


Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф-Рабочая программа дисциплины		

УТВЕРЖДЕНО
решением Ученого совета Института медицины,
экологии и физической культуры
от «17» апреля 2024 г., протокол № 8/259




/ В.В. Машин/
(подпись, расшифровка подписи)
от «17» апреля 2024 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

Дисциплина	Клиническая биохимия
Факультет	Экологический
Кафедра	Биологии, экологии и природопользования
Курс	3

Направление (специальность) 06.03.01 - Биология
код направления (специальности), полное наименование

Направленность (профиль/специализация) Биоинжиниринг
полное наименование

Форма обучения очная
очная, заочная, очно-заочная

Дата введения в учебный процесс УлГУ: « 01 » сентября 2024 г.


Программа актуализирована на заседании кафедры: протокол № _____ от _____ 20 _____ г.


Программа актуализирована на заседании кафедры: протокол № _____ от _____ 20 _____ г.

Программа актуализирована на заседании кафедры: протокол № _____ от _____ 20 _____ г.

Сведения о разработчиках:

ФИО	Кафедра	Должность, ученая степень, звание
Дрождина Екатерина Петровна	БЭиП	к.б.н., доцент

СОГЛАСОВАНО	
Заведующий выпускающей кафедрой биологии, экологии и природопользования	
	/ Слесарев С.М. /
Подпись	ФИО
« 17 »	04 2024 г.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ИЗУЧЕНИЯ ДИСЦИПЛИНЫ

Цель курса: сформировать знания о современных методах биохимических исследований, представление об основных закономерностях протекания метаболических процессов в норме и при патологических состояниях организма.

Задачи:

- ознакомить студентов с принципами, понятиями и объемом биохимических исследований в лабораторной диагностике;
- изучить зависимость между нарушением структуры, функций органов и их биохимическими показателями в плазме крови;
- выявить основные закономерности нарушений белкового, липидного, углеводного обменов при патологических состояниях организма;
- изучить биохимические маркеры заболеваний печени, поджелудочной железы, почек, сердечно-сосудистой системы;
- изучить наследственные и средовые факторы нарушений порфиринового обмена;
- познакомить студентов с биохимическими способами оценки нарушений водно-электролитного обмена и кислотно-щелочного равновесия.

2. МЕСТО ДИСЦИПЛИНЫ В СТРУКТУРЕ ОПОП:

Дисциплина «Клиническая биохимия» согласно ФГОС ВО и учебному плану относится к вариативной части, дисциплинам по выбору (Б1.В1.ДВ.04.01). Данная дисциплина закладывает основные представления о биохимических процессах в клетках и опирается на предшествующие дисциплины:

- Радиобиология;
- Профессиональный электив. Биологический мониторинг.

Дисциплина читается параллельно с дисциплиной – экология популяций и сообществ.

Она читается в 6-ом семестре 3-ого курса и основывается на входных знаниях студента, полученных на предшествующих дисциплинах предыдущих курсов. Для изучения дисциплины студенты должны обладать следующими знаниями, умениями и компетенциями.

Знать:

- теоретические основы планирования, организации и проведения научных исследований биологической направленности.

Уметь:


- формулировать цель и задачи научного исследования; осуществлять обработку и анализ научной информации.

Владеть:

- навыками выполнения научных исследований; оформления и представления результатов.

Данная дисциплина является предшествующей для будущего изучения следующих курсов:

- преддипломная практика, в том числе научно-исследовательская работа;
- подготовка к процедуре защиты и защита выпускной квалификационной работы.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

3. ПЕРЕЧЕНЬ ПЛАНИРУЕМЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ОБУЧЕНИЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ, СООТНЕСЕННЫХ С ПЛАНИРУЕМЫМИ РЕЗУЛЬТАТАМИ ОСВОЕНИЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЫ

Изучение дисциплины «Клиническая биохимия» в рамках освоения образовательной программы направлено на формирование у обучающихся следующей профессиональной компетенции:


Код и наименование реализуемой компетенции	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине, соотнесенных с индикаторами достижения компетенций
ПК-6 способность применять на практике методы управления в сфере биологических и биомедицинских производств, мониторинга и охраны природной среды, природопользования, восстановления и охраны биоресурсов	<p>Знать: основные этапы клинической лабораторной диагностики и проведения клинических биохимических тестов, перспективы их развития; принципы лабораторных методов исследования биологических жидкостей человека.</p> <p>Уметь: составлять программу лабораторной диагностики при анемическом и геморрагическом синдромах, при гемолизе; желтушном, отечном, гипертоническом синдромах, ферментативной недостаточности; нарушении кислотно-щелочного равновесия; нарушении водно-электролитного обмена, белкового, углеводного и липидного обменов; инфаркте миокарда.</p> <p>Владеть: навыками проведения основных клинико-биохимических исследований для решения диагностических и учебных задач; навыками работы с лабораторным оборудованием, реактивами, приготовления реактивов, центрифугирования, хранения опасных веществ, утилизации отходов, навыками оценки и интерпретации результаты лабораторных биохимических исследований.</p>

4. ОБЪЕМ ДИСЦИПЛИНЫ.

3.1. Объем дисциплины в зачетных единицах (всего) 4

3.2. Объем дисциплины по видам учебной работы (в часах) – 144 часа.

Вид учебной работы	Количество часов (форма обучения очная)	
	Всего по плану	В т.ч. по семестрам
		6
Контактная работа обучающихся с преподавателем	32	32
Аудиторные занятия:		
Лекции	16/16**	16/16**
Практические и семинарские занятия	-	-
Лабораторные занятия	16/16*	16/16*
Самостоятельная работа	76	76
Форма текущего контроля знаний и контроля самостоятельной работы	тестирование, собеседование, решение ситуационных задач	тестирование, собеседование, решение ситуационных задач
Курсовая работа	-	-

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

Виды промежуточной аттестации (экзамен, зачет)	экзамен 36	экзамен 36
Всего часов по дисциплине	144	144


*Количество часов в интерактивной форме.

**В случае необходимости использования в учебном процессе частично/исключительно дистанционных образовательных технологий в таблице через слеш указывается количество часов работы ППС с обучающимися для проведения занятий в дистанционном формате с применением электронного обучения.

3.3. Содержание дисциплины. Распределение часов по темам и видам учебной работы:

Форма обучения очная

Название разделов и тем	Всего	Виды учебных занятий				Форма текущего контроля знаний
		Аудиторные занятия		Занятия в интерактивной форме	Самостоятельная работа	
		лекции	лабораторные занятия			
1	2	3	4	5	6	7
1. Принципы клинической лабораторной диагностики	13	2	2	2	9	тестирование, собеседование, решение ситуационных задач
2. Белки плазмы крови, функции	13	2	2	2	9	тестирование, собеседование, решение ситуационных задач
3. Нарушения порфиринового обмена	13	2	2	2	9	тестирование, собеседование, решение ситуационных задач
4. Биохимическая диагностика заболеваний поджелудочной железы. Сахарный диабет	13	2	2	2	9	тестирование, собеседование, решение ситуационных задач
5. Заболевания сердечно-сосудистой системы	14	2	2	2	10	тестирование, собеседование, решение ситуационных задач
6. Заболевания почек	14	2	2	2	10	тестирование, собеседование, решение

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

						ситуационных задач
7. Водно-электролитный обмен	14	2	2	2	10	тестирование, собеседование, решение ситуационных задач
8. Кислотно-щелочной баланс	14	2	2	2	10	тестирование, собеседование, решение ситуационных задач
ИТОГО	108	16	16	16	76	
Подготовка к экзамену					36	
ВСЕГО	144	16	16	16	112	

* - количество часов, проводимых в интерактивной форме

Используемые интерактивные образовательные технологии

В процессе изучения дисциплины, с целью формирования и развития профессиональных навыков обучающихся, наряду с традиционными видами занятий, проводятся занятия в интерактивных формах: занятие-конференция, круглый стол, работа в малых группах при решении ситуационных задач.

5. СОДЕРЖАНИЕ КУРСА

Тема 1. Принципы клинической лабораторной диагностики.


Проблемная лекция.

Предмет клинической биохимии. Принципы, понятия и объем исследований в лабораторной диагностике. Получение биологических жидкостей для исследования. Референтные величины и средний показатель. Скрининговое, профилактическое и дифференциально-диагностическое исследования. Оценка эффективности лечения и степени выздоровления, диспансерное наблюдение. Выбор методов исследования. Экспресс-диагностика. Функциональные пробы. Основные единицы системы измерений в биохимии. Контроль качества: межлабораторный (внешний) и внутрिलाбораторный (внутренний). Унификация биохимических методик. Критерии унификации: аналитические, технико-экономические, диагностическая ценность. Стандартизация исследований. Интерпретация лабораторных показателей.

Функции печени. Лабораторные тесты диагностики заболеваний печени. Клинические и биохимические синдромы. Нарушение целостности гепатоцита: синдром цитолиза, повышенной проницаемости, гиперферментемия. Экскреторно-билиарный синдром: соотношение активности ферментов и фракций билирубина. Воспалительный синдром: общий белок сыворотки крови и белковые фракции. Гипоальбуминемия и гиперглобулинемия. Тимоловая проба. Содержание глюкозы в крови, пробы с пищевой нагрузкой глюкозой и галактозой. Гипогликемия. Определение холестерина и эфиров холестерина.

