

Документ подписан простой электронной подписью

Информация о владельце:

ФИО: Козин Андрей Эдуардович Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение

Должность: ректор высшего образования

Дата подписания: 16.11.2023 14:50:56 «Приморская государственная сельскохозяйственная академия»

Уникальный программный ключ:

f6c6d686f0c899fdf76a1ed8b448452ab8cac6fb1af6547b6d40cdf1bdc60ae2

Биохимия

Методические указания к лабораторным занятиям для
обучающихся по направлению подготовки 19.03.04
Технология продукции и организация общественного
питания

Электронное издание

Уссурийск, 2022

УДК 547.1

Составитель: И.В. Попова, канд. с.-х. наук, доцент межинститутской кафедры естественно-научных и социально-гуманитарных дисциплин

Биохимия: методические указания к лабораторным занятиям для обучающихся по направлению подготовки 19.03.04 Технология продукции и организация общественного питания [Электронный ресурс]: / сост. И.В. Попова. – Электр. текст дан. - Уссурийск: ФГБОУ ВО ПГСХА, 2022. –54 с. – Режим доступа: www.de.primacad.ru

Методические указания составлены в соответствии с ФГОС ВО 3++, учебным планом и рабочей программой дисциплины (модуля). В методические указания помещены материалы для 13 лабораторных занятий. Даны методики анализов по каждому опыту.

В лабораторных работах после каждого опыта обучающимся предложены вопросы и задания для самоконтроля. После лабораторных работ даётся ряд вопросов, на которые они должны ответить, делая вывод.

Рецензент: Н. А. Ким, канд. с.-х. н, доцент института животноводства и ветеринарной медицины

Издается по решению методического совета ФГБОУ ВО Приморская ГСХА

Тема: БИОМЕМБРАНЫ
Лабораторная работа № 1
БИОМЕМБРАНЫ, ИХ СВОЙСТВА

Цель работы: изучить важные в биологическом отношении свойства растворов – диффузию и осмос.

Реактивы и материалы: растворы хлорида натрия: 0,2%, 0,9%, 10%; кровь; раствор йода; 1% раствор крахмала; 0,5% раствор нитрата серебра.

Оборудование: набор пробирок, стаканчик (100 мл), пипетка, пергамент, нитки, мерная пробирка.

Биологические мембраны – это активный молекулярный комплекс с высокоизбирательными свойствами, обеспечивающий обмен веществ и энергии с окружающей средой. В мембранах находятся специфические молекулярные насосы и каналы, с помощью которых регулируются молекулярный и ионный составы внутриклеточной среды.

Полупроницаемые мембраны НЕ СПОСОБНЫ пропускать высокомолекулярные соединения, в тоже время, низкомолекулярные вещества и вода через такие мембраны проходят пассивно за счет сил диффузии и осмоса или активно переносятся через мембрану специальными переносчиками.

Изучение биологических мембран необходимо для понимания таких процессов, как: пищеварение, всасывание, выделение; взаимодействие клеток при образовании тканей, питание клеток, фагоцитоз, секреция, трансформация энергии в клетке. Структура и функции мембран нарушаются при ряде заболеваний, и нередко составляют существенный этап патогенеза и саногенеза (механизма развития и течения болезни и механизма выздоровления).

Опыт 1. Диффузия низкомолекулярных веществ через полупроницаемую мембрану

Моделью биомембраны является целлофан или пергамент. Идентичность искусственных полупроницаемых мембран с естественной мембраной клетки заключается лишь в том, что те и другие имеют примерно одинаковый диаметр пор – 10 \AA .

В пергаментный мешочек, сделанный на шаблоне (пробирке), влить с помощью пипетки 2-3 мл 10% раствора хлорида натрия. Мешочек с раствором опустить в стаканчик с 20 мл дистиллированной воды.

Через 10 минут мешочек из стаканчика удалить, а в небольшой порции воды из стаканчика, отлитой в пробирку, установить наличие хлорида натрия (ионов Cl^-) с помощью 2-3 капель 0,5 % нитрата серебра.

Вопросы и задания

1. Обнаружен ли хлорид натрия в стакане?
2. Какие вещества могут пройти через полупроницаемую мембрану и почему?

Опыт 2. Диализ высокомолекулярных веществ с помощью полупроницаемой мембраны

Диализ – это метод отделения низкомолекулярных веществ от высокомолекулярных с помощью полупроницаемой мембраны. Этот метод используется в биохимии для очистки белков, ферментов, полисахаридов и других высокомолекулярных биополимеров от низкомолекулярных веществ.

