

Министерство образования и науки РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Тульский государственный педагогический университет
им. Л. Н. Толстого»

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Учебно-методическое пособие

Тула
Издательство ТГПУ им. Л. Н. Толстого
2013

ББК 28.072я73

Б63

Рецензенты:

доктор биологических наук *В. В. Иванищев*

(ФГБОУ ВПО «ТГПУ им. Л. Н. Толстого»);

доктор биологических наук *А. А. Кособрюхов*

(Институт фундаментальных проблем биологии РАН, г. Пущино)

Биологическая химия: Учеб.-метод. пособие / Авт.-сост.
Б63 А. Р. Гарифзянов, Н. Н. Жуков. – Тула: Изд-во Тул. гос. пед. ун-та
им. Л. Н. Толстого, 2013. – 114 с.

ISBN 978-5-87954-785-6

Предлагаемое пособие дополняет теоретический курс биохимии по всем основным разделам курса «Биологическая химия» и содержит методические рекомендации для проведения лабораторно-практических занятий.

Издание предназначено бакалаврам, обучающимся по направлению подготовки 050100 Педагогическое образование (профили «Химия» и «Биология»).

ББК 28.072я73

ISBN 978-5-87954-785-6

© Авторы-составители

А. Р. Гарифзянов, Н. Н. Жуков, 2013

© ТГПУ им. Л. Н. Толстого, 2013

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА I. Техника лабораторных работ	8
Работа 1.1. Правила работы в биохимической лаборатории	8
Работа 1.2. Меры первой помощи при несчастных случаях	11
Работа 1.3. Порядок оформления лабораторных работ	12
Контрольные вопросы	14
ГЛАВА II. Аминокислоты. Пептиды. Белки	15
Работа 2.1. Выделение свободных аминокислот из биологического материала	15
Работа 2.2. Разделение смеси аминокислот методом тонкослойной хроматографии на бумаге	16
Работа 2.3. Приготовление растворов белков для проведения качественных реакций	19
Работа 2.4. Качественные реакции на аминокислоты, пептиды и белки	20
Работа 2.5. Количественное определение свободных аминокислот методом хроматографии распределения на бумаге	25
Работа 2.6. Количественное определение пролина в растительной ткани	27
Работа 2.7. Способы осаждения белков	29
Работа 2.8. Выделение глутатиона из дрожжей и изучение его свойств	32
Работа 2.9. Количественное определение восстановленного глутатиона в растительной ткани	35
Работа 2.10. Выделение казеина из молока	36
Работа 2.11. Определение изоэлектрической точки белка	37
Работа 2.12. Определение содержания белка биуретовым методом	38
Работа 2.13. Определение содержания белка по методу Г.А. Бузун (с амидочерным)	39
Контрольные вопросы	41
Задания для самостоятельного решения	41
ГЛАВА III. Ферменты	42
Работа 3.1. Специфичность амилазы и β -фруктофуранозидазы	42
Работа 3.2. Влияние температуры на активность амилазы слюны	43
Работа 3.3. Влияние pH на активность амилазы слюны	44
Работа 3.4. Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы слюны	45
Работа 3.5. Выделение уреазы из бобов сои и изучение ее свойств	46

Работа 3.6. Определение активности амилазы	49
Работа 3.7. Определение активности каталазы	50
Работа 3.8. Определение активности гваяколовой пероксидазы	51
Работа 3.9. Переваривание белка пепсином и влияние рН на этот процесс	52
Контрольные вопросы	53
Задания для самостоятельного решения	53
ГЛАВА IV. Нуклеиновые кислоты	54
Работа 4.1. Выделение нуклеиновых кислот по методу Шмидта и Таннгаузера в модификации Масуду	54
Работа 4.2. Определение содержания ДНК по Дише	55
Работа 4.3. Кислотный гидролиз нуклеопротеидов пекарских дрожжей и изучение свойств ДНК и РНК	55
Контрольные вопросы	57
Задания для самостоятельного решения	57
ГЛАВА V. Углеводы	58
Работа 5.1. Качественные реакции на углеводы	58
Работа 5.2. Выделение гликогена из пекарских дрожжей	61
Работа 5.3. Выделение растворимого пектина из растительных тканей	63
Работа 5.4. Микрометод определения содержания глюкозы в растительных тканях и крови по Хагедорн-Иенсену	64
Работа 5.5. Количественное определение крахмала в растительных тканях	66
Контрольные вопросы	68
Задания для самостоятельного решения	68
ГЛАВА VI. Липиды	69
Работа 6.1. Определение содержания свободных липидов в биологическом материале	69
Работа 6.2. Ускоренный метод выделения и количественного определения липидов мышечной ткани (по Л. Кельман и Ю. Лясковской)	70
Работа 6.3. Качественные реакции на жиры	72
Работа 6.4. Определение констант жиров	73
Работа 6.5. Выделение лецитина из вареного яйца	75
Контрольные вопросы и задания для самостоятельного решения	76
ГЛАВА VII. Витамины и гормоны	
Работа 7.1. Качественные реакции на витамины (жиро- и водорастворимые)	78
Работа 7.2. Количественное определение свободной и связанной аскорбиновой кислоты (витамина С)	82
Работа 7.3. Количественное определение витамина D	84

