы.
12. Эмульсии.
13. Золи.
14. Гели и студни.
15. Коллоидная защита. Золотое число.
16. Методы получения коллоидных растворов.
17. Методы очистки коллоидных растворов.

Тема 4. Биохимия белков

Практическое занятие 4. Химические свойства белков.

Задание 1.

Используя приложение 1, напишите структурные формулы аминокислот, распределив их по соответствующим группам:

Моноаминомонокарбоновые кислоты:

Моноаминодикарбоновые кислоты:

Диаминомонокарбоновые кислоты:

Ароматические аминокислоты:

Гетероциклические аминокислоты:

Амиды аминокислот (аспарагин, глутамин):

Задание 2.

Укажите, на основании чего аминокислоты подразделяются на заменимые и незаменимые _____

Вышеуказанные аминокислоты распределите в соответствующие группы:

А) незаменимые _____

Б) заменимые _____

Задание 3.

Напишите за счет чего образуются молекулярные структуры белка:

1. Первичная _____
2. Вторичная _____
3. Третичная _____
4. Четвертичная _____

Задание 4.

Белки бывают полноценные и неполноценные. Объясните эти понятия и приведите примеры полноценных и неполноценных белков.

Задание 5.

Нарисуйте схему классификации белков:

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Лабораторная работа 1. Выделение яичного альбумина.

Яичный белок представляет собой смесь нескольких белков. Примерно 70% яичного белка составляет альбумин, который легко отделяется от глобулинов. При десятикратном разведении яичного белка дистиллированной водой глобулины выпадают в осадок, а альбумин остается в растворе.

Реактивы: яйцо; дистиллированная вода.

Ход работы: 1. Чтобы отделить белок от желтка, осторожно проделывают отверстие в скорлупе яйца с двух концов и выливают белок в стакан емкостью 500 мл, затем в стакан добавляют 250 мл дистиллированной воды и содержимое перемешивают стеклянной палочкой с резиновым наконечником.

2. Раствор переносят в мерный цилиндр и объем доводят дистиллированной водой до 300 мл. Раствор оставляют на 30 минут при комнатной температуре для образования хлопьевидного осадка глобулинов.

3. 20 мл полученной суспензии дважды фильтруют через складчатый фильтр.

4. С фильтратом, содержащим яичный альбумин, проделывают цветные реакции на белки (биуретовую и ксантопротеиновую, реакции)

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Биуретовая реакция (на обнаружение пептидных связей в белках)

Реактивы: 1% раствора белка; 10% раствора щелочи (NaOH или KOH); 1% раствора сульфата меди.

Ход работы: К 1 мл 1% раствора белка (желатина, яичного белка или сывороточного альбумина) добавляют 1 мл 10% раствора щелочи (NaOH или KOH) и 1 каплю 1% раствора сульфата меди. Появляется сине-фиолетовое или красно-фиолетовое окрашивание.

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Реакция Фолья (на цистеин и цистин)

Реактивы: 1% раствор яичного белка или кусочек шерстяной нити; 30% раствор NaOH; 5% раствор ацетата свинца; 1% раствор желатина.

Ход работы: К 1 мл 1% раствора яичного белка или кусочку шерстяной нити добавляют 1 мл 30% щелочи и 3-4 капли 5% раствора ацетата свинца. При интенсивном кипячении жидкость окрашивается в бурый или черный цвет.

Реакцию Фоля проделывают с 1% раствором желатина, в составе которого нет серосодержащих аминокислот. Черный осадок сульфида свинца не образуется.

Вывод: _____

Лабораторная работа 4. Ксантопротеиновая реакция (на ароматические аминокислоты)

Реактивы: 1% раствор альбумина или яичного белка; концентрированная азотная кислота; концентрированный раствор аммиака; 0,1% раствор желатина.

Ход работы: К 1 мл 1% раствора альбумина или яичного белка прибавляют 5 капель концентрированной азотной кислоты. Появляется осадок. При осторожном нагревании смесь окрашивается в желтый цвет. После охлаждения осторожно добавляют 10 капель концентрированного раствора аммиака (или 30% раствора едкого натра), при этом желтая окраска переходит в оранжевую.

Проделать ксантопротеиновую реакцию с ароматической аминокислотой, взяв вместо раствора белка 0,1% раствор желатина.

Вывод: _____

Лабораторная работа 5. Реакция Адамкевича (на триптофан)

Реактивы: 1% раствор яичного белка; 1 ледяная (концентрированная) уксусная кислота; концентрированная серная кислота.

Ход работы: К 1 мл 1% раствора яичного белка добавляют 1 мл ледяной (концентрированной) уксусной кислоты и осторожно нагревают до растворения осадка. После охлаждения к смеси осторожно добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты (по каплям по стенке пробирки, чтобы жидкости не смешались). Через 5-10 минут на границе раздела двух слоев наблюдают образование красно-фиолетового кольца.

Вывод: _____

Лабораторная работа 6. Выделение белков мышечной ткани.

Миофибриллы мышечной клетки содержат сократительные белки (миозин и актин) и регуляторные белки (тропомиозин и тропонин). Белки миофибрилл не растворяются в воде, но их можно экстрагировать из мышечной ткани солевыми растворами с концентрацией соли 0,5 моль/л. Многие белки саркоплазмы (гиалоплазмы мышечных клеток) растворимы в воде или в солевых растворах низкой концентрации (0,05 моль/л). При экстракции мышечной ткани 5% раствором хлорида калия извлекаются как миофибриллярные, так и саркоплазматические белки.

Реактивы: мышечная ткань; 5% раствор хлорида калия.

Ход работы: Взвешивают 2 г мышечной ткани. Измельченную ножницами навеску помещают в фарфоровую ступку, добавляют 2 мл 5% раствора хлорида калия и растирают со стеклянным песком до гомогенного состояния. К гомогенату добавляют 3 мл раствора хлорида калия и растирают кашицу в течение 5 минут, после чего прибавляют еще 5 мл 5% раствора хлорида калия и продолжают растирание 5 минут. Полученный гомогенат фильтруют через два слоя марли или центрифугируют в течение 15 минут при 4000 об/мин. С фильтратом (или центрифугатом) проделывают цветные реакции на белки (биуретовую или ксантопротеиновую реакции).

Вывод: _____

Лабораторная работа 7. Растворимость белков.

Многие белки растворяются в воде, что обусловлено наличием на поверхности белковой молекулы свободных гидрофильных групп. Растворимость белка в воде зависит от структуры белка, реакции среды, присутствия электролитов. В кислой среде лучше растворяются белки, обладающие кислыми свойствами, а в щелочной - белки, обладающие основными свойствами.

Альбумины хорошо растворяются в дистиллированной воде, а глобулины растворимы в воде только в присутствии электролитов.

Не растворяются в воде белки опорных тканей (коллаген, кератин, эластин и др.).

Реактивы: яйцо; дистиллированная вода; 5% раствор хлорида калия;

Ход работы: 1. К 2 каплям неразведенного яичного белка прибавляют 1 мл дистиллированной воды и перемешивают. При этом яичный альбумин растворяется, а яичный глобулин выпадает в виде небольшого осадка.

2. К 2 каплям яичного белка прибавляют 1 мл 5% раствора хлорида калия. В слабом солевом растворе растворяются как альбумины, так и глобулины.

3. Проверяют растворимость в воде и 5% растворе хлористого калия белка кератина, содержащегося в шерсти и волосах.