В пергаментный мешочек влить с помощью пипетки 2-3 мл 1% раствора крахмала, приготовленного на 10% растворе хлорида натрия. Мешочек с жидкостью опустить в стаканчик с дистиллированной водой (20 мл) на 10 минут. В течение этого времени 2-3 раза осторожно вращать мешочек в воде. Удалить мешочек из стаканчика и убедиться, что в нем присутствует крахмал с помощью раствора йода. Воду из стаканчика налить в 2 пробирки примерно по 3 мл. В одной из них определить наличие хлорида натрия (ионов Cl^-) с помощью 0,5 % раствора нитрата серебра, в другой – наличие крахмала йодной пробой.

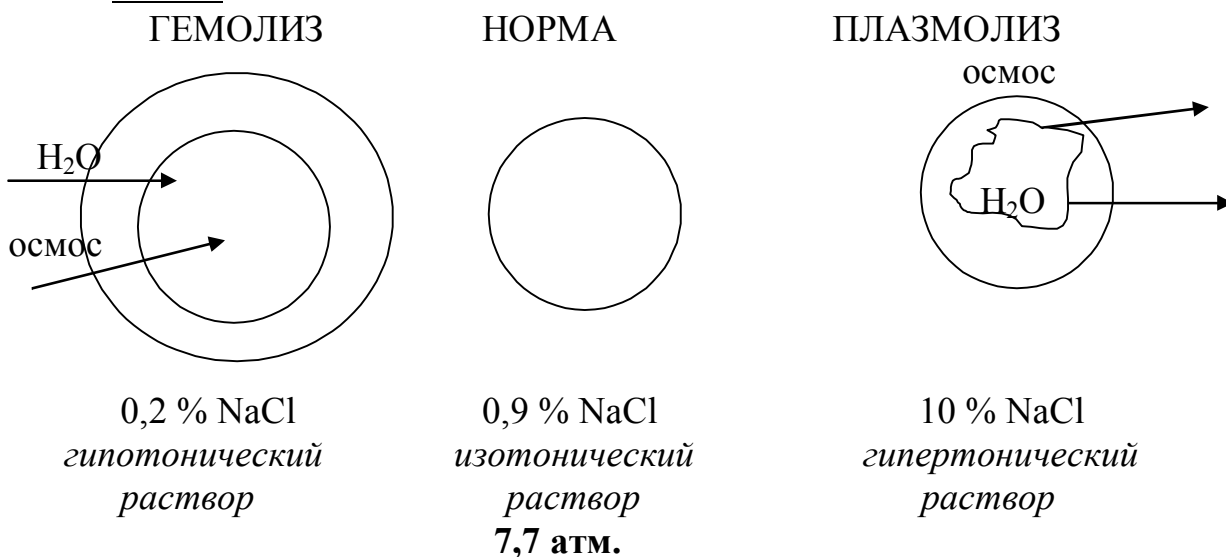
Вопросы и задания

1. Объясните полученные результаты опыта.
2. Где диализ наблюдается в организме?

Опыт 3. Влияние осмотического давления раствора на морфологию животных клеток – эритроцитов

Берут три пробирки. В первую наливают 2 мл 0,2 % раствора хлорида натрия, во вторую – 2 мл 0,9 % раствора хлорида натрия, в третью - 2 мл 10 % раствора $NaCl$. В каждую пробирку вносят по 1-2 капли крови. Не встряхивая поставить пробирки в штатив, сразу наблюдать за изменением эритроцитов, а через 10 минут сделать вывод.

Схема:



Вопросы и задания

1. Что происходит с эритроцитами при попадании в раствор с меньшим осмотическим давлением? Как называется это явление?
2. Как ведут себя эритроциты в среде с большим давлением? Что это за явление?
3. В каких условиях эритроциты поддерживают постоянную величину и форму и выполняют свои функции?
4. Зарисовать схему.

В выводе отразите ответы на следующие вопросы:

1. Что называется диффузией и как зависит ее скорость от воздействия на раствор: температуры, смены растворителя, механического воздействия и т.д.?
2. Что называется осмосом? Какое осмотическое давление в крови здоровых животных (Атм., Па.)?
3. От содержания каких веществ в основном зависит осмотическое давление в крови животных и человека?
4. Какое осмотическое давление имеет изотонический раствор хлорида натрия (Атм., Па.)? Почему этот раствор называют часто физиологическим и как его приготовить?
5. Какая зависимость между осмотическим давлением и концентрацией вещества в растворе? Приведите примеры.
6. Каково строение мембран клеток животных? Почему клеточные мембраны называются полупроницаемыми?
7. Почему через полупроницаемые мембраны клеток не могут проходить высокомолекулярные вещества? Назовите основные виды низко и высокомолекулярных веществ.
8. Что называется диализом? Где и для чего применяют метод диализа в биохимии, медицине, промышленности? Как Вы представляете естественный диализ в клетках тела?
9. Объясните понятия: изотонический, гипотонический, гипертонический растворы. Где в практической жизни используют эти растворы?