Работа 7.4. Количественное определение витамина К.....	85
Работа 7.5. Количественное определение витамина Е	86
Работа 7.6. Качественные реакции на гормоны (инсулин, тироксин, адреналин)	87
Контрольные вопросы	88
Задания для самостоятельного решения	89
ГЛАВА VIII. Биохимия стресса.....	90
Работа 8.1. Определение скорости образования радикальных форм кислорода в клетках	90
Работа 8.2. Количественное определение пероксида водорода в клетках растений	90
Работа 8.3. Определение интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ).....	91
Работа 8.4. Определение содержания диеновых (ДК) и триеновых (ТК) конъюгатов	93
Работа 8.5. Определение поврежденности клеточных мембран по величине утечки электролитов	94
Контрольные вопросы	95
Задания для самостоятельного решения	95
ГЛАВА IX. Вопросы частной биохимии.....	96
Работа 9.1. Определение содержания различных групп фотосинтетических пигментов в растительных тканях	96
Работа 9.2. Определение содержания фенольных соединений в растительных тканях	97
Работа 9.3. Анализ мочи	98
Работа 9.4. Анализ костной ткани	101
Работа 9.5. Анализ желудочного сока	102
Контрольные вопросы	104
Задания для самостоятельного решения	104
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	105
ПРИЛОЖЕНИЯ	106

ВВЕДЕНИЕ

Биологическая химия изучает химическую природу, химические процессы и явления в живых организмах. В соответствии с требованиями Федерального государственного образовательного стандарта высшего профессионального образования по направлению подготовки 050100 Педагогическое образование преподавание биохимии ориентировано на формирование у обучающихся устойчивых фундаментальных знаний о структуре и функциях биологически важных соединений, а также химических основах жизнедеятельности организмов.

Процесс изучения биохимических дисциплин направлен на формирование следующих **компетенций**:

- способен использовать знания о современной естественнонаучной картине мира в образовательной и профессиональной деятельности, применять методы математической обработки информации, теоретического и экспериментального исследования (ОК-4);

- способен понимать особенности химической формы организации материи, место неорганических и органических систем в эволюции Земли, единство литосферы, гидросферы и атмосферы; роль химического многообразия веществ на Земле (СК-1);

- владеет основными химическими и физическими понятиями, знаниями фундаментальных законов химии и физики; явлений и процессов, изучаемых химией и физикой (СК-2);

- владеет знаниями о составе, строении и химических свойствах простых веществ и химических соединений; имеет представление об электронном строении атомов и молекул, закономерностях химических превращений веществ (СК-3);

- владеет классическими и современными методами анализа веществ; способен к постановке эксперимента, анализу и оценке лабораторных исследований (СК-4);

- владеет знаниями о закономерностях развития органического мира и химических основах биорегуляции организмов (СК-5).

Основная цель учебно-методического пособия – помочь студентам освоить теоретический материал, самостоятельно выполнить лабораторные работы, привить навыки критического анализа наблюдаемых фактов и явлений, систематически осуществлять самостоятельный контроль усвоения учебного материала.

Пособие содержит 54 лабораторно-практические работы, основная доля которых носит количественный характер (более 50% работ). В пособие включены апробированные, не требующие дорогостоящих реактивов, оборудования и больших затрат времени, методики определения веществ, но при этом широко используемые в лабораторно-клинической практике. Методические указания содержат краткие теоретические пояснения к конкретным опытам. Приводится перечень реактивов, оборудования и изложены особенности приготовления отдельных специальных реактивов.

После каждой темы приводятся контрольные вопросы и задания для самостоятельного решения, позволяющие обучающимся подготовиться к защите лабораторно-практических работ, а также к курсовому экзамену.

Студентам рекомендуется вести запись в отдельной тетради для выполнения лабораторно-практических работ. В первой главе учебно-методического пособия приводятся требования к оформлению и защите лабораторно-практических работ.

Используя все имеющиеся материалы пособия, студенты могут хорошо подготовиться, как к лабораторно-практическим работам, так и к семинарским занятиям, контрольным работам и коллоквиумам. Все это в итоге позволит освоить курс и успешно сдать экзамен.

В результате изучения дисциплины «Биологическая химия» студент должен:

знать:

- основные классы биоорганических соединений, строение, физические и химические свойства представителей этих классов, методы выделения из природных источников;
- основные методы исследования структуры биомолекул;
- основные пути и способы регуляции обмена веществ и энергии в организме;
- основные закономерности динамической и частной биохимии.

уметь:

- выделять, химически идентифицировать и устанавливать структуру биологически важных соединений;
- проводить анализ биоорганических соединений с использованием физико-химических методов исследования;
- применять полученные знания динамической и частной биохимии, а также практические навыки при проведении качественного и количественного анализа состава биологических объектов.

владеть:

- знаниями о закономерностях развития органического мира и химических основах биорегуляции организмов;
- классическими и современными методами анализа веществ и процессов;
- методиками эксперимента, анализа и оценки достоверности лабораторных исследований.

ГЛАВА I. Техника лабораторных работ

Важнейшим видом учебной деятельности в курсе биологической химии являются лабораторные занятия. Наиболее вероятными источниками несчастных случаев в биохимической лаборатории могут быть: неумелое обращение с химическими веществами (отравление, химические ожоги, пожары, взрывы, аллергии), с лабораторными приборами (поражение электрическим током, термические ожоги и травмы), а также со стеклянными приборами и посудой (порезы и т.д.). При этом биохимия, как и любая экспериментальная наука, требует соблюдения определенных правил организации работы и техники безопасности, неукоснительное выполнение которых является залогом безопасности экспериментатора.

Допуск в лабораторию к занятиям студентов разрешается только после знакомства с инструкцией по технике безопасности, вводного инструктажа и сдачи зачета преподавателю, ведущему занятие в группе. Факт сдачи зачета фиксируется в специальном журнале под личную роспись прошедших инструктаж. Студенты, не сдавшие зачета, к работе не допускаются. Лица, грубо нарушившие правила работы и техники безопасности в лаборатории, отстраняются преподавателем, лаборантом или инженером, обслуживающим занятия, или проверяющим от выполнения лабораторных работ до повторной сдачи зачета.

Работа 1.1. Правила работы в биохимической лаборатории

Каждому студенту, работающему в лаборатории, предоставляется место, которое он должен содержать в порядке и чистоте. При выполнении лабораторных работ необходимо строго соблюдать правила техники безопасности.

Общие положения

1. Перед занятиями студенту необходимо заранее ознакомиться с ходом проведения опытов по учебному пособию, отчетливо уяснить цели и задач работы, обдумывая каждое действие. Приступать к выполнению опытов можно только после того, как студент сдаст предварительный отчет (название, краткое описание хода опыта, реакции) и пройдет собеседование. Допуск к работе в виде росписи ведущего преподавателя отмечается в рабочем журнале студента.

2. Работающий должен знать основные свойства используемых и получаемых веществ, их действие на организм, правила работы с ними и на основе этого принять все меры для безопасности проведения работ.

3. В лаборатории категорически запрещается работать одному, т.к. даже небольшая незамеченная неисправность в оборудовании или ошибка в выполнении эксперимента может привести к тяжелым последствиям.

4. Избегайте лишних движений и разговоров в лаборатории.

5. Запрещено проводить опыты в грязной посуде, а также пользоваться для проведения опытов веществами из склянок без этикеток или с неразборчивой надписью.

6. Нельзя выливать избыток реактива из пробирки обратно в реактивную склянку. Сухие соли набирают чистым шпателем или ложечкой.

7. Не следует путать пробки от разных склянок. Чтобы внутренняя сторона пробки оставалась чистой, пробку кладут на стол внешней поверхностью.

8. Нельзя уносить реактивы общего пользования на свое рабочее место.

9. После опытов остатки металлов в раковину не выбрасывают, а собирают в банку. Дорогостоящие реактивы (например, остатки солей серебра) собирают в специально отведенную посуду. Нельзя выливать в раковину остатки растворителей, горючих веществ, реакционные смеси, растворы кислот, щелочей и других вредных веществ. Они должны собираться в специальную посуду («органический слив»).

9. Запрещено засорять раковины и сливы в шкафах песком, бумагой, битой посудой и другими твердыми отходами, что приводит к выходу канализации из строя. Все твердые отходы следует выбрасывать в урну.

10. При выполнении работ бережно расходуйте реактивы, электричество и воду. Нельзя оставлять без надобности включенные электроприборы. По окончании работ нужно немедленно отключить электроприборы.

11. Выполнение лабораторной работы и каждого отдельного опыта требует строгого соблюдения всех указаний, содержащихся в описании работы. Опыт должен исполняться тщательно, аккуратно и без спешки.

12. Студентам категорически запрещается без разрешения преподавателя проводить какие-либо опыты, не относящиеся к данной работе, или изменять порядок проведения опыта. Следует помнить, что каждый, даже кажущийся внешне простым опыт может оказаться при необдуманном выполнении опасным.

13. Если работа не может быть закончена в течение одного занятия, то необходимо заранее обсудить с преподавателем, на каком этапе работа должна быть прервана и когда можно будет ее закончить.

Правила техники безопасности при работе с химическими веществами

1. Избегайте непосредственных контактов кожи, глаз и дыхательных путей с химикатами. На занятиях постоянно носите лабораторный халат. Кроме того, если у вас длинные волосы, их следует аккуратно прибрать, чтобы они не могли соприкасаться с нагревательными приборами, реактивами и т.д.

2. Все работы с ядовитыми и сильнопахнущими веществами, с концентрированными растворами кислот, щелочей, а также упаривание их растворов следует проводить только в вытяжном шкафу. Створки шкафа во

время работы должны быть опущены до 18–20 см от его рабочей поверхности.

3. Измельчение твердых веществ, дающих едкую пыль (щелочей, извести, йода и др.), разбавление концентрированных кислот и щелочей, приготовление хромовой смеси и т.п. нужно проводить в фарфоровой посуде также в вытяжном шкафу, защитив глаза очками, а руки перчатками. Разбавляя концентрированные кислоты, особенно серную, осторожно вливают кислоту в воду.

4. С легковоспламеняющимися жидкостями нельзя работать вблизи нагревательных приборов. Запрещается нагревать летучие легковоспламеняющиеся жидкости, вещества (эфир, бензины, спирты, ацетон и т.д.) на открытом пламени. Для этого необходимо использовать водяную или масляную баню.

5. Пробирки при нагревании закрепляют либо в штативной лапке, либо в пробиркодержателе ближе к отверстию. Отверстие пробирки необходимо направлять от себя и окружающих, во избежание выброса веществ из пробирки.

7. Знакомясь с запахом вещества, нельзя наклоняться над сосудом с жидкостью и вдыхать полной грудью. Для этого нужно направить рукой струю воздуха от отверстия сосуда к себе и сделать носом легкий вдох.

8. Запрещается набирать ртом при помощи пипетки или трубки любые вещества. Для этого следует пользоваться сифоном или резиновой грушей.

9. Особенно внимательно нужно проводить сборку установок из стекла. При этом нельзя зажимать стеклянные изделия в лапки штативов без соответствующей мягкой прокладки. Особенно осторожно обращайтесь с тонкостенной посудой, термометрами и холодильниками.

10. Нельзя нагревать закупоренные любые аппараты и сосуды, кроме тех, которые специально для этого предназначены. Нельзя нагревать жидкости в толстостенной и мерной посуде (она может лопнуть).

11. При приливании реактивов нельзя наклоняться над отверстием сосуда во избежание попадания брызг на лицо и одежду. При использовании пробиркодержателя необходимо зажимать пробирку ближе к открытому концу. Нельзя также наклоняться над нагреваемой жидкостью, так как ее может выбросить. Никогда не направляйте открытый конец пробирки к себе или в сторону вашего соседа.

12. В лаборатории запрещается пробовать на вкус реактивы, а также принимать пищу, пить и курить.

13. Категорически запрещается хранить бром в хрупкой посуде. Для этого применяют толстостенные склянки с притертыми пробками. Все работы с бромом следует проводить в хорошо вентилируемом вытяжном шкафу, в резиновых перчатках и защитных очках. При попадании брома на кожу необходимо немедленно протереть пораженный участок спиртом, а затем смазать глицерином.

14. Нельзя класть на лабораторные столы посторонние предметы (сумки, шапки и др.), а также вешать в лаборатории верхнюю одежду.