Энзимодиагностика заболеваний печени. Значение аланин- и аспартатаминотрансфераз, лактатдегидрогеназы, γ -глутамилтранспептидазы, щелочной фосфатазы, глутаматдегидрогеназы, сорбитолдегидрогеназы, фруктозо-монофосфат альдолазы, лейцинаминопептидазы. Гипер- и гипоферментемия.

Типы желтух: надпеченочные, печеночные, подпеченочные. Гипербилирубинемия

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

и билирубинурия. Образование билирубина и его фракций в крови, печени, кишечнике, почках. Свободный (непрямой) и конъюгированный (прямой) билирубин, уробилиноген и стеркобилиноген, желчные пигменты. Токсичность билирубина. Желтуха новорождённых. Референтные значения, дифференциальная диагностика заболеваний печени. Фракции билирубина в крови, моче, кале.

Тема 2. Белки плазмы крови, функции.

Лекция-визуализация.

Синтез белков в печени, ретикуло-эндотелиальной системе, клетках иммунной системы. Определение содержания общего белка в крови и моче. Методы определения содержания альбуминов и глобулинов плазмы крови: электрофоретические, иммуноферментные. Характеристика белковых фракций. Альбумины, гипер- и гипоальбуминемия. α 1-Глобулины: α 1- протеиназный ингибитор, α 1-кислый гликопротеин. α 2-глобулины: α 2-макроглобулин, гаптоглобин, церулоплазмин. β -Глобулины: трансферрин, гемопексин. γ -Глобулины: иммуноглобулины, гипергаммаглобулинемия. Белки острой фазы воспаления. Типы протеинограмм. Соотношение белковых фракций при остром и хроническом воспалении, нарушении функций почечного фильтра, злокачественных новообразованиях, гепатитах, циррозах печени, механической желтухе.

Тема 3. Нарушения порфиринового обмена.

Проблемная лекция.

Гемсодержащие пигменты. Предшественники гема, желчные пигменты. Синтез гема, основные этапы. Показатели порфиринового обмена: δ -аминолевулиновая кислота, порфобилиноген, копропорфирин, уропорфирин мочи, порфобилиногенсинтаза эритроцитов. Эритропоэтические, печеночные порфирии, порфирурии. Изменения показателей обмена порфиринов при анемиях, гепатитах, алкоголизме. Свинцовая интоксикация.

Нарушения обмена железа. Показатели обмена железа: сывороточное железо, трансферрин, ненасыщенная и общая железосвязывающая способность, ферритин. Гипосидеремия, гиперсидеремия, гемохроматоз. Изменения обмена железа при кровопотерях, гнойных и септических заболеваниях, беременности, талассемии, желтухе новорожденных, злокачественных заболеваниях.


Тема 4. Биохимическая диагностика заболеваний поджелудочной железы.

Лекция-визуализация.

Строение, функции, основные заболевания поджелудочной железы. Активность ферментов в дуоденальном соке. Панкреатиты, диагностическое значение определения активности α -амилазы в крови и моче. Активность трипсина, α 1- протеиназного ингибитора, α 2-макроглобулина в крови.

Сахарный диабет. Определение, классификация и клинические признаки. Абсолютная и относительная недостаточность инсулина. Влияние инсулина на метаболизм. Содержание глюкозы в цельной крови и плазме. Диагностические критерии сахарного диабета I и II типов. Гипергликемия и глюкозурия. Нарушенная гликемия натощак, нарушенная толерантность к глюкозе, постпрандиальная гипергликемия. Методы определения содержания глюкозы. Ранняя диагностика сахарного диабета: определение антител к β -клеткам поджелудочной железы, проинсулина, С-пептида.

Компенсация сахарного диабета. Эффективный контроль гипергликемии: определение гликозилированного гемоглобина, фруктозамина. Оценка степени сосудистого риска: HbA1C, глюкоза плазмы венозной крови натощак, глюкоза

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

капиллярной крови перед едой, постпрандиальная гипергликемия, показатели липидного спектра. Поздние осложнения сахарного диабета. Диабетическая нефропатия: стадии микроальбуминурии и протеинурии. Диабетический кетоацидоз. Гипогликемическая кома.

Тема 5. Заболевания сердечно-сосудистой системы.

Проблемная лекция.

Атеросклероз, стадии развития. Нарушения липидного обмена. Диагностическое значение определения содержания холестерина и его фракций в составе липопротеинов крови. Гиперхолестеролемиа. Основные показатели атеросклероза: общий холестерол, α -холестерол (ЛПВП), индекс атерогенности. Рекомендуемые и пограничные значения общего холестерина, умеренная и выраженная гиперхолестеролемиа. Триглицериды, значение в диагностике гиперхолестеролемий.

Липопротеины, состав, электрофоретическая подвижность, разделение при ультрацентрифугировании. Типы гиперлипидемий. Дислипидемии. Модифицированные липопротеины: перекисно-модифицированные ЛПНП, аутоиммунные комплексы липопротеин-антитело, гликозилированные и десалирированные липопротеины, продукты ограниченного протеолиза липопротеинов.

Инфаркт миокарда. Нарушение снабжения сердца кислородом при ишемической болезни сердца. Основные причины кислородного голодания: нейрогенный спазм, тромбоз и эмболия коронарных сосудов. Основные метаболические нарушения при остром инфаркте миокарда. Условия обратимости изменений миокарда. Необратимые изменения сердечной мышцы. Маркерные ферменты миокарда. Энзимодиагностика инфаркта миокарда. Сроки изменения активности ферментов.

Дифференциальная диагностика заболеваний сердца, ферментные констелляции. Креатинкиназа и сердечной формы креатинфосфокиназы в диагностике инфаркта миокарда. Диагностическое значение лактатдегидрогеназы и её изоферментов в сыворотке крови. Аспартатаминотрансфераза. Неферментные маркеры инфаркта миокарда: миоглобин, тропонины Т и I, С-реактивный белок.

Тема 6. Заболевания почек.


Лекция-визуализация.

Основные заболевания почек: гломерулонефрит, пиелонефрит, почечная недостаточность, нефротический синдром, нефролитиаз. Фильтрация, реабсорбция, секреция. Первичная моча, состав, физико-химические свойства. Вторичная моча, состав, физико-химические свойства. Фильтруемые, реабсорбируемые и секретируемые вещества. Клинический и биохимический анализ мочи. Клиренс, транспортный максимум, почечный порог – функциональные показатели работы почек. Диурез и его нарушения: полиурия, олигоурия, анурия, никтурия. Физиологические компоненты мочи: Мочевина, креатинин, креатин, мочевая кислота. Методы их определения. Патологические компоненты мочи: глюкозурия, протеинурия. Гломерулярная, тубулярная, внепочечные протеинурии.

Тема 7. Водно-электролитный обмен.

Проблемная лекция.

Распределение воды в организме. Состав и содержание внутри- и внеклеточной жидкости. Функции воды в организме. Положительный и отрицательный водный баланс организма. Отеки. Механизмы развития отеков при недостаточности сердечно-сосудистой системы и болезнях почек. Обмен натрия и калия. Роль этих ионов в поддержании гомеостаза организма: содержание внутри и вне клетки. Гипернатриемия, её виды и механизмы развития. Относительная и абсолютная гипонатриемия. Гормональная регуляция выведения натрия почками. Роль ионов калия в мышечном сокращении,

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

поддержании функций сердечно-сосудистой системы, почек. Гипер- и гипокалиемия, клинические проявления. Кальций, гипер- и гипокальциемия у детей и взрослых. Фосфор, кислоторастворимая и кислотонерастворимая фракции. Гипер- и гипофосфатемия у детей и взрослых. Методы определения показателей минерального обмена.

Тема 8. Кисотно-щелочной баланс организма.

Лекция-визуализация.

Понятия о буферных растворах, буферной емкости, pH растворов. Уравнение Гендерсона-Хассельбаха. Основные показатели кислотно-основного равновесия крови: pH, pO_2 , pCO_2 , $[HCO_3^-]$, буферные основания (Buffer Base, BB), избыток или дефицит буферных оснований (Base Excess, BE). Буферные системы крови: карбонатная, белковая, фосфатная. Механизм работы буферной системы гемоглобина. Физиологические системы: роль легких, почек, печени в поддержании кислотно-щелочного равновесия. Формы нарушения кислотно-щелочного баланса. Алкалоз и ацидоз: респираторный, метаболический, компенсированный, декомпенсированный. Клинико-диагностическое значение изменений показателей кислотно-щелочного баланса.

6. ТЕМЫ ПРАКТИЧЕСКИХ И СЕМИНАРСКИХ ЗАНЯТИЙ

Данный вид работы не предусмотрен УП

7. ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ, ПРАКТИКУМЫ

Лабораторная работа 1

Разделение свободных аминокислот растительного материала методом хроматографии на бумаге


Метод хроматографии на бумаге используется для разделения смесей разнообразных органических веществ. Разделение веществ происходит вследствие различия в распределении их между двумя жидкими фазами, одна из которых подвижна. Неподвижная фаза - вода - удерживается твердым носителем (в данном случае бумагой), не вступая с ним во взаимодействие. Нанесенные на бумагу вещества переходят в подвижную фазу (органический растворитель) и, перемещаясь с различными скоростями по бумажным капиллярам, разделяются. Скорость передвижения влияет на показатель распределения (R_f), представляющий отношение величины смещения зоны вещества (x) к смещению фронта растворителя (x_f) (рис. 1).