Вывод: _____

Лабораторная работа 8. Осаждение белков

Реакции осаждения белков в зависимости от применяемого осадителя бывают необратимыми и обратимыми.

Необратимое осаждение белков (денатурация)

Необратимые реакции осаждения приводят к денатурации белков, при этом разрушается пространственная структура молекулы и белки утрачивают свои естественные биологические и физико-химические свойства. Денатурацию белков можно вызвать физическими воздействиями (кипячение, замораживание, высокое давление, вибрация, радиоактивное излучение и др.) и химическими осадителями.

Ход работы:

1. Осаждение белков неорганическими осадителями.

а) Осаждение белков минеральными кислотами.

В пробирку осторожно наливают около 1 мл концентрированной азотной кислоты. Затем, наклонив пробирку, медленно по стенке добавляют 1 мл 1% раствора белка. На границе двух жидкостей появляется осадок в виде белого кольца.

Такую же реакцию проделывают с концентрированной соляной и серной кислотами.

Вывод: _____

б) Осаждение белков солями тяжелых металлов.

В две пробирки наливают по 1 мл 1% раствора белка и добавляют по 3-4 капли: в первую пробирку - 7% раствора сульфата меди, во вторую - 5% раствора ацетата свинца. Во всех пробирках образуется осадок.

Вывод: _____

2. Осаждение белков органическими осадителями.

а) осаждение белков органическими кислотами.

В 2 пробирки наливают по 2 мл 1% раствора белка и добавляют в одну пробирку 4-5 капель 10% раствора сульфосалициловой кислоты, в другую - 5-10 капель 10% трихлоруксусной кислоты. Выпадает осадок белка.

Вывод: _____

б) Осаждение белков органическими растворителями.

К 1 мл 1% раствора белка добавляют 2 мл органического растворителя (96% этанола, хлороформа, ацетона или эфира) и перемешивают. Образование осадка можно усилить добавлением нескольких капель насыщенного раствора хлорида натрия.

Вывод: _____

3. Осаждение белков при нагревании.

В пять пробирок наливают по 0,5 мл 1% раствора яичного белка. Содержимое первой пробирки нагревают до появления опалесценции (помутнения раствора).

К раствору белка во второй пробирке осторожно добавляют 1 каплю 1% раствора уксусной кислоты, нагревают и наблюдают вначале появление опалесценции, а затем выпадение белого хлопьевидного осадка белка. Это

объясняется тем, что белок теряет заряд и находится в изоэлектрическом состоянии.

К раствору белка в третьей пробирке добавляют 1-2 капли 10% раствора уксусной кислоты и нагревают. Осадок не образуется, так как в кислой среде частицы белка перезаряжаются и приобретают положительный заряд.

К раствору белка в четвертой пробирке добавляют 1-2 капли 10% раствора уксусной кислоты, 1 каплю насыщенного раствора хлорида натрия и нагревают. Выпадает осадок вследствие адсорбции ионов электролита (образование двойного электрического слоя) и нейтрализации заряда на частицах белка.

К раствору белка в пятой пробирке добавляют 1 каплю 10% раствора гидроксида натрия и нагревают. Осадок не образуется, так как в щелочной среде отрицательный заряд на частицах белка усиливается.

Вывод: _____

Обратимое осаждение белков (высаливание)

При добавлении к водным растворам белков сульфатов или хлоридов щелочных и щелочноземельных металлов (Na_2SO_4 , NaCl , MgSO_4 и др.) происходит дегидратация и нейтрализация белковых частиц, при этом белки выпадают в осадок без изменения нативной структуры. Такой тип осаждения белков называется высаливанием. Высаливание - обратимый процесс, и после удаления соли (разбавлением водой, диализом) белок вновь приобретает природные свойства. Поскольку разные белки высаливаются при различных концентрациях солей, этот метод используется для фракционирования белков. Для разделения белков методом высаливания широко применяется сульфат аммония.

Фракционное осаждение белков плазмы крови сульфатом аммония.

Фибриноген выпадает в осадок при 33% насыщении плазмы сернокислым аммонием, глобулины - при полунасыщении а альбумины - при полном насыщении.

Ход работы:

1. К 2 мл плазмы крови добавляют 5 мл дистиллированной воды, 3,5 мл насыщенного раствора сульфата аммония и перемешивают. В осадок выпадает фибриноген (можно наблюдать лишь незначительное помутнение), который отделяют фильтрованием. Наличие белка на фильтре проверяют биуретовой реакцией: для этого воронку с фильтром переносят в чистую пробирку и на фильтр наливают 1 мл 10% раствора гидроксида натрия и 1 каплю 1% раствора сульфата меди. Фильтрат (№1) используют для дальнейшей работы.

2. К 4 мл фильтрата №1 добавляют 4 мл насыщенного раствора сульфата аммония и перемешивают. В осадок выпадают глобулины, которые отделяют фильтрованием. Получают осадок, с которым проделявают биуретовую реакцию, и фильтрат №2.

3. К фильтрату №2 добавляют при постоянном перемешивании стеклянной палочкой кристаллический сульфат аммония до насыщения (пока соль не перестанет растворяться). Выпадают в осадок альбумины, наличие которых проверяют биуретовой реакцией: 1 мл смеси переносят в чистую пробирку, добавляют 1 мл 10% раствора гидроксида натрия и 1 каплю 1% раствора сульфата меди.

Вывод: _____

Лабораторная работа 9. Выделение казеина из молока.

80% белков молока приходится на долю специфического фосфопротеида казеина. 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, которые легко отделяются фильтрованием.

Ход работы: 1. В химический стакан емкостью 50 мл отмеряют мерной пробиркой 3 мл молока и 7 мл дистиллированной воды. К смеси постепенно, слегка перемешивая, добавляют 10-15 капель 1% раствора соляной кислоты до начала образования рыхлого осадка. (Кислоту добавлять аккуратно по каплям, так как в избытке ее осадок казеина растворяется!)

2. Для удаления кислоты в стакан наливают 10 мл дистиллированной воды, перемешивают и через 5 минут жидкость осторожно сливают с осадка. К осадку еще раз приливают 10 мл дистиллированной воды, содержимое стакана осторожно перемешивают и через 5 минут фильтруют через бумажный фильтр.

3. Осадок с фильтра переносят стеклянной палочкой в колбочку (небольшую часть осадка оставляют на фильтре и проверяют на биуретовую реакцию). В колбочку приливают 6 мл 10% раствора гидроксида натрия, присоединяют обратный холодильник и нагревают на песочной бане в течение 1 часа.

4. К охлажденному гидролизату добавляют 20-30 капель концентрированной азотной кислоты слабокислой реакции на лакмус. При нейтрализации выпадает осадок высокомолекулярных продуктов неполного гидролиза казеина. После отстаивания жидкость фильтруют.

5. Проделявают с фильтратом биуретовую реакцию и молибденовую пробу на фосфорную кислоту:

а) к 0,5 мл фильтрата добавляют 1 мл 10% щелочи и 1 каплю 1% раствора сульфата меди;

б) к 0,5 мл фильтрата добавляют 1 мл молибденового реактива (смесь молибдата аммония и концентрированной азотной кислоты), доводят до кипения и кипятят несколько минут. В присутствии фосфорной кислоты жидкость окрашивается в лимонно-желтый цвет.

При охлаждении выпадает желтый кристаллический осадок.

Вывод: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Вопросы к итоговому контролю

1. Строение белковой молекулы.
2. Пространственные структуры белковой молекулы.
3. Физико-химические свойства белков.
4. Денатурация. Причины. Изоэлектрическая точка белка.
5. Классификация белков.
6. Протеины.
7. Протеиды.
8. Фибриллярные и глобулярные белки.
9. Функции белков в плазме крови.
10. Хромопротеиды.
11. Липопротеиды.
12. Глюкопротеиды.
13. Нуклеопротеиды.
14. Качественная реакция на наличие белка в растворе.
15. Реакция Адамкевича.
16. Осаждение белков кипячением.
17. Альбумины.
18. Глобулины.
19. Осаждение белков органическими кислотами.
20. Аминокислоты. Строение. Физико-химические свойства.

Тема 5. Биохимия ферментов

Практическое занятие 5. Химические свойства ферментов.

Задание 1.

Дайте определение ферментов _____

Задание 2.

По строению ферменты подразделяются на простые и сложные.

Приведите примеры простых ферментов _____

Сложные ферменты состоят _____

Задание 3.

Заполните таблицу, указав какие коферменты содержат соответствующие витамины.

№	Витамины	Коферменты
1	B ₁ (тиамин)	
2	B ² (рибофлавин)	
3	Пантотеновая кислота	
4	PP	
5	B ₆ (пиридоксин)	
6	B ₁₂ (цианкобаламин)	

Задание 4.

Дайте понятие активаторам и ингибиторам ферментов.

1. Активаторы _____

2. Ингибиторы _____

А) общие _____

Б) специфические _____

Задание 5.

Заполните таблицу:

Класс и представители	Реакции, катализируемые указанными ферментами
1. Оксидоредуктазы: - - - -	

2. Трансферазы: - - - -	
3. Гидролазы: - - - -	
4. Лиазы: - - - -	
5. Изомеразы: - - - -	
6. Лигаза (синтетаза): - - - -	

Лабораторная работа 1. Сравнительное действие ферментов и катализаторов неорганической природы

Реактивы: 1% раствор крахмала, 10% раствор гидроксида натрия (NaOH), 1% раствор сульфата меди (CuSO₄), раствор Люголя (йод, 1% раствор в КJ, 2,5%), 10% раствор соляной кислоты (HCl), вода дистиллированная

Ход работы: В три пробирки вносят по 5 мл 1%-ого раствора крахмала. В первую пробирку (№1) добавляют 1 мл дистиллированной воды, во вторую (№2) – 1 мл 10% раствора HCl, а в третью (№3) – 1мл препарата амилазы слюны (приготовление препарата фермента указано ниже). Пробирку №2 помещают в кипящую водяную баню, а пробирки №1 и №3 после перемешивания в термостат на 37°С. После инкубирования в течение 20 минут все пробирки охлаждают и из каждой отбирают пробы для определения содержания крахмала по реакции с раствором Люголя - отлейте в отдельные пробирки по 1 мл их содержимого. Добавьте в каждую пробирку по 1 капле раствора йода и тщательно перемешайте (образование фиолетового цвета, говорит о положительной реакции), и глюкозы - по

реакции Троммера. К 5 каплям исследуемой жидкости добавляют 5 капель 10% раствора и 5 капель 1% раствора CuSO_4 . Затем содержимое пробирки нагревают над пламенем горелки. Появление красного цвета указывает на присутствие в растворе мальтозы и глюкозы (положительная реакция Троммера).

Делают заключение о степени гидролиза крахмала в каждой из пробирок.

Сравнивают гидролитическую активность амилазы слюны и раствора соляной кислоты.

Приготовление разбавленного раствора амилазы слюны

1. Предварительно рот ополаскивают дистиллированной водой.
2. Затем в рот набирают приблизительно 20-25 мл дистиллированной воды и выдерживают ее в течение 5 минут.
3. Далее раствор собирают и фильтруют.

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Определению каталитической активности ферментов

Реактивы: 3%-ный раствор пероксида водорода, пробирки, пинцет, ткани растений (кусочки сырого и варёного картофеля) и животных (кусочки сырого и варёного мяса), песок, ступка и пестик.

Ход работы:

1. Приготовьте четыре пробирки со свежим 3%-ным раствором пероксида водорода, затем поместите в первую пробирку кусочек сырого картофеля, во вторую – кусочек варёного картофеля, в третью – кусочек сырого мяса, в четвёртую – кусочек варёного мяса. Пронаблюдайте, что будет происходить в каждой пробирке.

2. Составьте таблицу, показывающую активность каждой ткани при различной обработке.

3. Измельчите в ступке кусочек сырого картофеля с небольшим количеством песка. Перенесите измельчённый картофель вместе с песком в пробирку и капните туда немного пероксида водорода. Сравните активность измельчённой и целой растительной ткани.

4. Объясните полученные результаты.

Образец отчёта по лабораторной работе

Что делали?	Что наблюдали?	Выводы
1. В пробирку с раствором H_2O_2 положили кусочек сырого картофеля.		
2. В пробирку с раствором положили кусочек варёного картофеля.		
3. В пробирку с раствором H_2O_2 положили кусочек сырого мяса.		
4. В пробирку с раствором H_2O_2 положили кусочек варёного мяса.		
5. В пробирку с раствором H_2O_2 положили кусочек измельчённого сырого картофеля.		

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Специфичность действия ферментов

Реактивы: 1% раствора крахмала, 2% раствор сахарозы, раствор сахаразы.

Ход работы:

В пробирку №1 и №2 налить по 10 капель 1% раствора крахмала, в пробирки №3 и №4 налить по 10 капель 2% раствора сахарозы. Затем в пробирки №1 и №3 добавить по 4 капли слюны, разведенной в 5 раз, а в пробирки №2 и №4 налить по 4 капли раствора сахаразы (фермента). Перемешать и поместить в водяную баню при температуре 37^0 на 15 минут.

После этого с содержимым всех четырех пробирок проводят реакцию с йодом и сульфатом меди.

Результаты опыта занести в таблицу.

Определение специфичности действия ферментов

№ пробирки	Субстрат	Фермент	Реакция с йодом	Реакция с сульфатом меди
1	Крахмал	Амилаза		
2	Крахмал	Сахараза		
3	Сахароза	Амилаза		
4	Сахароза	Сахараза		

Вывод: _____

Лабораторная работа 4. Инактивация ферментов высокой температурой

Реактивы: раствор слюны (свежую слюну разводят водой в 5 раз); 1%-й раствор крахмала; раствор йода в иодиде калия (р-р Люголя); 5 %-й раствор гидроксида натрия; 5 %-й раствор сульфата меди.

Ход работы: в две пробирки налейте по 1 мл разведенной слюны. Содержимое одной пробирки нагрейте до кипения и прокипятите 2-3 мин. Затем в обе пробирки добавьте по 1 мл раствора крахмала и поставьте их на 10 мин. в водяную баню, нагретую до 38°C.

Из опытной и контрольной пробирок задания 1 отлейте в отдельные пробирки по 1 мл их содержимого. Добавьте в каждую пробирку по 1 капле раствора йода и тщательно перемешайте.

Сравните окраску полученных растворов.

Обнаружение мальтозы.

К оставшимся растворам опытной и контрольной пробирок добавьте по 1 капле раствора сульфата меди и по 5 капель раствора щелочи. Содержимое пробирок перемешайте и поместите их в кипящую водяную баню.

Сравните окраску полученных растворов.

