

**ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ – филиал  
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования  
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

*Кафедра микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии*

Лужнова С.А., Куличенко Е.О., Ю.К. Василенко, А.М. Темирбулатова, Е.О. Сергеева,  
И.В. Скульте, Е.П. Парфентьева, С.С. Сигарева.

**Методические рекомендации для преподавателей к практическим занятиям по  
дисциплине «Медицинская биохимия. Принципы измерительных технологий в  
биохимии. Патохимия, диагностика. Биохимия злокачественного роста» - по  
специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия» (уровень специалитета)  
Семестр VIII**

**Пятигорск 2020**

**УДК 577.1 (072)**

**ББК 28.072 я 73**

В 19

Рецензент: к.ф.н. Д.С. Золотых

Авторский коллектив

С.А. Лужнова, к.б.н., доц.; .Е.О. Куличенко; Ю.К. Василенко, д-р мед.наук, проф.;  
А.М. Темирбулатова, канд.фарм.наук; Е.О. Сергеева, канд.фарм.наук; И.В. Скульте,  
канд.фарм наук; Е.П. Парфентьева, канд.фарм.наук, доцент; С.С. Сигарева.

**Методические рекомендации для преподавателей к практическим занятиям по дисциплине «Медицинская биохимия. Принципы измерительных технологий в биохимии. Патохимия, диагностика. Биохимия злокачественного роста» - по специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия» (уровень специалитета) Семестр VIII / С.А. Лужнова [и др.]. – Пятигорск: ПМФИ, 2020 – 66 с.**

Методические рекомендации составлены в соответствии с рабочей программой по дисциплине «Медицинская биохимия. Принципы измерительных технологий в биохимии», разработанной на основе ФГОС ВО по специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия» (уровень специалитета), для студентов 4 курса очной формы обучения. Учебно-методическое пособие преследует цель улучшить организацию труда преподавателя и студента в процессе подготовки и проведения практических занятий.

**УДК 577.1 (072)**

**ББК 28.072 я 73**

*Печатается по решению Центральной методической комиссии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГОУ ВО ВолгГМУ Минздрава РФ*

©ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ – филиал ФГОУ  
ВО ВолгГМУ, 2020

**Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины  
«Медицинская биохимия. Принципы измерительных технологий в биохимии.»**

<b>1. Рекомендуемая литература</b>				
<b>1.1. Основная литература</b>				
	Авторы, составители	Заглавие	Издательств о, год	Колич- во
Л1.1	Под ред. Е. С. Северина	Биохимия : учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд., испр. и доп.	М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015	5
Л1.2	Северин Е.С.	Биохимия: учебник [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <a href="http://www.studmedlib.ru">www.studmedlib.ru</a>	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015	
Л1.3	Зезеров Е.Г.	Биохимия (общая, медицинская и фармакологическая): Курс лекций	МИА, 2014.	15
<b>1.2. Дополнительная литература</b>				
	Авторы, составители	Заглавие	Издательств о, год	Колич- во
Л2.1	Таганович А.Д., Олецкий Э.И., Котович О.Л.	Патологическая биохимия	Бином, 2015	3
Л2.2	Рослый И.М.,	Биохимические показатели в медицине и биологии	МИА, 2015	3
Л2.3	Маршалл В.Дж.	«Клиническая биохимия»	"Бином. Лаборатория знаний", 2015	5
Л2.4	Кишкун А.А.	Клиническая лабораторная диагностика. [Текст] : учеб. пособие:[Электронный ресурс]. – Режим доступа. <a href="http://www.studmedlib.ru">www.studmedlib.ru</a>	ГЭОТАР-Медиа, 2015	
Л2.5	Кишкун А.А.	Руководство по лабораторным методам диагностики. [Текст] 2-е изд., перераб. и доп.	ГЭОТАР-Медиа, 2014	5
Л2.6	Кишкун А.А.	Клиническая лабораторная диагностика : учебное пособие.	ГЭОТАР-Медиа, 2015	5
Л2.7	Литвицкий П.Ф.	Патофизиология. [Текст] : учеб.: в 2 т. 5-е изд., перераб. и доп.	ГЭОТАР-Медиа, 2012	30
Л2.8	Литвицкий П.Ф.	Патофизиология. [Электронный учебник] : учеб.: в 2 т. 5-е изд., перераб. и доп.	ГЭОТАР-Медиа, 2015	
Л2.9	Уилсон К., Уолкер Дж.	Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии.	Бином, 2015.	5
Л2.10	Никулин Б.А.	Пособие по клинической биохимии. [Текст] : учеб. пособие для системы послевузовского профессионального образования	ГЭОТАР-Медиа, 2007	2
Л2.11	Камышников В.С.	Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник: в 2 т.	Минск, Интерпрессе рвис, 2003	3
Л2.12	под ред. Строева Е.А., Макаровой В.Г., Пескова Д.Д.	Патобиохимия.: учеб. пособие	М.:ГОУ ВУНМЦ, 2002	3

Л2.13	Под ред. В.А. Ткачука	Клиническая биохимия. [Текст] : учеб. пособие	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2004	18
Л2.14	Бочков В.Н., Добровольский А.Б., Кушлинский Н.Е. и др. / Под ред. В.А. Ткачука	Клиническая биохимия: учебное пособие - [Электронный ресурс]. – Режим доступа. www.studmedlib.ru	М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008	
Л2.15	Зайчик А.Ш. и др.	Основы патохимии. [Текст] : учеб. пособие для студентов мед. вузов	СПб.: ЭЛБИ, 2000	2
Л2.16	Камышников В.С.	Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. [Текст] : в 2 т.	Минск: Беларусь, 2000	2

## 2. Электронные образовательные ресурсы

1	под ред. Е. С. Северина	Биохимия : учебник / под ред. Е. С. Северина. - 5-е изд., испр. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 768 с. : ил.. [Электронный ресурс]. – Режим доступа. www.studmedlib.ru		
2	Никулин Б.А. / Под ред. Л.В. Акуленко	Пособие по клинической биохимии: учебное пособие. Никулин Б.А. / Под ред. Л.В. Акуленко. 2007. - 256 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа. www..studmedlib.ru		
3	Бочков В.Н., Добровольский А.Б., Кушлинский Н.Е. и др. / Под ред. В.А. Ткачука.	Клиническая биохимия: учебное пособие. Бочков В.Н., Добровольский А.Б., Кушлинский Н.Е. и др. / Под ред. В.А. Ткачука. 3-е изд., испр. и доп. 2008. - 264 с. [Электронный ресурс]. – Режим доступа. www..studmedlib.ru		
4	Кишкун А.А.	Клиническая лабораторная диагностика : учебное пособие Кишкун А.А. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 976 с.		
5	П.Ф. Литвицкий	Патофизиология. В 2 т. Т. 2 [Электронный ресурс] : учебник / П.Ф. Литвицкий. - 5-е изд., перераб. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. .[ Электронный ресурс]. – Режим доступа. www..studmedlib.ru		

## 3. Программное обеспечение

1. Microsoft Office 365.
2. Kaspersky Endpoint Security Russian Edition. 1
3. Office Standard 2016.
4. Microsoft Open License :66237142 OPEN 96197565ZZE1712. 2017
5. Microsoft Open License : 66432164 OPEN 96439360ZZE1802. 2018.
6. Microsoft Open License : 68169617 OPEN 98108543ZZE1903. 2019.
7. Операционные системы OEM, OS Windows XP; OS Windows 7; OS Windows 8; OS Windows 10. На каждом системном блоке и/или моноблоке и/или ноутбуке.
8. Система автоматизации управления учебным процессом ООО «Лаборатория ММИС»
9. Доступ к личному кабинету в системе «4Portfolio».
10. Доступ к личному кабинету в системе «ЭИОС»
11. Система электронного тестирования VeralTest Professional 2.7.
12. eLearningServer, Гиперметод.

### Тематический план лабораторных занятий:

№ занятия	Темы лабораторных занятий
1.	Введение в аналитическую биохимию. Особенности анализа биологических проб. Биохимический аналитический эксперимент. Реактивы и реагенты.
2.	Растворы и буферные растворы, техника проведения реакций в биохимическом анализе.
3.	Методы разделения, очистки и концентрирования в биохимическом анализе.
4.	Особенности применения аналитических методов в изучении биологических образцов. Классификация аналитических методов. Физические методы анализа. Оценка биологической активности образцов в экспериментальной и лабораторной медицине.
5.	Электрофизический и электрохимический анализ биологических образцов. Использование селективных электродов и электрохимических сенсоров в биохимии и лабораторной медицине. Методы объёмного анализа в биохимическом анализе. Осадительный анализ, гравиметрия, манометрические и волнометрические методы анализа.
6.	Особенности титриметрического анализа в аналитической биохимии. Титрование с визуальным установлением точки окончания титрования в анализе и выделении биологически значимых молекул. Инструментальные методы установления точки окончания титрования.
7.	Спектрометрические и спектроскопические методы в биохимическом анализе, общая характеристика их роли в развитии аналитической биохимии. Масс-спектрометрия. Прикладное значение масс-спектрометрии и гибридных подходов на её основе в экспериментальной и лабораторной медицине.
8.	Применение методов атомной и молекулярной спектроскопии в биохимическом анализе. Абсорбционная (спектро)фотометрия. Инфракрасная спектроскопия.
9.	Эмиссионные спектроскопические методы. Преимущества люминесцентного анализа перед фотометрическим в анализе биологических образцов. Флюориметрия и флюорометрия. Хемилюминесцентный анализ в биохимии и медицине. Специальные виды спектроскопии.
10.	Методы, связанные с явлением светорассеяния. Спектроскопия комбинационного рассеяния (рамановская спектроскопия). Методы, основанные на преломлении света. Поляриметрия, особенности её применения к анализу биологических проб. Дифракционные методы.
11.	Радиометрические методы. Значение радиоизотопных методов в биомедицинских исследованиях и клинической диагностике. Ядерная спектроскопия. Практическое использование спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР) в биохимическом анализе и экспериментальной медицине. Перспективные резонансные методы анализа.
12.	Методы преаналитической модификации (дериватизации). Каталитические реакции в биохимии и лабораторной медицине. Использование ферментативных реакций в биохимическом анализе. Способы оценки активности ферментов и их применение в клинической лабораторной диагностике.
13.	Методы концентрирования и разделения в биохимическом анализе. Хроматографические методы идентификации и разделения. Особенности и примеры применения хроматографии в фундаментальных и прикладных исследованиях и в клинической лабораторной диагностике.
14.	Электрофоретические методы идентификации и разделения. Особенности электрофоретического разделения биологических макромолекул. Идентификация веществ после электрофоретического разделения. Иммуноэлектрофоретические методы в практике лабораторной медицины.
15.	Биохимический анализ с использованием методов непосредственного наблюдения. Комплексное использование аналитических подходов в биохимическом анализе: гибридные методы анализа.
16.	Методы решения задачи выбора оптимальных аналитических подходов в биохимических исследованиях и клинической лабораторной диагностике. Получение и подготовка биологических образцов. Хранение биологических проб. Значение современных информационных и телекоммуникационных технологий в деятельности врача-биохимика. Заключительный коллоквиум.

## ПРЕДИСЛОВИЕ

«Медицинская биохимия. Принципы измерительных технологий в биохимии» - один из базовых разделов в подготовке врача-биохимика. В соответствии с рабочей программой и учебным планом по аналитической биохимии, включающей материал этого раздела, на его изучение отведен один семестр (VIII), охватывающий 24 часа лекционного курса, 48 часов практических занятий и 45 часов самостоятельных занятий.