Для однотипных веществ при постоянных условиях величина R_f является ориентиром, позволяющим их идентифицировать. Чем больше различие в величинах R_f разделяемых веществ, тем лучше их разделение.

Цель работы. Ознакомиться с хроматографическим методом разделения аминокислот, провести экстракцию растительного материала, разделить смесь аминокислот и осуществить их идентификацию.

Оборудование и реактивы:

- Штативы с пробирками на 10 мл.
- Пипетки и микропипетки.
- Фарфоровые чашки (средние и маленькие).
- Воронки средние и фильтры.
- Цилиндры мерные.
- Хроматографическая и фильтровальная бумага.
- Стеклянные палочки, пинцеты и стеклянные трубки с ватой.
- Хроматографические камеры.
- Водяные бани.
- Электроплитки.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

- Весы торсионные.
- Препаровальные иглы с кусочками резины.
- Иголки швейные и нитки.
- Сухой растительный материал для экстракции.
- Смесь растворителей (н-бутанол: муравьиная кислота: вода).
- Растворы аминокислот-свидетелей (арг, ала, гли, вал, лиз, лей).
- Растворы спирта этилового (70 %), HCl (1 %).
- Раствор нингидрина (0,25 %) в смеси этиловый спирт: ацетон (1 : 1).

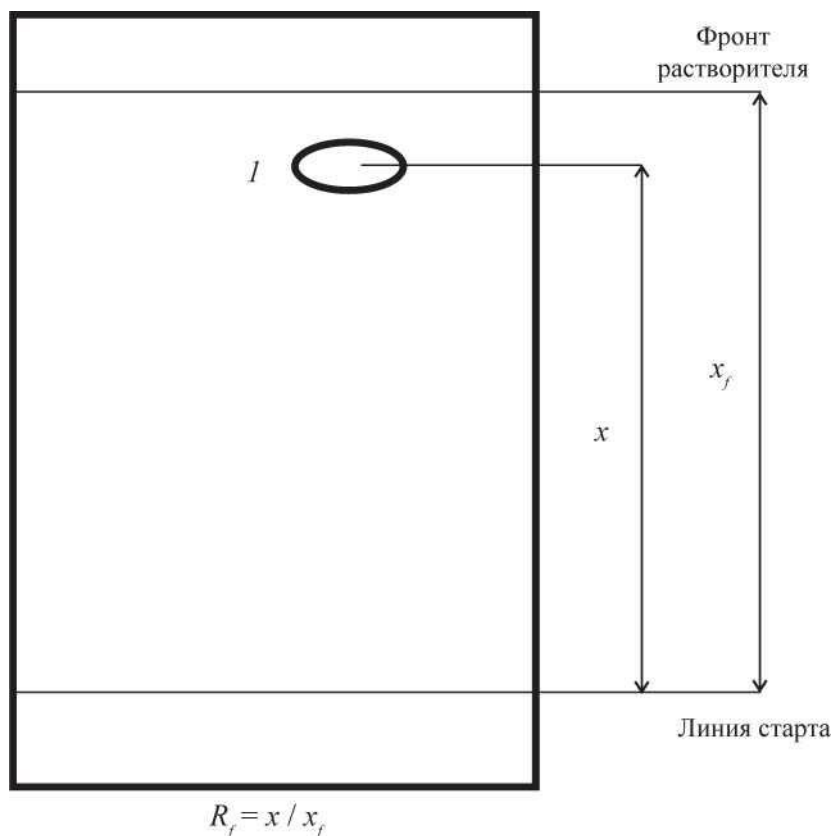


Рис. 1. Определение Rf вещества:


1 - расположение вещества на хроматограмме

Проведение экстракции растительного материала и подготовка хроматограммы к разделению аминокислот

Ход работы:

Для проведения экстракции 0,3 г растительного материала помещают в пробирку на 10 мл, заливают 5 мл 70 % этилового спирта и ставят на водяную баню, разогретую до 70-80 °С, на 5 мин. Полученную вытяжку фильтруют через бумажный фильтр в выпарительную чашку, при этом следует стремиться, чтобы частички материала на фильтр не попадали, поскольку далее этот материал аналогичным способом экстрагируют еще раз. При фильтровании после второй экстракции на фильтр можно перенести все содержимое пробирки. Выпарительную чашку помещают на кипящую водяную баню и выпаривают спирт досуха.

Лист хроматографической бумаги размером 24 x 31 см кладут на рабочее место, подложив снизу лист чистой бумаги. Отступив 2 см от края узкой стороны, проводят простым карандашом линию старта. Затем линию старта размечают короткими штрихами:

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

отступив 1,5 см от края, делают первую отметку, следующую - через 2,5 см, затем - через 2 см и т. д., чередуя отрезки 2,5 и 2 см. Всего отрезков по 2,5 см должно быть пять.

На три отрезка длиной 2,5 см наносят растворы известных аминокислот, так называемых свидетелей, на каждый - по две аминокислоты: 1 - арг, ала; 2 - гли, вал; 3 - лиз, лей. Аминокислоты предварительно попарно растворяют в фарфоровой чашке, для чего берут по 3-6 мг каждой аминокислоты (несколько кристаллов на кончике стеклянной палочки) и приливают 1 мл 1 % НС1. Перемешивают до растворения.

На два отрезка линии старта наносят полученный экстракт. Сухой остаток в выпарительной чашке растворяют в 0,6 мл 1 % НС1, тщательно соскабливая его со стенок кусочком резинки, наколотым на препаровальную иглу.

Подготовив исследуемый раствор и растворы свидетелей, приступают к нанесению. Выше линии старта под хроматограмму подкладывают линейку или пипетку, добиваясь того, чтобы линия старта не касалась подложки. Для нанесения используют стандартные микропипетки на 0,1 или 0,2 мл. Все свидетели наносят по 0,01 мл, пробу - по 0,01 и 0,02 мл. Набирают в микропипетку необходимый раствор в нужном объеме и, приведя ее в соприкосновение с началом соответствующего участка в 2,5 см, аккуратно ведут до конца. Скорость движения пипетки должна быть такой, чтобы весь объем раствора распределился в интервале в 2,5 см в виде ровной полосы.

После подсыхания линии старта хроматограмму сшивают в форме цилиндра. Для этого необходимо, соединив края встык, сшить их в 3-4 местах. Не следует накладывать края друг на друга: в утолщении скорость движения растворителя увеличивается, и качество разделения на крайних участках ухудшается.

Для хроматографии используют камеру из двух цилиндрических сосудов. На дно нижнего сосуда наливают 25-30 мл смеси: н-бутанол: муравьиная кислота: вода в соотношении 70 : 15 : 15. При приготовлении растворителя все компоненты должны быть хорошо перемешаны. Хроматограмму ставят в растворитель и закрывают верхним цилиндром. Необходимо проследить, чтобы хроматограмма нигде не касалась стенок камеры. Время разделения 10-12 ч.

При достижении фронтом растворителя верхнего края хроматограммы ее вынимают, отмечают карандашом линию фронта растворителя и сушат в сушильном шкафу.

Проявление хроматограммы и идентификация аминокислот

Ход работы:

Высушенную хроматограмму проявляют раствором нингидрина, равномерно смачивая данным раствором ее поверхность. Для этого используется стеклянная трубка с ватой. При проявлении нельзя класть хроматограмму на стол, она должна находиться на весу.

Нельзя брать за смоченную поверхность руками, поскольку при этом остаются отпечатки пальцев. Пропитанную хроматограмму помещают в сушильный шкаф на 15 мин. при температуре 70 °С.

Большинство аминокислот окрашиваются нингидрином в сине-фиолетовый цвет. Пролин и оксипролин образуют с нингидрином соединения желтого цвета; триптофан - коричневого; фенилаланин, тирозин и аспарат - синего, а гистидин и глицин - красно-серого цвета.

Идентификацию аминокислот проводят по совпадению на хроматограмме положения аминокислот пробы и аминокислот- свидетелей. Аминокислоты, располагающиеся на одном уровне, являются идентичными. В разделенных парах свидетелей ближайшими к старту будут арг, гли, лиз.

Определение аминокислот можно осуществлять и по значению R_f. Для этого измеряют с точностью до миллиметра расстояние от линии старта до линии фронта

растворителя (в данной работе это, как правило, верхний край хроматограммы). С такой же точностью измеряют расстояние от старта до центра цветового пятна идентифицируемой аминокислоты. Отношение последнего расстояния к первому дает значение R_f для данной аминокислоты в данном растворителе.

Помимо идентификации аминокислот экстракта по свидетелям, необходимо определить в пробе несколько аминокислот, для которых свидетели не наносились, по R_f . Значения R_f для растворителя, состоящего из н-бутилового спирта, муравьиной кислоты и воды (в соотношении 7 : 1,5 : 1,5), приведены в табл. 1.