Тема: БУФЕРНЫЕ РАСТВОРЫ БУФЕРНЫЕ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА

Растворы, обладающие свойствами достаточно стойко сохранять постоянство концентрации водородных ионов (рН) как при добавлении к ним кислот и щелочей, так и при разбавлении водой, называются **буферными**.

Способность буферной системы противодействовать смещению реакции среды измеряется буферной емкостью.

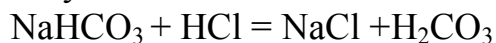
Буферная емкость выражается количеством грамм-эквивалентов сильной кислоты или основания, которое следует добавить к 1 л буферного раствора, для того, чтобы рН сместить на единицу.

Подсчитано, что в организме человека в спокойном состоянии ежедневно образуется до 30 литров 1н сильной кислоты. Однако в крови и тканях уровень концентрации ионов водорода всегда удерживается на строго определенном уровне. Эту роль в гомеостазе среды выполняют буферные системы. В организме человека и животных основными буферными системами являются: гемоглобиновая, гидрокарбонатная, белковая и фосфатная.

Механизм действия буферных систем организма можно рассмотреть, на примере «работы» гидрокарбонатной буферной системы. В плазме крови гидрокарбонатная буферная система является особенно мощной по нейтрализации кислот из-за того, что количество гидрокарбоната натрия в крови превышает количество угольной кислоты в 20 раз.

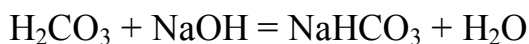
$$\frac{H_2CO_3}{NaHCO_3} = \frac{1}{20}$$

Схема действия гидрокарбонатной буферной системы при нейтрализации кислот следующая:



Образовавшаяся нейтральная поваренная соль используется организмом, а ее избыток выводится выделительными системами во внешнюю среду. Образовавшееся эквивалентное количество слабой H_2CO_3 разрушается в легких под действием фермента – карбоангидразы на H_2O и CO_2 . Углекислый газ выделяется, а вода является нейтральным продуктом и выводится из организма или используется им. В результате такого взаимодействия гидрокарбоната с кислотой, рН крови не изменяется.

Угольная кислота является составной частью буферной системы и при необходимости нейтрализует щелочные продукты, которых всегда меньше, чем угольной кислоты.



Получившаяся соль $NaHCO_3$ является составной частью буферной системы, а вода нейтральный продукт, поэтому рН крови не меняется. Буферные системы крови регулируют постоянство рН крови на определенном уровне, необходимом для нормальной жизнедеятельности, не допуская сдвигов в сторону ацидоза или алкалоза.

Лабораторная работа № 2 **БУФЕРНЫЕ РАСТВОРЫ**

Цель работы: приготовить три ацетатных буфера, состоящих из уксусной кислоты и ее соли – ацетата натрия в разных соотношениях; доказать, что рН каждого буферного раствора зависит от соотношения компонентов буферной смеси; изучить свойства буферных растворов.

Реактивы и материалы: 0,1н раствор уксусной кислоты, 0,1н раствор ацетата натрия, 0,1 н раствор гидроксида натрия, 0,1 н раствор соляной кислоты, универсальный индикатор.

Оборудование: набор пробирок, пипетка, мерная пробирка.

Опыт 1. Приготовление буферных растворов

В три пронумерованные пробирки налить 0,1н раствор уксусной кислоты и такой же концентрации раствор ацетата натрия в соотношениях показанных в таблице 1.

Таблица 1

Номер буферного раствора	Компоненты буферных растворов		рН буферных растворов по универсальному индикатору
	CH ₃ COOH 0,1н	CH ₃ COONa 0,1н	
№ 1	9 мл	1 мл	
№ 2	5 мл	5 мл	
№ 3	1 мл	9 мл	

Задания

Последнюю колонку заполнить после выполнения опыта № 2.

Опыт 2. Определение рН буферных растворов универсальным индикатором

В три пронумерованные пробирки отмерить по 2 мл каждого буферного раствора, приготовленного в опыте 1. Добавить к каждому из них по 2 капли универсального индикатора. По цветной шкале с точностью до единицы определить рН каждого раствора.