За время практических занятий студент должен не только приобрести практические навыки, но и закрепить теоретические знания, полученные за время лекций и самостоятельной работы. Успех проведения практических занятий определяется организацией подготовки к ним, четким распределением времени самого занятия, осуществлением контроля за подготовкой студентов к занятию и их результатами. Кроме того, каждое занятие должно иметь воспитательное воздействие. Реализация этих требований возможна лишь при правильной организации труда преподавателя и студентов, при четком планировании занятий и подготовки конкретных учебных материалов для студентов. Для реализации этих задач учебного процесса подготовлены настоящие методические рекомендации.

Методические рекомендации составлены в соответствии с рабочей программой дисциплины «Медицинская биохимия», которая разработана в соответствии с федеральным государственным образовательным стандартом высшего образования (ФГОС ВО) по направлению специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия» с учетом рекомендаций основной профессиональной образовательной программы (ОПОП) высшего образования.

Данные методические рекомендации предполагают широкое использование различных методов обучения и контроля знаний студентов, среди которых существенное место отводится устному опросу и тестированию. Методические рекомендации должны улучшить организацию труда преподавателя и студентов в процессе подготовки и проведения практических занятий.

Цель и задачи дисциплины: сформировать знания об основных закономерностях нарушений метаболических процессов, определяющих состояние человека на молекулярном, клеточном и органном уровне, уровне целостного организма, методах их выявления и умение применять полученные знания при решении клинических и экспериментально-медицинских задач.

Задачи освоения дисциплины:

- освоение биохимических методов, применяемых в фундаментальной и клинической медицине;
- изучение биохимических закономерностей развития заболеваний, метаболических нарушений органов и систем;
- формирование у студентов умений пользоваться лабораторным оборудованием и реактивами с соблюдением правил техники безопасности;
- овладение подходами к планированию исследований в экспериментальной и клинической биохимии;

– анализировать результаты биохимических исследований и использовать полученные знания для объяснения характера возникающих в организме человека изменений и диагностики заболеваний;

– формирование навыков аналитической работы с информацией (учебной, научной, нормативно-справочной литературой и другими источниками), с информационными технологиями, диагностическими методами исследования;

– освоение теоретических основ разработки новых биохимических методов с целью решения медицинских задач.

В результате освоения дисциплины студент должен:

Знать:

– биохимию патологических процессов;

– клиничко- диагностическое значение биохимических показателей;

– физико-химические основы нарушений биохимических процессов, принципы современных методов, применяемых в медицинской биохимии;

– биохимию патологических процессов; клиничко-диагностическое значение биохимических показателей;

– физико-химические основы нарушений биохимических процессов, принципы современных методов, применяемых в медицинской биохимии.

Уметь:

– воспроизводить современные методы исследования и разрабатывать новые методические подходы для изучения биохимических процессов в эксперименте и на клиническом материале; интерпретировать результаты клиничко-биохимических исследований;

– участвовать в разработке и совершенствовании систематического биохимического контроля за течением патологического процесса и его лечением.

Иметь навык (опыт деятельности):

– выделения материала для изучения биохимических процессов в организме человека и животных; интерпретации результатов клиничко-биохимических исследований;

– патохимического анализа важнейших клиничко-лабораторных синдромов.

Базовые знания, необходимые для изучения дисциплины:

Математический анализ, теория вероятности и математическая статистика, оптика, атомная физика, информатика, медицинская информатика - знать проявления общих законов физики в процессах жизнедеятельности; владеть основными понятиями термодинамики закрытых и открытых систем; владеть основными понятиями биомеханики, знаниями физико-механических свойств кости и твердых тканей зуба; уметь пользоваться современными компьютерными технологиями, владеть навыками работы в сети Интернет.

Биология - знать общие закономерности происхождения жизни и ее эволюции, индивидуального развития организма, явлений наследственности и изменчивости, соотношения генотипических факторов и условий среды в формировании фенотипа.

Морфология: анатомия человека, гистология, цитология физиология, общая патология, патологическая анатомия, патофизиология - знать общую морфологию клеток и структурные основы их взаимодействия; иметь представления о строении и

биологических функциях плазматической мембраны, ядра клетки, органелл.

Органическая и физическая, неорганическая и общая биохимия - знать общие закономерности протекания химических реакций, иметь представление о кинетике химических реакций; знать типы химических связей и физико-химических взаимодействий; уметь характеризовать реакции нейтрализации, гидролиза и процессы окисления-восстановления; знать основные классы органических соединений.

**В результате освоения дисциплины обучающийся должен овладеть следующими компетенциями:**

- способностью к абстрактному мышлению, анализу, синтезу (ОК-1);
- готовностью к саморазвитию, самореализации, самообразованию, использованию творческого потенциала (ОК-5);
- готовностью решать стандартные задачи профессиональной деятельности с использованием информационных, библиографических ресурсов, медико-биологической терминологии, информационно-коммуникационных технологий и учетом основных требований информационной безопасности (ОПК-1);
- готовностью к использованию основных физико-химических, математических и иных естественнонаучных понятий и методов при решении профессиональных задач (ОПК-5);
- способностью к оценке морфофункциональных, физиологических состояний и патологических процессов в организме человека для решения профессиональных задач (ОПК-7);
- готовностью к применению специализированного оборудования и медицинских изделий, предусмотренных для использования в профессиональной сфере (ОПК-9).
- готовностью к проведению лабораторных и иных исследований в целях распознавания состояния или установления факта наличия или отсутствия заболевания (ПК-4);
- готовностью к оценке результатов лабораторных, инструментальных, патолого-анатомических и иных исследований в целях распознавания состояния или установления факта наличия или отсутствия заболевания (ПК-5);
- способностью к применению системного анализа в изучении биологических систем (ПК-6).



## Занятие №1.

**Тема:** Введение в аналитическую биохимию. Особенности анализа биологических проб. Биохимический аналитический эксперимент. Реактивы и реагенты.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-7; ОПК-9; ПК- 4; ПК-5.

### Работа на занятии.

#### Цели занятия.

*Студенты должны уметь:*

- 1) получить ряд значений биохимического показателя за 25 суток при ежесуточном их определении в двух параллелях в контрольной сыворотке;
- 2) из результатов определений вычислить среднюю величину ( $\bar{X}$ ) с последующим расчетом среднего арифметического ( $\bar{X}$ );
- 3) рассчитать среднеквадратическое отклонение по формуле,

$$S = \pm \sqrt{\frac{\sum(X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

где ( $X_i - \bar{X}$ ) – отклонение каждого определения от средней величины;

$\Sigma$  – знак суммирования; n – число определений;

- 4) установить пределы точности измерений ( $X \pm 1S$ ;  $X \pm 2S$ );
- 5) построить контрольную карту.

#### Цели самоподготовки.

*Студент должен знать:*

- 1) требования и правила безопасности при проведении биохимических исследований;
- 2) характеристику видов биоматериала для анализа.
- 3) последовательность этапов биохимического анализа.
- 4) воспроизводимость и правильность результатов биохимического анализа в качестве критериев качества анализа.

### Технологическая карта занятия

Этапы занятия	Время
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35 мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

#### Организационные вопросы занятия.

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия, интересуется посещением лекций.

#### Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.

Контроль проводится в виде устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

### **Вопросы для обсуждения.**

1. Правила техники безопасности при проведении биохимических исследований.
2. Виды биологического материала для биохимического анализа.
3. Этапы биохимического анализа: методы качественного и количественного анализа биоматериала, аппаратура.
4. Система мер по контролю за качеством выполнения лабораторного анализа, основные этапы: преаналитический, аналитический, постаналитический.
5. Критерии контроля качества лабораторного анализа: специфичность, точность, сходимость, воспроизводимость, правильность, избирательность и чувствительность.
6. Контрольный материал, используемый для внутрилабораторного и межлабораторного контроля качества анализа.
7. Схема проведения внутреннего контроля качества. Построение карты внутрилабораторного контроля качества.

### ***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***

Преподаватель в процессе совместного со студентами разбора материала темы выясняет требования и правила безопасности при проведении биохимических исследований, виды биоматериалов, этапы их анализа с рассмотрением стандартных методик качественного и количественного анализа, подробно разбирает понятия специфичности, точности, сходимости, воспроизводимости, правильности, избирательности и чувствительности биохимического анализа и совместно со студентами проводить построение карты внутрилабораторного контроля качества.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется «Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностики» (В.С. Камышников, Минск:Беларусь,2000, в 2 т.-Т.1.С.142-167).

### **Выполняемая работа.**

Построение карты внутрилабораторного контроля качества.

Рис. 1. Образец карты внутрилабораторного контроля качества.



### Самостоятельная работа студентов.

Каждый студент выполняет работу самостоятельно, используя в качестве ориентировочной основы действия «Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике» (В.С. Камышников, Минск:Беларусь,2000, в 2 т.-Т.1.С.-142-167).

### Итоговый контроль усвоения материала занятия.

Контроль усвоения материала может быть проведен в форме индивидуальной беседы со студентами в процессе построения карты контроля качества.

### Критерии достижения цели занятия.

1. Правильные ответы на вопросы преподавателя.
2. Правильное составление карты контроля качества.

### Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:

1. Введение в аналитическую биохимию.
2. Особенности забора и анализа биологических проб.
3. Биохимический аналитический эксперимент.
4. Реактивы и реагенты, используемые в аналитической биохимии.

### **Занятие№2.**

**Тема:** Растворы и буферные растворы, техника проведения реакций в биохимическом анализе.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК- 4; ПК-5.

### Работа на занятии

#### Цели занятия.

*Студенты должны уметь:*

1. Приготавливать растворы.

#### Цели самоподготовки.

*Студент должен знать:*

1. Характеристику растворов.
2. Виды дисперсных систем в растворах.
3. Представление о количественном содержании вещества в растворе (концентрации).
4. Взятие биоматериала для биохимического анализа.
5. Хранение и подготовку биоматериала к исследованию

### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин

**Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия, интересуется посещением лекций.

**Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

**Вопросы для устного опроса.**

1. Взятие, хранение и подготовка биоматериала к биохимическому анализу.
2. Характеристика растворов.
3. Приготовление растворов.
4. Способы исправления растворов.
5. Виды дисперсных систем в растворах.
6. Представление о количественном содержании веществ в растворе.

**Коррекция исходного уровня знаний студентов.**

Преподаватель в процессе совместного со студентами разбора материала темы выясняет степень знания студентами правил взятия, хранения и подготовки биоматериала к исследованию, вносит дополнения и исправления в разбираемые вопросы. Подробно останавливается на характеристике растворов, их видах, методах приготовления растворов.

**Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется «Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностики» (В.С. Камышников, Минск: Беларусь, 2000, в 2 т.-Т.1.С.18-23).

**Выполняемая работа.**

Приготовление 5% раствора сернокислой меди из кристаллогидрата этого вещества точным и условным способами.

**Самостоятельная работа студентов.**

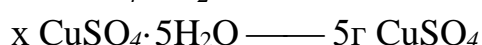
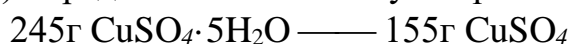
Каждый студент prepares 5% раствор сернокислой меди из кристаллогидрата этого вещества точным и условным способом.

**1. Точный способ**

Расчет навески кристаллогидрата сернокислой меди ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ):

а) молекулярная масса = 245г(155г чистая соль + 90г(18\*5) вода;

б) определение навески путем решения пропорции:



$$x = \frac{5 * 245}{155} = 7,90\text{г}$$

В мерную колбу на 100 мл помещают навеску и доливают водой до метки  
Этикетка: 5%раствор  $\text{CuSO}_4$

(в 100 мл раствора содержится 5г сернокислой меди)

## **2. Условный способ**

Отвешивают 5г кристаллогидрата сернокислой меди ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), помещают навеску в колбу на 100 мл и приливают воду до объема 100 мл (до метки).

Этикетка: 5%раствор  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

Для приготовления неточных растворов используют аптекарские, технико-химические весы и неточную мерную посуду (цилиндры, мензурки).

### **Контроль усвоения материала занятия.**

Контроль усвоения материала может быть проведен в форме индивидуальной беседы со студентами в процессе приготовления растворов.

### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на вопросы преподавателя.
2. Правильное приготовление растворов сернокислой меди двумя способами.

### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Виды и классификация буферных растворов, используемых в биохимическом эксперименте.
2. Техники проведения реакций в биохимическом анализе.

## **Занятие №3.**

**Тема:** Методы разделения, очистки и концентрирования в биохимическом анализе.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК-4; ПК-5.

### **Работа на занятии**

#### **Цели занятия.**

***Студенты должны уметь:***

- разделить смесь аминокислот с помощью метода бумажной (восходящей) хроматографии;
- рассчитать  $R_f$  для каждой аминокислоты;
- описать методы разделения в биохимическом анализе;
- описать метод очистки в биохимическом анализе;
- описать метод концентрирования в биохимическом анализе.

#### **Цели самоподготовки.**

***Студент должен знать:***

- особенности биохимического анализа;
- методы, используемые в биохимии;
- обоснование выбора методов исследования;
- чувствительность различных методов исследования.

### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
----------------------	--------------

1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

### **Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

### **Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

### **Вопросы для обсуждения.**

1. Виды хроматографического анализа.
2. Теоретические основы хроматографии.
3. Возможности метода хроматографического анализа.
4. Этапы проведения анализа
5. Специальные виды хроматографии.
6. Электрофорез.
7. Виды электрофореза.
8. Методы выделения и очистки белков.
9. Биохимическая очистка в биофильтрах.

### **Коррекция исходного уровня знаний студентов.**

Преподаватель совместно со студентами разбирает методы разделения, очистки и концентрирования, применяемые в биохимическом анализе.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по аналитической биохимии.

### **Выполняемая работа.**

**Работа №1. Заполнить таблицу: Методы разделения в биохимическом анализе.**


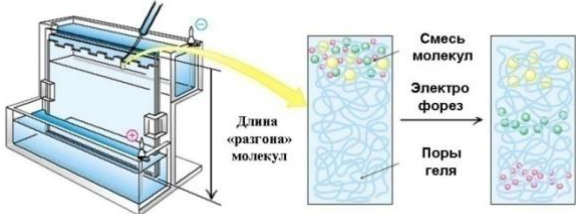
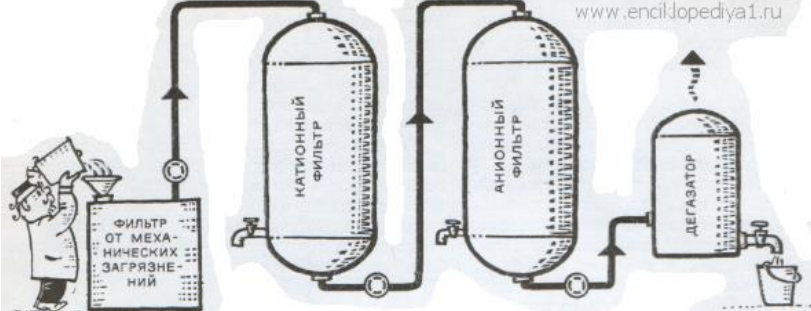

Название метода	Характеристика метода	Используемые приборы

### **Работа №2. Заполнить таблицу: Методы очистки белков.**

Название метода	Описание метода
Очистка белков избирательной денатурацией	
Высаливание	
Гель-фильтрация, или метод молекулярных сит	
Ультрацентрифугирование	
Электрофорез белков	
Ионообменная хроматография	
Аффинная хроматография, или хроматография	

по средству	
Диализ	

**Работа №3. Заполнить таблицу: Соотнесите прибор и метод, где он используется.**

Метод	Прибор
<b>Электрофорез</b>	
<b>Ультрацентрифугирование</b>	
<b>Ионнообменная хроматография</b>	
<b>Распределительная хроматография</b>	

**Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход заполнения таблиц. Преподаватель дает информацию о ходе выполнения лабораторной работы и особенностях ее постановки. Хроматографический метод анализа аминокислот является одним из методов разделения и идентификации аминокислот, определения аминокислотного состава белков и свободных аминокислот сыворотки крови, что имеет клиническое значение. При этом имеет значение степень растворимости аминокислот в воде, что определяет



большее или меньшее продвижение их с подвижной фазой. Содержание аминокислот в сыворотке здоровых людей достаточно постоянно, но может меняться при ряде заболеваний (хронический гепатит, цирроз печени, наследственные заболевания и др.).

### **Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно заполняет таблицы. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

### **Контроль усвоения материала занятий.**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседа со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Перечислите виды хроматографии.
2. Опишите достоинства хроматографического метода.
3. Опишите использование распределительной хроматографии в биохимии.
4. Опишите использование гель-хроматографии в биохимии.
5. Опишите использование ионообменной хроматографии в биохимии
6. Дайте характеристику методам очистки в биохимии.
7. Опишите методы концентрирования в биохимическом анализе.
8. На чем основана хроматография аминокислот?
9. Как рассчитывается коэффициент  $R_f$ , от чего он зависит?
10. Что такое коэффициент  $R_f$ ?
11. Какая система была использована Вами для бумажной хроматографии?

Укажите подвижную и неподвижную фазы.

12. Почему глутаминовая кислота в данной системе отличается наличием скоростного движения?
13. Какая из аминокислот (аланин, лейцин, глутаминовая кислота) обладает наибольшим  $R_f$  и почему?
14. Как влияют физико-химические свойства на показатель  $R_f$ ?
15. Почему разные аминокислоты имеют определенные значения  $R_f$ ? От чего это зависит?

### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильного заполнения таблиц.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Метод маскирования в биохимическом эксперименте.
2. Методы разделения, очистки и концентрирования в биохимическом анализе.

### **Занятие №4.**

**Тема: Особенности применения аналитических методов в изучении биологических образцов. Классификация аналитических методов. Физические**

**методы анализа. Оценка биологической активности образцов в экспериментальной и лабораторной медицине.**

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК-1; ОПК- 5; ОПК-9; ПК- 4; ПК-5.

**Цели занятия.**

***Студенты должны уметь:***

- классифицировать аналитические методы;
- охарактеризовывать физические методы анализа и их значение в биохимическом анализе;
- объяснять особенности биохимического анализа.
- выделять из ткани селезенки дРНП;
- проводить качественную реакцию на ДНК;
- проанализировать результаты биохимических исследований, сформулировать выводы и оформить протокол.

**Цели самоподготовки.**

***Студент должен знать:***

- объекты биохимического анализа;
- аналитические методы анализа, применяемые в биохимическом анализе.

***Студент должен уметь:***

- охарактеризовать физические методы анализа, применяемые в биохимическом исследовании;
- охарактеризовать химические методы анализа, применяемые в биохимическом исследовании;
- охарактеризовать особенности получения и подготовки для биохимического анализа.

**Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

**Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

**Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

**Вопросы для обсуждения.**

1. Характер биологического материала в биохимическом анализе.

2. Особенности получения и подготовки биоматериала для биохимического анализа.
3. Качественный и количественный анализ, применение в медицине, биохимии.
4. Аналитические методы, используемые в изучении биологических образцов.
5. Классификация аналитических методов.

***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***

Преподаватель совместно со студентами разбирает особенности применения аналитических методов в изучении биологических образцов. Обращает внимание студентов на классификацию аналитических методов.

**Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по аналитической биохимии.

**Выполняемая работа.**

**Работа №1. Заполнить таблицу: Методы биохимических исследований, применяемых в клиничко-диагностических лабораториях.**

Метод.	Сущность метода.	Приборы.	Примеры.
Фотоэлектроколориметрический.	Сравнение интенсивности окраски исследуемого раствора с окраской раствора, концентрация которого известна (стандартного раствора).		Определение общего белка, глюкозы, ТАГ в сыворотке и плазме крови.
Спектрофотометрический	Определение количества вещества в растворе или твердой среде по измерению светопоглощения волн строго определенной длины.		Определение количества ионов Na, K и т. д. В сыворотке и плазме крови.
Потенциометрический.	Измерение разности потенциалов между парой подходящих электродов, погруженных в анализируемый раствор.		Определение рН крови.
Электрофорез.	Разделение смеси, состоящей из молекул несущих заряд, на составные компоненты.		Определение количества белковых фракций, изоферментов, в сыворотке и плазме крови.
Хроматография.	Разделение смесей на составные части с помощью адсорбентов (твердых, жидких, газов, гелей)		Определение количества липопротеидов в сыворотке и плазме крови.

**Работа №2. Заполнить таблицу: Методы аналитической химии.**

Название метода	Характеристика метода	Применение методов в медицине
Маскирование		
Разделение и концентрирование		
Осаждение и соосаждение		
Экстракция		
Сорбция		
Методы испарения		
Хроматография		
Гравиметрические методы		
Титриметрические методы		
Кинетические методы		
Биохимические методы		
Электрохимические		
Термические		
Биологические		

**Работа №3. Заполнить таблицу: Методы количественного анализа, используемые в биохимических исследованиях.**

Физико-химические свойства веществ, используемые в анализе	Методы определения (измерения)	Физико-химические свойства веществ, используемые в анализе	Методы определения (измерения)
Экстенсивные свойства Масса (вес) Объем			
Механические свойства Плотность (уд. вес) Вязкость Осмотическое давление			
Термические свойства Температура фазовых превращений (плавления, кипения, замерзания) Теплота реакций (сгорания, нейтрализации) Теплопроводность (газа)			
Электрические свойства Электропроводность Диэлектрическая проницаемость Магнитная восприимчивость			

Сила диффузионного тока на электроде при реакции восстановления или окисления Количество электричества для реакции на электроде Электродный потенциал			
---	--	--	--

**Работа №4. Заполнить таблицу:** Требования, предъявляемые к методам, используемым в биохимии:

Параметр	Характеристика
Точность	
Воспроизводимость	
Чувствительность	
Специфичность	

**Работа 5. Выделение дезоксирибонуклеопротеинов из селезенки.**

**Реактивы.** 5% раствор хлорида натрия, содержащий 0,04 цитрата натрия; 0,4% раствор гидроксида натрия; дифениламинового реактив.

*Приготовление дифениламинового реактива:* 1г дифениламина растворяют в 100мл ледяной уксусной кислоты и добавляют 2,75 мл концентрированной серной кислоты.

**Оборудование.** Ступка с пестиком; стеклянный порошок; пипетки; штатив с пробирками; мерные цилиндры; кристаллизатор; деревянные палочки с насечками; водяная баня.

**Материал.** Свежая или замороженная селезенка.

**Принцип метода.** Метод основан на способности дезоксирибонуклеопротеинов растворяться в растворах солей средней концентрации, с образованием вязких растворов и снова осаждаться при разведении их в виде нитей нуклеопротеинов.

**Ход определения.**

2-3 г ткани селезенки тщательно растирают в ступке со стеклянным порошком, приливая постепенно небольшими порциями 40 мл раствора хлорида натрия. Полученный вязкий раствор фильтруют через 2 слоя марли в малый кристаллизатор. Отмеривают цилиндром шестикратный (по отношению к фильтрату) объем воды очищенной и медленно выливают ее в фильтрат. Образовавшиеся нити дезоксирибонуклеопротеинов осторожно наматывают на деревянную палочку, переносят в пробирку для использования в следующей работе.

**Работа 6. Качественная реакция на ДНК (реакция ДИШЕ).**

**Принцип метода.** Метод основан на способности дезоксирибозы, входящей в ДНК дезоксирибонуклеопротеина, образовывать соединение синего цвета с дифениламином при нагревании в среде, содержащей смесь ледяной уксусной и концентрированной серной кислот. С рибозой РНК аналогичная реакция дает зеленое окрашивание.

**Ход определения.**

Ход определения	Наблюдаемое окрашивание	Принцип реакции
-----------------	-------------------------	-----------------

<p>К <math>\frac{1}{4}</math> части осадка дезоксирибонуклеопротейна приливают 1 мл 0,4% раствора гидроксида натрия (до растворения). Отбирают в пробирку 15-20 капель раствора, добавляют равный объем дифенилового реактива. Содержимое пробирки перемешивают и нагревают на кипящей водяной бане 15 мин.</p>		
---	--	--

### **Практическое значение работы.**

Выделение и очистку дезоксирибонуклеопroteinов из гомогената и ядер клеток с помощью растворов хлорида натрия разной концентрации используют в экспериментальной биохимии. Дифениламиновая проба лежит в основе методов качественного и количественного определения нуклеопroteinов и нуклеиновых кислот в биологическом материале. В клинической цитологии эти реакции применяют при нативной окраске нуклеиновых кислот в мазках клеток крови.

### **Заслушивание рефератов по темам:**

1. Методы аналитической биохимии.
2. Оптические и иммунохимические методы анализа, используемые при проведении клинко-биохимических исследований.
3. Абсорбционная, эмиссионная фотометрия.
4. Электрофорез и хроматография.
5. Потенциометрия (ионометрия).
6. Иммунохимические методы в клинической биохимии.

### **Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход заполнения таблиц. Преподаватель дает информацию о ходе выполнения лабораторной работы и особенностях ее постановки. Преподаватель обращает внимание студентов на то, что в клинической цитологии реакция Дитце используется при нативной окраске нуклеиновых кислот, например, в мазках клеток крови и в экспериментальной биохимии. Результаты работы оформляются протоколом в виде нижеприведенной таблицы.

### **Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно заполняет таблицы. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

### **Контроль усвоения материала занятий.**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседа со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

Что является объектами биохимических исследований?

1. Особенности получения и хранения образцов для исследований.
2. Методы объемно-весового анализа.
3. Элементный анализ.
4. Оптические методы.
5. Электрофорез.
6. Хроматографические методы.
7. Что означает точность, воспроизводимость, чувствительность, специфичность в биохимическом анализе?
8. В чем состоит принцип метода выделения дезоксирибонуклеопротеинов?
9. На чем основана реакция ДИШЕ?
10. Какой реакцией можно обнаружить присутствие дезоксирибозы?
11. Практическое значение выделения дезоксирибонуклеопротеинов из тканей животных.
12. Каково практическое значение дифениловой пробы?
13. Опишите ход работы по выделению дРНП.
14. Опишите ход определения ДНК. Какое при этом должно развиваться окрашивание?

#### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильного заполнения таблиц.
3. Умение выделять дРНП и провести реакцию.
4. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

#### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Особенности применения аналитических методов в изучении биологических образцов.
2. Классификация аналитических методов. Физические методы анализа.
3. Оценка биологической активности образцов в экспериментальной и лабораторной медицине.

#### **Занятие №5.**

**Тема:** Электрофизический и электрохимический анализ биологических образцов. Использование селективных электродов и электрохимических сенсоров в биохимии и лабораторной медицине. Методы объёмного анализа в биохимическом анализе. Осадительный анализ, гравиметрия, манометрические и волюметрические методы анализа.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК-1; ОПК- 5; ОПК-9; ПК- 4; ПК-5.

#### **Цели занятия.**

***Студенты должны уметь:***

- классифицировать электрохимические методы;
- охарактеризовывать электрохимические методы анализа и их значение в биохимическом анализе;
- объяснять особенности методов используемых для биохимического анализа;
- проанализировать результаты биохимических исследований, сформулировать выводы и оформить протокол.

### **Цели самоподготовки.**

#### ***Студент должен знать:***

- общую характеристику электрофизических методов анализа;
- общую характеристику электрохимических методов анализа;
- виды селективных электродов и электрохимических сенсоров;

#### ***Студент должен уметь:***

- охарактеризовать физические методы анализа, применяемые в биохимическом исследовании;
- охарактеризовать химические методы анализа, применяемые в биохимическом исследовании;
- охарактеризовать особенности получения и подготовки для биохимического анализа.

### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

### **Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

### **Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

### **Вопросы для обсуждения.**

1. Характер биологических образцов для использования электрохимических методов анализа.
2. Особенности использования селективных электродов для лабораторной медицины.
3. Обратимые электроды первого и второго рода (водородный и хлорсеребряный). Ионоселективные электроды: стеклянный электрод, устройство и механизм возникновения потенциала.
4. Особенности использования электрохимических сенсоров в биохимии.
5. Осадительный анализ, гравиметрия, манометрические и волюметрические методы анализа используемые в количественном анализе и медико-биологических исследованиях.



### **Коррекция исходного уровня знаний студентов.**

Преподаватель совместно со студентами разбирает особенности применения электрофизических и электрохимических методов в изучении биологических образцов. Обращает внимание студентов на классификацию электрохимических методов.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по аналитической биохимии.

#### **Выполняемая работа.**

Работа №1. Заполнить таблицу:

Электрофизические и электрохимические методы используемые в лабораторной медицине для определения показателей (физиологически активных ионов и биологически активных веществ).

Название метода	Принцип метода	Показатели биологических тканей и жидкостей

#### **Работа №2. Определение pH среды биологических жидкостей.**

##### **Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход заполнения таблицы. Преподаватель дает информацию о ходе выполнения лабораторной работы и особенностях ее постановки. Результаты работы оформляются протоколом.

##### **Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно заполняет таблицу. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

##### **Контроль усвоения материала занятий.**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседа со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Какие вещества определяют в биологических пробах при исследовании?
2. Особенности подготовки биологических образцов для исследований.
3. Электрофизические методы анализа
4. Электрохимические методы анализа.
5. Какие электрохимические методы анализа связанные с применением постоянных факторов возбуждения.
6. Какие электрохимические методы анализа связанные с применением переменных факторов возбуждения.

##### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильного заполнения таблицы.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

**Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Электрофизический и электрохимический анализ биологических образцов.
2. Использование селективных электродов и электрохимических сенсоров в биохимии и лабораторной медицине.
3. Методы объёмного анализа в биохимическом анализе.
4. Осадительный анализ, гравиметрия, манометрические и волюметрические методы анализа.

**Занятие №6.**

**Тема: Особенности титриметрического анализа в аналитической биохимии. Титрование с визуальным установлением точки окончания титрования в анализе и выделении биологически значимых молекул. Инструментальные методы установления точки окончания титрования.**

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК-1; ОПК- 5; ОПК-9; ПК- 4; ПК-5.

**Цели занятия.**

***Студенты должны уметь:***

- классифицировать индикаторы по типу реакции;
- определять интервалы перехода окраски индикатора;
- объяснять особенности титриметрического анализа с визуальным установлением точки титрования;
- проанализировать результаты биохимических исследований, сформулировать выводы и оформить протокол.

**Цели самоподготовки.**

***Студент должен знать:***

- общую характеристику титриметрического метода анализа;
- общую характеристику титрования с визуальным установлением точки титрования;
- общую характеристику индикаторов.

***Студент должен уметь:***

- 1) сформулировать цель анализа;
- 2) составить последовательность этапов титриметрического анализа;
- 3) провести контроль качества метода титриметрического анализа.

**Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин

3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

### **Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

### **Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

### **Вопросы для обсуждения.**

1. Характеристика титриметрического анализа.
2. Особенности использования индикаторов для титрования
3. Классификация индикаторов в зависимости от типа используемой при титровании реакции.
4. Интервалы перехода окраски индикаторов.
5. Требования к реакциям, лежащим в основе титриметрических методов анализа.

### **Коррекция исходного уровня знаний студентов.**

Преподаватель совместно со студентами разбирает особенности применения индикаторов для титрования и интервалы перехода окраски индикаторов. Обращает внимание студентов на требования, лежащие в основе титриметрических методов анализа.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по аналитической биохимии.

### **Выполняемая работа.**

#### **Работа №1. Изобразить в виде рисунка кривые титрования.**

РИСУНОК КРИВОЙ ТИТРОВАНИЯ	ТИТРАНТ	ТИТРУЕМОЕ ВЕЩЕСТВО
Рис 1.	0,1М раствором NaOH	100,0 мл 0,1М HCl
Рис 2.	0,1М раствором NaOH	100,0 мл 0,1М CH <sub>3</sub> COOH
Рис 3.	0,1М раствором NaOH	0,1М HCl и 0,1М CH <sub>3</sub> COOH
Рис 4.	0,1М раствором HCl	100,0 мл 0,1М NH <sub>3</sub>
Рис 5.	0,1М раствором NaOH	100,0мл 0,1М H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
Рис 6.	0,1М раствором HCl	100,0мл 0,1М Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>

### **Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход заполнения таблицы. Результаты работы оформляются протоколом.

### **Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно заполняет таблицу. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

### **Контроль усвоения материала занятий.**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседа со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Каков основной принцип титриметрического анализа?
2. Что такое стандартный (рабочий, титрованный) раствор?
3. Какие методы используют при стандартизации растворов?
4. Что такое установочные вещества и какие требования к ним предъявляются?
5. Какие растворы называют приготовленными, а какие – установленными? Привести примеры.
6. В чем сущность титрований: прямого, обратного, по замещению? Привести примеры.
7. По каким формулам рассчитывают результаты прямого титрования, обратного титрования, титрования по замещению?

### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильного заполнения таблицы.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Особенности титриметрического анализа в аналитической биохимии.
2. Титрование с визуальным установлением точки окончания титрования в анализе и выделении биологически значимых молекул.
3. Инструментальные методы установления точки окончания титрования.

### **Занятие №7.**

**Тема:** Спектрометрические и спектроскопические методы в биохимическом анализе, общая характеристика их роли в развитии аналитической биохимии. **Масс-спектрометрия. Прикладное значение масс-спектрометрии и гибридных подходов на её основе в экспериментальной и лабораторной медицине.**

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК- 4.

### **Работа на занятии.**

### **Цели занятия.**

**Студенты должны уметь:**

- разобрать по рисункам (схемам) и объяснить принцип устройства и работы различных масс-анализаторов;

- написать реферат.

### **Цели самоподготовки.**

#### ***Студенты должны знать:***

- что изучают в масс-спектрометрическом эксперименте;
- общие принципы и методы масс-спектрометрического анализа;
- методы ионизации;
- масс-анализаторы: устройство (общие принципы);
- масс-спектрометрия в структурном анализе органических молекул;
- системы обработки данных;
- хромато - масс-спектрометрия и её аналитические возможности.

#### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

#### **Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

#### **Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

#### **Вопросы для устного опроса.**

1. Теоретические основы методов масс-спектропии.
2. Классификация типов ионов:
  - 1) ионизация электронным ударом;
  - 2) химическая ионизация;
  - 3) бомбардировка быстрыми атомами и др.
3. Устройство масс-спектрометров (общие принципы).
4. Масс-анализаторы:
  - 1) квадрупольный;
  - 2) с ионными ловушками;
  - 3) наноспрей и тандемная масс-спектрометрия в непрерывном режиме;
  - 4) с магнитным сектором;
  - 5) лазерная десорбция/ионизация, ассистируемая матрицей; метод MALDI-TOF.
5. Масс-спектрометрия в структурном анализе органических молекул.
6. Хромато-масс-спектрометрия и её аналитические возможности.

#### ***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***

Преподаватель в процессе совместного со студентами разбора материала темы подчеркивает, что существенное отличие масс-спектрометрии от других аналитических физико-химических методов состоит в том, что оптические, рентгеновские и некоторые другие методы детектируют излучение или поглощение энергии молекулами или атомами, а масс-спектрометрия непосредственно детектирует сама частица вещества. Останавливается на основных типах работы любого масс-спектрометра и подчеркивает особенности различных типов приборов с их возможными применениями.

### Организация самостоятельной работы студентов.

#### Выполняемая работа.

**Работа №1.** Преподаватель дает индивидуальное задание каждому студенту: разобрать по рисунку (схеме) и объяснить принцип устройства и работы различных масс-анализаторов:

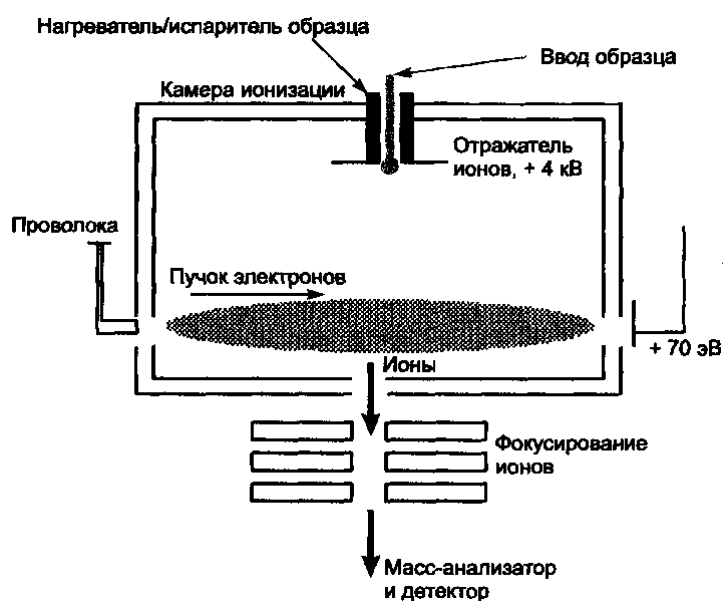


Рис. 9.2. Ионизация электронным ударом. Электроны образуются в результате термоэмиссии из вольфрамовой или рениевой проволоки. Сила тока в проволоке обычно равна 0,1 мА. Электроны ускоряются и направляются в сторону ионизационной камеры, в которой поддерживается положительный потенциал, равный напряжению ускорения; электроны приобретают энергию, обусловленную напряжением между проволокой и камерой ионизации (обычно 70 эВ). Электронная ловушка имеет фиксированный положительный потенциал по отношению к камере ионизации. Газообразные молекулы анализируемого вещества проходят сквозь пучок электронов и при этом ионизируются. Благодаря положительному напряжению отражателя и отрицательному напряжению возбуждения, создающим электрическое поле в камере ионизации, ионы покидают камеру через специальную щель и далее анализируются.

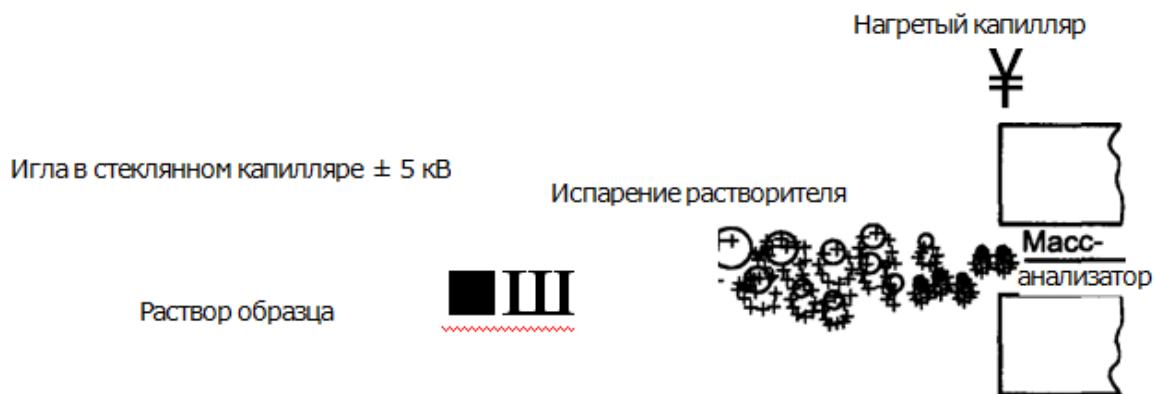


Рис. 9.4. Ионизация методом электроспрея (ESI). В методе ESI очень мелкие капельки анализируемого вещества в растворителе создаются путем атомизации или распыления при введении образца в камеру ионизации через тонкую иглу в стеклянном или сделанном из другого материала капилляре. При попадании образца в камеру ионизации в условиях глубокого вакуума растворитель испаряется. Под действием сильного электрического поля и в результате электростатического отталкивания капли уменьшаются в размерах и в них остается только анализируемое вещество без примеси растворителя. Молекулы анализируемого вещества могут нести на себе несколько зарядов, это зависит от наличия в них ионизируемых групп.

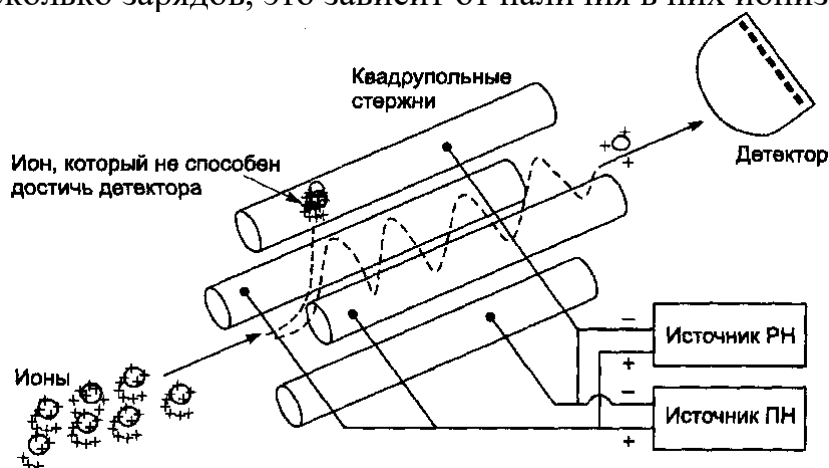


Рис. 9.5. Квадрупольный анализатор. Постоянное (ПН) и переменное радиочастотное (РЧ) электрическое поле заставляют ионы перемещаться по сложной траектории. Для каждого набора полей только определенные траектории являются стабильными, т. е. только ионы со специфическим отношением  $m/z$  способны достигать детектора. Эффективность работы квадрупольного анализатора снижается в результате появления ионов, которые не способны достигать детектора. Поэтому анализатор снабжен набором дополнительных фильтров, удаляющих такие ионы.

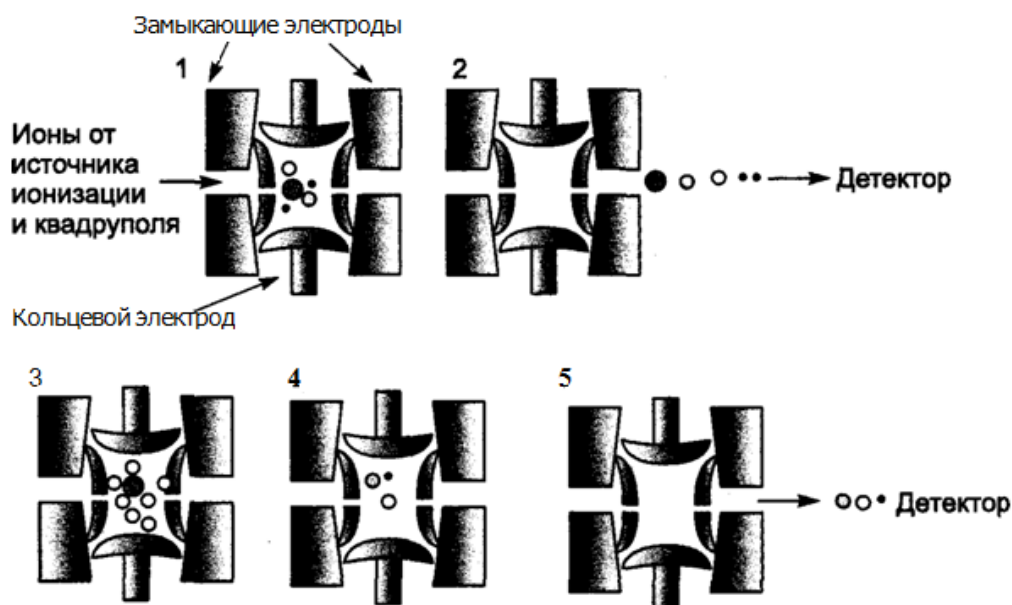


Рис. 9.7. Схема устройства ионной ловушки. Ионная ловушка состоит из трех гиперболических электродов, образующих в цилиндрической камере полость диаметром  $\sim 5$  см; в этой полости удерживаются и анализируются ионы. Каждый замыкающий электрод имеет в центре небольшое отверстие. Ионы от источника ионизации попадают в ловушку через квадруполь и отверстие в замыкающем электроде. На электроды подается напряжение, в результате чего ионы удерживаются (схемы 1 и 2). Кольцевой электрод имеет переменный потенциал с постоянной радиочастотой, но переменной амплитудой. В результате в полости создается трехмерное электрическое поле. Происходит захват ионов, движущихся по стабильным осциллирующим траекториям, что зависит от потенциала и значения  $mJz$ . Для детекции ионов потенциал варьируют, так что траектории ионов становятся нестабильными и ионы отбрасываются из ловушки в аксиальном направлении в сторону детектора в порядке возрастания отношения  $mJz$ . В ловушке поддерживается очень низкое давление гелия; в результате соударений с молекулами гелия, не приводящих к фрагментации ионов, ионы группируются в центре ловушки. Эти соударения в значительной степени замедляют движения ионов, так что при сканировании ионы быстро покидают ловушку в виде компактной группы, что позволяет получать узкие пики с хорошим разрешением. Далее из ловушки выталкиваются все ионы, за исключением ионов с определенным значением  $mJz$ , которые были выбраны для дальнейшей фрагментации (схемы 3, 4 и 5). Эти стадии заключаются в выборе родительского иона (3), его диссоциации за счет соударений (4) и выталкивании фрагментов и их анализе (5).



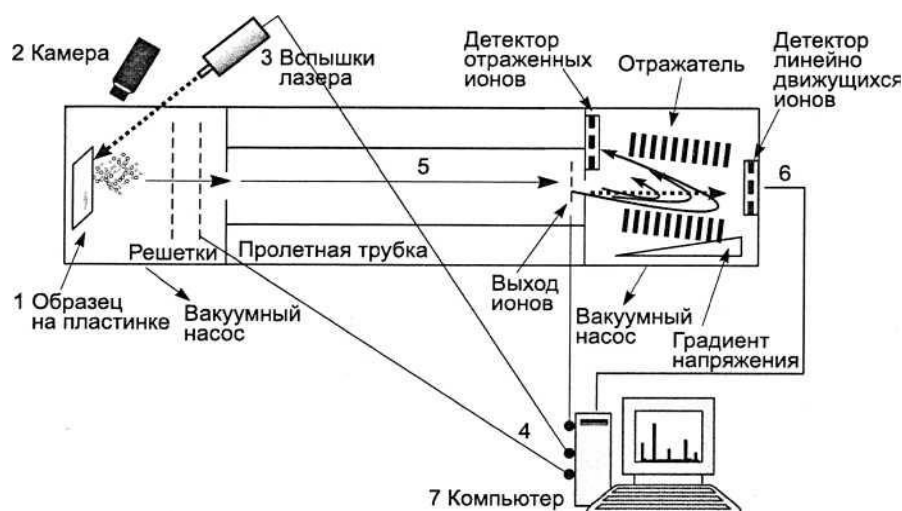


Рис. 9.12. Аппаратурное оформление метода MALDI-TOF. 1) Смешанный с матрицей образец высушивают на специальной пластинке, которую помещают в вакуумную камеру. 2) Камера позволяет следить за положением лазерного луча, чтобы оптимизировать сигнал. 3) Матрицу с образцом облучают лазерными импульсами. 4) Запускают часы для измерения времени полета ионов. 5) При перемещении ионов в трубке они ускоряются под действием электрического поля до одинаковых величин кинетической энергии и разделяются в соответствии со значениями масс. 6) Ионы ударяются о детектор, либо двигаясь линейно (пунктирная стрелка), либо после отражения (сплошные стрелки) через разные промежутки времени в зависимости от значений  $m/z$ . 7) Компьютерная система контролирует настройки прибора, регистрирует сигналы и обрабатывает данные



Рис. 9.11. Принцип работы времяпролетного масс-анализатора (TOF, time-of-flight). Ионы движутся к детектору через трубку, причем более легкие ионы движутся быстрее, более тяжелые — медленнее. Если ионы ускоряют путем наложения одного и того же потенциала  $E$  фиксированной точке и в фиксированный начальный момент времени, они разделятся в соответствии со значениями  $m/z$ . Время нахождения ионов в пути можно перевести в значения масс. Обычно для построения хорошего спектра требуется несколько сотен импульсов лазера, продолжительность каждой вспышки составляет несколько наносекунд. С помощью камеры, отслеживающей вспышку лазера, можно перемещать луч лазера по пластинке с образцов, чтобы найти так называемые «сладкие точки» (sweet spots), в которых состав сокристаллизовавшихся матрицы и образца оптимален для получения наибольшей чувствительности.

### 1. Заслушивание рефератов. Темы рефератов:

1. Применение методов масс-спектрометрии в биохимическом анализаторе:

1) метода электронного удара;

- 2) метода химической ионизации;
- 3) хромато-масс-спектрометрического анализа;
- 4) тандемной масс-спектрометрии (на выбор).

#### **Контроль усвоения материала занятий.**

Для проведения контроля используются следующие вопросы:

1. Охарактеризуйте ионизацию электронным ударом.
2. Охарактеризуйте химическую ионизацию.
3. Охарактеризуйте метод ионизации – электроспрей;
4. Охарактеризуйте бомбардировку быстрыми атомами.
5. Охарактеризуйте масс-анализатор с лазерной десорбцией/ионизацией; метод MALDI/TOF.

#### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильного заполнения таблиц.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

#### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Спектрометрические и спектроскопические методы в биохимическом анализе, общая характеристика их роли в развитии аналитической биохимии.
2. Масс-спектрометрия. Прикладное значение масс-спектрометрии и гибридных подходов на её основе в экспериментальной и лабораторной медицине.

### **Занятие №8.**

**Тема:** Применение методов атомной и молекулярной спектроскопии в биохимическом анализе. Абсорбционная (спектро)фотометрия. Инфракрасная спектроскопия.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК-4; ПК-5.

#### **Работа на занятии.**

##### **Цели занятия.**

***Студенты должны уметь:***

- по рисункам 1.1 – 1.3 разобрать и объяснить свойства электромагнитного излучения;
- по рисункам 1.4 – 1.6 разобрать устройство для атомизации аналита (вещества);
- по рисункам 1.7 – 1.8 разобрать способ атомизации вещества с помощью метода индуктивно связанной плазмы (I.C.P.).

##### **Цели самоподготовки.**

***Студенты должны знать:***

- свойства электромагнитного излучения;
- взаимодействие электромагнитного излучения с материей;

- методы атомной спектроскопии;
- абсорбционная атомная спектроскопия;
- эмиссионная атомная спектроскопия;
- выбор метода для аналитических работ.

### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

#### **Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

#### **Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

#### **Вопросы для устного опроса.**

1. Свойства электромагнитного излучения.
2. Взаимодействие электромагнитного излучения с материей.
3. Методы атомной спектроскопии:
  - 1) атомная абсорбция;
  - 2) эмиссионная атомная спектроскопия:
    - источник индуктивно связанной плазмы (I.C.P.) (принцип работы горелки);
    - 3) сочетание I.C.P. и масс-спектрометрии.
4. Критерии выбора метода для аналитических работ:
  - 1) обнаружительный предел в атомной спектрометрии;
  - 2) аналитический рабочий диапазон;
  - 3) пламенная АА спектрометрия;
  - 4) спектрометрия АА с графитовой печью (GFAA).

#### ***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***

Преподаватель обращает внимание на характеристики взаимодействий электромагнитного излучения с разными структурными «элементами» вещества. Подчеркивает особенности спектров атомов и молекул и применимости каждой области электромагнитного спектра к решению разных биохимических задач. Далее обращает внимание на три основных метода исследуемого вещества в атомной спектроскопии: абсорбционный, эмиссионный и атомная флюоресценция. В процессе обсуждения материала останавливается на первых двух методах более подробно.

#### **Организация самостоятельной работы студентов.**

#### **Выполняемая работа.**

**Работа №1. Преподаватель дает индивидуальное задание каждому студенту: разобрать и объяснить изображенное на рисунке (схеме):**

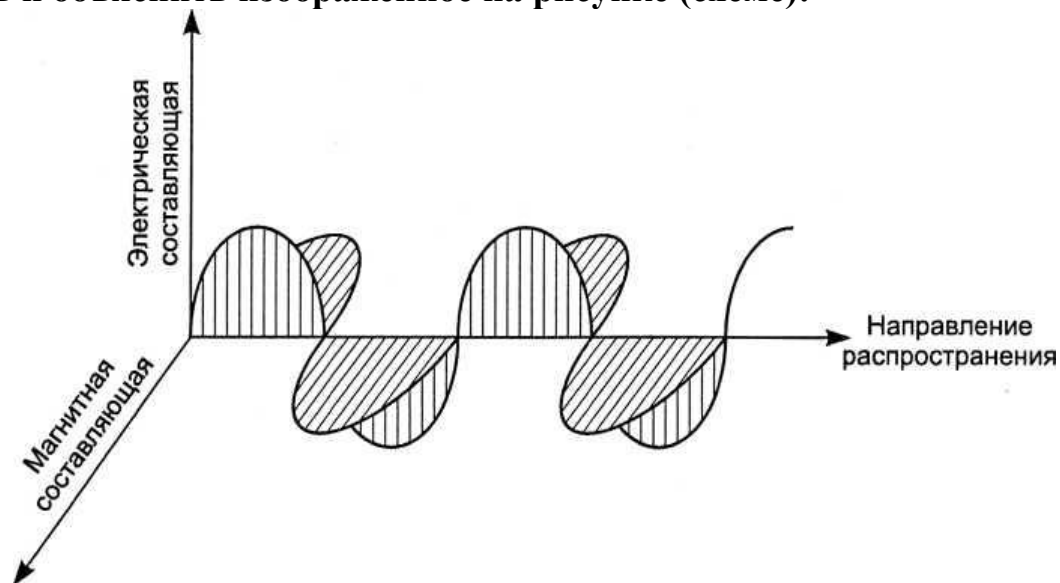


Рис. 1.1 Электрическая и магнитная составляющие электромагнитного поля и направление его распространения. Электромагнитное излучение, как следует из названия, имеет как электрическую, так и магнитную составляющие, колебания (волновой природы) происходят в плоскостях, расположенных под прямым углом друг к другу и к направлению распространения излучения.

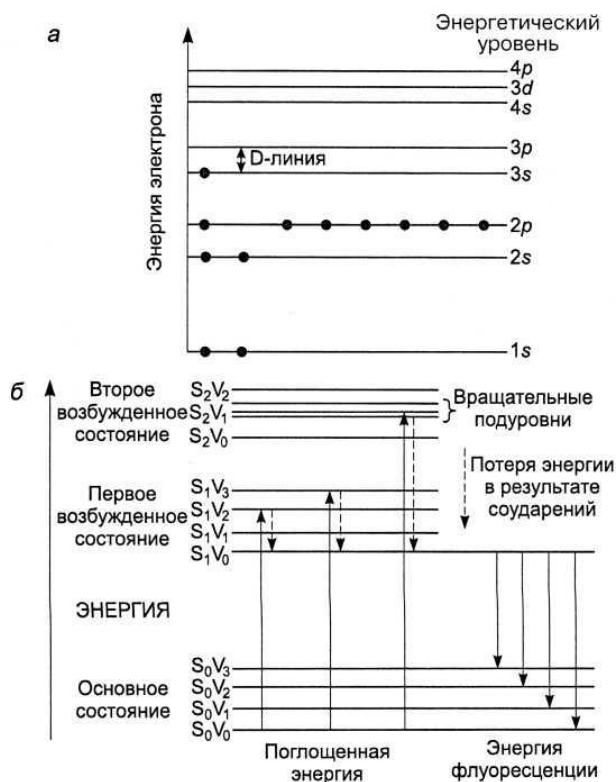


Рис. 1.2 Энергетические уровни и переходы электронов в атоме натрия (а) и в флуоресцирующей органической молекуле (б). Здесь для простоты вращательные уровни указаны лишь для колебательного подуровня  $S_2V_1$ . В большинстве атомов

такие переходы сопровождаются появлением довольно простых линейчатых спектров. В молекулах происходят более сложные процессы, связанные с наличием нескольких типов энергетических уровней. Кроме того, атомы в молекулах могут колебаться и вращаться вокруг осей, образованных связями, в результате чего возникают вращательные и колебательные подуровни энергии. Однако в результате дополнительного расщепления энергетических уровней молекул молекулярные спектры обычно выглядят как полосатые спектры.

Рис. 1.3 Параметры одной волны (синусоиды). Число циклов, происходящих в единицу времени (секунду), соответствует частоте, измеренной в герцах. Длина волны электромагнитного излучения равна  $c/\bar{\nu}$ , где  $\bar{\nu}$  – волновое число электромагнитного излучения, измеряемое в  $\text{см}^{-1}$  или в кайзерах. На рисунке отражено несколько параметров волны. Длину волны следует выражать в долях метра, например в нанометрах (нм), микрометрах (мкм), сантиметрах (см) и т.д. (но не ангстремах ( $\text{Å}$ )), а частоту – в герцах (Гц) (но не циклах в секунду).

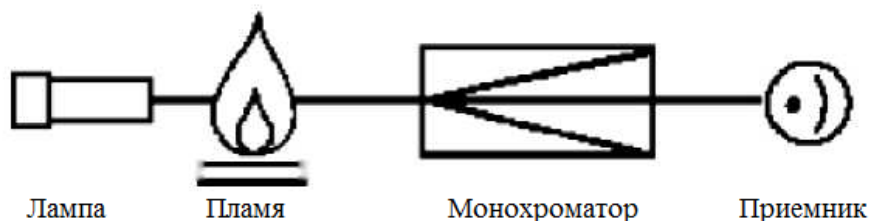
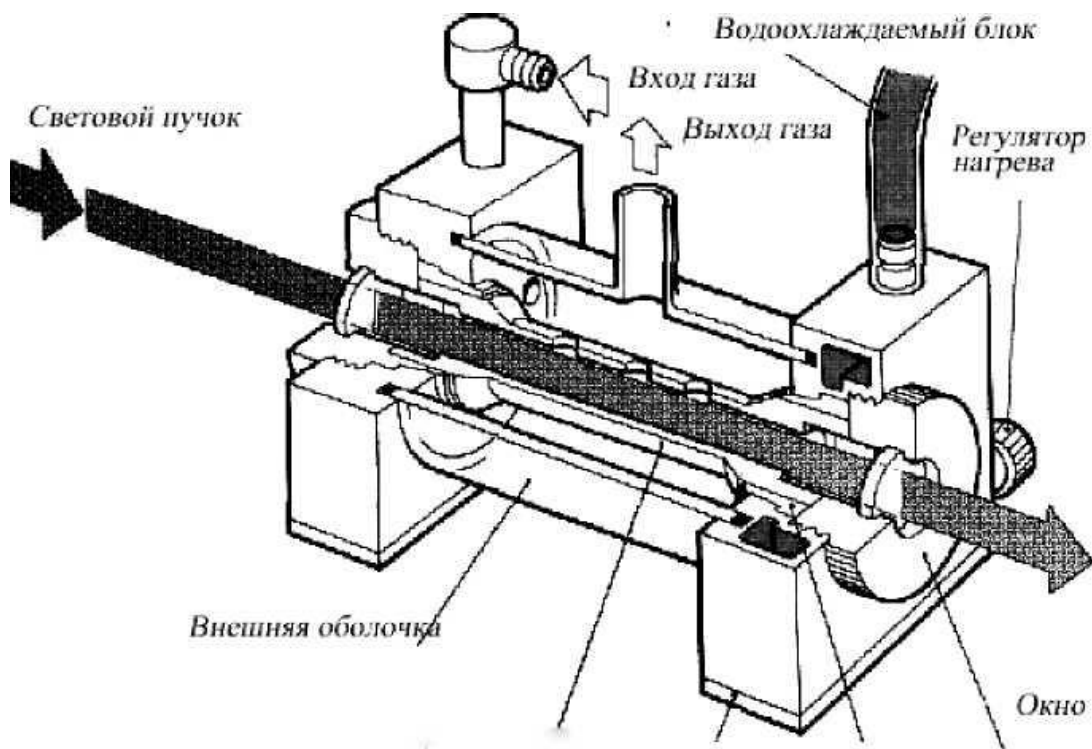


Рис. 1.4 Схема атомно-абсорбционной спектроскопии. Атомный источник должен обеспечивать получение нейтральных атомов аналита изучаемого вещества. Энергия такого источника для получения нейтральных атомов получается путем нагревания вещества с помощью воздушно-ацетиленовой или азотно-кислородно-ацетиленового пламени. Вещество вводится в пламя в виде аэрозоли. Пламенная горелка устанавливается таким образом, чтобы световой пучок проходил через пламя, где свет поглощается атомами аналита.

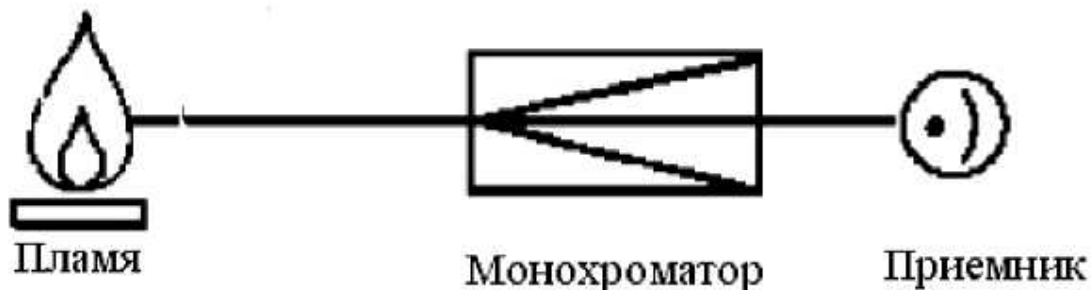


Рис. 1.5 Схема горелки со смесителем и устройствами подвода газов.



**Рис. 1.6 Чертеж графитовой печи с основными деталями.** Образец помещается в графитовую трубку, которая нагревается по определенной программе, позволяющей прогревом при определенной температуре последовательно удалять растворитель и главные сопутствующие (матричные) элементы, а затем атомизировать оставшийся образец.

В результате, все атомы аналита атомизируются при этом они остаются в пределах графитовой печи и соответственно в пределах светового луча в течение всего времени измерений, в результате чувствительность измерений существенно увеличивается. Время анализа при использовании графитовой печи увеличивается, чем при пламенном анализе и малая доля элементов в анализе может быть измерена с помощью GFAA. Таким образом, повышение чувствительности GFAA и способности GFAA анализировать очень малое количество вещества, и при этом имея возможность непосредственно анализировать твердые вещества, значительно расширяют возможности метода атомной абсорбции.



**Рис. 1.7 Схема эмиссионной спектроскопии.**

Излучение возникает тогда, когда энергия теплового нагрева или электронного удара переводит атом вещества в возбужденное или ионизованное состояние.

Свет излучается, когда атом или ион возвращается в исходное (основное) состояние. Излучаемая при этом длина световой волны является специфичной (характеристична) для химических элементов образца.



**Рис. 1.8 Горелка для индуктивно связанной плазмы (ICP).**

Источник ICP представляет аргоновую плазму, которая образуется при взаимодействии высокочастотного электромагнитного поля и ионизованного газа аргона. Этот источник позволяет достичь очень высоких температур, вплоть до 100000К, тогда как для аналитической практики достаточно иметь диапазон 5500-80000К. Эти температуры позволяют атомизировать элементы и минимизировать химическое взаимодействие между ними. ICP образуется путем истечения аргонового газа между двумя кварцевыми трубками, см. рис.1.8.

Высокочастотное электромагнитное поле, взаимодействуя с электрически заряженной плазмой, сжимает ее, отодвигая от стенок, и выталкивает из трубки (горелки), что обеспечивает охлаждение источника. Плазма образуется, когда аргоновый газ становится проводящим в результате электрического разряда, возникающего при взаимодействии аргона с быстрыми электронами и ионами. В области наведенного (индуцированного) электромагнитного поля заряженные частицы (электроны и ионы) быстро перемещаются в кольцевой части трубки. Поскольку они при столкновениях испытывают препятствие для истечения, они нагреваются и дополнительно ионизируются.

**Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильного заполнения таблиц.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

**Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Применение методов атомной и молекулярной спектроскопии в биохимическом анализе.
2. Инфракрасная спектроскопия.
3. Абсорбционная спектроскопия и ее использование в лабораторной диагностике.

## Занятие №9.

**Тема:** Эмиссионные спектроскопические методы. Преимущества люминесцентного анализа перед фотометрическим в анализе биологических образцов. Флюориметрия и флюорометрия. Хемилюминесцентный анализ в биохимии и медицине. Специальные виды спектроскопии.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК-4; ПК-5.

### Цели занятия.

*Студенты должны уметь:*

- охарактеризовать метод инфракрасной спектроскопии, флюориметрии;
- описать преимущества люминесцентного анализа;
- охарактеризовать использование хемилюминесцентного анализа в биохимии.

### Цели самоподготовки.

*Студент должен знать:*

- основы спектроскопии;
- принципы инфракрасной спектроскопии;
- принципы флюориметрии ;
- специальные виды спектроскопии.

### Технологическая карта занятия

Этапы занятия	Время
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

### Организационные вопросы занятия.

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

### Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.

Контроль проводится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

### Вопросы для обсуждения.

1. Основы спектроскопии.
2. Инфракрасная спектроскопия. Использование метода в медицине.
3. Принципы флюориметрического анализа. Флюорометрия.
4. Характеристика хемилюминесцентного анализа и использование его в медицине.
5. Специальные виды спектроскопии.

***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***



Преподаватель совместно со студентами разбирает спектрометрические методы анализа, обращает внимание на использование методов инфракрасной спектроскопии, флюориметрии, хемилюминесцентного анализа в медицине.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по спектрометрическим методам анализа.

#### **Выполняемая работа.**

##### **Работа №1. Заполнить таблицу: Инфракрасная спектроскопия.**

Принцип метода Длина волны	Характеристика метода	Используемые приборы	Применение метода в медицине

##### **Работа №2. Заполнить таблицу: Флюориметрический метод анализа.**

Принцип метода Длина волны	Характеристика метода	Используемые приборы	Применение метода в медицине

#### **Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход заполнения таблиц.

#### **Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно заполняет таблицы. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

#### **Контроль усвоения материала занятий.**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседа со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Перечислите виды спектроскопии.
2. Опишите использование метода инфракрасной спектроскопии.
3. Опишите использование хемилюминесцентного метода в биохимии.
4. Дайте характеристику флюориметрии и флюорометрии.
5. Опишите специальные виды спектроскопии.

#### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильного заполнения таблиц.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

#### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Эмиссионные спектрометрические методы.
2. Преимущества люминесцентного анализа перед фотометрическим в анализе биологических образцов.
3. Флюориметрия и флюорометрия.
4. Хемилюминесцентный анализ в биохимии и медицине.
5. Специальные виды спектроскопии.

## Занятие №10.

**Тема:** Методы, связанные с явлением светорассеяния. Спектроскопия комбинационного рассеяния (рамановская спектроскопия). Методы, основанные на преломлении света. Поляриметрия, особенности её применения к анализу биологических проб. Дифракционные методы.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК-4; ПК-5.

### Цели занятия.

#### *Студенты должны уметь:*

- охарактеризовать методы, связанные с эффектом светорассеяния;
- описать принципы рамановской спектроскопии;
- охарактеризовать использование поляриметрии в биохимии.

### Цели самоподготовки.

#### *Студент должен знать:*

- основы спектроскопии;
- принципы методов, основанных на явлении светорассеяния;
- дифракционные методы

### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

### Организационные вопросы занятия.

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

### Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.

Контроль проводится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

### **Вопросы для обсуждения.**

1. Основы спектроскопии.
2. Нефелометрия. Использование метода в медицине.
3. Турбидиметрия.
4. Характеристика спектроскопии комбинационного рассеяния (рамановская спектроскопия).
5. Поляриметрия. Использование метода в анализе биологических проб.
6. Дифракционные методы анализа.

### **Коррекция исходного уровня знаний студентов.**

Преподаватель совместно со студентами разбирает методы анализа, связанные с явлением светорассеяния, обращает внимание на использование методов в медицине.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по спектроскопии, поляриметрии.

### **Выполняемая работа.**

#### **Работа №1. Заполнить таблицу:**

#### **Работа №1. Заполнить таблицу: Методы, связанные с явлением светорассеяния.**

Название метода	Характеристика метода	Используемые приборы	Применение метода в медицине
1.Нефелометрия			
2.Турбидиметрия			
3.Спектроскопия комбинационного рассеяния (рамановская спектроскопия)			

#### **Работа №2. Заполнить таблицу: Дифракционные методы.**

Виды дифракционных методов	Характеристика метода	Применение методов в медицине
1.Рентгеноструктурный анализ		
2.Электроннография		
3.Дифракция электронов		
4.Нейтрография		
5.Дифракция отраженных электронов-кристаллографический метод		
6.Фотокристаллография		

#### **Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход заполнения таблиц.

#### **Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно заполняет таблицы. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

#### **Контроль усвоения материала занятий.**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседа со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Охарактеризуйте основы спектроскопии.
2. Опишите метод нефелометрии. Его использование в медицине.