Таблица 1

Аминокислота	R_f	Аминокислота	R_f	Аминокислота	R_f
Аланин	0,51	Лейцин	0,7	Саркозин	0,47
Аргинин	0,25	Лизин	0,2	Серин	0,37
Аспарат	0,38	Метионин	0,6	Тирозин	0,5
Валин	0,73	Норвалин	0,8	Треонин	0,44
Гистидин	0,16	Норлейцин	0,8	Триптофан	0,59
Глицин	0,41	Оксипролин	0,3	Фенилаланин	0,76
Глутамат	0,42	Орнитин	0,1	Цистеин	0,07
Изолейцин	0,82	Пролин	0,5	Цистин	0,07

Вывод. Необходимо указать, для решения каких задач может быть использован метод хроматографии на бумаге и какие аминокислоты удалось идентифицировать в исследуемом растительном материале.

Вопросы для самоконтроля:


1. Для чего предназначен метод распределительной хроматографии на бумаге и на чем он основан?
2. Как рассчитывают коэффициент распределения и от чего зависит его величина?
3. Какие процессы происходят при нагревании растительного материала со спиртом?
4. Почему для разделения свободных аминокислот используют как полярный, так и неполярный растворители?
5. Какой принцип лежит в основе подбора пар аминокислот- свидетелей?
6. Почему для растворения аминокислот используют HCl (1 %)?
7. От чего зависит степень растворения аминокислоты в том или ином растворителе?
8. Чем объясняются различия между теоретическими (табличными) и фактическими значениями коэффициентов распределения аминокислот?
9. Какие условия необходимы для проявления аминокислот?
10. Какие приемы используют для идентификации свободных аминокислот? Укажите их достоинства и недостатки.

Лабораторная работа 2

Разделение веществ методом тонкослойной хроматографии

Тонкослойная хроматография (ТСХ) - один из наиболее часто используемых методов хроматографического анализа. В этом методе разделение веществ происходит в тонком слое сорбента, нанесенного на твердую подложку.

Хроматографическая пластинка представляет собой основу из стекла, алюминия или полимера. В связи с тем, что стеклянная основа становится менее популярной (часто бьется, нельзя разделить пластинку на несколько частей, не повредив слой сорбента), наибольшее распространение получили пластины, в качестве основы которых используют алюминиевую фольгу или полимеры.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

Для закрепления сорбента применяют гипс, крахмал и другие вещества, которые удерживают зерна сорбента на подложке. Толщина слоя может быть различна (100 мкм и более), но самый важный критерий - слой должен быть равномерный по толщине в любом месте хроматографической пластинки. Наиболее распространенным сорбентом является силикагель. Кроме того, используют окись алюминия, кремнекислый магний, целлюлозу и другие сорбенты.

Преимущество ТСХ перед бумажной хроматографией заключается в быстроте разделения веществ, значительно большей чувствительности и устойчивости слоя по отношению к агрессивным проявителям и нагреванию. В некоторых случаях количества обнаруживаемых веществ находятся в пределах от 0,1 до 0,005 мкг.

Цель работы. Ознакомиться с методом разделения веществ с использованием тонкослойной хроматографии и сравнить его с методом распределительной хроматографии на бумаге.

Оборудование и реактивы:

- Пластинки марки Silufol размером 37,5 * 75,0 мм.
- Капилляры.
- Хроматографическая камера.
- Красители: красный крезоловый, судан IV, судан Ж, азобензол.
- Раствор гексана и бензола (1 : 1).

Ход работы:

Для хроматографии используют пластинку марки Silufol размером 37,5 x 75,0 мм. Отступив 5 мм от края узкой стороны, проводят мягким карандашом линию старта. Соприкосновение карандаша с поверхностью пластинки должно быть очень легким, без нажима. Слой сорбента ни в коем случае не должен повреждаться. Затем линию старта размечают короткими штрихами через 7,5 мм, начиная от края. Таких штрихов будет четыре. На пересечении штрихов с линией старта наносят смесь из четырех красителей (красный крезоловый, судан IV, судан Ж, азобензол) и три красителя по отдельности (1 - судан IV, 2 - судан Ж, 3 - азобензол). Для нанесения используют капилляр. Все образцы наносят в виде точки. Диаметр образующихся пятен должен находиться в пределах 4-6 мм. Необходимо очень аккуратно касаться поверхности пластинки капилляром. Повреждение сорбента ухудшает качество разделения.

В хроматографическую камеру наливают 6 мл растворителя бензол : гексан (1 : 1). Помещают в камеру пластинку, закрывают крышку и наблюдают за процессом. Замечают время прохождения растворителя до верхнего края пластинки, после чего ее вынимают, подсушивают и определяют R_f соединений. Заносят полученные результаты в табл. 2 и сопоставляют их с табличными значениями R_f .


Таблица 2

Наименование красителя	R_f табличное	R_f фактическое
Красный крезоловый	0	
Судан IV	0,25	
Судан Ж	0,37	
Азобензол	0,8	

Вывод. Отмечают основные преимущества тонкослойной хроматографии перед хроматографией на бумаге.

Вопросы для самоконтроля:

1. Для чего предназначен метод тонкослойной хроматографии и на чем он основан?
2. Какие вещества применяют в качестве сорбентов и какими свойствами они должны обладать?

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

3. Какие вещества используют для закрепления сорбента?
4. В чем сходство между двумя методами (бумажной и тонкослойной хроматографией)?
5. Укажите основные различия между бумажной и тонкослойной хроматографией.
6. Какими преимуществами обладает метод тонкослойной хроматографии перед бумажной хроматографией?
7. В чем проявляется более значительная чувствительность метода тонкослойной хроматографии по сравнению с бумажной и чем она объясняется?
8. Чем объясняется более высокая скорость тонкослойной хроматографии по сравнению с бумажной и как это отражается на точности метода?

Лабораторная работа 3

Получение раствора растительного белка и изучение его свойств

Белки представляют собой высокомолекулярные органические соединения, построенные из сотен или тысяч аминокислотных остатков, соединенных пептидными связями. Разнообразие существующих в природе белков зависит от особенностей аминокислотного состава, количества аминокислотных остатков и порядка их сочетания.

Простые белки построены из аминокислот и при гидролизе распадаются соответственно только на аминокислоты. По характеру растворимости простые белки растений можно разделить на следующие группы:

- альбумины - белки, растворимые в воде; они легко высаливаются из водных растворов с помощью солей; широко распространены в органах и тканях животных и растений;

- глобулины - нерастворимы в чистой воде, но растворяются в слабых водных растворах различных солей; встречаются как в животных, так и в растениях, особенно много их в белках семян бобовых;

- глютелины - белки растительного происхождения, растворимые в растворах щелочей, поскольку содержат большое количество дикарбоновых аминокислот (глутамат, аспарат);

- проламины - белки растительного происхождения, растворимые в 50-70 % растворе этилового спирта; встречаются исключительно в семенах злаков, у которых они (совместно с глютелинами) составляют основную массу клейковины.

Цель работы. Получить раствор растительного белка и изучить его физико-химические свойства.


Оборудование и реактивы:

- Колбы на 100 мл.
- Штативы с пробирками на 10 мл.
- Воронки и фильтры.
- Водяная баня.
- Гороховая мука.
- Раствор сульфата аммония (10 %).
- Раствор хлорида натрия (1-2 %).
- Хлорид натрия кристаллический.
- Серная кислота конц.

Ход работы

Получение растительного белка

Навеску гороховой муки (3-5 г) высыпают в колбу, добавляют 30 мл 10 % раствора сульфата аммония, перемешивают в течение 3 мин., оставляют отстояться на 30 мин., затем фильтруют через фильтр, смоченный раствором сульфата аммония, в другую колбу. Если фильтрат мутный, то его сливают обратно на фильтр. В полученном растворе находится белок. Объясните, какой белок перешел в раствор.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

Изучение растворимости исследуемого белка в разных растворителях

Налить в пробирку 1 мл полученного раствора белка и добавить избыток воды. О чем свидетельствует помутнение раствора?

Добавить к осадку раствор 1-2 % NaCl. Объясните, какие произошли изменения? Сделайте вывод о растворимости исследуемого белка.

Высаливание белка

К 1 мл раствора белка, взятого в пробирку, добавить несколько кристалликов соли NaCl. Раствор мутнеет вследствие выпадения глобулина в осадок (при концентрации соли 50 %).

К полученному осадку добавить избыток воды (уменьшить концентрацию соли). Какие изменения произошли? Объясните полученные результаты.

Изучение денатурации белка

Налить в пробирку 1 мл раствора белка и, постепенно нагревая, довести до кипения. Растворится ли образовавшийся осадок после добавления солевого раствора?

Налить в пробирку 1 мл раствора белка и добавить по каплям H₂SO₄ конц. Растворится ли образовавшийся осадок после добавления солевого раствора? Объясните полученные результаты.

Вывод. Указать все физико-химические свойства белков, с которыми вы познакомились в ходе выполнения работы.