Задания

1. Результаты записать в таблицу № 1.
2. Оставить пробирки опыта 2 до конца занятий в качестве цветных эталонов.

Опыт 3. Определение устойчивости рН буферных растворов к разведению их водой

К 1 мл каждого буферного раствора (из опыта №1) добавить по 9 мл воды. В этом случае каждый буферный раствор окажется разведенным в 10 раз. Оставить в каждой пробирке по 2 мл разведенного буферного раствора, остальную часть жидкости вылить. В каждую пробирку с разведенным буферным раствором добавить по 2 капли универсального индикатора.

Вопросы и задания

1. Сравнить цвет жидкости каждой пробирки с окрашенными растворами в опыте № 2.
2. Объясните полученные результаты.

Опыт 4. Определение устойчивости рН буферных растворов к действию сильной кислоты

К 2 мл каждого буферного раствора (из опыта 1) добавить по 1 капле 0,1н HCl и по 2 капли универсального индикатора.

Вопросы и задания

1. Сравнить цвет жидкости каждой пробирки с окрашенными растворами в опыте № 2.
2. Объясните полученные результаты.

Опыт 5. Определение устойчивости буферных растворов к действию сильного основания

К 2 мл каждого буферного раствора (из опыта 1) добавить по 1 капле 0,1н раствора NaOH и по 2 капли универсального индикатора.

Вопросы и задания

1. Сравнить цвет жидкости каждой пробирки с окрашенными растворами в опыте № 2.
2. Объясните полученные результаты.

В выводе отразите ответы на следующие вопросы:

1. Какие растворы называются буферными?
2. Из каких компонентов состоят буферные растворы? Назовите 3 типа буферных растворов
3. Назовите основные свойства буферных растворов.
4. Какие буферные системы есть в организме животных и человека? Из каких основных компонентов они состоят и каково назначение буферных систем в тканях тела?
5. Назовите самую мощную буферную систему в цельной крови и в мышечной ткани, а также в плазме крови животных?
6. Каков механизм «работы» карбонатной буферной системы?
7. Каково основное назначение буферных систем в организме и от чего зависит сила этих систем?
8. Что такое буферная емкость? Как определить буферную емкость раствора?
9. Что называют щелочным резервом крови и какая наиболее мощная буферная система в цельной крови животных?
10. Какие факторы внешней среды оказывают влияние на уровень щелочного резерва крови?

11. Для каких целей используют буферные растворы в биохимии, физиологии, микробиологии и др.?
12. Что понимают под ацидозом и алкалозом крови?
13. Как практически определить щелочной резерв крови животных?
14. Каков щелочной резерв крови здоровых животных и при каких патологических состояниях он может измениться?

Тема: КОЛЛОИДНЫЕ РАСТВОРЫ

Лабораторная работа № 3 ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА КОЛЛОИДНЫХ РАСТВОРОВ

Цель работы: получить коллоидные растворы несколькими способами и изучить их свойства.

Реактивы и материалы: 0,2 н раствор хлорида железа (III), гексацианоферат калия, 1% спиртовой раствор канифоли, 0,2 н раствор сульфата аммония, 2 н раствор хлорида аммония, 3 н роданид калия, 0,1 н раствор тиосульфата натрия, 0,1 н раствор серной кислоты, 3% раствор желатина, 0,3% раствор бихромата калия, 0,5М раствор нитрата серебра.

Оборудование: набор пробирок, стаканчик (100 мл), пипетка, плоскодонная колба на 100 мл, плитка, цилиндр, фильтровальная бумага, пергамент, нитки, чашка Петри, плоскодонный затемненный сосуд, осветитель.

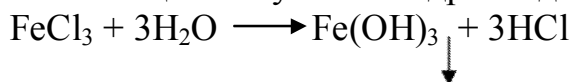
Коллоид – это не вещество, а состояние вещества, поэтому коллоидные растворы можно приготовить из любых веществ. Существует несколько методов приготовления коллоидных растворов.

1. Метод **диспергирования** основан на измельчении частиц фазы с помощью физических сил на коллоидной мельнице или ступке до размеров коллоидных частиц. Также есть диспергирование электрическое, ультразвуковое и химическое.
2. Метод **конденсирования** основан на разнообразных химических реакциях, сопровождающиеся образованием укрупненных, практически нерастворимых веществ в определенной степени дисперстности, то есть – величины коллоидных частиц.

Опыт 1. Получение коллоидного раствора (золя) гидроксида железа (III)

Реакция гидролиза

Реакция получения гидроксида железа идет по уравнению:



Поверхностные молекулы агрегата гидроксида железа вступают в химическое взаимодействие с соляной кислотой:

