
Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Российский государственный аграрный университет -
МСХА имени К.А. Тимирязева

Институт зоотехнии и биологии

Кафедра физиологии, этологии и биохимии животных

Т.В. Саковцева, С.В. Савчук, Н.А. Сергеенкова, А.А. Ксенофонтова

«Биохимия»

для бакалавров направления
«Продукты питания животного происхождения»

Учебно-методическое пособие

Москва
Издательство РГАУ-МСХА
2022

УДК 577

Биологическая химия: Учебно-методическое пособие / Составители: Т.В. Саковцева, С.В. Савчук, Н.А. Сергеенкова, А.А. Ксенофонтова. М.: Изд-во РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. 62 с.

В учебно-методическом пособии представлены основные материалы, используемые в учебном процессе по курсу «Биохимия». Так же отражены контрольные вопросы для сдачи коллоквиумов по наиболее важным разделам дисциплины.

Предназначено для студентов очного отделения технологического института университета, обучающихся по направлению 19.03.03 – «Продукты питания животного происхождения».

Рекомендовано к изданию методической комиссией технологического института.

© Саковцева Т.В., Савчук С.В.,
Н.А. Сергеенкова, А.А. Ксенофонтова, 2022
© ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА
имени К.А. Тимирязева, 2022
© Издательство РГАУ-МСХА, 2022

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ СТУДЕНТА	8
ЗАНЯТИЕ № 1. «ОСНОВЫ ФИЗИЧЕСКОЙ И КОЛЛОИДНОЙ ХИМИИ»	11
ЗАНЯТИЕ № 2. «УГЛЕВОДЫ И ЛИПИДЫ КАК БИОГЕННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ»	13
ЗАНЯТИЕ № 3. «СТРОЕНИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АМИНОКИСЛОТ И БЕЛКОВ»	16
ЗАНЯТИЕ № 4. «ФЕРМЕНТНЫЙ КАТАЛИЗ»	21
ЗАНЯТИЕ № 5. «РОЛЬ ВИТАМИНОВ В МЕТАБОЛИЗМЕ»	24
ЗАНЯТИЕ № 6. «ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ»	28
ЗАНЯТИЕ № 7. КОЛЛОКВИУМ I: «УРОВНИ ОРГАНИЗАЦИИ БИОГЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ. ФЕРМЕНТЫ. ВИТАМИНЫ. ГОРМОНЫ»	31
ЗАНЯТИЕ № 8. «ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ»	32
ЗАНЯТИЕ № 9. «ЦИКЛ ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ»	35
ЗАНЯТИЕ № 10. «ОБМЕН УГЛЕВОДОВ»	37
ЗАНЯТИЕ № 11. «ОБМЕН ЛИПИДОВ»	42
ЗАНЯТИЕ № 12. «ЛИПИДЫ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН»	46
ЗАНЯТИЕ № 13. «БЕЛКОВЫЙ ОБМЕН»	49
ЗАНЯТИЕ № 14. «БИОХИМИЧЕСКАЯ ДЕТОКСИКАЦИЯ»	53
ЗАНЯТИЕ № 15. КОЛЛОКВИУМ II: «ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ»	56
ЗАНЯТИЕ № 16. «ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СИНТЕЗА БЕЛКА»	57
<i>ПРИЛОЖЕНИЕ 1</i>	60
<i>ПРИЛОЖЕНИЕ 2</i>	61

Введение

1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ ДИСЦИПЛИНЫ

Цель изучения дисциплины состоит в подготовке студентов к комплексному подходу при решении таких профессиональных задач как эксплуатация животных, качество производимой продукции, проведение научных исследований.

В задачи дисциплины входит формирование системных знаний о свойствах дисперсных систем и растворов биополимеров; энергетике и кинетике химических процессов в организме; обмене веществ и энергии в организме; обучение студентов правилам техники безопасности при работе с лабораторной посудой и техникой; получение навыков выполнения биохимических анализов; стимулирование учебно-исследовательской работы студентов; привить умение оценивать информативность результатов анализа на базе знания теоретических основ биологической химии.

2. ОБЪЕМ ДИСЦИПЛИНЫ И ВИДЫ УЧЕБНОЙ РАБОТЫ

Виды учебной работы	Всего часов	Семестр 4
Общая трудоемкость дисциплины	144	72
Аудиторные занятия		
Лекции	34	34
Практические занятия (ПЗ)	34	34
Самостоятельная работа	72	36
Вид итогового контроля (зачет, экзамен)	36	экзамен

3. ФОРМЫ И СОДЕРЖАНИЕ ТЕКУЩЕГО И ИТОГОВОГО КОНТРОЛЯ

Текущий контроль: рейтинговая оценка знаний студентов, отчет о лабораторной работе, контрольная работа.

Промежуточный контроль: коллоквиум.

Итоговый контроль – экзамен.

Система рейтинговой оценки

Соответствие баллов текущей проверки знаний традиционным оценкам			
Оценки:	«Удовлетворительно»	«Хорошо»	«Отлично»
Баллы:	6,0 - 7,4	7,5 - 8,9	9 - 10

Система итоговой оценки знаний
(правомерно для студентов не имеющих пропусков лекций и ЛПЗ)

Виды учебной деятельности	Количество	Максимальный балл	Максимальная сумма баллов
Лабораторные занятия	13	10	130
Контрольная работа	13	10	130
Коллоквиум	2	100	200
Всего:			460

85% и выше от максимальной суммы баллов – экзамен автоматом;

80% – отметка хорошо без экзамена;

Студенты, набравшие менее 60% от максимальной суммы баллов – к сдаче экзамена не допускаются.

Итоговая рейтинговая система оценки успеваемости

Показатели успеваемости		Оценка успеваемости			
		Неудовл.	Удовл.	Хорошо	Отлично
В % от максимального балла		< 60	60 - 79	80 - 89	90 - 100
Количество баллов	За текущую успеваемость	< 276	276 - 367	368 - 413	414 - 460
	За экзамен	< 60	60 - 79	80 - 89	90 - 100
	Итого	< 276	276 - 367	368 - 413	414 - 460

К итоговой аттестации (экзамену) допускаются студенты, набравшие за период обучения не менее 60% от максимальной суммы баллов. Студенты, набравшие за период обучения менее 60% от максимальной суммы баллов, к экзамену не допускаются, как не справившиеся с учебной программой. Студенты, набравшие за период обучения 85% и более от максимальной суммы баллов, получают оценку отлично без экзамена. Любой студент, выполнивший учебную программу курса, может претендовать на более высокую оценку при сдаче экзамена.

Итоговая оценка по дисциплине складывается из баллов, полученных за текущую успеваемость и баллов, полученных на экзамене!!!

4. РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

№ п/п	Автор, название, издательство, год издания
ОСНОВНАЯ ЛИТЕРАТУРА *	
1	Биохимия сельскохозяйственной продукции [Текст] : учебник для под-готовки бакалавров, обучающихся по направлению 110900 "Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции" / В. В. Рогожин, Т. В. Рогожина. - Санкт-Петербург : ГИОРД, 2014.
ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА *	
1	Биологическая химия [Текст] : учебник / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. - 3-е изд., перераб. и доп. - М. : Медицина, 1998. - 704 с.
2	Биохимия животных [Текст] : учебник: для студентов, обучающихся по специальности 110305 "Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции" / В. В. Рогожин. - Санкт-Петербург : Гиорд, 2009.
3	Хазипов Н.З., Аскарлова А.Н., Тюрикова Р.П. Биохимия животных с основами физколлоидной химии / Под ред. Н.З. Хазипова. - М.: КолосС, 2010. - 328 с. Кольман Я., Рем К. Наглядная биохимия. М: Мир, 2000 г

* - в алфавитном порядке

Интернет-ресурсы

1. http://biochemistry.ru/biohimija_severina/B5873Content.html - учебник по биохимии он-лайн.
2. <http://biokhimija.ru/lekcii-po-biohimii.html> - лекции по биохимии.
3. <http://ru.wikipedia.org/>
4. www.chemport.org - Научные издания в области биохимии, химии и смежных наук.
5. <http://humbiol.ru>. База знаний по биологии человека (физиология, клеточная биология, генетика, биохимия).
6. <http://cellbiol.ru>. Информационно-справочный ресурс по биологии (генетика, молекулярная биология, биохимия, цитология, биоинформатика).
7. www.cnsnb.ru. Центральная научная сельскохозяйственная библиотека Российской академии сельскохозяйственных наук.
8. www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed - Свободный доступ в крупнейшую базу научных данных в области биомедицинских наук MedLine, включая биохимию.

ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ СТУДЕНТА НА ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЯХ

Каждый студент имеет в лаборатории постоянное место. Степень подготовленности к занятию систематически проверяется путем опроса в течение 15 мин с использованием контрольных вопросов из рабочей тетради. Проверку результатов лабораторных заданий, выполненных студентами, преподаватель начинает за 10 мин до конца занятия. Пропущенные или не зачтенные занятия студент должен отработать в течение ближайших двух недель.

Правила техники безопасности при работе в биохимической лаборатории

Работа в биохимической лаборатории связана с некоторой опасностью, поскольку многие вещества, используемые в ходе практических занятий, в той или иной степени ядовиты, огнеопасны или взрывоопасны. Существуют общие правила, выполнение которых обязательно для каждого работающего в лаборатории независимо от характера эксперимента.

I. Общие требования к поведению студентов в аудитории

- 1. Соблюдение** требований настоящих Правил обязательно для студентов, работающих в аудитории.
- 2. Посторонние лица** допускаются в аудиторию в момент проведения эксперимента только с разрешения преподавателя.
- 3.** В лаборатории **запрещено** находиться в верхней одежде.
- 4. В биохимической лаборатории** студенты обязаны находиться в халатах, проявлять осторожность в движениях, быть внимательными к указаниям преподавателя и лаборанта.
- 5. Запрещается** загромождать проходы и лабораторные столы сумками.
- 6. Прежде чем** приступить к выполнению работы, необходимо подробно изучить порядок ее проведения.
- 7. Следует** соблюдать все указания преподавателя по безопасному обращению с оборудованием, реактивами, нагревательными приборами и методами нагревания реактивов, наполнению сосудов и т.д.
- 8. Без разрешения** запрещается проводить опыты, не предусмотренные планом занятия.
- 9. Запрещается** прием пищи в биохимической лаборатории.
- 10. Обо всех неполадках** в работе оборудования, водопровода, электросети и т.д. необходимо ставить в известность преподавателя или лаборанта.
- 11. Уборку** рабочих мест по окончании работы следует произвести с указаниями преподавателя.
- 12. По окончании** лабораторных работ студенты должны вымыть руки с мылом.

13. При получении травмы (порезы, ожоги), а также при плохом самочувствии студенты должны немедленно сообщить об этом преподавателю или лаборанту.

14. При возникновении в аудитории во время занятий аварийных ситуаций (пожар, появление сильных посторонних запахов) не допускать паники и следовать указаниям преподавателя.

II. Работа с веществами и растворами

15. Насыпать или наливать вещества можно только над столом или специальным подносом. Для опыта следует брать только указанное количество вещества.

16. Без разрешения нельзя ошибочно взятый излишек реактива сыпать (сливать) обратно в склянку или банку.

17. Запрещается выносить из кабинета и вносить в него любые химические вещества без разрешения преподавателя.

18. Все работы, связанные с выделением вредных паров или газов, проводить только **в вытяжных шкафах** при включенной принудительной вентиляции.

19. Твердые сыпучие реактивы разрешается брать из склянок только с помощью совочков, ложечек, шпателей, пробирок, но не руками. Измельчение твердых веществ разрешается проводить только в фарфоровой ступке с помощью пестика.

20. Для ускорения растворения твердых веществ в пробирке нельзя закрывать отверстие пальцем при встряхивании.

21. Растворение щелочи следует проводить в фарфоровой посуде путем добавления к воде небольших порций вещества, при непрерывном помешивании. Кусочки щелочи можно брать только пинцетом или щипчиками.

22. При определении запаха вещества нельзя наклоняться над ним, нельзя вдыхать пары или выделяющийся газ. Нужно легким движением руки над горлом сосуда направить пар или газ к носу и вдыхать осторожно.

23. Пролитую кислоту или щелочь следует засыпать чистым сухим песком и перемешивать его до полного впитывания всей жидкости. Влажный песок убрать совком в широкий стеклянный сосуд для последующей промывки и нейтрализации.

24. Обо всех случаях разлива жидкостей, а также о рассыпанных веществах, реактивах нужно сообщить преподавателю или лаборанту.

25. Растворы из реактивных склянок необходимо наливать так, чтобы при наклоне, этикетка оказывалась сверху (этикетка в ладони). Каплю, оставшуюся на горлышке, снимают краем посуды, куда наливается жидкость.

26. Жидкие реактивы отбирать чистыми пипетками при помощи груши, либо автоматического дозатора.

27. При попадании на кожу растворов кислот или щелочей необходимо смыть их (после отряхивания видимых капель) сильной струей холод-

ной воды, а затем обработать нейтрализующим раствором (2%-ным раствором уксусной кислоты или гидрокарбонатом той же концентрации) и ополоснуть водой.

28. Без разрешения запрещается выливать в канализацию отработанные растворы и любые химические реактивы. Необходимо сливать их в склянки, предназначенные для этой цели.

III. Обращение с нагревательными приборами

29. Зажигать газовую горелку разрешается только спичкой. Запрещается наклоняться над горящей горелкой.

30. Запрещается перед нагреванием заполнять пробирки жидкостью более чем на 1/3 их объема.

31. При нагревании пробирки ее отверстие следует направлять в сторону от себя и от рядом работающих студентов.

32. В ходе нагревания запрещается наклоняться над сосудами, заглядывать в них. Недопустимо нагревать сосуды на границе и выше уровня жидкости.

33. Необходимо начинать со слабого нагревания всей пробирки или стеклянной пластинки (2-3 движения над пламенем, если пробирка не закреплена, или слабым пламенем под пробиркой, если пробирка закреплена) и только затем вести дальнейший нагрев вещества.

34. По завершении опыта нагревательные приборы необходимо **выключить**.

35. Запрещается оставлять без присмотра нагревательные приборы (газовые горелки, электроплиты, водяные бани, термостаты).

Занятие № 1. «Основы физической и коллоидной химии»

Цель занятия: сформировать у студентов представление о предмете и задачах биологической химии, специфике биохимических лабораторий и особенностях работы с биологическим материалом; изучить правила техники безопасности при работе в биохимической лаборатории.

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Определение рН растворов.

1. В пластиковый стаканчик налейте при помощи мензурки 10 мл исследуемой жидкости: вода, моча, молоко, раствор слюны, раствор яичного белка.
2. Измерьте рН-метром величину рН. Запишите полученное значение в таблицу.
3. Добавьте 4 капли 0,1 н раствора соляной кислоты. Измерьте величину рН и запишите полученную величину в таблицу.
4. В пластиковый стаканчик налейте точно 10 мл новой порции исследуемой жидкости и добавьте 4 капли 0,1 н раствора гидроксида натрия. Измерьте рН и запишите полученную величину в таблицу.

№ п/п	Вид биологической жидкости	рН	рН после добавления кислоты	рН после добавления щелочи

Какой вывод можно сделать на основе полученных данных? Какая исследуемая жидкость обладает наибольшей буферной емкостью? По отношению к каким веществам (кислоте или щелочи) выражена больше буферная емкость у биологических жидкостей и почему? Почему важно поддерживать кислотно-основное равновесие внутренней среды организма?

Опыт 2. Коагуляция органических коллоидов.

1. Возьмите три пробирки. В каждую налейте \approx по 2 мл коллоидного раствора белка.
2. В первую пробирку налейте 2 мл 2% раствора сульфата меди; во вторую – 2 мл насыщенного раствора сульфата аммония; в третью – 2 мл ацетона.
3. Запишите результаты в таблицу.
4. В каждую пробирку добавьте 5 мл дистиллированной воды и тщательно перемешайте содержимое.

	Сульфат меди	Сульфат аммония	Ацетон
Вид осадка			
Вид осадка после добавления воды			

Объясните причину выпадения осадка в каждом конкретном случае. Что изменилось после добавления воды? Почему?

Опыт 3. Получение эмульсии жира в воде.

1. Возьмите пробирку. До половины заполните ее дистиллированной водой. Добавьте несколько капель растительного масла.
2. Встряхните пробирку до образования нестойкой (расслаивающейся) эмульсии.
3. Добавьте в пробирку несколько капель раствора мыла. После взбалтывания смеси образуется стойкая (нерасслаивающаяся) эмульсия.

Объясните, каким образом мыло стабилизирует эмульсию?

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 2. «Углеводы и липиды как биогенные соединения»

Цель занятия: изучить качественные реакции углеводов и липидов, лежащих в основе их количественного определения в биологическом материале.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Биологические функции углеводов в организме животных.*
2. *Биологические функции липидов в организме животных.*
3. *Классификация и строение углеводов.*
4. *Классификация и строение липидов.*
5. *Физико-химические свойства углеводов.*
6. *Физико-химические свойства липидов.*

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Качественная реакция Молиша на пентозную группировку.

Это качественная реакция на углеводы. **Внимание!** Реакция настолько чувствительна, что ее может вызвать даже пылинка и волоконец на стенках пробирки. Поэтому посуду, в которой проводят реакцию, надо очень тщательно мыть, а ополаскивать лучше дистиллированной водой.

1. В пробирку добавьте 0,5 мл 1%-ного раствора любого углевода (глюкозы, сахарозы, крахмала).
2. Добавьте 2 капли свежеприготовленного 0,1%-ного спиртового раствора α -нафтола (или 1%-ного спиртового раствора тимола). Смесь слегка мутнеет из-за выпадения α -нафтола в осадок.
3. Осторожно из пипетки по стенке пробирки прилейте около 1 мл концентрированной серной кислоты так, чтобы она опустилась на дно, не смешавшись с водным слоем. При наличии в исследуемой пробе углеводов на границе слоев появляется красно-фиолетовое кольцо.
4. Повторите пункт 1-3 с 0,5 мл 10%-ного яичного белка.
5. Повторите пункт 1-3 с муцином слюны.

Муцин – вещество, входящее в состав слюны, которое увеличивает ее вязкость, загущает и способствует образованию пены.

3. Через 2 минуты возьмите из пробирки, находящейся в бане 3 капли раствора пипеткой и вылейте в пробирку с 5-тью мл дистиллированной воды. Сюда же добавьте 1 каплю раствора Люголя. Занесите в таблицу наблюдаемую окраску раствора.
4. Пробирку с раствором крахмала кипятите еще 3 минуты, и снова проведите такую же пробу с йодом.
5. Описанную последовательность действий проводите до тех пор, пока реакция с йодом не будет отрицательной (жидкость окрашивается в желтый цвет).

Время с момента начала кипения	Цвет раствора крахмала с реактивом Люголя

6. С гидролизатом крахмала (нейтрализованного по лакмусу) проведите реакцию Троммера (см. опыт 2).

Объясните результаты эксперимента.

Опыт 4. Насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты*(по наличию реагентов).

1. Возьмите три сухие пробирки.
2. В первую пробирку поместите 0,5 мл свиного сала (растопленного), в другую – 0,5 мл сливочного масла (растопленного), в третью – 0,5 мл растительного масла.
3. Ко всем пробиркам добавьте по 2 мл хлороформа.
4. Титруйте полученные смеси 0,001 н спиртовым раствором йода до отчетливой розовой окраски.

Запишите число капель йода, пошедшего на титрование каждого вида жира и расположите жиры в порядке убывания степени насыщенности. Объясните принцип определения степени ненасыщенности жиров.

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 3. «Строение и физико-химические свойства аминокислот и белков»

Цель занятия: сформировать знания о физико-химических свойствах аминокислот и белка. Обучить методике выполнения цветных реакций на белки и аминокислоты. Провести реакции осаждения белка и объяснять их механизмы. Сформировать знания о структурной организации белков

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Природные аминокислоты: строение и классификация.*
2. *Природные аминокислоты: биологическое значение и функции.*
3. *Охарактеризуйте уровни организации белковой молекулы и химические связи их стабилизирующие.*
4. *Классификация белков. Функции белков различных классов в осуществлении биохимических реакций.*
5. *Физико-химические свойства аминокислот и белков. Изоэлектрическая точка и состояние. Раскройте важность амфотерной природы аминокислот и белков в биологическом отношении.*
6. *Денатурация и ренатурация белков. Механизмы данных процессов.*

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Амфотерные свойства глицина.

1. В пробирку налейте 0,5 мл раствора глицина.
2. Добавьте 1 каплю метилового красного.
3. Затем в пробирку добавьте 2 капли раствора формальдегида.

Объясните, почему изменился цвет индикатора? Почему аминокислоты проявляют амфотерные свойства?

Опыт 2. Обнаружение ароматических и гетероциклических аминокислот (ксантопротеиновая реакция).

1. Возьмите три пробирки.
2. В первую пробирку налейте 0,5 мл 1%-ного раствора тирозина, во 2-ю 0,5 мл 1%-ного раствора глицина, в 3-ю - 0,5 мл 1%-ного раствора яичного белка.
3. В каждую пробирку добавьте по 3 капли концентрированной азотной кислоты поместите пробирки в кипящую водяную баню на 2-3 минуты.
4. После охлаждения пробирок до комнатной температуры в каждую из них добавьте по 0,5 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия.

Объясните результаты опыта. Какой структурный фрагмент молекулы α -аминокислоты выявляется с помощью ксантопротеиновой реакции? В какой из пробирок появилось оранжевое окрашивание после добавления NaOH и почему?

Опыт 3. Обнаружение аминокислот, содержащих слабосвязанную серу (реакция Фоля).

1. В пробирку налейте 1 мл 1%-ного раствора яичного белка (или поместите кусочек шерстяной нити).

2. Добавьте 0,5 мл 30%-ной щелочи и 3-4 капли 5%-ного раствора ацетата свинца.
3. Нагрейте пробирку до кипения. Повторите пункт 1-3 с 1%-ным раствором желатина.

Запишите и объясните полученные Вами результаты.

Опыт 4. Обнаружение пептидной группы (биуретовая реакция).

1. Возьмите две пробирки.
2. В 1-ю пробирку поместите 0,5 мл 1%-ного раствора глицина, во 2-ю – 0,5 мл 1%-ного раствора яичного белка.
3. В каждую пробирку добавьте по 0,5 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия, а затем по 2-3 капли 2%-ного раствора сульфата меди (II).

В какой из пробирок появляется сине-фиолетовое окрашивание и почему? Напишите реакцию образования пептидной связи между двумя аминокислотами.

Опыт 5. Реакции осаждения белков.

а) Обратимое осаждение белков серноокислым аммонием (высаливание).

1. В пробирку налейте 0,5 мл раствора яичного белка.
2. Добавьте равный объем насыщенного раствора серноокислого аммония. Объясните причину выпадения осадка.

3. К раствору с осадком белков добавьте равный объем дистиллированной воды, перемешайте.

Почему наблюдается постепенное исчезновение осадка белков?

б) Осаждение белков при кипячении.

1. Возьмите четыре пробирки.
2. В каждую налейте по 0,5 мл раствора белка.
3. Первую пробирку оставьте без изменений, во 2-ю добавьте 1 каплю 1%-ной уксусной кислоты, в 3-ю – 5 капель 10%-ной уксусной кислоты, в 4-ю – 5 капель 10% гидроксида натрия.
4. Содержимое всех пробирок поставьте на 5 мин в кипящую водяную баню.
5. Сравните характер изменения растворов после нагревания.

Запишите в таблицу результаты осаждения белков при кипячении в различных средах (отметьте положительный результат осаждения плюсом, а отрицательный – минусом) и укажите в каждом случае причины появления или отсутствия осадка белка.

	Нейтральная среда	Слабокислая среда	Сильнокислая среда	Щелочная среда
Результат осаждения				
Причина выпадения осадка				

в) Осаждение белков солями тяжелых металлов, концентрированными минеральными кислотами, органическими растворителями.

1. Возьмите три пробирки.
2. В каждую налейте по 0,5 мл раствора белка.
3. В первую пробирку добавьте 0,5 мл 5%-ного раствора уксуснокислого свинца, во 2-ю – 0,5 мл 10%-ного раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ), в 3-ю – 0,5 мл ацетона.

Занятие № 4. «Ферментный катализ»

Цель занятия: Сформировать знания о природе, свойствах и механизмах действия ферментов.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. Ферменты: классификация и номенклатура. Строение ферментов: апофермент, кофермент, каталитический центр, аллостерический центр и их биохимическое значение.
2. Отличие ферментов от неорганических катализаторов: термолабильность, влияние рН на активность, специфичность. Особенности ферментного катализа. Чем объяснить, что в качестве биологических катализаторов природой избраны именно белки?
3. Механизм ферментного катализа. Фермент-субстратный комплекс. Каким образом ферменты снижают энергию активации химических реакций?
4. Какие вещества относят к числу коферментов? Классификация коферментов. Механизм действия коферментов. Чем отличается кофермент от простетической группы?
5. Активность ферментов. Активаторы и ингибиторы ферментов. Механизм их действия. Типы ингибирования ферментов.
6. Способы регулирования скоростей ферментативных реакций и направленности биохимических процессов. Понятие о проферментах, изоферментах, мультиферментных комплексах и их роли в метаболизме.

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Термолабильность ферментов.

1. Пронумеруйте три пробирки и налейте в них по 1 мл раствора амилазы.
2. Для получения раствора амилазы предварительно ополосните рот дистиллированной водой. Затем наберите в рот приблизительно 20-25 мл дистиллированной воды. В течение 15 секунд тщательно полощите рот. Полученный раствор амилазы соберите в стаканчик и используйте для дальнейших опытов.
3. Слюну в пробирке №1 прокипятите в течение 2-х минут в кипящей водяной бане.
4. Затем во все пробирки добавьте по 1 мл 1%-ного раствора крахмала.
5. Пробирки №1 и 2 поставьте в водяную баню (37°C) на 10 минут.
6. Пробирку №3 погрузите на 10 минут в лед.
7. По истечении указанного времени во все пробирки добавьте по 1 капле реактива Люголя или раствора йода. Результаты опыта занесите в таблицу:

№ проб.	Субстрат	Фермент	Условия инкубации	Окраска с йодом

Объясните результаты эксперимента. Что показала бы реакция с йодом в пробирке № 3, если бы Вы поместили её затем в водную баню при 37°C на 10 минут?

Опыт 2. Влияние pH среды на активность фермента.

1. Пронумеруйте три пробирки.
2. Налейте в каждую пробирку по 1 мл буферных растворов с различным значением pH (4,0; 7,0; 9,0).
3. Во все пробирки добавьте по 1 мл раствора амилазы и по 1 мл 1%-ного раствора крахмала, инкубируйте в водяной бане (37°C) 10 мин.
4. Затем в каждую пробирку добавьте по 1 капле реактива Люголя или раствора йода. Результаты наблюдений занесите в таблицу:

№ проб.	Субстрат	Фермент	pH среды	Условия инкубации	Окраска с йодом

Объясните полученные результаты и сделайте вывод относительно оптимума pH амилазы.

Опыт 3. Специфичность ферментов.

1. Пронумеруйте 4 пробирки.
2. В 1-ю и 2-ю пробирки налейте по 1 мл 1%-ного раствора крахмала, в 3-ю и 4-ю пробирки – по 1 мл 1%-ного раствора сахарозы.

3. В 1-ю и 3-ю пробирки добавьте по 1 мл разбавленной слюны, во 2-ю и 4-ю пробирки – по 1 мл раствора сахаразы.
4. Содержимое пробирок инкубируйте 10 минут в водяной бане при 37° С.
5. Затем в 1-ю и 2-ю пробирки добавьте по 1 капле реактива Люголя или раствора йода.
6. С 3-ей и 4-ой пробиркой проведите реакцию Троммера, для чего в каждую из двух пробирок добавьте по 0,5 мл 10%-ного раствор гидроксида натрия и 2 капли 2%-ного раствора сульфата меди. Нагрейте пробирки до кипения (не кипятите!).
7. Наблюдения запишите в таблицу:

№ проб.	Субстрат	Фермент	Условия инкубации	Окраска с йодом	Окраска с реакцией Троммера
					-
					-
				-	
				-	

Объясните полученные результаты и сделайте вывод относительно специфичности изученных ферментов. Какие виды специфичности вы знаете?

Опыт 4. Изучение влияния активаторов и ингибиторов на активность ферментов.

1. Пронумеруйте три пробирки.
2. В 1-ю пробирку налейте 1 мл дистиллированной воды, во 2-ю – 1 мл 1%-ного раствора хлористого натрия, в 3-ю – 1 мл 1%-ного раствора сульфата меди.
3. Во все пробирки налейте по 1 мл свежеприготовленного 1%-ного раствора крахмала и по 1 мл разбавленной слюны.
4. Содержимое пробирок инкубируйте 10 минут в водяной бане (37°С).
5. Затем во все пробирки добавьте по 1 капле реактива Люголя или раствора йода. Наблюдения занесите в таблицу:

№ проб.	Субстрат	Фермент	Добавленное вещество	Условия инкубации	Окраска с йодом

Сделайте вывод о влиянии изученных веществ на активность амилазы.

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 5. «Роль витаминов в метаболизме»

Цель занятия: изучить химические свойства некоторых витаминов, лежащих в основе их биологического действия.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Витамины: классификация и номенклатура. Гипо-, апо- и гипервитаминозы. Причины недостаточности витаминов в организме.*
2. *Коферменты, образующиеся из витаминов В₁, Н. Механизм действия ферментов карбоксилирования и декарбоксилирования.*
3. *Коферменты, образующиеся из витаминов В₂, В₅, липоевая кислота и их биохимическая роль. Механизм действия окислительно-восстановительных ферментов (оксидоредуктаз).*
4. *Коферменты, образующиеся из витаминов В₃, В₁₂, В₆, В_с и их биохимическая роль. Механизм действия ферментов трансфераз.*
5. *Биохимические функции жирорастворимых витаминов.*
6. *Витаминоподобные соединения. Межвитаминные взаимоотношения.*

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Качественная реакция на витамин А.

1. В пробирку налейте 3 капли масляного раствора витамина А.
2. Добавьте 1 каплю концентрированной серной кислоты.

Запишите и объясните полученный Вами результат. Какими клиническими признаками выражается недостаток витамина А в организме? Как это связано с его биохимическими функциями?

Опыт 2. Обнаружение каротиноидов в моркови.

1. Небольшой кусочек моркови измельчите на мелкой терке и поместите полученную массу в пробирку.
2. Добавьте 2-3 мл любого неполярного растворителя (ацетон, гексан) и содержимое перемешайте стеклянной палочкой.
3. Отметьте изменение окраски растворителя.
4. Полученный экстракт желтого цвета перелейте в две пробирки.
5. В первую добавьте 1 каплю 2%-ного раствора перманганата калия, во вторую – 1 каплю концентрированной серной кислоты.

Объясните, почему экстракт моркови имеет желтую окраску? Чем вызвано постепенное обесцвечивание раствора перманганата калия? Получили ли Вы сине-фиолетовое окрашивание экстракта с серной кислотой? Обоснуйте свой ответ.

Опыт 3. Окислительно-восстановительные свойства рибофлавина.

1. К 0,5 мл 0,025%-ного раствора рибофлавина добавьте 5 капель концентрированной соляной кислоты и кусочек металлического цинка. Под влиянием выделяющегося водорода окраска раствора постепенно розовеет, затем обесцвечивается.
2. Бесцветный раствор перелейте в другую пробирку и через некоторое время наблюдайте вновь появление желтого окрашивания.

Объясните наблюдаемые явления. Как данные процессы связаны с биохимическими функциями витамина В₂?

	Сок	Сок нагретый до 100°C	Молоко	Молоко нагретое до 100°C	Настой шипов- ника	Настой шипов- ника, нагретый до 100°C
V 2,6-ДХФИФ пошедшего на титрование						
Концентрация витамина С на 10 мл продукта						

5. Массу аскорбиновой кислоты (г) в объеме сока (10 мл), взятого для титрования, рассчитывают по формуле:

$$c \text{ (аскорбиновой кислоты)} = \frac{N_{\text{ДХФИФ}} \cdot V_{\text{ДХФИФ}} \cdot 88}{1000}$$

$V_{\text{ДХФИФ}}$ – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, пошедший на титрование пробы сока;

$N_{\text{ДХФИФ}}$ – нормальность рабочего раствора 2,6-дихлорфено-линдофенолята натрия (0,001н);

88 – масса эквивалента аскорбиновой кислоты.

Концентрацию витамина С в исследуемом соке (мг/100мл) рассчитывают по формуле:

$$\text{Концентрация витамина С} = \frac{100 \cdot C \text{ аскорбиновой кислоты} \cdot 1000}{V \text{ сока}}$$

$V_{\text{сока}}$ – объем пробы сока, взятый на титрование;

C аскорбиновой кислоты – масса аскорбиновой кислоты в пробе сока, взятого на титрование.

Сделайте выводы, при каких условиях витамин С сохраняется в наибольшей степени. Из чего синтезируется в организме животных витамин С? Какова биологическая роль витамина С в организме?

Задание 1. Заполните таблицу, обобщающую сведения об основных коферментах.

Название кофермента	Витамин-предшественник	Биохимическая роль кофермента в катализе
1. НАД ⁺ , НАДФ ⁺		
2. ФМН, ФАД ⁺		
3. ТПФ		
4. Биоцеталь		
5. Ко-А		
6. ПФ		
7. ТГФК		

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 6. «Гормональная регуляция обмена веществ»

Цель занятия: сформировать знания о роли гормонов в регуляции метаболизма и биологических процессов в организме. Освоить качественную реакцию определения адреналина, инсулина.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

- 1. Гормоны. Строение и классификация.*
- 2. Механизм действия липофильных гормонов.*
- 3. Механизм действия гидрофильных гормонов.*
- 4. Гормоны поджелудочной железы и их биологическая роль.*
- 5. Гормоны щитовидной железы и их биологическая роль.*
- 6. Гормоны надпочечников и их биологическая роль.*
- 7. Половые гормоны и их биологическая роль.*

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Влияние физической нагрузки на содержание глюкозы в крови.

Концентрация глюкозы в крови контролируется центральной нервной системой и железами внутренней секреции. Поэтому в здоровом организме возможны лишь кратковременные колебания уровня глюкозы в крови. Так, гипергликемия наблюдается при сильном эмоциональном возбуждении (испуг, радость, страх, плач и т.д.), стрессовых реакциях, болевых приступах. Умеренная гипергликемия возникает после физической нагрузки.

1. У испытуемого (добровольца) возьмите из пальца 0,1 мл крови.
2. Определите количество глюкозы в крови при помощи тест-полосок.
3. Затем он выполняет физические упражнения (например, 50-60 приседаний), и через 15-20 минут у него снова возьмите 0,1 мл крови из пальца для анализа.

Сравните полученные результаты до и после физической нагрузки. Объясните причину изменения уровня глюкозы после физической нагрузки.

Опыт 2. Качественная реакция на адреналин.

1. В пробирку налейте 0,5 мл 0,1%-ного раствора адреналина и добавьте 1 каплю 1%-ного раствора $FeCl_3$. Наблюдайте за появлением характерного окрашивания.
2. Добавьте 1 каплю концентрированного раствора аммиака. Наблюдайте за изменением окрашивания.

Какие биохимические процессы в организме запускает адреналин?

Опыт 3. Качественные реакции инсулина поджелудочной железы.

Биуретовая реакция: в пробирку поместите 0,5 мл раствора инсулина. Добавьте равный объем 10%-ного раствора гидроксида натрия, а затем 2-3 капли 2%-ного раствора сульфата меди (II). Красно-фиолетовое окрашивание свидетельствует о положительной реакции.

Ксантопротеиновая реакция: в пробирку поместите 0,5 мл раствора инсулина. Добавьте 3 капли концентрированной азотной кислоты и нагрейте на водяной бане. Желтое окрашивание свидетельствует о положительной реакции.

Реакция Фоя: в пробирку налейте 1 мл раствора инсулина. Добавьте равный объем раствора гидроксида натрия, нагрейте до кипения и прибавьте 1-2 капли 0,5%-ного раствора ацетата свинца. Потемнение раствора свидетельствует о положительной реакции.

На основании полученных результатов сделайте вывод о строении инсулина. На какие биохимические процессы и как влияет инсулин?

Задание 1. Заполните таблицу, обобщающую сведения о влиянии гормонов на обмен углеводов.

Название гормона	Место синтеза гормона	Химическая природа гормона	Ткани-мишени	Влияние на процессы обмена углеводов	Влияние на концентрацию глюкозы в крови
Инсулин					
Адреналин					
Глюкагон					
Кортизол					

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 7. Коллоквиум I: «Уровни организации биогенных соединений. Ферменты. Витамины. Гормоны»

Цель занятия: осуществить рубежный контроль знаний.

ВОПРОСЫ К КОЛЛОКВИУМУ:

1. Охарактеризуйте наиболее важные биологические функции воды. Как эти функции связаны со строением молекулы воды?
2. Что такое pH растворов? Раскройте значение этого показателя для живых организмов.
3. Механизм действия буферных растворов.
4. Элементы-органогены. Влияние органогенов на свойства биогенных соединений. Основные виды атомных группировок в составе биогенных соединений.
5. Биохимические функции минеральных субстратов. Макро- и микроэлементы.
6. Биологические функции и особенности строения природных аминокислот.
7. Биологические функции и роль пептидов.
8. Уровни организации белковых молекул. Механизм денатурации и ренатурации.
9. Изоэлектрическая точка и изоэлектрическое состояние аминокислот и белков. Физико-химические свойства аминокислот и белков.
10. Денатурация: механизм и факторы ее вызывающие.
11. Общие и отличительные свойства неорганического катализатора и фермента.
12. Чем обусловлена специфичность ферментов? Виды специфичности.
13. Методы определения и способы выражения активности ферментов.
14. Клиническое значение определения активности ферментов в биологических жидкостях.
15. Строение ферментов. Ферменты простые и сложные. Биологическое значение апофермента и кофермента.
16. Механизм ферментного катализа.
17. Биологические функции активного и аллостерического центров фермента.
18. Активаторы и ингибиторы ферментов, их биологическая роль.
19. Способы регулирования активности ферментов.
20. Мультиферментные комплексы, проферменты, изоферменты и их биохимическое значение.
21. Классификация и номенклатура ферментов.
22. Витамины – как предшественники коферментов.
23. Витамины группы В и их биохимические функции.
24. Строение и биохимические функции витамина А.
25. Строение и биохимические функции витамина Д.

- 26.Строение и биохимические функции витамина Е.
- 27.Строение и биохимические функции витамина К.
- 28.Витаминоподобные соединения. Межвитаминовые взаимоотношения. Антивитамины.
- 29.Роль гормонов в регуляции метаболизма. Классификация гормонов по химическому строению и биологическим функциям.
- 30.Строение, механизм синтеза и биологическая роль эйкозаноидов.
- 31.Биохимическая роль вторичных мессенджеров при передаче гормонального сигнала.
- 32.Механизм действия и передачи сигнала гормонов стероидной природы.
- 33.Механизм действия и передачи сигнала гормонов аминокислотной и белковой природы.
- 34.Сравните действие на клетки гормонов липофильных и гидрофильных.

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 8. «Обмен веществ и энергии»

Цель занятия: сформировать знания об основах биоэнергетики клетки, представление о макроэргах тканей (АТФ, креатинфосфат). Систематизировать знания об общих путях катаболизма в организме как основных источниках энергии для синтеза АТФ. Сформировать представление о роли кислорода в окислительных процессах.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Общая характеристика обмена веществ и энергии. Катаболизм и анаболизм. Сопряжение экзергонических и эндергонических реакций.*
2. *Высокоэнергетические биомолекулы и радикалы. Главные структурные особенности высокоэнергетических фосфатов: пирофосфат, АТФ, фосфоэфир. Почему именно АТФ выбрана природой в качестве формы сохранения химической энергии в клетке?*
3. *Пути синтеза и расходования АТФ в организме животных.*
4. *Цепь переноса электронов (ЦПЭ). Строение: местоположение цепи; строение переносчиков электронов; расположение переносчиков электронов в цепи; факторы, влияющие на определенную направленность движения электронов по дыхательной цепи; назовите подвижные звенья дыхательной цепи.*
5. *Механизм синтеза АТФ АТФ-синтазой. Баланс между синтезом АТФ и транспортом электронов. От чего зависит коэффициент фосфорилирования (P/O)?*
6. *Разобщение окислительного фосфорилирования. Факторы, вызывающие разобщение окисления с фосфорилированием. Биологическое значение этого процесса.*

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Сопоставление окислительно-восстановительных потенциалов рибофлавина.

1. В пробирку с 0,5 мл воды добавьте 3 капли взвеси рибофлавина (0,025% раствор) и по каплям 0,01% раствор метиленового синего до появления синего или сине-зеленого окрашивания.
2. Внесите в пробирку кусочек цинка и 2-3 капли концентрированной HCl. Отметьте постепенное изменение окраски.
3. Бледно-желтую жидкость слейте в широкую пробирку. Оцените цвет жидкости в пробирке через 10-15 минут.

Объясните наблюдаемые явления.

Опыт 2. Открытие альдегиддегидрогеназы в молоке.

1. Налейте в две пробирки по 3 мл молока из пронумерованных колбочек. В одной из них молоко кипяченое, в другой – нет.
2. В обе пробирки внесите по 6 капель 0,4%-ного раствора формальдегида и несколько капель 0,01%-ного раствора метиленовой сини (до появления голубого окрашивания).
3. Пробирки встряхните и быстро закройте пробками для того, чтобы создать относительно анаэробные условия.
4. Поместите пробирки в водяную баню (37°C) и отметьте постепенное обесцвечивание метиленовой сини через 5-10 минут в одной из пробирок.
5. После обесцвечивания содержимое пробирки несколько раз встряхните и наблюдайте за изменением цвета.

Определите, в какой колбочке содержалось некипяченое молоко? Объясните, почему Вы сделали такой вывод? Почему после встряхивания обесцвеченной пробирки произошло изменение цвета?

Занятие № 9. «Цикл трикарбоновых кислот»

Цель занятия: изучить механизм некоторых реакций цикла Кребса. Освоить метод количественного определения пировиноградной кислоты в моче.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Окислительное декарбоксилирование пирувата как предварительный этап цикла лимонной кислоты. Перечислите витамины и коферменты, задействованные в этом процессе.*
2. *Реакции цикла лимонной кислоты. Что определяет общее направление реакций в цикле? В какой части клетки протекает этот процесс? Почему?*
3. *Какие коферменты и витамины участвуют в цикле Кребса? Объясните, как они работают, с указанием конкретных реакций.*
4. *Расскажите о реакциях цикла Кребса, в результате которых образуются НАДН₂ и ФАДН₂. Какова дальнейшая судьба этих соединений?*
5. *Функции цикла трикарбоновых кислот. Объясните, какое значение для цикла лимонной кислоты имеет анаэробная реакция?*
6. *Энергетический выход цикла трикарбоновых кислот. Сколько молекул АТФ образуется в ходе оборота через цикл одной молекулы лимонной кислоты? Все ли молекулы АТФ, образующиеся при полном окислении активного ацетила, синтезируются путем окислительного фосфорилирования. Как регулируется скорость цикла?*

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Определение концентрации пировиноградной кислоты (ПВК) в моче или сыворотке крови.

1. В две пробирки внесите реактивы согласно следующей таблице:

Раствор	Опытная проба, мл	Контрольная проба, мл
Исследуемый образец	2	-
Дистиллированная вода	-	2
2,4-динитрофенилгидразин	0,8	0,8

2. Содержимое пробирок на 15 мин поместите в темное место при комнатной температуре.
3. В каждую пробирку внесите по 1 мл 10%-го раствора NaOH и через пять минут измерьте оптическую плотность при длине волны 620 нм опытной пробы против контрольной и калибровочной пробы против контрольной.
4. Расчет проведите по готовому калибровочному графику.

Опыт 2. Определение активности сукцинатдегидрогеназы мышц.

1. Взвесьте 1 г мышечной ткани.
2. Поместите ткань в ступку, тщательно разотрите со стеклянным песком, добавляя 3-4 мл раствора 5%-ной янтарной кислоты.
3. Полученный гомогенат перенесите поровну в 2 пробирки.
4. Содержимое одной пробирки кипятите в водяной бане в течение 3-5 минут.
5. Затем в обе пробирки добавьте по 1 капле раствора метиленовой сини, перемешайте и залейте поверхность жидкости 0,5 мл растительного масла для изоляции от кислорода воздуха. Обе пробирки инкубируйте в водяной бане (40°C) в течение 10 минут.

Дайте объяснение наблюдаемым явлениям. Какова функция метиленовой сини в данном эксперименте? На какое соединение эта функция возлагается в живой клетке?

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 10. «Обмен углеводов»

Цель занятия: рассмотреть факторы, влияющие на переваривание углеводов; освоить метод количественного определения глюкозы в крови.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Переваривание углеводов в желудочно-кишечном тракте у моно- и полигастричных животных. Ферменты, участвующие в переваривании углеводов. Нарушения переваривания углеводов. Пути включения летучих жирных кислот (ЛЖК) в метаболизм.*
2. *Метаболизм глюкозо-6-фосфата. Регуляция содержания глюкозы в крови. Биологическая значимость данного явления.*
3. *Синтез гликогена: последовательность стадий и биологическое значение процесса.*

4. Гликолиз. Последовательность химических реакций и их роль в организме. Гликогенолиз.
5. Глюконеогенез. Последовательность химических реакций и их роль в организме. Биологическая роль данного процесса.
6. Пентозный путь окисления углеводов. Охарактеризуйте стадии данного процесса. Укажите биологическое значение каждой стадии.

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Воздействие формальдегида на активность амилазы.

1. Возьмите две пробирки.
2. В опытную пробирку налейте по 1 мл растворов крахмала, амилазы и 5%-ного формальдегида.
3. В контрольную пробирку налейте по 1 мл раствора крахмала, амилазы и воды.
4. Поместите пробирки на 20 минут в водяную баню при 30°C.
5. В обе пробирки добавьте по 1 капле 1%-ного раствора йода.

Объясните полученные результаты. Где на практике животные могут столкнуться с формальдегидом?

Опыт 2. Определение концентрации глюкозы в биологических жидкостях.

Для определения глюкозы в биологических жидкостях в настоящее время различными фирмами выпускаются наборы реактивов. Поэтому суть работы сводится только к правильному использованию набора реактивов согласно инструкции по применению.

Определение без депротенинирования.

Без осаждения белков анализируют сыворотку и плазму крови, мочу. Мочу перед анализом разбавляют дистиллированной водой в соотношении от 1:10 до 1:500 и в последующем результат умножают на степень разведения.

1. Приготовьте опытную, калибровочную и контрольную пробы по схеме:

	Объем компонента (мл)		
	опытная проба	калибровочная проба	контрольная проба
Рабочий раствор реактивов	2,5	2,5	2,5

Исследуемый образец	0,025	–	–
Калибровочный раствор глюкозы	–	0,025	–
Дистиллированная вода	–	–	0,025

- Поместите пробирки в водяную баню (37°C) на 10 минут.
- Измерьте оптическую плотность опытной (D_1) и калибровочной (D_2) проб против контрольной пробы при длине волны 540 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 5 мм.
- Рассчитайте концентрацию глюкозы по формуле:

$$\text{Концентрация глюкозы} = \frac{D_1}{D_2} \cdot X_{\text{ммол/л}}$$

где X – концентрация глюкозы в калибровочном растворе.

Сравните полученные величины с нормальными значениями. Сделайте вывод о состоянии животного. В случае отклонения полученных значений от нормальных величин, предложите возможные причины, объясняющие данный результат.

Назовите факторы, вызывающие гипогликемию и гипергликемию в крови животных.

Опыт 3. Выделение гликогена из тканей животных и качественные реакции на гликоген.

- Взвесьте 1 г печени.
- Поместите навеску ткани в ступку. Налейте 3 мл 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты и разотрите пестиком в течение 10 минут.
- Затем добавьте 5 мл дистиллированной воды.
- Полученную суспензию фильтруйте в другую пробирку.
- Повторите пункт 2-5 с мышечной тканью.

б. С полученными фильтратами проведите нижеследующие реакции:

	Сульфат аммония (насыщ.) 10 капель	Ацетат свинца 10 капель	раствор Люголя 1 капля
Экстракт печени (0,5 мл)			
Экстракт мышечной ткани (0,5 мл)			

Объясните полученные результаты. Как Вы думаете, в эксперименте использовалась печень сытого или голодного животного? Обоснуйте свое предположение. Почему гликоген мышц не может быть использован в качестве прямого источника глюкозы крови?

Опыт 4. Обнаружение активности дегидрогеназы 3-фосфоглицеринового альдегида.

1. В пробирку внесите кусочек дрожжей (величиной с горошину) и 1 мл 2%-ного раствора глюкозы.
2. Разотрите содержимое стеклянной палочкой до получения равномерной взвеси.
3. Добавьте каплю 0,002%-ного раствора метиленового синего и перемешайте содержимое пробирки стеклянной палочкой.
4. Пробирку поместите в штатив и, через некоторое время, наблюдайте постепенное обесцвечивание метиленового синего. Обесцвечивание начинается со дна пробирки.

Объясните механизм обесцвечивания содержимого пробирок.

Напишите реакцию окисления 3-фосфоглицеринового альдегида в ходе гликолиза. Каким образом окисляется НАДН+Н⁺ дегидрогеназы 3-фосфоглицеринового альдегида в анаэробных условиях?

Опыт 5. Обнаружение молочной кислоты в мышечном экстракте.

1. Взвесьте 5 г мышечной ткани и измельчите ножницами.
2. Разотрите мышечную ткань в ступке с небольшим количеством воды (10 мл).
3. Полученную взвесь оставьте на 10 минут.
4. Профильтруйте полученную массу через бумажный фильтр.
5. Добавьте 3 мл 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ).
6. Отфильтруйте полученный осадок.
7. Нижнюю часть пробирки заполните реактивом Уффельманна (3 мл 2%-ного раствора фенола + 2 капли 2%-ного хлорного железа до появления фиолетовой окраски).
8. Затем в пробирку добавьте по каплям (приблизительно 15 капель) фильтрата мышечной ткани, свободного от белков. В присутствии молочной кислоты фиолетовая окраска изменяется на желто-зеленую.
9. Для сравнения проведите реакцию Уффельманна с раствором молочной кислоты и наблюдайте появление желто-зеленого окрашивания.

Приведите возможные причины образования молочной кислоты в мышце животных. Может ли повлиять повышенный уровень молочной кислоты на здоровье животных и качество животноводческой продукции? Обоснуйте свою точку зрения.

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 11. «Обмен липидов»

Цель занятия: сформировать знания о строении, функции и метаболизме липидов. Освоить методику определения общих липидов в сыворотке крови.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Переваривание липидов в желудочно-кишечном тракте и их всасывание. Ресинтез триацилглицеролов в клетках слизистой оболочки кишечника.*
2. *Транспорт жиров в организме.*
3. *Биохимический механизм окисления жирных кислот.*
4. *Обмен кетонových тел: образование, биохимическое назначение. Какие факторы предрасполагают к появлению кетозов у животных?*
5. *Биохимический механизм синтеза жирных кислот.*
6. *Биосинтез триацилглицеролов.*

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Влияние желчи на активность липазы.

1. Возьмите две пробирки.
2. В обе пробирки внесите по 1 мл молока и по 1 капле раствора фенолфталеина.
3. В каждую пробирку добавьте по каплям раствор гидроксида натрия до слабо-розовой окраски по фенолфталеину.
4. В каждую пробирку внесите по 2 капли вытяжки липазы, а в пробирку 1, кроме того, и каплю желчи.
5. Пробирки поместите в водяную баню при 37°C и отметьте время обесцвечивания фенолфталеина в опыте с желчью и без нее.

Объясните наблюдаемые явления. Где и из чего синтезируются в организме желчные кислоты? Какую роль желчные кислоты играют в переваривании и всасывании липидов?

Опыт 2. Определение содержания β - и пре- β -липопротеинов в сыворотке крови.

1. В пробирку налейте 2 мл 0,025 М хлористого кальция и добавьте 0,2 мл сыворотки крови.
2. Измерьте оптическую плотность пробы (D_1) на ФЭК-е при длине волны 630-690 нм (красный светофильтр) в кювете с толщиной слоя 0,5 см против дистиллированной воды. Запишите значение оптической плотности D_1 .
3. Затем в кювету добавьте 0,04 мл 1%-го раствора гепарина (1000ЕД в 1 мл), тщательно перемешайте тонкой (!) стеклянной палочкой и точно через 4 мин вновь измерьте оптическую плотность D_2 .

Разница значений ($D_2 - D_1$) соответствует оптической плотности, обусловленной осадком β -липопротеинов.

Рассчитайте содержание β - и пре- β -липопротеинов по формуле:

$$\text{Содержание липопротеинов, г/л} = (D_2 - D_1) \times 12,$$

где 12 – коэффициент для перевода в г/л.

Укажите место биосинтеза β -липопротеинов. Какую функцию они выполняют в организме человека и животных? Сравните полученное Вами значение с нормальными величинами. В каких случаях наблюдаются отклонения от нормальных величин?

Опыт 3. Экспресс метод определения кетоновых тел в моче, молоке, сыворотке крови (проба Лестраде).

1. На фильтровальную бумагу на кончике скальпеля поместите небольшое количество (0,1-0,2 г) порошка реактивов.
2. Несколько капель мочи или молока или сыворотки крови на порошок реактивов.
3. Результаты теста оцените через 5 минут.

Минимальный уровень кетоновых тел в крови, дающий положительную реакцию,

равен 10 мг/100 мл (10 мг%). Скорость развития окраски и ее интенсивность пропорциональны концентрации кетоновых тел в исследуемой пробе: если фиолетовое окрашивание возникает немедленно - содержание 50-80 мг% и более; если оно появляется через 1 минуту - в пробе содержится 30-50 мг%; развитие слабой окраски через 3 минуты свидетельствует о присутствии 10-30 мг% кетоновых тел.

Следует помнить, что тест более чем в 3 раза чувствительнее при определении ацетоуксусной кислоты, чем ацетона. Из всех кетоновых тел в сыворотке крови человека ацетоуксусная кислота является преобладающей, однако в крови здоровых коров 70-90% кетоновых тел составляет β -оксималяная кислота, в молоке на ее долю приходится 87-92%.

Сделайте вывод по результатам Вашего исследования. Объясните, чем опасно избыточное образование кетоновых тел в организме человека и животных?

Опыт 4. Определения видовой принадлежности жира по температуре плавления жира.

1. Исследуемый жир поместите в фарфоровую чашку, вытопите его на горелке и наберите в прозрачные стеклянные капилляры диаметром 1,5 мм. Высота столбика жира должна быть 5-7 мм.
2. Капилляры с жиром поместите в холодильник на 1-2 часа.
3. После охлаждения капилляр с жиром при помощи резинки закрепите на термометре таким образом, чтобы столбик жира был на одном уровне с головкой термометра.
4. Термометр вместе с капилляром закрепляют на штативе и опускают в прозрачный химический стакан, наполненный водой и стоящий на электрической плитке, таким образом, чтобы верхняя часть капилляра была выше поверхности воды.
5. Начинайте нагревать воду, помешивая ее стеклянной палочкой. Нагревание продолжайте до тех пор, пока столбик жира не станет прозрачным и под давлением воды станет подниматься вверх по капилляру. В этом момент снимают показатель термометра.
6. Измерение повторите пять раз и найдите среднее арифметическое.

Полученный результат считают температурой плавления исследуемого жира. Данные о температуре плавления жира приведены в таблице.

Вид животного	Температура плавления жира животных разных видов	
	Т°С плавления наружного жира	Т°С плавления внутреннего жира
Крупный рогатый скот	48	49,5
Лошадь	28,5	31,5
Мелкий рогатый скот	49,5	54
Собака	23	27
Свинья	37,5	45,5
Олень	48,5	52
Кролик	26	22
Кошка	39	42
Нутрия	36	37
Гусь	29	34
Курица	33	40

На основании полученных результатов сделайте вывод.

Задание 1. Заполните таблицу «Метаболизм жирных кислот»:

Процессы	β -окисление жирных кислот	Биосинтез жирных кислот
Локализация процесса		
Переносчик субстрата через митохондриальную мембрану		
Коферменты окислительно- восстановительных реакций		
Источник присоединяемого фрагмента или отщепляемый фрагмент		
Регуляторные ферменты		
Регуляторные факторы: Активаторы Ингибиторы		

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 12. «Липиды и биологические свойства клеточных мембран»

Цель занятия: рассмотреть вопросы строения и целостности клеточных мембран и роли липидов в этих процессах.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Строение и функции мембран.*
2. *Механизмы переноса веществ через мембраны.*
3. *Строение и биологическая роль фосфолипидов. Обмен фосфолипидов: распад, биосинтез.*
4. *Строение и основные этапы биосинтеза холестерина. Биологическая роль холестерина.*
5. *Строение, место синтеза и биохимическая роль биологически активных производных холестерина.*
6. *Перекисное окисление липидов. Его роль в образовании поврежденных клеток, органелл и молекул. Антиоксидантные системы клеток.*

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Искусственные полупроницаемые мембраны.

1. Для приготовления раствора силикатного клея налейте в пробирку 1 мл клея и 3 мл воды. Тщательно перемешайте содержимое стеклянной палочкой.
2. В пробирку бросьте кристаллики безводного хлористого кобальта или хлористой меди и хорошо встряхните (не перемешивать!), для того, чтобы кристаллы опустились на дно пробирки.

Объясните причину наблюдаемого роста дендроидных образований.

Опыт 2. Количественное определение концентрации общего холестерина в сыворотке крови по методу Ильяка.

1. В три пробирки внесите реактивы согласно следующей таблице:

Раствор	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл	Контрольная проба, мл
Исследуемый образец	0,025	-	-
Калибровочный раствор холестерина	-	0,025	-
Дистиллированная вода	-	-	0,025
Рабочий реактив	2,5	2,5	2,5

2. Содержимое пробирок перемешайте и на 5 минут поместите в термостат при температуре 37°C.
3. Измерьте оптическую плотность при длине волны 500-550 нм опытной пробы против контрольной (D_1) и калибровочной пробы против контрольной (D_2).
4. Расчет ведут по следующей формуле:

$$C = \frac{D_1}{D_2} \cdot X_{\text{ммоль/л}}$$

где С – концентрация холестерина;

X - содержание холестерина в калибровочном растворе, ммоль/л

Сравните полученное значение с физиологическими нормами и сделайте вывод.

Опыт 3. Определение гидропероксидов жирных кислот.

1. В пробирки поместите по 0,5 мл образцов биоматериала.
2. Добавьте по 0,5 мл 2М раствора HCl, 0,5%-ного раствора соли Мора и 0,1 М раствора аммоний роданида.
3. При наличии гидропероксидов раствор окрашивается в красный цвет.
4. Запишите и объясните полученные Вами результаты.

	Масло кукурузное	Масло подсолнечное	Масло оливковое	Масло сливочное	Масло
Результат реакции					

Опыт 4. Действие каталазы крови.

1. В пробирку налейте 1 мл дистиллированной воды. Добавьте 3 капли крови и 1 каплю 3%-ного раствора перекиси водорода.
2. В другую пробирку налейте 2-3 мл свежего молока. Добавьте 2 мл перекиси водорода.
3. В третью пробирку поместите 0,3-0,5 г печени. Добавьте 5 мл дистиллированной воды. Перемешайте содержимое. Добавьте перекись водорода.

Объясните наблюдаемые явления. Почему каталаза широко распространена и содержится в большем или меньшем количестве во всех тканях и жидкостях организма?

Опыт 5. Восстанавливающая способность витамина С.

1. В пробирку налейте 5 мл свежеприготовленного 0,01%-ного раствора витамина С.
2. Добавьте 0,5 мл 0,02%-ного раствора метиленовой сини.
3. Содержимое пробирки энергично встряхивайте при сильном освещении (или осуществите аэрацию при помощи пипетки).
4. Через 2-3 минуты раствор становится бесцветным.

Объясните результаты опыта. Какова биохимическая роль витамина С? Каким образом клетки животных используют восстанавливающую способность витамина С?

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 13. «Белковый обмен»

Цель занятия: изучить методы количественного определения белков; освоить расчетные методы определения биологической ценности белков.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Переваривание белков. Протеазы пищеварительного тракта, механизм их активации.*
2. *Дайте определение понятию «азотистый обмен» и расскажите, как определяется азотистый обмен. Чем вызваны различия в питательной ценности большинства белков растительной природы с одной стороны и животного происхождения с другой?*
3. *Механизм реакций трансаминирования. Биологическая роль данного процесса.*
4. *Пути декарбоксилирования аминокислот. Биологическое значение конечных продуктов этих реакций.*
5. *Дезаминирование аминокислот. Биологическое значение конечных продуктов этих реакций.*
6. *Роль ароматических аминокислот в метаболизме.*

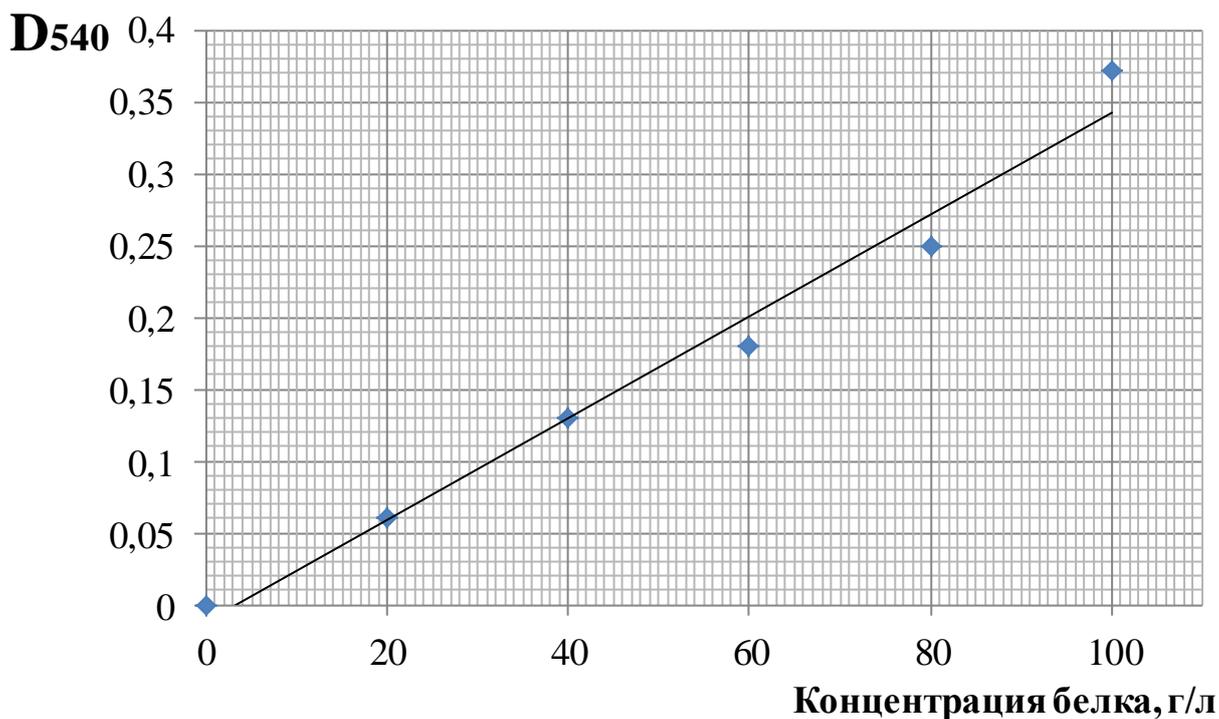
Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Количественное определение общего белка в сыворотке крови.

1. 0,1 мл сыворотки крови внесите в пробирку, содержащую 2,4 мл 0,85% раствора хлористого натрия.
2. Прибавьте 2,5 мл биуретового реактива.
3. Перемешайте, термостатируйте 30 мин при 37°C.
4. Измерьте оптическую плотность раствора в кювете с длиной оптического пути 1 см при 540 нм. Кюветой сравнения является биуретовый раствор.

Концентрацию общего белка определите по калибровочному графику.



Сравните полученные значения с нормальными величинами. О чем свидетельствует снижение (повышение) уровня белка в сыворотке крови у животных? К каким последствиям может привести недостаточность альбумина в крови?

Опыт 2. Белки как противоядие от ионов тяжелых металлов.

1. В опытную пробирку налейте по 1 мл раствора амилазы, 1%-ного раствора крахмала, 1%-ного раствора ацетата свинца (II) и молока.
2. В контрольную пробирку налейте по 1 мл растворов амилазы, крахмала, ацетата свинца (II) и воды.
3. Пробирки встряхните и выдержите 10 минут при температуре 37°C.
4. Добавьте в обе пробирки по 1 капле 1%-ного раствора йода.

Объясните полученные результаты.

Расчетные методы определения биологической ценности белка.

Продукция животноводства в целом, в первую очередь, представляет ценность как источник белка в рационе человека. Основным фактором, определяющим биологическую ценность белков пищи, является их аминокрамма, т.е. количественное соотношение содержащихся в белке аминокислот, в первую очередь восьми незаменимых для человека – ***лизина, лейцина, изолейцина, метионина, триптофана, фенилаланина, валина и треонина.***

Один из способов определения биологической ценности (БЦ) белков пищи основан на ***коэффициенте различия аминокислотного сора (КРАС, %)***. Он показывает среднюю величину избытка аминокислотного сора незаменимых аминокислот по сравнению с наименьшим уровнем сора какой-либо незаменимой аминокислоты. Аминокислотный сора определяют по формуле:

$$C_i = \frac{AK_{i\text{продукт}}}{AK_{i\text{эталон}}} \cdot 100\%$$

где C_i – аминокислотный сора i -ой незаменимой аминокислоты белка, %;

$AK_{i\text{продукта}}$ – содержание незаменимой аминокислоты в белке продукта, мг/1г белка;

$AK_{i\text{эталон}}$ - содержание незаменимой аминокислоты в эталонном белке, мг/1 г белка.

На базе данных, полученных рядом исследователей в ходе обменных опытов, международной организацией ФАО/ВОЗ (ФАО - продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН; ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения) был предложен эталон содержания незаменимых аминокислот в пищевом белке.

Лимитирующей биологическую ценность аминокислотой считается та, сора которой наименьший.

Коэффициент различия аминокислотного сора (КРАС) рассчитывается по формуле:

$$КРАС = \frac{\sum \Delta PАС}{n}$$

где $\Delta PАС$ – различие аминокислотного сора аминокислоты, который рассчитывается по формуле:

$$\Delta PAC = C_i - C_{min}$$

где C_i – избыток сора i -ой незаменимой аминокислоты, %,

C_{min} – минимальный из скоров незаменимой аминокислоты исследуемого белка по отношению к эталону, %,

n - количество незаменимых аминокислот.

Величина биологической ценности (%) определяется по формуле:

$$БЦ = 100 - КРАС$$

Чем меньше величина КРАС, тем выше качество белка.

Содержание незаменимых (для человека) аминокислот в некоторых видах продуктов, г на 100 г белка

Продукты	Аминокислоты									
	Вал	Иле	Лей	Лиз	Мет	Цис	Тре	Три	Фен	Тир
Говядина	10,35	7,82	14,78	15,89	4,45	2,59	8,03	2,1	7,95	6,58
Свинина мясная	8,31	7,08	10,74	12,39	3,42	1,83	6,54	1,91	5,8	5,2
Баранина	8,2	7,54	11,16	12,35	3,56	2,05	6,88	1,98	6,11	5,24
Конина	9,96	7,99	14,94	17,39	4,73	3,01	9,23	2,82	8,57	6,87
Верблюжати́на	10,57	7,52	14,43	18,49	4,98	-	7,32	2,6	7,11	5,8
Куряти́на	4,9	5,3	7,2	8,8	2,6	1,6	4,3	1,2	3,9	3,5
Мясо кроликов	10,64	8,67	17,34	21,99	4,99	2,59	9,13	3,27	5,12	4,64
Мясо ягнят	8,25	8,52	13,66	16,09	4,0	2,03	7,78	2,53	7,03	6,04
Мясо поросят	9,1	9,8	9,9	22,3	4,4	-	7,83	4,0	18,1	17,1
Телятина	11,56	9,98	14,84	16,83	4,14	2,36	8,55	2,45	7,91	6,89
Мозги говяжьи	6,02	5,46	9,7	8,41	2,32	2,45	5,4	1,64	5,69	3,75
Печень говяжья	12,47	9,26	15,94	14,33	4,38	3,18	8,12	2,38	9,28	7,31
Почки говяжьи	8,57	7,14	12,4	11,54	3,26	2,89	6,38	2,14	6,77	4,34
Сердце говяжье	9,11	8,38	14,08	13,59	3,83	2,68	7,4	2,22	6,76	4,96
Рубец говяжий	3,8	3,4	6,0	5,0	1,6	-	3,3	1,0	3,4	-
Колбаса вареная докторская	6,72	5,47	9,13	9,45	3,51	1,87	5,29	1,51	5,08	3,73
Сосиски молочные	6,3	5,67	7,57	8,39	1,11	1,58	3,57	2,03	3,69	3,19
Колбаса сырокопченая сервелат	13,33	10,95	18,3	20,2	7,43	2,86	10,2	3,67	9,53	8,7
Яйцо куриное целое	6,0	4,7	8,5	7,1	3,3	-	4,8	1,6	5,1	-
Желатин пищевой	2,0	1,3	2,7	4,3	0,1	-	1,4	0,1	1,7	-
Рис	6,5	4,5	8,2	3,7	2,5	2,1	4,0	1,3	4,8	6,5
Фасоль	4,8	5,8	5,2	1,5	1,0	3,8	1,4	1,4	2,4	2,1
Кукуруза	4,2	3,6	11,5	2,7	1,8	1,4	3,4	0,5	4,3	3,6
Пшеничная мука	4,6	3,9	6,9	3,0	1,6	1,9	3,5	1,3	4,8	2,1
Гречиха	5,2	4,0	6,0	6,1	1,6	1,2	3,5	1,0	3,3	2,0
Просо	4,5	3,1	7,3	2,9	1,3	3,2	2,5	1,6	3,5	1,4

Рассчитайте биологическую ценность нескольких видов продуктов питания.

	Незаменимая аминокислота	Эталон ФАО/ВОЗ	Белок			Белок			Белок		
			АК	C _i	ΔРАС	АК	C _i	ΔРАС	АК	C _i	ΔРАС
1	Изолейцин	4,0									
2	Лейцин	7,0									
3	Лизин	5,5									
4	Фенилаланин+тирозин	6,0									
5	Метионин+цистеин	3,5									
6	Треонин	4,0									
7	Триптофан	1,0									
8	Валин	5,0									
	ΣΔРАС										
	КРАС										
	БЦ										

Примечание:

* - первая лимитирующая аминокислота;

АК – содержание аминокислоты в 100 г белка;

C_i – аминокислотный скор, %;

ΔРАС – различие аминокислотного сора%;

БЦ – биологическая ценность, %

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 14. «Биохимическая детоксикация»

Цель занятия: изучить пути обезвреживания токсичных соединений.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. Пути образования и обезвреживания аммиака. Чем отличаются уреотеллические, урикотеллические и аммонителлические животные? Чем объяснить возникновение разных путей выведения аммиака из организма птиц, млекопитающих и рыб?
2. Цикл образования мочевины. Пути образования орнитина и аспарагиновой кислоты для обеспечения орнитинового цикла.
3. В каких органах происходит образование мочевины? Дальнейшие пути ее транспортировки у различных животных. На чем основано кормовое использование мочевины? Ее превращение в пищеварительном тракте.
4. Окисление пуриновых и пиримидиновых соединений. Назовите конечные продукты пуринового обмена у разных животных.
5. Биохимические механизмы образования и обезвреживания скатола и индола.
6. Пути образования и обезвреживания желчных пигментов.

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Определение концентрации мочевины в биологических жидкостях.

1. В три пробирки внесите реактивы согласно следующей таблице:

Раствор	Опытная проба, мл	Калибровочная проба, мл	Контрольная проба, мл
Исследуемый образец	0,02	–	–
Реактив 1	–	0,02	–
Дистиллированная вода	–	–	0,02
Реактив 2 (диацетилмоноаксим)	4	4	4

2. Пробирки закройте алюминиевой фольгой и поместите на кипящую водяную баню точно на 10 мин.
3. После этого пробирки быстро охладите проточной водой и измерьте оптическую плотность опытной пробы (D_1) и калибровочной (D_2) против контрольного раствора при 580-650 нм (оранжевый или красный светофильтр) в кювете толщиной слоя 10 мм. Измерение следует провести до 15 мин после охлаждения.
4. Рассчитайте концентрацию мочевины по формуле:

$$c(\text{мочевины}) = \frac{D_1}{D_2} \cdot X_{\text{мммол/л}}$$

где X – концентрация мочевины в калибровочной пробе.

Сравните полученные значения с нормальными величинами. О чем свидетельствует снижение (повышение) количества мочевины в сыворотке крови у животных?

Опыт 2. Определение индикана в моче.

1. 10 мл мочи смешайте с 5 мл раствора уксуснокислого свинца. Встряхните. Фильтруйте смесь.
2. К 10 мл фильтрата добавьте 1 мл раствора тимола и 10 мл реактива Жолеса. В случае выпадения осадка проведите еще одно фильтрование.
3. Через 15 минут в смесь внесите 7 капель хлороформа. Взболтайте и произведите оценку результатов исследования.

В норме отмечают розово-фиолетовое окрашивание хлороформа, интенсивность которого при выраженной диканурии повышается до красно-фиолетового.

Запишите Ваши результаты. Продуктом метаболизма какой аминокислоты является индикан? Напишите структурную формулу индикана. К каким последствиям может привести избыток индикана в организме животного?

Опыт 3. Качественная реакция на наличие гемопротеинов.

1. На фильтровальную бумагу поместите 1 каплю крови.
2. Затем на неё каплю 5%-ного свежеприготовленного спиртового раствора бензидина.
3. Затем каплю 3%-ного раствора пероксида водорода.

Запишите и объясните полученные Вами результаты. О каком фрагменте гемопротеинов можно судить по данной реакции?

Опыт 4. Проба Розина на билирубин.

1. В пробирку налейте 5 мл мочи.
2. Осторожно наложите 1 мл 0,1% спиртового раствора йода. При наличии билирубина на границе между обеими жидкостями образуется зеленое кольцо (проба положительная). Подобный эффект наблюдается после приема антипирина и при наличии в моче крови.

Запишите полученные Вами результаты.

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 15. Коллоквиум II: «Обмен веществ и энергии»

Цель занятия: осуществить рубежный контроль знаний.

ВОПРОСЫ К КОЛЛОКВИУМУ:

1. Охарактеризуйте обмен веществ и энергии – как сопряженную систему катаболических и анаболических процессов.
2. Макроэргические вещества и радикалы. Строение и функции АТФ в организме.
3. Промежуточные метаболиты-доноры электронов и протонов для клеточного дыхания.
4. Дыхательная цепь и комплексы с переносом заряда.
5. Структура и функции конкретных компонентов дыхательной цепи.
6. Функции АТФ-синтазы и молекулярного кислорода в клеточном дыхании.
7. Механизм синтеза АТФ путем окислительного фосфорилирования.
8. Механизм и биологическое значение разобщения окислительного фосфорилирования.
9. Гликолиз.
10. Глюконеогенез.
11. Цикл лимонной кислоты – центральный процесс энергетического обмена.
12. Регулирование скорости цикла лимонной кислоты.
13. Пути образования активного ацетила.
14. Пути потребления активного ацетила.
15. Назначение и пути потребления кетоновых тел.
16. Пути образования и превращения ПВК.
17. Синтез жира из углеводов.
18. Особенности превращений углеводов в пищеварительном тракте и в ходе метаболизма в организме жвачных.
19. Биохимические механизмы поддержания нормального уровня глюкозы в крови при голодании.
20. Пентозный путь окисления углеводов. Биологическое значение пентозного пути окисления углеводов.
21. Нарушения углеводного обмена.
22. Транспорт липидов в организме.
23. Окисление жирных кислот.
24. Синтез жирных кислот.
25. Синтез триглицеролов.
26. Пути образования и превращений фосфатидной кислоты.
27. Метаболизм фосфолипидов.
28. Спонтанное свободнорадикальное окисление ненасыщенных соединений и пути его предотвращения.
29. Антиоксиданты.
30. Строение и функции клеточных мембран, их участие в метаболизме.
31. Строение, синтез и биологическое значение холестерина.
32. Биологически активные производные холестерина.

33. Нарушения липидного обмена.
34. Участие трансаминаз в метаболизме.
35. Биохимические механизмы образования и утилизации аммиака в организме.
36. Биохимическая детоксикация.
37. Биохимическая роль нуклеотидов в метаболизме.
38. Отличия и сходство строения ДНК и РНК.
39. Отличия и сходство механизмов синтеза ДНК и РНК.
40. Субстраты, ферменты и механизм синтеза и репарации ДНК.
41. Субстраты, ферменты и механизм синтеза РНК.
42. Субстраты, ферменты и механизм синтеза белка.
43. Конечные продукты пуринового обмена у разных видов животных.
44. Особенности азотистого обмена у разных видов животных.

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Занятие № 16. «Обмен нуклеиновых кислот и молекулярные механизмы синтеза белка»

Цель занятия: получить дезоксирибонуклеотид; изучить его качественный состав; обобщить знания о нуклеотидах.

ВОПРОСЫ К КОНТРОЛЬНОЙ РАБОТЕ:

1. *Нуклеотиды: строение и биохимические функции.*
2. *ДНК и РНК, строение, структура, биологическая роль.*
3. *Биосинтез ДНК (репликация), схема, ферменты.*
4. *Биосинтез РНК (транскрипция), схема, ферменты.*
5. *Биосинтез белка (трансляция), схема, ферменты.*

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Экспериментальная работа.

Опыт 1. Выделение дезоксинуклеопротеида из банана.

1. Половину банана измельчите до состояния кашицы любым удобным для Вас способом.
2. 5 мл полученного пюре перенесите в стаканчик и добавьте 10 мл буферного раствора.
3. Полученную смесь энергично перемешивайте в течение не менее 2 минут.
4. Содержимое стаканчика разлейте в центрифужные пробирки. Центрифугируйте 5 минут при 1 тыс. об/мин.
5. Надосадочную жидкость (не менее 5 мл), слейте в чистую пробирку.

6. Аккуратно нанесите 10 мл охлажденного изопропилового (этилового) спирта на стенку слегка наклоненной пробирки. Позвольте спирту медленно стечь по стенке. Если вы все сделали правильно, спирт, плотность которого меньше плотности буфера, останется на поверхности раствора.
7. Поместите тонкую стеклянную или деревянную палочку, например карандаш, в раствор таким образом, чтобы ее кончик оказался непосредственно под границей между буфером и спиртом, и очень осторожно в течение 1 мин поворачивайте попеременно в разные стороны. При этом наиболее длинные фрагменты ДНК накрутятся на палочку. Затем вытащите палочку – спирт заставит ДНК прилипнуть к концу палочки, и вы увидите на нем прозрачный вязкий осадок.
8. Выделенный ДНП перенесите в другую пробирку и используйте для дальнейшего анализа на составляющие компоненты.

Опыт 2. Качественное открытие ДНК.

1. Возьмите две пробирки.
2. Перенесите в каждую пробирку небольшое количество осадка ДНП (из опыта № 1).
3. Добавьте в обе пробирки для растворения ДНП 0,5-1 мл раствора гидроксида натрия.
4. В первую пробирку добавьте равный объем дифениламинового реактива*, перемешайте и поставьте на 15-20 мин в кипящую водяную баню.
5. Отметьте изменение окраски.
6. Ко второй пробирке добавьте равный объем 10%-ного раствора NaOH и несколько капель 2%-ного раствора CuSO₄.
7. Отметьте появление окраски.

О наличии каких компонентов структуры ДНП можно судить по результатам опыта? Можно ли подобным образом определить компоненты РНП? Каковы функции этих компонентов в структуре нуклеиновых кислот?

Задание 1. Заполните таблицу, обобщающую сведения о механизмах синтеза нуклеиновых кислот и белка.

Процесс	Репликация	Транскрипция	Трансляция
1. Субстраты			
2. Ферменты			
3. Локализация процесса			
4. Направление синтеза новых цепей			
4. Этапы 5. процесса			
6. Характеристика продукта			

Дата выполнения _____ Балл _____ Подпись преподавателя _____

Физиологические показатели обмена веществ у домашних и сельскохозяйственных животных.

Показатель	КРС	Мелкий рог. скот	Свиньи	Кролики	Птица	Лошади	Собаки	Кошки
Глюкоза (плазма, сыворотка), моль/л	2.3-4.1	2.4-4.5	3.7-6.4	8.19±2.22	7.14-8.1	3.5-6.3	3.4-6.0	3.4-6.9
Общий белок (плазма, сыворотка), г/л	61.6-82.2	58.9-78.1	58.3-83.2	65-76	48-57	57.1-79.1	55.1-75.2	57.5-79.6
Альбумин, г/л	27.5-39.4	23.5-36.8	22.6-40.4	55-65%	31-35%	25.3-37.6	25.8-39.7	24.5-37.5
Билирубин общий, ммоль/л	0.7-14.0	0.7-8.6	0.3-8.2	0.3	-	5.4-51.4	0.9-10.6	1.2-7.9
Холестерин, ммоль/л	1.6-5.0	1.1-3.5	2.1-3.5	-	2.17-3.33	1.8-3.7	3.0-6.6	1.8-4.2
Кетоновые тела сыворотка	1.1-6.0 мг%		0.5-2.5мг%	111.9±60.3 мкмоль/л			1.8-3.6 мг%	
Пировиноградная кислота	80-170 мкмоль/л						2.5±0.5 г%	
Молочная кислота						0.5-2.0 ммоль/л	2.0-13 г%	
Общие липиды, г/л	2.5-8.6		4-12			1.6-2.6	7-15	6-13
Триглицериды, ммоль/л	0.2-0.6		0.2-0.5			1.1-5.7	0.8-1.5	0.5-1.2
β-липопротеиды, г/л	3.2-9.6							
Мочевина, ммоль/л	2.8-8.8	3.7-9.3	2.9-8.8	5-8	0.38	3.7-8.8	3.1-9.2	5.5-11.1
Креатинин, ммоль/л	55.8-162.4	59.7-174.3	69.6-207.7	120	-	76.8-174.5	44.3-138.4	48.6-165.0
АЛТ, Е/л	6.9-35.3	4.8-52.3	21.7-46.5	7.7-10.4	-	2.7-20.5	8.2-57.3	8.3-52.5
рН крови	7.36-7.50	7.40-7.65	7.85-7.95	7.33-7.40	7.20-7.50	7.20-7.60	7.30-7.46	
рН мочи	7.0-8.6		6.5-7.8	>7.0		7.1-8.7	6.0-7.0	6.0-7.0
Кетоновые тела мочи, мг/л							1-4	
Индикан							0.2-1.6 мг/л	
Креатинин моча							0,7-1,9 г/л	

ВОПРОСЫ ИТОГОВОЙ АТТЕСТАЦИИ

1. Классификация и строение углеводов. Функции углеводов различных классов.
2. Классификация аминокислот и их биохимические функции.
3. Уровни организация белков. Типы химических связей, участвующие в формировании пространственной структуры белка.
4. Денатурация белка и факторы, вызывающие денатурацию белка.
5. Строение и функции липидов.
6. Строение триглицеридов. Роль триглицеридов в метаболизме.
7. Строение нуклеотидов. Роль нуклеотидов в метаболизме.
8. Строение фосфолипидов. Роль фосфолипидов в метаболизме.
9. Строение и функции эйкозаноидов.
10. Строение и функции холестерина.
11. Строение и функции разных классов липопротеидов.
12. Строение желчных кислот. Их роль в метаболизме.
13. Биологическая роль макро- и микроэлементов.
14. Роль кальция в метаболизме.
15. Роль фосфопиридоксаля в метаболизме.
16. Роль биотина в метаболизме.
17. Биохимическая функция витамина В₁₂.
18. Биологическая роль пантотеновой кислоты.
19. Биологическая роль рибофлавина.
20. Биологическая роль никотинамида.
21. Биохимические функции тиаминпирофосфата.
22. Биохимические функции витамина С.
23. Биологическая роль тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК).
24. Биологическая роль витамина D.
25. Биологическая роль витамина А.
26. Биологическая роль витамина Е.
27. Биохимическая роль витамина К.
28. Механизм ферментного катализа.
29. Строение и классификация ферментов.
30. Конкурентное и неконкурентное ингибирование ферментов.
31. Особенности биологического катализа.
32. Классификация гормонов. Роль гормонов в регуляции метаболизма.
33. Гормоны надпочечников и их биохимические функции.
34. Гормоны гипофиза и их биологическая роль.
35. Биологическая роль половых гормонов.
36. Биологическая роль гормонов коры надпочечников.
37. Биологическая роль гормонов поджелудочной железы.
38. Гормоны щитовидной железы и их влияние на метаболизм.
39. Механизмы передачи гормонального сигнала.
40. Механизм передачи сигнала гормонов аминокислотной и белковой природы.
41. Биохимическая роль вторичных мессенджеров в метаболизме.

42. Макроэргические соединения и их роль в метаболизме.
43. Дыхательная цепь в митохондриях.
44. Последовательность и строение переносчиков электронов в дыхательной цепи.
45. Процесс окислительного фосфорилирования, его биологическая роль.
46. Биохимические механизмы разобщения окисления и фосфорилирования, факторы их вызывающие.
47. Механизмы образования свободных радикалов. Антиоксидантные системы в клетках.
48. Антиоксидантные системы клетки и их биологическая роль.
49. Биохимические механизмы окислительного декарбоксилирования пирувата.
50. Механизм реакций и биологическая роль цикла Кребса.
51. Биосинтез гликогена.
52. Гликолиз и его биологическое значение.
53. Глюконеогенез и его биологическая роль.
54. Пентозофосфатный путь окисления углеводов.
55. Особенности углеводного обмена у жвачных животных. Пути синтеза глюкозы у жвачных животных.
56. Роль летучих жирных кислот в метаболизме жвачных животных.
57. Строение клеточных мембран и их функции.
58. Механизм транспорта липидов.
59. Биохимический механизм β -окисления жирных кислот.
60. Механизм синтеза жирных кислот.
61. Биологическая роль холестерина и его производных.
62. Синтез триацилглицеридов и фосфолипидов.
63. Кетонные тела и их роль в метаболизме.
64. Физико-химические свойства белков. Изоэлектрическое состояние и изоэлектрическая точка аминокислот и белков.
65. Биохимические механизмы переваривания белков в желудочно-кишечном тракте.
66. Механизмы реакций трансаминирования и дезаминирования аминокислот.
67. Декарбоксилирование аминокислот. Биологическая роль продуктов декарбоксилирования.
68. Орнитиновый цикл.
69. Биологические механизмы окисления нуклеотидов.
70. Строение молекулы ДНК.
71. Биохимические механизмы синтеза ДНК.
72. Репликация и репарация.
73. Строение РНК. Виды РНК. Их роль в метаболизме.
74. Биохимические механизмы синтеза РНК.
75. Биохимические механизмы синтеза белка.

Учебное издание

Составители:

Саковцева Татьяна Владимировна

Савчук Светлана Васильевна

Сергеенкова Надежда Алексеевна

Ксенофонтова Анжелика Александровна

Биохимия

Учебно-методическое пособие

Издано в редакции составителей

Корректурa составителей

Отпечатано с оригинала,
предоставленного составителями