Вопросы для самоконтроля:

1. К какой группе простых белков относится выделенный из гороховой муки белок?
2. О чем свидетельствует помутнение раствора при добавлении избытка воды?
3. Добавление каких веществ к белковому раствору может вызвать осаждение белка?
4. Что такое высаливание и каковы механизмы этого процесса?
5. Почему при величине рН, соответствующей изоэлектрической точке белка, его растворимость минимальна?
6. Какой процесс происходит при нагревании белкового раствора? Может ли он быть обратимым?
7. Как отразилось нагревание белка на его растворимости в солевом растворе? Чем объяснить эти изменения?
8. Почему добавление серной кислоты к исследуемому белку привело к утрате его способности к растворению в солевом растворе?


Лабораторная работа 4

Качественные реакции на белок

При взаимодействии белка с отдельными химическими веществами возникают окрашенные продукты реакции, образование которых обусловлено наличием в молекуле белка той или иной аминокислоты или химической группировки. Поэтому так называемые цветные реакции на белки часто используют для установления белковой природы вещества, изучения аминокислотного состава различных природных белков, количественного определения белков, количественного определения в белке той или иной аминокислоты. Наиболее известными качественными реакциями на белки и аминокислоты являются: биуретовая, ксантопротеиновая, нингидриновая и реакция Фоля.

Биуретовая реакция на белки обусловлена наличием между аминокислотными остатками пептидных связей, которые в щелочной среде образуют с ионами меди окрашенные солеобразные комплексные соединения (красно-фиолетового или сине-фиолетового цвета).

Ксантопротеиновая реакция обусловлена присутствием в белке циклических аминокислот - фенилаланина, тирозина и триптофана, которые при взаимодействии с концентрированной азотной кислотой образуют нитропроизводные желтого цвета (реакция нитрования бензольного кольца).

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

Нингидриновая реакция является качественной реакцией на все альфа-аминокислоты. При нагревании с избытком нингидрина аминокислота дегидрируется, декарбоксилируется с образованием CO_2 , NH_3 и альдегида, а нингидрин превращается в восстановленный нингидрин. Нингидрин, восстановленный нингидрин и аммиак затем конденсируются с образованием окрашенного соединения. Если аминокислота содержит свободную аминогруппу, образуется пигмент сине-фиолетового цвета.

Реакция Фоля обусловлена присутствием в белке аминокислот цистина и цистеина, содержащих слабосвязанную серу. При нагревании растворов белка со щелочью эти аминокислоты разрушаются с образованием сульфида натрия; последний, взаимодействуя с уксуснокислым свинцом, образует бурый (или черный) осадок сульфида свинца. Серосодержащая аминокислота метионин более устойчива и при слабом щелочном гидролизе не разрушается.

Цель работы. Ознакомиться с качественными реакциями на белок и аминокислоты.

Оборудование и реактивы

- Штативы с пробирками на 10 мл.
- Водяная баня.
- Раствор растительного белка.
- Раствор NaOH (10 %).
- Раствор NaOH (30 %).
- Раствор CuSO_4 (2 %).
- Азотная кислота конц.
- Раствор нингидрина (0,25 %) в смеси этиловый спирт : ацетон (1 : 1).
- Раствор уксуснокислого свинца (5 %).

Ход работы

Для проведения биуретовой реакции в пробирку налить 2 мл раствора растительного белка, добавить 1 мл раствора 10 % NaOH и по каплям добавить 2 % раствор CuSO_4 . Сначала образуется бледно-голубой осадок, который в присутствии белка растворяется и окрашивает раствор в фиолетовый цвет.

Для проведения ксантопротеиновой реакции к 2 мл раствора белка добавляют несколько капель конц. HNO_3 , нагревают, при этом происходит выпадение осадка белка и осадок окрашивается в желтый цвет.


Для проведения нингидриновой реакции к раствору белка добавляют несколько капель нингидрина и нагревают. Отмечают, какие изменения произошли с раствором.

Для проведения реакции Фоля в пробирку вносят 5 капель раствора белка, добавляют 5 капель 30 % раствора едкого натра и 1 каплю 5 % раствора уксуснокислого свинца. Смесь нагревают до кипения и оставляют при комнатной температуре на несколько минут. Наблюдают появление осадка бурого (или черного) цвета.

Вывод. Указать особенности проведенных реакций и объяснить, почему белки способны вступать в различные качественные реакции.

Вопросы для самоконтроля

1. Чем обусловлена способность белков вступать в разнообразные качественные реакции?
2. Для решения каких задач на практике используют качественные реакции на белки и аминокислоты?
3. Какие качественные реакции из изученных могут проходить как при участии белков, так и отдельных аминокислот?
4. Какие органические вещества, помимо белков, могут вступать в биуретовую реакцию?

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

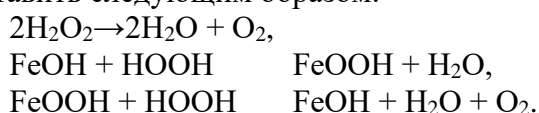
5. Какие органические вещества, помимо белков и аминокислот, могут вступать в ксантопротеиновую реакцию?
6. Все ли аминокислоты способны взаимодействовать с нингидрином с образованием окрашенного соединения?
7. Какие аминокислоты при взаимодействии с нингидрином образуют соединение, окрашенное не в сине-фиолетовый, а в желтый цвет?
8. Почему серосодержащая аминокислота метионин не вступает в реакцию Фоля?

Лабораторная работа 5

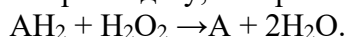
Обнаружение ферментов каталазы и пероксидазы в картофельном соке

Каталаза и пероксидаза играют важную роль в работе системы антиоксидантной защиты. Эти ферменты активируют процесс разложения пероксида водорода. Пероксид водорода является одной из активных форм кислорода, повреждающей многие важные системы клетки (мембраны, электронтранспортные цепи, ферменты и т. д.).

Каталаза обнаружена у всех аэробных организмов и у некоторых факультативных анаэробов. Подобно пероксидазе и цитохромоксидазе, каталаза относится к Fe-порфириновым ферментам. Сущность каталитического действия каталазы состоит в разложении пероксида водорода с выделением молекулярного кислорода. Реакция с участием каталазы требует двух молекул пероксида водорода, из которых одна действует как донор, а другая - как акцептор электронов. Механизм каталитической реакции можно представить следующим образом:



К пероксидазам относят группу ферментов, использующих в качестве окислителя пероксид водорода: НАДН-пероксидазу, НАДФН-пероксидазу, глутатион-пероксидазу, гваякол-пероксидазу, аскорбат-пероксидазу и др. Все они работают по схеме:



Обнаружено, что пероксидазы обеспечивают нормальный ход окислительных процессов при различного рода неблагоприятных воздействиях на живые организмы, например, при воздействии патогенных агентов, тяжелых металлов и др.

Пероксидаза образует с пероксидом водорода комплексное соединение, в результате чего пероксид активируется и приобретает способность действовать как акцептор водорода.


Цель работы. Доказать, что свежий картофельный сок является источником каталазы и пероксидазы и определить условия протекания реакций, катализируемых этими ферментами.

Оборудование и реактивы

- Штативы с пробирками на 10 мл.
- Колбы на 100 мл.
- Терка и марля.
- Водяная баня.
- Картофель.
- Раствор пероксида водорода (3 %).
- Раствор гидрохинона (1 %).

Ход работы

Для обнаружения каталазы в картофельном соке очищенный от кожуры картофель натереть на терке, затем отжать через марлю, сок собрать в пробирку. Внести 10 капель сока в пробирку с очень слабым раствором H_2O_2 (5 мл воды и 10 капель 3 % пероксида

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

водорода). Пронаблюдать за реакцией в пробирке. То же самое сделать с предварительно прокипяченной порцией сока. Объяснить результаты.

Для обнаружения пероксидазы в картофельном соке приготовить 4 пробирки, внести в них по 5 мл 1 % раствора гидрохинона. В первую пробирку налить 1 мл раствора пероксида водорода и 1 мл картофельного сока, во вторую - 1 мл раствора пероксида водорода, в третью - 1 мл картофельного сока, в четвертую также 1 мл картофельного сока, но предварительно прокипяченного в течение 1 мин., и 1 мл пероксида водорода.

При окислении гидрохинона в хинон происходит побурение раствора. Некоторое побурение самого картофельного сока без добавления гидрохинона и пероксида водорода наблюдается также в связи с действием полифенолоксидазы, окисляющей полифенолы тканей картофеля с участием молекулярного кислорода.

Результаты опыта записать в табл. 3 и объяснить полученные результаты.

Таблица 3

Вариант	Состав смеси в пробирке			Окраска раствора в пробирке
	Картофельный сок (источник пероксидазы)	H ₂ O ₂	Гидрохинон	
1				
2				
3				
4				

Вывод. Укажите условия, необходимые для протекания ферментативных реакций при участии каталазы и пероксидазы.


Вопросы для самоконтроля

1. На чем основано обнаружение ферментов каталазы и пероксидазы в картофельном соке?
2. К какому классу относятся ферменты каталаза и пероксидаза?
3. К какой группе ферментов по составу относятся каталаза и пероксидаза?
4. Докажите, что обе реакции, катализируемые изучаемыми ферментами, являются окислительно-восстановительными.
5. Укажите черты сходства и различия между двумя проведенными реакциями. Какие изменения нативной конформации ферментов, приводящие к утрате их активности, происходят при нагревании картофельного сока?
6. Чем объясняется незначительное побурение картофельного сока в пробирке без добавления гидрохинона и пероксида водорода?
7. Почему каталазу и пероксидазу относят к антиоксидантным ферментам?
8. Какое значение имеет система антиоксидантной защиты у живых организмов?