Вывод: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Вопросы к итоговому контролю

1. Ферменты. Определение понятия.
2. Ферментативный катализ. Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры, pH, концентрации фермента и субстрата.
3. Константа Михаэлиса как мера сродства фермента к субстрату.
4. Химическая природа ферментов. Простые и сложные ферменты.
5. Строение сложных ферментов. Холофермент. Апофермент. Кофакторы, коферменты. Роль витаминов.
6. Номенклатура и классификация ферментов.
7. Механизм действия ферментов. Образование фермент-субстратного комплекса. Активный центр ферментов.
8. Регуляторный (аллостерический) центр фермента. Эффекторы. Конформационные изменения активного центра.
9. Активаторы и ингибиторы ферментов. Типы ингибиторов: обратимые и необратимые, конкурентные и неконкурентные. Эндогенные ингибиторы ферментов.
10. Антиферменты. Лекарственные препараты-ингибиторы ферментов.
11. Аллостерические ферменты, белки четвертичной структуры. Кооперативные свойства аллостерических ферментов.
11. Различия ферментного состава органов и тканей, органоспецифические ферменты, ферменты плазмы крови.
12. Изоферменты (на примере ЛДГ).
13. Единицы измерения активности ферментов.
14. Применение ферментов, их активаторов и ингибиторов при лечении заболеваний. Имобилизованные ферменты.

Тема 6. Биохимия углеводов.

Практическое занятие 6. Химические свойства углеводов

Задание 1.

Классификация углеводов (дайте определение и укажите представителей):

1. По отношению к гидролизу

- моносахариды _____

- олигосахариды _____

- полисахариды _____

2. Моносахариды по числу углеродных атомов подразделяются на:

- триозы _____

- тетрозы _____

- пентозы _____

- гексозы _____

3. Моносахариды по функциональным группам подразделяются на:

- альдозы _____

- кетозы _____

Лабораторная работа 1. Обнаружение лактозы и мальтозы.

Реактивы: концентрированный раствор аммиака, 1% раствор лактозы, 1% й раствор мальтозы, 20 % й раствор гидроксида калия.

Ход работы

В две пробирки, содержащие по 1 мл лактозы и мальтозы, добавляют по 0,5 мл раствора аммиака, 50 мкл гидроксида калия и нагревают на водяной бане до появления красно–коричневого цвета.

Лактоза и мальтоза с аммиаком в щелочной среде образуют окрашенное соединение.

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Обнаружение восстанавливающих сахаридов реакцией Троммера.

Реактивы: 1 % – й растворы глюкозы, мальтозы, сахарозы, крахмала, 10 % –й раствор гидроксид натрия, 5 % – й раствор сульфата меди.

Ход работы

Моносахариды и некоторые дисахариды, в молекулах которых есть карбонильная группа, в щелочной среде восстанавливают оксид меди (II) в оксид меди (I).

В 4 пронумерованные пробирки внести по 10 капель одного из углеводов: глюкозы, мальтозы, сахарозы и крахмала. Добавить по 10 капель гидроксида натрия и по 2 капли сульфата меди, нагревают до кипения. В пробирках с мальтозой и глюкозой выпадает осадок оксида меди (I) кирпично-красного цвета.

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Обнаружение крахмала.

Реактивы: 1 % – й раствор крахмала, 1% – й раствор йода.

Ход работы

К 10 каплям раствора крахмала добавить 1 – 2 капли йода. Наблюдается ярко–синее окрашивание.

Крахмал с раствором йода образует окрашенное соединение синего цвета.

Вывод: _____

Лабораторная работа 4. Обнаружение крахмала в продуктах питания

Крахмал основной резервный углевод растений, представляет смесь двух полисахаридов, линейного (амилозы) и разветвленного (амилопектина), дает цветную реакцию с раствором йода в иодиде калия – окрашивается в темно–синий цвет. Крахмал белое аморфное вещество, не растворимое в холодной воде, выделяют из картофеля.

Реактивы: крахмал; картофель; отварной рис; мука; яблоко; лимон; растительное масло; раствор йода в йодистом калии (1 г йодистого калия растворяют в нескольких миллилитрах воды, в концентрированном растворе соли растворяют 1 г йода и разбавляют водой до 300 см³) или спиртовой раствор йода; дистиллированная вода.

Ход работы

Исследуемые твердые продукты (картофель, отварной рис, яблоко, лимон) по отдельности разотрите до кашеобразного состояния в ступке.

В семь пронумерованных пробирок поместите по 0,5 –1 г растертых продуктов.

Во все пробирки добавьте по 2 – 3 см³ дистиллированной воды и пробы тщательно перемешайте. Добавьте в пробирки по 1 – 2 капли раствора йода. Отметьте пробирки, в которых наблюдается синее окрашивание.

Оформите проведенные исследования в виде таблицы. Сделайте вывод о содержании крахмала в изученных продуктах.

№ пробирки	Исследуемый продукт	Наблюдаемая окраска	Содержание крахмала

Вывод: _____

Вопросы для итогового контроля

1. Углеводы. Определение.
2. Классификация углеводов.
3. Моносахариды. Определение.
4. Открытые и закрытые формы рибозы глюкозы, фруктозы, галактозы. α - и β -изомеры.
5. Дисахариды. Определения. Строение, гликозидные связи.
6. Мальтоза, сахароза, лактоза.
7. Гомополисахариды. Крахмал, гликоген, клетчатка. Состав, строение.
8. Гетерополисахариды, синонимы. Состав мономеров, структурные единицы (димеры).
9. Кислые ГАГ: гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, гепарин. Нейтральные: нейраминовая и сиаловые кислоты.
10. Функции углеводов в организме.
11. Углеводы крови, тканей.
12. Качественные реакции на наличие крахмала.
13. Проба Троммера.

Тема 7. Биохимия липидов (жиров)

Практическое занятие 7. Химические свойства липидов

Задание 1.

Дайте определение понятию липиды.

Липиды – это _____

Задание 2.

Напишите формулы наиболее часто встречающихся спиртов:

- глицерин _____ - цетиловый спирт _____

- мирициловый спирт _____

- сфингозин _____

- холестерин _____

Задание 3.

Напишите формулы жирных кислот:

1. Насыщенные жирные кислоты:

- масляная _____

- капроновая _____

- миристиновая _____

- пальмитиновая _____

- стеариновая _____

- арахидовая _____

2. Ненасыщенные жирные кислоты:

- олеиновая _____

- линолевая _____

- линоленовая _____
- арахидоновая _____

Лабораторная работа 1. Физико-химические свойства жиров

Реактивы: растительное масло; твердый жир; яблоко; картофель; гексан (бензин); этиловый спирт; ацетон; 2 %-й раствор карбоната натрия; 2 %-й раствор мыла; дистиллированная вода.

Ход работы

Задание 1. Образование масляного пятна.

Каплю растительного масла нанесите на кусочек бумаги. Образуется пятно. Кусочек свиного сала, яблока, картофеля раздавите на кусочке бумаги с образованием пятна. Нагрейте бумагу с пятнами на слабо нагретой плитке. Пятно, образованное жиром, не исчезает при нагревании.

Задание 2. Растворимость жиров.

Поставьте два ряда пробирок по 4 в каждом. В пробирки первого ряда внесите по 3 капли растительного масла, в пробирки второго ряда – по кусочку твердого жира. В первую пробирку каждого ряда прилейте 2 мл дистиллированной воды, во вторую – столько же гексана или бензина; в третью – ацетона и в четвертую – спирта.

Все пробирки взболтайте и наблюдайте за растворимостью жиров в различных растворителях. Пробирки со спиртом рекомендуется нагреть на водяной бане.

Задание 3. Эмульгирование жирных масел.

В три пробирки внесите по 5 капель растительного масла.

В первую пробирку добавьте 2 мл дистиллированной воды, во вторую – 2 мл 2 %-го раствора карбоната натрия, в третью – столько же 2 %-го раствора мыла.

Содержимое пробирок сильно взболтайте. В первой пробирке образуется неустойчивая эмульсия масла в воде, в остальных – устойчивая эмульсия благодаря действию эмульгаторов, которые, адсорбируясь на поверхности жировых капель, придают им одинаковый заряд и снижают поверхностное натяжение.

Оформите результаты проведенных исследований в виде таблицы.

№ задания	Краткое описание опыта	Наблюдаемое явление	Вывод

Лабораторная работа 2. Проба на омыление.

Реактивы: пробы, исследуемые на наличие жира; спиртовой раствор NaOH или KOH 20 %.

Ход анализа. Нагревают 2–3 капли испытуемого вещества в пробирке с 5мл раствора спиртовой щелочи. После удаления спирта нагреванием в пробирку приливают дистиллированную воду. Образовавшееся мыло легко растворяется в воде, а мыльный раствор при встряхивании дает пену:

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Обнаружение лецитина в желтке куриного яйца.

Лецитины относятся к группе фосфолипидов, не растворяются в воде и ацетоне, но хорошо растворяются в спирте, хлороформе, эфире. При добавлении к раствору лецитинов ацетона, последние легко осаждаются.

Реактивы: ацетон, спиртовой раствор лецитина (к 1/2 желтка куриного яйца приливают 40 мл горячего спирта помешивая палочкой. Раствор охлаждают и фильтруют. Реактив готовят перед употреблением.).

Ход работы. В сухую пробирку приливают 10 капель ацетона и по каплям добавляют спиртовой раствор лецитина. Отмечают наблюдения.

В сухую пробирку приливают 20 капель спиртового раствора лецитина и по каплям добавляют дистиллированную воду до образования устойчивой эмульсии.

Вывод: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Вопросы для итогового контроля

1. Определение липидов.
2. Классификация липидов.
3. Функции липидов в организме.
4. Физико-химические свойства липидов.
5. Липиды тканей и пищи. Суточная потребность.
6. Высшие жирные кислоты. Классификация. Строение. Биологическая роль.
7. Простые липиды - ацилглицерины. Животные жиры и растительные масла.
8. Строение и биологическая роль животных и растительных жиров.
9. Жировые константы. Воска.
10. Сложные липиды - глицерофосфолипиды, сфинголипиды, гликолипиды. Строение и биологическая роль. Представители.
11. Стероиды. Строение и биологическая роль холестерина.
12. Эфиры холестерина. Желчные кислоты, свободные и парные.

Тема 8. Биохимия витаминов

Практическое занятие 8. Качественные реакции на витамины

Задание 1.

Укажите названия и функции витаминов в организме

1. Водорастворимые витамины

- В₁ _____

- В₂ _____

- В₆ _____

- B₁₂ _____

- Н _____

-РР _____

- пантотеновая кислота _____

- фолиевая кислота _____

2. Жирорастворимые витамины

- А _____

- Д _____

-Е _____

- К _____

- F _____

Лабораторная работа 1. Реакция окисления тиаминa.

В щелочной среде тиаминa окисляются железосинеродистым калием (феррицианидом калия) с образованием окрашенного в желтый цвет тioxрома. Тioxром обладает синей флуоресценцией при ультрафиолетовом облучении раствора в флуороскопе, и это свойство используется при количественном определении тиаминa.

Реактивы: 5% раствор тиаминa, 10% раствор гидроксида натрия, раствор железосинеродистого калия.

Ход работы: 1 каплю 5%-го раствора тиаминa смешивают в пробирке с 5-10 каплями 10%-го раствора гидроксида натрия и затем добавляют 1-2 капли раствора железосинеродистого калия. При нагревании жидкость окрашивается в желтый цвет вследствие окисления тиаминa в тioxром.

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Реакция восстановления витамина В₂ (рибофлавина).

Реактивы: раствор рибофлавина, концентрированная соляная кислота, металлический цинк.

Ход работы: В пробирку наливают 10 капель раствора рибофлавина, добавляют 5 капель концентрированной соляной кислоты и небольшой кусочек металлического цинка. Наблюдают бурное выделение пузырьков водорода и изменение окраски жидкости.

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Реакции на витамин РР (никотиновую кислоту, никотинамид).

При нагревании никотиновой кислоты с раствором уксуснокислой меди образуется плохо растворимый синий осадок медной соли витамина РР.

Реактивы: никотиновая кислота, 10% раствор уксусной кислоты, 5%-го раствор ацетата меди.

Ход работы: 5-10 мг никотиновой кислоты растворяют при нагревании в 10-20 каплях 10%-го раствора уксусной кислоты. К нагретому до кипения раствору добавляют равный объем 5%-го раствора ацетата меди. Жидкость становится мутной, окрашивается в голубой цвет, а при стоянии выпадает синий осадок никотината меди.

Вывод: _____

Лабораторная работа 4. Феррохлоридная проба на витамин В₆.

Реактивы: 1% раствор витамина В₆, 1%-го раствора хлорида железа

Ход работы: В пробирку наливают 1 мл 1%-го раствора витамина В₆, добавляют 2 капли 1%-го раствора хлорида железа и содержимое встряхивают. Жидкость окрашивается в красный цвет.

Вывод: _____

Лабораторная работа 5. Качественные реакции на витамины группы Р (биофлавоноиды).

Реактивы: насыщенного водного раствора рутина, 1% раствор хлорида железа, концентрированная серная кислота.

Ход работы: 1) К 1-2 мл насыщенного водного раствора рутина прибавляют 3-5 капель 1%-го раствора хлорида железа (FeCl₃). Появляется зеленое окрашивание.

2) К 1-2 мл насыщенного водного раствора рутина осторожно по стенке пробирки добавляют 0,5-1 мл концентрированной серной кислоты. На границе двух жидкостей возникает окрашенное в желтый цвет кольцо.

Вывод: _____

Лабораторная работа 6. Реакция восстановления феррицианида калия с витамином С.

Реактивы: 1% раствор витамина С, дистиллированная вода, 10% раствор гидроксида калия, 5% раствор железосинеродистого калия, 10% раствор соляной кислоты, 1%-го раствора хлорида железа.

Ход работы: В одну пробирку (опыт) вносят 5 капель 1%-го раствора витамина С, а в другую (контроль) 5 капель дистиллированной воды. В обе пробирки добавляют по 1 капле 10%-го раствора гидроксида калия и 1 капле 5%-го раствора железосинеродистого калия, перемешивают, после чего добавляют по 3 капли 10%-го раствора соляной кислоты и 1 капле 1%-го раствора хлорида железа. В опытной пробирке выпадает темно-синий осадок берлинской лазури, который при осторожном наливаании воды становится более отчетливым.

Вывод: _____

Лабораторная работа 6. Реакция восстановления метиленовой сини витамином С.

Реактивы: раствор Люголя, дистиллированная вода, 1% раствор аскорбиновой кислоты,

Ход работы. В две пробирки (опыт и контроль) наливают по 10 капель дистиллированной воды и 2 капли раствора Люголя. В опытную пробирку добавляют 5-10 капель 1%-го раствора аскорбиновой кислоты, в контрольную – столько же дистиллированной воды. В опытной пробирке раствор обесцвечивается.

Вывод: _____

Лабораторная работа 7. Реакция на витамин Е

Реактивы: раствор токоферола, концентрированная азотная кислота

Ход работы: В сухую пробирку вносят 5 капель 0,1%-го спиртового раствора токоферола и 10 капель концентрированной азотной кислоты. Содержимое пробирки встряхивают, появляется красное окрашивание. Если образовавшуюся окрашенную эмульсию поместить в водяную баню при 70 °С она расслаивается, при этом верхний масляный слой имеет красный цвет.

Вывод: _____

Лабораторная работа 8. Реакция токоферола с хлоридом железа (III).

Реактивы: 0,1% спиртовой раствор токоферола, 1% раствор хлорного железа.

Ход работы. 4-5 капель 0,1%-го спиртового раствора токоферола смешивают с 0,5 мл 1%-го раствора хлорного железа. Смесь тщательно перемешивают и наблюдают появление красного окрашивания.

Вывод: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Вопросы для итогового контроля

1. Витамины.
2. Понятие об авитаминозах, гипо- и гипervитаминозах.
3. Витамины группы Д.
4. Витамин А. Характеристика и значение для организма.
5. Витамин Е, характеристика и значение для организма.
6. Витамин F, связь с простогландами.
7. Витамин А. Характеристика и значение для организма.
8. Витамин К. Характеристика и значение для организма.
9. Витамин РР и его роль в ферментативных процессах.
10. Витамин В₁ и его связь с ферментативными процессами.
11. Витамин В₆, его характеристика и связь с ферментативными процессами.
12. Витамин В₂, его связь с ферментами.
13. Витамин В₁₂.
14. Витамин С.
15. Фолиевая кислота.
16. Пантотеновая кислота.

Тема 9. Обмен веществ. Белковый обмен

Практическое занятие 9. Обнаружение продуктов белкового обмена в моче.

Задание 1.

Укажите какие ферменты действуют на белки в желудочно-кишечном тракте животного, какова роль этих ферментов и к какому классу они относятся:

- в желудке _____

- в кишечнике _____

Задание 2.

Аммиак является продуктом распада белка. Он токсичен для организма. Напишите реакции обезвреживания аммиака:

1. Нейтрализуется кислотами (какими и где?) _____

2. Связывается аспарагиновой и глутаминовой кислотами _____

В чем заключается физиологическая роль этого процесса? _____

Задание 3.

Напишите схему орнитинового цикла:

Задание 4.

Дайте объяснение понятиям:

- трансаминирование _____

- декарбоксилирование _____

- дезаминирование _____

Лабораторная работа 1. Обнаружение белка в моче. Проба с сульфосалициловой кислотой.

Реактивы: моча, 20% раствор сульфосалициловой кислоты.

Ход работы: В пробирку вносят 3-4 мл профильтрованной мочи и 5-6 капель 20% раствора сульфосалициловой кислоты. Появление хлопьев или помутнения в пробе указывают на наличие белка (положительная проба). Чувствительность пробы 0,015 г/л.

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Кольцевая проба Геллера

Реактивы: Азотистая кислота концентрированная, или реактив Ларионовой (насыщенный раствор хлорида натрия: 20-30 г соли растворяют в 100 мл воды при подогревании, дают отстояться до охлаждения; надосадочную жидкость сливают, фильтруют; к 99 мл фильтрата прибавляют 1 мл крепкой азотной кислоты; вместо азотной кислоты можно добавить 2 мл концентрированной соляной кислоты).

Ход работы: В пробирку наливают 1-1,5 мл азотной кислоты или реактив Ларионовой и пипеткой осторожно по стенке пробирки наслаивают мочу, стараясь не взбалтывать жидкость в пробирке. При наличии белка на границе двух жидкостей появляется белое кольцо. Беловатые кольца, появляющиеся выше границы наслоения, образуются за счет выпадения солей. Эти кольца исчезают при осторожном подогревании.

Проба с реактивом Ларионовой имеет ряд преимуществ: на границе наслоения не бывает пигментных колец, которые часто образуются при наслаивании мочи на азотную кислоту и мешают распознаванию белкового кольца; кольца получаются более четкие, чем с азотной кислотой;

экономится азотная кислота; реактив более удобен в работе, попадая на ткань, не прожигает ее.

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Обнаружение билирубина. Проба Розина

Реактивы: Люголевский раствор (1 г йода, 2 г йодида калия и 300 мл дистиллированной воды) или 1% спиртовой раствор йода.

Ход работы: В пробирку наливают 4-5 мл мочи и осторожно по стенкам пробирки наслаивают раствор йода. Появление на границе между жидкостями зеленого кольца свидетельствует о наличии билирубина.

Вывод: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Вопросы для итогового контроля

1. Переваривание белков в желудке. Роль соляной кислоты.
2. Переваривание белков в тонком кишечнике. Всасывание аминокислот.
3. Судьба всосавшихся аминокислот. Транспорт аминокислот в клетки, роль глутамилтранспептидазы.
4. Синтез белков плазмы крови. Функции белков плазмы крови.
5. Превращения аминокислот в тканях. Общие и специфические пути.
6. Переаминирование. Трансаминазы.
7. Интегральная роль реакций трансаминирования в обмене веществ. АЛТ и АСТ - органоспецифичные ферменты, диагностическое значение определения активности трансаминаз в сыворотке крови.
8. Дезаминирование аминокислот, виды. Окислительное дезаминирование, роль глутаматдегидрогеназы. Непрямое дезаминирование.
9. Образование и пути обезвреживания аммиака в организме. Образование амидов дикарбоновых кислот.
10. Синтез мочевины в печени (орнитиновый цикл Кребса) - главный путь обезвреживания аммиака.
11. Декарбоксилирование аминокислот. Биогенные амины: гистамин, серотонин, гамма-аминомасляная кислота, катехоламины. Биологическая роль. Обезвреживание биогенных аминов, моноаминоксидаза.

Тема 10. Обмен углеводов
Практическое занятие 10. Определение глюкозы в биологических жидкостях.

Задание 1.

Укажите ферменты и субстраты переваривания углеводов в желудочно-кишечном тракте:

1. В ротовой полости _____

2. В желудке моногастричных животных _____

3. В желудке у жвачных животных _____

4. В кишечнике _____

Задание 2.

Напишите схемы окисления углеводов:

1. Анаэробное окисление

2. Аэробное окисление (цикл Кребса)

Лабораторная работа 1. Обнаружение и определение глюкозы в моче. Проба Гайнеса.

Реактивы: а) 13,3 г меди сульфата ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), растворяют в 400 мл дистиллированной воды; б) 50 г натрия (калия) гидроксида растворяют в 400 мл дистиллированной воды; в) 15 г глицерина растворяют в 200 мл дистиллированной воды. Растворы «а» и «б» смешивают и добавляют раствор «в». Реактив длительно сохраняется в холодильнике.

Ход работы: К 6-8 мл мочи прибавляют 20 капель реактива до появления голубоватой окраски, смешивают и нагревают верхнюю часть пробирки до начала кипения. Нижняя часть пробирки – контроль. При наличии глюкозы в верхней части пробирки в моче появляется желтая окраска.

В моче здоровых животных концентрация глюкозы ничтожно мала и обнаружить или определить ее невозможно. Повышение содержания глюкозы в моче (глюкозурия) отмечается при сахарном диабете, нарушении почечной фильтрации (почечная глюкозурия, «почечный диабет»), поражении печени, стрессах, гипертиреозе и многих других патологических состояниях. Наибольшее клиническое значение имеет контроль глюкозы в моче при диагностике и лечении сахарного диабета.

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Определение глюкозы в крови по методу Хагедорна-Йенсена

Реактивы: Для осаждения белков: едкий натр, 0,1Н раствор; цинк серноокислый, 0,45% раствор.

Для определения сахара: раствор красной кровяной соли, 0,005Н; 3-хлорцинкйодистый раствор; уксусная кислота, 3% раствор; 0,005Н раствор гипосульфита; крахмал, 1% раствор в насыщенном растворе хлористого натрия.

Ход работы: *Первый этап* – осаждение белков.

Белки крови осаждают гидратом окиси цинка и кипячением. Для этого предварительно готовят гидрат окиси цинка. В 2 пробирки вносят по 5 мл серноокислого цинка и по 1 мл 0,1Н едкого натра. При этом образуется белый коллоидный осадок гидрата окиси цинка. Кровь (0,1 мл) берут микропипеткой. Кончик микропипетки, после взятия крови, вытирают фильтровальной бумагой, и пробу крови вносят в раствор гидрата окиси цинка. Пипетку двукратно промывают этим раствором, методом пипетирования. Кровь набирают только в 1 пробирку, а другая пробирка служит контролем, реактивы без крови (для определения редуцирующих свойств реактивов). Обе пробирки ставят на 3 минуты в кипящую водяную баню. Белки свертываются в виде серых сгустков, а жидкость становится бесцветной и прозрачной. Содержимое пробирок фильтруют через заранее промытую горячей водой вату в широкие пробирки. Осадок дважды промывают водой по 3 мл. Промывные воды фильтруют через ту же вату.

Второй этап – определение глюкозы. К фильтрату крови, не содержащему белка и контрольной пробе приливают (точно!) по 2 мл раствора красной кровяной соли. Обе пробирки ставят на 15 минут в кипящую водяную баню. Затем пробы охлаждают и в каждую из них прибавляют по 3 мл 3-хлорцинкйодистого раствора и по 2 мл 3% уксусной кислоты. Жидкость желтеет от выделившегося йода. Добавляют по 2 капли крахмала в пробирку и на белом фоне титруют из микробюретки гипосульфитом до исчезновения синего окрашивания.

Расчет. Содержание сахара в крови вычисляют по таблице (приложение 2). В первой вертикальной колонке указываются взятые миллилитры и их десятые доли миллилитров. Пересечение вертикальной и горизонтальной линии показывает количество сахара в миллиграммах на 100 мл крови.

Например, на титрование в опытной пробирке пошло 1,32 мл 0,005Н раствора гипосульфита. В первой вертикальной колонке находят 1,3, а в первом горизонтальном ряду – 2. На месте пересечения вертикальной и горизонтальной линии, идущих от этих цифр стоит 120. Из этой величины нужно вычесть то количество миллиграммом сахара (редуцирующих веществ), которое пошло на контрольный опыт.

Например, на титрование контрольных пробирок пошло 1,86 мл гипосульфита, что соответствует в таблице значению 024. Эту величину вычитают из 120 и получают 0,96 мл сахара, т.е. 96 мг/% или 0,096% сахара.

Глюкоза – главный источник энергии для клеток организма. На ее долю приходится более 90% всех низкомолекулярных углеводов.

Относительно постоянный уровень глюкозы в крови поддерживается благодаря сахароснижающему свойству инсулина и сахароповышающему свойству адреналина, глюкагона и глюкокортикоидов.

Концентрация глюкозы в венозной крови на 10% меньше, чем в капиллярной, она быстро снижается благодаря гликолизу. Поэтому глюкозу в крови определяют сразу после ее взятия или проводят осаждение белков трихлоруксусной кислотой непосредственно на ферме или добавляют ингибитор.

Снижение сахара в крови (гипогликемия) бывает при кетозе, вторичной остеодистрофии, послеродовом парезе, некоторых формах ожирения, токсических поражениях печени. Часто оно следствие недостатка в кормах легкоусвояемых углеводов, большой потребности в глюкозе при высококонцентрированном типе кормления, преобладании в рационах кислых кормов. К гипогликемии приводят передозировки инсулина.

Повышение сахара в крови (гипергликемия) может быть стойким и непродолжительным – при скармливании скоту больших количеств сахаристых кормов, а также при испуге, высокой температуре, стрессовом состоянии. Стойкая гипергликемия бывает при сахарном диабете. Однако следует иметь в виду то обстоятельство, что при сахарном диабете, сопровождаемой выраженной глюкозурией, содержание глюкозы в крови может быть в пределах нормы. Это обусловлено понижением почечного порога (ослабление реабсорбции глюкозы в почечных канальцах).

В моче здоровых животных глюкозу, как правило, не обнаруживают. Появление ее в моче (глюкозурия) бывает при сахарном диабете, когда уровень глюкозы в крови превышает пороговую концентрацию. Почечный порог глюкозы в крови у собак 6,66 ммоль/л.

Почечную глюкозурию отмечают при снижении почечного порога вследствие дистрофии почечных канальцев даже при нормальной концентрации глюкозы в крови. Это так называемый «почечный» диабет.

Вывод: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Вопросы для итогового контроля

1. Переваривание и всасывание углеводов. Ферменты (гликозидазы) слюны, панкреатического сока, эпителия тонкого кишечника.
2. Продукты переваривания. Всасывание.
3. Судьба всосавшейся глюкозы.
4. Метаболизм гликогена, роль гормонов. Роль печени в углеводном обмене.
5. Анаэробный и аэробный пути распада углеводов. Значение.
6. Аэробный путь распада глюкозы. Ткани где преобладает аэробный путь. Связь аэробного пути со снабжением клетки кислородом.
7. Четыре стадии аэробного пути распада глюкозы.
8. Цикл трикарбоновых кислот - цикл Кребса (ЦТК).
9. Апомитический путь распада глюкозы, пентозный цикл. Физиологическое значение пентозного цикла.
10. Глюконеогенез, сущность процесса. Биосинтез глюкозы, как путь обратный гликолизу, три необратимые стадии, их ферменты.

Тема 11. Обмен липидов

Практическое занятие 11. Показатели жирового обмена.

Лабораторная работа 1. Метод определения общего холестерина (по Ильку).

Реактивы: реактив Илька представляет собой смесь из 1 части ледяной уксусной кислоты, 5 частей уксусного ангидрида, 1 части концентрированной серной кислоты. При смешивании ингредиентов следует избегать нагревания смеси. Для этого колбу, где приготавливается реактив, постоянно охлаждают, а серную кислоту добавляют в последнюю очередь (медленно, при постоянном перемешивании). Смесь должна быть бесцветной или слегка желтоватой и может долго храниться в холодильнике. При постановке реакции следует пользоваться совершенно сухими пробирками и пипетками.

Ход работы: к 2,1 мл реактива Илька добавляют 0,1 мл негемолизированной сыворотки крови таким образом, чтобы она стекала по стенке пробирки. Пробирку тотчас же встряхивают короткими энергичными движениями 10 раз, помещают в водяную баню при 30⁰С и оставляют в темноте на 20-25 мин. Жидкость окрашивается в зеленый цвет, ее колориметрируют на ФЭКе. Соотношение ингредиентов рассчитано так, что белки сыворотки не выпадают в осадок. Появление мути говорит о наличии воды в реактиве или посуде.

Расчет производят по общепринятым правилам с учетом концентрации стандартного раствора. Для приготовления стандартного раствора к 90 мг холестерина добавляют 100 мл хлороформа. Рабочий раствор получают разведением стандартного раствора в 100 раз (10 мл стандартного раствора

растворяют в хлороформе, доведя до метки 100 мл). 1 мл стандартного раствора соответствует 0,9 мг холестерина, а 1 мл рабочего раствора – 0,09 мг холестерина.

Построение калибровочной кривой на холестерин:

0,5 мл	рабочего раствора соответствует	45 мг %
1,0 мл	” ” ”	90 мг %
1,5 мл	” ” ”	135 мг %
2,0 мл	” ” ”	180 мг %
2,5 мл	” ” ”	225 мг %
3,0 мл	” ” ”	270 мг %

Вывод: _____

Лабораторная работа 2. Проба Ланге

Реактивы: уксусная кислота 80%, нитропруссид натрия (свежеприготовленный 10% раствор), аммиак.

Ход определения. К 12 – 15 мл мочи приливают около 1 мл уксусной кислоты и около 0,5 мл раствора нитропруссид натрия. Затем наслаивают аммиак. В положительном случае на границе двух жидкостей образуется фиолетовое кольцо. Кольцо может появиться не сразу, а в течение 2 – 3 мин.

Другая модификация этой пробы удобна тем, что можно использовать готовый реактив нитропруссид натрия.

Приготовление реактива. 6 г нитропруссид натрия растворяют в 100 мл 30% уксусной кислоты.

Ход определения. К 5 – 6 мл мочи прибавляют несколько капель реактива (до цвета чая) и наслаивают аммиак. В положительном случае на границе жидкостей появляется фиолетовое кольцо.

Вывод: _____

Лабораторная работа 3. Модифицированная проба Ротеры.

Реактивы. Нитропруссид натрия, раствор 50 г/л; готовят перед употреблением. Аммония сульфат. Аммиак водный – 25% раствор.

Ход определения. Приблизительно 200 мг сухого сульфата аммония, 5 капель мочи и 2 капли раствора нитропруссиды натрия тщательно смешивают в пробирке, а затем на эту смесь тщательно наслаивают 10 – 15 капель раствора водного аммиака. При наличии кетоновых тел на границе раздела в течение 3 – 5 мин образуется красно-фиолетовое кольцо, интенсивность окраски которого позволяет ориентировочно судить о концентрации кетоновых тел в моче (см. таблицу).

Ориентировочная количественная оценка кетоновых тел в моче.	
Интенсивность окраски	Обнаруживаемые вещества, г/л Ацетоуксусная кислота
Следы	0,05
Умеренная	0,3
Интенсивная	0,8

При незначительной концентрации кетоновых тел слабое кольцо может появиться на 8 – 10 минуте.

Вывод: _____

Лабораторная работа 4. Проба Легалья

Реактивы. Свежеприготовленный 5% водный раствор нитропруссиды натрия. 10 – 15% раствор едкого натрия. Уксусная кислота ледяная.

Ход определения. К 5 – 6 мл мочи прибавляют несколько капель реактива № 1 и 0,5 мл реактива № 2. Получается красное окрашивание. Добавляют 0,5 – 1 мл реактива № 3. Если красный цвет исчезает, проба отрицательная, если сохраняется – положительная. Если получается слабо-розовая окраска, то проба считается также положительной.

Вывод: _____

Лабораторная работа 5. Проба Лестраде

Приготовление сухого реактива: нитропруссиды натрия 1 г, сульфата аммония 20 г, карбоната натрия безводного 20 г. Отвешенные реактивы тщательно растирают в ступке до получения мелкого однородного порошка. Порошок хранят в хорошо закупоренной стеклянной банке в сухом месте.

Ход определения. Предметное стекло кладут на лист фильтровальной бумаги. На стекло помещают небольшое количество (на кончике ножа) сухого реактива или таблетку и наносят на него 2 – 3 капли мочи. При наличии кетоновых тел получается окрашивание от розового до темно-фиолетового (появление окраски может наступить в течение 2 – 3 мин).

Вывод: _____

Дата выполнения: _____ Балл: _____ Подпись преподавателя _____

Вопросы для итогового контроля

1. Пищевые жиры, физиологическая роль, переваривание.
2. Роль желчных кислот и панкреатической липазы в переваривании липидов.
3. Переваривание фосфолипидов и эфиров холестерина, ферменты. Всасывание продуктов переваривания. Холеиновые кислоты.
4. Транспортные формы липидов - липопротеиды плазмы крови.
5. Характеристика отдельных классов липопротеидов - физико-химические свойства, липидный состав, апопротеины. Атерогенные (ЛПНП) и антиатерогенные (ЛПВП) липопротеиды.
6. Роль печени в образовании и секреции липопротеидов. Липотропные факторы.
7. Резервирование и мобилизация триглицеридов в жировой ткани. Активация тканевой липазы адреналином и глюкагоном.
8. Окисление жирных кислот. Активация жирных кислот и транспорт в митохондрии, роль карнитина
9. Биосинтез жирных кислот. Потребность в CO_2 , роль биотина.
10. Синтетаза жирных кислот - мультиферментный комплекс. Последовательность реакций и ферменты, образование пальмитиновой кислоты. Связь синтеза жирных кислот с пентозным циклом.
11. Кетогенез. Реакции синтеза кетоновых тел из ацетил-КоА. Строение и биологическая роль кетоновых тел.
12. Окисление холестерина в желчные кислоты и стероидные гормоны основной путь выведения холестерина из организма. Метаболическая и структурная роль холестерина в организме.

Список рекомендованной литературы

1. Зайцев С.Ю. Биохимия животных: учеб. для студ. вузов: Фундаментальные и клинические аспекты / С.Ю. Зайцев, Ю.В. Конопатов.- СПб.: Лань, 2005.
2. Рогожин В.В. Практикум по биологической химии: уче.-метод. пособие по спец. «Зоотехния» и «Ветеринария» / В.В. Рогожин. – СПб.: Лань, 2006. – 255с . – Библиогр. в конце гл.
3. Березов Т.Т., Коровин Б.Ф. Биологическая химия. Учебник. 3-е изд., перераб. и доп.- М.: «Медицина», 2002.
4. Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В. Биохимия.- М.: «Медицина», - 2000 г.
5. Фролов Ю.П., Серых М.М., Макурина О.Н., Кленова Н.А., Подковкин В.Г. Биохимия и молекулярная биология / Под. Ред. Ю.П. Фролова.- Самара: Изд-во Самарский университет, 2003.
6. Метревели Т.В. Биохимия животных: учеб. Пособие для студентов вузов / Т.В. Метревели; под ред. проф. Н.С. Шевелева.- СПб.: Лань, 2005.

Составители: Тюньков И.В.
Котлярова О.С.
Гарматарова Т.В.

Биохимия
Рабочая тетрадь

Компьютерная верстка
Батенева Н.В.

Подписано к печати 2014 г.
Формат 60x84 1/16. Тираж 30 экз.
3,8 усл. печ. л. Изд. № 104.
Заказ №

Отпечатано в типографии ООО «Д2»