Лабораторная работа 6

Озоление биологического материала методом мокрого сжигания

Определению элементного состава биологического материала предшествует его озоление. Сущность метода мокрого сжигания состоит в озолении органического материала при нагревании с концентрированной H₂SO₄ в присутствии различных добавок; это могут быть любые окислители: HClO₄ конц. или H₂O₂, либо вещества, выполняющие каталитическую функцию: селен, соли ртути, сернокислая медь и ряд других. Как правило, сжигание проводят в специально предназначенных для этого узкогорлых круглодонных колбах Кьельдаля. При нагревании под действием H₂SO₄ вся органика разлагается до H₂O, CO₂ и NH₄⁺. Ион аммония в кислой среде удерживается в растворе. Переходят в минеральную форму и все другие элементы озоляемого материала.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

В подготовленном таким образом материале можно проводить определение общего азота, фосфора, калия и многих других минеральных элементов.

Цель работы. Провести озоление исследуемого растительного материала.

Оборудование и реактивы

- Колбы Кьельдаля и штатив для них.
- Мерный цилиндр на 10 мл.
- Колбы мерные на 100 мл.
- Колбы на 100 мл с пробками.
- Торсионные весы до 500 мг.
- Измельченный сухой растительный материал.
- Смесь конц. H_2SO_4 и 60 % $HClO_4$ в соотношении 10 : 1.

Ход работы

100 мг сухого растительного материала взвешивают на торсионных весах и помещают в колбу Кьельдаля на 100 мл. Для предотвращения попадания частичек материала на стенки колбы при засыпке навески в горло колбы вставляют сложенный в трубку лист кальки.

К взятой навеске растительного материала приливают 5,5 мл смеси концентрированных H_2SO_4 и $HClO_4$ (в соотношении 10 : 1) и ставят на нагреватель. С появлением белых паров колбу снимают с нагревателя, несколько раз встряхивают и оставляют на 10-15 мин. в штативе. Необходимо добиться полной пропитки кислотой всего объема навески. В случае неполного смачивания материала при дальнейшем нагревании колбы происходит воспламенение сухих частичек, что вызывает потери азота.

После пропитывания навески кислотой колбу снова ставят на нагреватель и продолжают сжигание до полного обесцвечивания жидкости в колбе. Обычно процесс занимает 15-20 мин.


Колбу с минеральным содержимым охлаждают до комнатной температуры. Далее медленно по стенкам горловины в колбу приливают 20-30 мл воды и осторожно перемешивают весь объем жидкости. Колбу вторично охлаждают, затем ее содержимое переливают в мерную колбу на 100 мл, споласкивая колбу Кьельдаля несколькими порциями воды по 10-20 мл. Мерную колбу охлаждают и доводят водой до метки. После этого раствор можно перелить в колбу на 100 мл, закрыть и хранить до момента анализа.

Вывод. Указать условия, при которых проводили озоление и назвать продукты озоления, перешедшие в раствор.

Вопросы для самоконтроля

1. Для решения каких аналитических задач проводят озоление биологического материала?
2. В чем заключается сущность озоления?
3. Какие виды озоления используют на практике? Чем обусловлен выбор метода?
4. Какие правила техники безопасности необходимо соблюдать при проведении озоления?
5. Почему озолению подвергают высушенный, а не сырой растительный материал?
6. Какие кислоты используют для мокрого озоления биологического материала?
7. Назовите конечные продукты озоления биологического материала, проводимого с использованием смеси концентрированных кислот.
8. Почему колбу с минеральным содержимым (после озоления) необходимо охладить до комнатной температуры?

Лабораторная работа 7

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

Определение содержания общего азота в растительном материале

Азот является одним из основных макроэлементов для живых организмов, поскольку входит в состав важнейших органических веществ: нуклеотидов, белков, аминокислот, амидов, хлорофилла, порфиринов, алкалоидов и др. Корни растений способны поглощать из почвы азот преимущественно в форме аниона NO_3^- и катиона NH_4^+

Содержание общего азота определяют колориметрическим методом с помощью реактива Несслера (щелочного раствора йодомеркуриата калия). Данный метод основан на свойстве иона аммония образовывать в щелочной среде с солями ртути цветной комплекс, имеющий желтый, желто-оранжевый или коричневый цвет. Интенсивность окраски комплекса в определенном интервале пропорциональна количеству азота, находящемуся в растворе.

Оборудование и реактивы

- Штативы с мерными пробирками на 10 мл.
- Колбы мерные на 50 мл.
- Стаканчики на 50-100 мл.
- Пипетки на 10 мл.
- Фотоэлектроколориметр и фотокуветы.
- Раствор NaOH (1 %).
- Сегнетова соль.
- Реактив Несслера.
- Стандартный раствор с содержанием азота 0,1 мг/мл.

Ход работы

Раствор, полученный при озолении растительного материала (1 мл), из колбы на 100 мл переносят в стакан на 50-100 мл. Приливают 30-35 мл воды дистиллированной, добавляют несколько кристалликов сегнетовой соли и нейтрализуют 1 % раствором NaOH до значений pH в интервале 7-8. Переводят раствор в мерную колбу на 50 мл, содержимое доводят водой до метки, добавляют 1 мл реактива Несслера и сразу переливают в стакан на 50-100 мл. Через 3 мин. развившуюся окраску колориметрируют на фотоэлектроколориметре при длине волны в диапазоне 400-440 нм в кюветах на 20 мм.

Содержание иона аммония определяют по калибровочному графику, построенному по растворам с содержанием азота 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 мг/мл, которые готовят из стандартного раствора с содержанием азота 0,1 мг/мл. Серию указанных стандартов получают путем разбавления исходного раствора. Для этого в 4 мерные пробирки на 10 мл вносят соответственно 2; 4; 6; 8 мл исходного стандарта и доводят до 10 мл водой. Содержимое пробирок перемешивают. Далее из каждой пробирки поочередно отбирают 1 мл приготовленного раствора, вносят в мерную колбу на 50 мл, доводят водой до метки, добавляют 1 мл реактива Несслера и переливают раствор в стакан на 50-100 мл. Через 3 мин. колориметрируют.


Необходимо также провести холостое определение с реактивом Несслера без внесения азота. Во всех случаях колориметрирование проводят против воды.

Содержание азота в исследуемом растительном материале выражают в процентах от сухой массы.

Вывод. Указать использованные методы и полученный результат, отражающий процентное содержание азота в исследуемом растительном материале.

Вопросы для самоконтроля

1. В каких формах азот присутствует в растительных тканях?
2. В состав каких органических соединений входит азот?
3. На чем основан фотоэлектроколориметрический метод определения азота?
4. Каков химизм реакции с реактивом Несслера?

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

5. Для чего необходимо построение калибровочного графика?
6. Как готовят серию растворов для построения калибровочного графика?
7. Зачем проводят холостое определение с реактивом Несслера (без внесения азота)?
8. Как рассчитывают содержание общего азота в растительном материале?

Лабораторная работа 8

Определение содержания общего и неорганического фосфора

Фосфор в виде аниона PO_4^{3-} содержится в значительном количестве в тканях растений и животных. Он входит в состав нуклеиновых кислот и других нуклеотидов, фосфолипидов, фосфорнокислых эфиров сахаров и т. д.

В основе метода определения фосфора лежит реакция этого элемента с молибдатом аммония в кислой среде. В результате взаимодействия с восстановителем образуется соединение, окрашенное в синий цвет, - молибденовая синь. Плотность развившейся окраски пропорциональна содержанию фосфора в растворе.

Цель работы. Определить содержание общего фосфора в исследуемом растительном материале после его озоления и количество неорганического фосфора, поглощенного из питательной среды культурой хлореллы в процессе ее выращивания.

Для определения количества неорганического фосфора, поглощенного из питательной среды культурой хлореллы за период ее культивирования, анализируется исходная среда Тамия и среда после выращивания хлореллы. По разнице определений вычисляют количество фосфора, усвоенного водорослью за период культивирования.

При подготовке к анализу исходную среду Тамия разбавляют в 20 раз. Суспензию хлореллы освобождают от клеток путем центрифугирования; супернатант разбавляют в 10 раз.

Оборудование и реактивы

- Штативы с пробирками на 15 мл.
- Пипетки.
- Центрифуга и центрифужные пробирки.
- Водяные бани.
- Электроплитки.
- Фотоэлектроколориметр и фотокуветы.
- Суспензия хлореллы.
- Питательная среда Тамия.
- Раствор молибдата аммония в серной кислоте.
- Раствор аскорбиновой кислоты.
- Стандартный раствор, содержащий 0,04 мг P_2O_5 в 1 мл.

Ход работы


Для построения калибровочного графика готовят серию стандартных растворов из исходного раствора, содержащего 0,04 мг P_2O_5 в 1 мл. В первую пробирку наливают 2 мл воды (холостая проба). В четыре пробирки (2-5) вносят последовательно 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 мл исходного стандарта. Содержимое пробирок 2-4 доводят водой до 2 мл.

Для определения общего фосфора в растительном материале в шестую пробирку приливают 2 мл раствора, полученного после озоления навески.

В седьмую пробирку приливают 2 мл среды Тамия (разбавленной в 20 раз), в восьмую пробирку - 2 мл супернатанта из-под хлореллы (после разбавления в 10 раз).

Во все пробирки добавляют по 1 мл раствора молибдата аммония в серной кислоте и по 5 мл раствора аскорбиновой кислоты. Тщательно перемешивают.

Все пробирки одновременно помещают в кипящую водяную баню на 8 мин.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

После остывания раствора колориметрируют на фотоэлектроколориметре в 5-миллиметровых кюветах при длине волны в диапазоне 620-680 нм. Полученные значения оптической плотности (D) заносят в табл. 4.

Таблица 4

№ пробы	1	2	3	4	5	6	7	8
D								
Концентрация P ₂ O ₅ , мг/мл								

Для расчетов необходимо построить калибровочный график. При расчете следует помнить о проведенных разбавлениях анализируемых сред.

Вывод. Указать процентное содержание общего фосфора в исследуемом растительном материале и количество P₂O₅ (мг), поглощенного хлореллой из 1 л среды за период ее культивирования.

Вопросы для самоконтроля


1. В каких формах фосфор присутствует в растительных тканях, в состав каких соединений входит?
2. Что подразумевают под понятием «общий фосфор»?
3. Какие подходы используют для определения содержания общего и неорганического фосфора?
4. Какое соединение фосфора является конечным продуктом при озолении биологического материала с использованием смеси концентрированных кислот?
5. На чем основан фотоэлектроколориметрический метод определения фосфора?
6. Как определить концентрацию фосфора в растворах, используемых для построения калибровочного графика?
7. Каков химизм реакции соединений фосфора с молибдатом аммония?
8. Как рассчитывают содержание общего фосфора в растительном материале?
9. Как можно определить содержание общего фосфора в суспензии хлореллы?
10. Как рассчитывают количество неорганического фосфора, поглощенного хлореллой за период культивирования?

8. ПРИМЕРНАЯ ТЕМАТИКА КУРСОВЫХ, КОНТРОЛЬНЫХ РАБОТ, РЕФЕРАТОВ.


не предусмотрены

9. ПЕРЕЧЕНЬ ВОПРОСОВ К ЭКЗАМЕНУ

1. Предмет клинической биохимии.
2. Принципы, понятия и объем исследований в лабораторной диагностике.
3. Получение биологических жидкостей для исследования.
4. Выбор методов исследования. Экспресс-диагностика.
5. Контроль качества: межлабораторный и внутрिलाбораторный.
6. Унификация биохимических методик. Критерии унификации.
7. Лабораторные тесты диагностики заболеваний печени. Клинические и биохимические синдромы.
8. Нарушение целостности гепатоцита: синдром цитолиза, повышенной проницаемости, гиперферментемия.
9. Экскреторно-билиарный синдром: соотношение активности ферментов и фракций билирубина.


Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

10. Воспалительный синдром: общий белок сыворотки крови и белковые фракции. Гипоальбуминемия и гиперглобулинемия.
11. Энзимодиагностика заболеваний печени.
12. Типы желтух: надпеченочные, печеночные, подпеченочные.
13. Образование билирубина и его фракций в крови, печени, кишечнике, почках.
14. Свободный и конъюгированный билирубин, уробилиноген и стеркобилиноген, желчные пигменты. Токсичность билирубина.
15. Характеристика белковых фракций плазмы крови. Альбумины, гипер- и гипоальбуминемия.
16. α 1-Глобулины: α 1- протеиназный ингибитор, α 1-кислый гликопротеин. α 2-глобулины: α 2-макроглобулин, гаптоглобин, церулоплазмин.
17. β -Глобулины: трансферрин, гемопексин. γ -Глобулины: иммуноглобулины, гипергаммаглобулинемия.
18. Соотношение белковых фракций при остром и хроническом воспалении, нарушении функций почечного фильтра, злокачественных новообразованиях, гепатитах, циррозах печени, механической желтухе.
19. Гемсодержащие пигменты. Предшественники гема, желчные пигменты. Синтез гема, основные этапы.
20. Показатели порфиринового обмена: δ -аминолевулиновая кислота, порфобилиноген, копропорфирин, уропорфирин мочи, порфобилиногенсинтаза эритроцитов.
21. Эритропоэтические, печеночные порфирии, порфиринурии. Изменения показателей обмена порфиринов при анемиях, гепатитах, алкоголизме.
22. Нарушения обмена железа. Показатели обмена железа: сывороточное железо, трансферрин, ненасыщенная и общая железосвязывающая способность, ферритин.
23. Изменения обмена железа при кровопотерях, гнойных и септических заболеваниях, беременности, талассемии, желтухе новорожденных, злокачественных заболеваниях.
24. Строение, функции, основные заболевания поджелудочной железы. Активность ферментов в дуоденальном соке.
25. Панкреатиты, диагностическое значение определения активности α -амилазы в крови и моче.
26. Сахарный диабет. Определение, классификация и клинические признаки.
27. Абсолютная и относительная недостаточность инсулина. Влияние инсулина на метаболизм.
28. Содержание глюкозы в цельной крови и плазме. Диагностические критерии сахарного диабета I и II типов.
29. Гипергликемия и глюкозурия. Нарушенная гликемия натощак, нарушенная толерантность к глюкозе, постпрандиальная гипергликемия.
30. Ранняя диагностика сахарного диабета: определение антител к β -клеткам поджелудочной железы, проинсулина, C-пептида.
31. Компенсация сахарного диабета. Эффективный контроль гипергликемии: определение гликозилированного гемоглобина, фруктозамина.
32. Оценка степени сосудистого риска: гликированный гемоглобин, глюкоза плазмы венозной крови натощак, глюкоза капиллярной крови перед едой, постпрандиальная гипергликемия, показатели липидного спектра.
33. Поздние осложнения сахарного диабета. Диабетическая нефропатия: стадии микроальбуминурии и протеинурии. Диабетический кетоацидоз.
34. Атеросклероз, стадии развития.
35. Нарушения липидного обмена.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

36. Диагностическое значение определения содержания холестерина и его фракций в составе липопротеинов крови. Гиперхолестеролемиа.
37. Основные показатели атеросклероза: общий холестерол, α -холестерол, индекс атерогенности.
38. Типы гиперлипопротеинемий. Дислипидемии.
39. Модифицированные липопротеины: перекисно-модифицированные ЛПНП, аутоиммунные комплексы липопротеин-антитело, гликозилированные и дезаилированные липопротеины, продукты ограниченного протеолиза липопротеинов.
40. Инфаркт миокарда. Нарушение снабжения сердца кислородом при ишемической болезни сердца. Основные причины кислородного голодания.
41. Основные метаболические нарушения при остром инфаркте миокарда. Условия обратимости изменений миокарда. Необратимые изменения сердечной мышцы.
42. Маркерные ферменты миокарда. Энзимодиагностика инфаркта миокарда.
43. Креатинкиназа и сердечной формы креатинфосфокиназы в диагностике инфаркта миокарда.
44. Диагностическое значение лактатдегидрогеназы и её изоферментов в сыворотке крови. Аспаратаминотрансфераза.
45. Неферментные маркеры инфаркта миокарда: миоглобин, тропонины Т и I, С-реактивный белок.
46. Основные заболевания почек: гломерулонефрит, пиелонефрит, почечная недостаточность, нефротический синдром, нефролитиаз.
47. Клинический и биохимический анализ мочи.
48. Диурез и его нарушения: полиурия, олигоурия, анурия, никтурия.
49. Физиологические компоненты мочи: мочевины, креатинин, креатин, мочевины кислоты. Методы их определения.
50. Патологические компоненты мочи: глюкозурия, протеинурия. Гломерулярная, тубулярная, внепочечные протеинурии.
51. Функции воды в организме. Положительный и отрицательный водный баланс организма.
52. Обмен натрия и калия. Роль этих ионов в поддержании гомеостаза организма: содержание внутри и вне клетки.
53. Гипернатриемия, её виды и механизмы развития. Относительная и абсолютная гипонатриемия. Гормональная регуляция выведения натрия почками.
54. Роль ионов калия в мышечном сокращении, поддержании функций сердечно-сосудистой системы, почек. Гипер- и гипокалиемия.
55. Кальций, гипер- и гипокальциемия у детей и взрослых.
56. Фосфор, кислоторастворимая и кислотонерастворимая фракции. Гипер- и гипофосфатемия у детей и взрослых.
57. Основные показатели кислотно-основного равновесия крови. Роль легких, почек, печени в поддержании кислотно-щелочного равновесия.
58. Буферные системы крови: карбонатная, белковая, фосфатная. Механизм работы буферной системы гемоглобина.
59. Формы нарушения кислотно-щелочного баланса. Алкалоз и ацидоз: респираторный, метаболический, компенсированный, декомпенсированный.
60. Клинико-диагностическое значение изменений показателей кислотно-щелочного баланса.

10. САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА СТУДЕНТОВ

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

Название разделов и тем	Вид самостоятельной работы (проработка учебного материала, решение задач, реферат, доклад, контрольная работа, подготовка к сдаче зачета, экзамена и др.)	Объем в часах	Форма контроля (проверка решения задач, реферата и др.)
Принципы клинической лабораторной диагностики	проработка учебного материала, подготовка к сдаче зачета	9	вопрос к экзамену, собеседование
Белки плазмы крови	проработка учебного материала, подготовка к сдаче зачета	9	вопрос к экзамену, собеседование
Нарушения порфиринового обмена	проработка учебного материала, подготовка к сдаче зачета	9	вопрос к экзамену, собеседование
Биохимическая диагностика заболеваний поджелудочной железы. Сахарный диабет	проработка учебного материала, подготовка к сдаче зачета	9	вопрос к экзамену, собеседование
Заболевания сердечно-сосудистой системы	проработка учебного материала, подготовка к сдаче зачета	10	вопрос к экзамену, собеседование
Заболевания почек	проработка учебного материала, подготовка к сдаче зачета	10	вопрос к экзамену, собеседование
Водно-электролитный обмен	проработка учебного материала, подготовка к сдаче зачета	10	вопрос к экзамену, собеседование
Кислотно-щелочной баланс	проработка учебного материала, подготовка к сдаче зачета	10	вопрос к экзамену, собеседование


11. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ИНФОРМАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Список рекомендуемой литературы:

а) основная литература:


1. Ткачук, В. А. Клиническая биохимия : учебное пособие / Под ред. В. А. Ткачука - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 264 с. - ISBN 978-5-9704-0733-2. - Текст: электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970407332.html>
2. Северин, Е. С. Биохимия : учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд., испр. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 768 с. - ISBN 978-5-9704-3762-9. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970437629.html>

б) дополнительная литература

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		


1. Барышева, Е. С. Биохимия крови: лабораторный практикум / Е. С. Барышева, К. М. Бурова. — Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2013. — 141 с. — ISBN 2227-8397. — Текст : электронный // Электронно-библиотечная система IPR BOOKS : [сайт]. — URL: <http://www.iprbookshop.ru/30085.html>
 2. Глухова, А. И. Биохимия с упражнениями и задачами : учебник / под ред. А. И. Глухова, Е. С. Северина - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2019. - 384 с. - ISBN 978-5-9704-5008-6. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970450086.html>
- в) учебно-методическая:
1. Дрожжина Е. П. Методические указания к лабораторным занятиям и самостоятельной работе студентов по дисциплине «Клиническая биохимия» для направления бакалавриата 06.03.01 Биология экологического факультета ИМЭиФК УлГУ / Е. П. Дрожжина. - Ульяновск : УлГУ, 2019. - Неопубликованный ресурс. - Электрон. текстовые дан. (1 файл : 350 КБ). - Текст : электронный. <http://lib.ulsu.ru/MegaPro/Download/MObject/8274>

Согласовано:

Директор научной библиотеки / Бурханова М.М. /  / 2024
Должность сотрудника научной библиотеки / ФИО / подпись / дата

б) программное обеспечение

1. ОС MicrosoftWindows
 2. MicrosoftOffice 2016
 3. «МойОфис Стандартный»
- в) Профессиональные базы данных, информационно-справочные системы**

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

1. Электронно-библиотечные системы:

1.1. Цифровой образовательный ресурс IPRsmart : электронно-библиотечная система : сайт / ООО Компания «Ай Пи Ар Медиа». - Саратов, [2024]. – URL: <http://www.iprbookshop.ru>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. - Текст : электронный.

1.2. Образовательная платформа ЮРАЙТ : образовательный ресурс, электронная библиотека : сайт / ООО Электронное издательство «ЮРАЙТ». – Москва, [2024]. - URL: <https://urait.ru> . – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. - Текст : электронный.

1.3. База данных «Электронная библиотека технического ВУЗа (ЭБС «Консультант студента») : электронно-библиотечная система : сайт / ООО «Политехресурс». – Москва, [2024]. – URL: <https://www.studentlibrary.ru/cgi-bin/mb4x>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст : электронный.

1.4. Консультант врача. Электронная медицинская библиотека : база данных : сайт / ООО «Высшая школа организации и управления здравоохранением-Комплексный медицинский консалтинг». – Москва, [2024]. – URL: <https://www.rosmedlib.ru>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст : электронный.

1.5. Большая медицинская библиотека : электронно-библиотечная система : сайт / ООО «Букап». – Томск, [2024]. – URL: <https://www.books-up.ru/ru/library/> . – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст : электронный.

1.6. ЭБС Лань : электронно-библиотечная система : сайт / ООО ЭБС «Лань». – Санкт-Петербург, [2024]. – URL: <https://e.lanbook.com>. – Режим доступа: для зарегистрир. пользователей. – Текст : электронный.

1.7. ЭБС Znanium.com : электронно-библиотечная система : сайт / ООО «Знаниум». - Москва, [2024]. - URL: <http://znanium.com> . – Режим доступа : для зарегистрир. пользователей. - Текст : электронный.

2. КонсультантПлюс [Электронный ресурс]: справочная правовая система. / ООО «Консультант Плюс» - Электрон. дан. - Москва : КонсультантПлюс, [2024].

3. eLIBRARY.RU: научная электронная библиотека : сайт / ООО «Научная Электронная Библиотека». – Москва, [2024]. – URL: <http://elibrary.ru>. – Режим доступа : для авториз. пользователей. – Текст : электронный

4. Федеральная государственная информационная система «Национальная электронная библиотека» : электронная библиотека : сайт / ФГБУ РГБ. – Москва, [2024]. – URL: <https://нэб.рф>. – Режим доступа : для пользователей научной библиотеки. – Текст : электронный.

5. Российское образование : федеральный портал / учредитель ФГАУ «ФИЦТО». – URL: <http://www.edu.ru>. – Текст : электронный.

6. Электронная библиотечная система УлГУ : модуль «Электронная библиотека» АБИС Мега-ПРО / ООО «Дата Экспресс». – URL: <http://lib.ulsu.ru/MegaPro/Web>. – Режим доступа : для пользователей научной библиотеки. – Текст : электронный.

Инженер ведущий




Щуренко Ю.В.

2024

12. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Аудитории для проведения лекций, семинарских занятий, для проведения текущего контроля и промежуточной аттестации.

Аудитории укомплектованы специализированной мебелью, учебной доской.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

Аудитории для проведения лекций оборудованы мультимедийным оборудованием для предоставления информации большой аудитории. Помещения для самостоятельной работы оснащены компьютерной техникой с возможностью подключения к сети «Интернет» и обеспечением доступа к электронной информационно-образовательной среде, электронно-библиотечной системе.


Перечень оборудования, используемого в учебном процессе:

- Анализатор биохимический, автоматический
- Анализатор гипербилирубинемии
- Анализатор гликогеоглобина
- Анализатор глюкозы из проб цельной крови электрохимический, автоматический
- Иммунохимический анализатор
- Анализатор рН и газов крови полуавтоматический
- Анализатор электролитного состава ионоселективный
- Анализатор фотометрический иммуноферментный для анализа в пробирках
- Система клинического электрофореза
- Атомно-абсорбционный спектрофотометр
- Глюкометр для определения глюкозы в цельной крови
- Жидкостный хроматограф высокого давления
- Оксиметр автоматический
- Осмометр
- Спектрофотометр
- Флуориметр
- Фотометр отражательный для экспресс-анализа маркеров повреждения сердечной мышцы в комплекте с иммунохроматографическими кассетами.

13. СПЕЦИАЛЬНЫЕ УСЛОВИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ С ОГРАНИЧЕННЫМИ ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЗДОРОВЬЯ

В случае необходимости, обучающимся из числа лиц с ограниченными возможностями здоровья (по заявлению обучающегося) могут предлагаться одни из следующих вариантов восприятия информации с учетом их индивидуальных психофизических особенностей:

- для лиц с нарушениями зрения: в печатной форме увеличенным шрифтом; в форме электронного документа; в форме аудиофайла (перевод учебных материалов в аудиоформат); в печатной форме на языке Брайля; индивидуальные консультации с привлечением тифлосурдопереводчика; индивидуальные задания и консультации;
- для лиц с нарушениями слуха: в печатной форме; в форме электронного документа; видеоматериалы с субтитрами; индивидуальные консультации с привлечением сурдопереводчика; индивидуальные задания и консультации;
- для лиц с нарушениями опорно-двигательного аппарата: в печатной форме; в форме электронного документа; в форме аудиофайла; индивидуальные задания и консультации;
- в случае необходимости использования в учебном процессе частично/исключительно дистанционных образовательных технологий, организация работы ППС с обучающимися с ОВЗ и инвалидами предусматривается в электронной информационно-образовательной среде с учетом их индивидуальных психофизических особенностей.

Министерство науки и высшего образования РФ Ульяновский государственный университет	Форма	
Ф - Рабочая программа дисциплины		

Разработчик



ПОДПИСЬ

доцент Дронидина Е.Т.

ДОЛЖНОСТЬ

ФИО