3. Опишите метод турбидиметрии. Его использование в медицине.
4. Дайте характеристику спектроскопии комбинационного рассеяния.
5. Перечислите дифракционные методы.
6. Опишите метод поляриметрии и особенности ее применения к анализу биологических проб.

#### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильного заполнения таблиц.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

#### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Методы, связанные с явлением светорассеяния.
2. Спектроскопия комбинационного рассеяния (рамановская спектроскопия).
3. Методы, основанные на преломлении света.
4. Поляриметрия, особенности её применения к анализу биологических проб.
5. Дифракционные методы.

### **Занятие № 11**

**Тема:** Радиометрические методы. Значение радиоизотопных методов в биомедицинских исследованиях и клинической диагностике. Ядерная спектроскопия. Практическое использование спектроскопии электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР) в биохимическом анализе и экспериментальной медицине. Перспективные резонансные методы анализа.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК-4; ПК-5.

#### **Цели занятия.**

##### ***Студенты должны уметь:***

- сформировать понимание принципов, условий применимости и ограничений в использовании методов качественного, количественного и структурного анализа биологически значимых химических соединений в биологических пробах и умение адекватно выбирать необходимые подходы для решения конкретных задач биохимического анализа

#### **Цели самоподготовки.**

##### ***Студент должен знать:***

- основные понятия «надлежащей лабораторной практики» (GLP);
- основные методы аналитической биохимии;
- характеристику аналитических методов исследования;
- особенности статистической обработки и анализа количественных данных в аналитической биохимии;
- особенности применения аналитических методов в изучении биологических

образцов;

- принципы разработки методов аналитической биохимии.

**-уметь:**

а) работать с литературой.

### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

#### **Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия, интересуется посещаемостью лекций и их конспектирования.

#### **Контроль исходного уровня знаний.**

Контроль проводится в виде устного опроса студентов с выставлением оценок в кафедральном журнале.

#### ***Вопросы для устного опроса***

1. Дайте определение понятию радиометрия.
2. Дайте определение понятию радиография.
3. Охарактеризуйте метод изотопного разбавления.
4. Охарактеризуйте метод радиоактивационного анализа
5. Что такое радиоактивный элемент?

#### ***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***

Коррекция исходного уровня знаний студентов проводится преподавателем в процессе опроса и обсуждения правильности ответов с привлечением к обсуждению всех студентов группы.

#### **Организация самостоятельной работы студентов.**

Преподаватель предлагает студентам заполнить самостоятельно задание:

#### **Работа №1.**

**Заполните таблицу. Опишите вклад радиоизотопной диагностики в следующих направлениях:**

<b>Направления</b>	<b>Функции</b>
Гематология	
Кардиология	
Пульмонология	
Нефропатии	
Онкология	
Гормоны	

#### **Самостоятельная работа студентов.**

Студенты самостоятельно выполняют задания и оформляют протокол в рабочей тетради.

### **Контроль усвоения материала занятия.**

Контроль усвоения материала может быть проведен в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Что такое радиофармацевтические препараты (РФП) и с какой целью осуществляют их использование?
2. Для проведения радиоизотопных исследований какие используют основные группы методов?
3. С какими целями используется радиометрия?
4. С какими целями используется радиография?

### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Правильное оформление протоколов.

### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Радиометрические методы.
2. Значение радиоизотопных методов в биомедицинских исследованиях и клинической диагностике.
3. Ядерная спектроскопия.
4. Ренография как наиболее физиологический тест при заболеваниях почек.
5. Радиоизотопные методы исследований.

## **Занятие № 12**

**Тема:** Методы преданалитической модификации (дериватизации). Каталитические реакции в биохимии и лабораторной медицине. Использование ферментативных реакций в биохимическом анализе. Способы оценки активности ферментов и их применение в клинической лабораторной диагностике.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ПК-5.

### **Работа на занятии.**

#### **Цели занятия.**

#### ***Студенты должны уметь:***

- сформировать понимание принципов, условий применимости и ограничений в использовании методов качественного, количественного и структурного анализа биологически значимых химических соединений в биологических пробах и умение адекватно выбирать необходимые подходы для решения конкретных задач биохимического анализа.

#### **Цели самоподготовки.**

#### ***Студент должен знать:***

- основные понятия «надлежащей лабораторной практики» (GLP);
- основные методы аналитической биохимии;

- характеристику аналитических методов исследования;
- особенности статистической обработки и анализа количественных данных в аналитической биохимии;
- особенности применения аналитических методов в изучении биологических образцов;
- принципы разработки методов аналитической биохимии.

**-уметь:**

а) работать с литературой.

### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

### **Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия, интересуется посещаемостью лекций и их конспектирования.

### **Контроль исходного уровня знаний.**

Контроль проводится в виде устного опроса студентов с выставлением оценок в кафедральном журнале.

### ***Вопросы для устного опроса***

1. Дайте определение понятию радиометрия.
2. Дайте определение понятию радиография.
3. Охарактеризуйте метод изотопного разбавления.
4. Охарактеризуйте метод радиоактивационного анализа
5. Что такое радиоактивный элемент?

### ***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***

Коррекция исходного уровня знаний студентов проводится преподавателем в процессе опроса и обсуждения правильности ответов с привлечением к обсуждению всех студентов группы.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

Преподаватель предлагает студентам заполнить выполнить самостоятельно задание:  
**Работа №1. Определение активности альфа амилазы в сыворотке крови и моче по методу Каравая.**

	Контроль (К), мл	Опытная проба (О), мл
Субстратно-буферный раствор	0,5	0,5
Прогреть 5 мин. При 37 °С в водяном термостате; все		

последующие компоненты вносить в пробы, стоящие в термостате.		
Образец	-	0,1
С момента внесения образца выдержать точно 7,5 мин. При 37 °С.		
Раствор соляной кислоты 0,1н	4,0	4,0
Образец	0,1	-
Раствор йода 0,01 н.	0,5	0,5

Расчет производится по формуле:

$$\text{Активность, мг/л*сек} = \frac{A_k - A_o}{A_k} \times 44,4 K$$

где  $A_k$  – оптическая плотность контрольной пробы;

$A_o$  – оптическая плотность опытной пробы;

$K$  – коэффициент разведения

Нормальные величины:

В сыворотке (плазме) крови 3,3–8,9 мг/л\*сек;

В моче до 44 мг/л\*сек.

**Работа №2. Заполните таблицу. Опишите общие методы определения активности ферментов.**

Методы	Функции
Спектрофотометрические методы	
Колориметрические (фотометрические) методы	
Манометрические методы	

**Работа №3. Заполните таблицу. Опишите виды катализа**

Вид катализа	Функции
Гомогенный катализ	
Гетерогенный катализ	
Катализ второго уровня	
Ферментативный катализ	

### Самостоятельная работа студентов.

Студенты самостоятельно выполняют задания и оформляют протокол в рабочей тетради.

### Контроль усвоения материала занятия.

Контроль усвоения материала может быть проведен в форме индивидуальной беседы в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:



1. Что такое радиофармацевтические препараты (РФП) и с какой целью осуществляют их использование?
2. Для проведения радиоизотопных исследований какие используют основные группы методов?
3. С какими целями используется радиометрия?
4. С какими целями используется радиография?

#### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Правильное оформление протоколов.

#### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Методы преданалитической модификации (дериватизации).
2. Каталитические реакции в биохимии и лабораторной медицине.
3. Использование ферментативных реакций в биохимическом анализе.
4. Способы оценки активности ферментов и их применение в клинической лабораторной диагностике.

### **Занятие №13**

**Тема: Методы концентрирования и разделения в биохимическом анализе. Хроматографические методы идентификации и разделения. Особенности и примеры применения хроматографии в фундаментальных и прикладных исследованиях и в клинической лабораторной диагностике.**

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК-4; ПК-5.

#### **Цели занятия.**

##### **Студенты должны уметь**

- классифицировать методы разделения и концентрирования;
- охарактеризовать количественные характеристики разделения и концентрирования;
- классифицировать хроматографические методы;
- объяснять особенности хроматографических методов, используемых для биохимического анализа;
- проанализировать результаты биохимических исследований, сформулировать выводы и оформить протокол.

#### **Цели самоподготовки.**

##### **Студент должен знать:**

- теоретические основы хроматографического разделения;
- теорию эффективности хроматографических колонок;
- сущность ионообменной, газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

**Студент должен уметь:**

- охарактеризовать методы ионообменной хроматографии, иониты, ионообменное равновесие;
- охарактеризовать методы газовой хроматографии и способы обработки хроматограмм;
- охарактеризовать методы жидкостной хроматографии.

### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

### **Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

### **Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

### **Вопросы для обсуждения.**

1. Методы маскирования, разделения и концентрирования.
  - a. Методы разделения гетерогенных смесей веществ;
  - b. Методы разделения гомогенных смесей веществ :
    - 1) Методы разделения, основанные на образовании новой фазы ;
    - 2) Мембранные методы разделения веществ ;
    - 3) Методы внутрифазного разделения;
    - 4) Методы разделения, основанные на различиях в распределении веществ между двумя фазами.
2. Краткая история развития хроматографии.
3. Теоретические основы хроматографических процессов.
4. Классификация хроматографических методов разделения и анализа.
5. Газовая хроматография:
  - a. Аппаратура для газовой хроматографии;
  - b. Подвижная и неподвижная фазы;
  - c. Качественный и количественный анализ.
6. Жидкостная колоночная хроматография.
  - a. Ионообменная хроматография, ионная хроматография;
  - b. Аппаратура для колоночной жидкостной хроматографии.
7. Плоскостная бумажная и тонкослойная хроматография: качественный и количественный анализ.
8. Сверхкритическая флюидная хроматография.
9. Использование хроматографических методов анализа.

10. Последние достижения в области применения хроматографических методов анализа.

11. Лабораторные работы по хроматографическим методам анализа.

### ***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***

Преподаватель совместно со студентами разбирает методы концентрирования и разделения в биохимическом анализе. Обращает внимание студентов на классификацию хроматографических методов.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по аналитической биохимии.

#### **Выполняемая работа.**

Работа №1. Разделение меди (II) и железа (III) методом ионообменной хроматографии с последующим титриметрическим определением меди и фотометрическим определением железа.

Медь(II) и железо(III), совместно присутствующие в водном растворе, можно разделить на катионообменнике. Предварительно катионит, которым заполнена хроматографическая колонка, переводят в Н-форму, пропуская через колонку раствор 1 моль/л HCl. При этом все катионы, которые могли присутствовать в сорбенте, обмениваются на ионы H<sup>+</sup>, переходят в раствор и уносятся с ним из колонки. После этого через колонку пропускают дистиллированную воду.

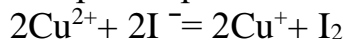
Для разделения меди(II) и железа(III) их переводят в комплексные соединения с противоположными знаками зарядов, прибавляя в анализируемый раствор сульфосалициловую кислоту и аммиак. В этих условиях медь(II) образует положительно заряженный комплекс  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ , а железо(III) — отрицательно заряженный сульфосалицилатный комплекс, состав и заряд которого зависят от концентрации прибавленной сульфо-салициловой кислоты и pH среды. Обычно считается, что в условиях проведения анализа образуется трисульфосалицилатный (три аниона сульфосалициловой кислоты связаны с одним атомом железа(III)) анионный комплекс железа (III) желтого цвета с максимумом в спектре поглощения около 416 нм.

При пропускании полученного раствора через колонку с катионитом в Н-форме катионы  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$  сорбируются на катионите, тогда как отрицательно заряженные сульфосалицилатные комплексы железа(III) на катионите не сорбируются и уносятся с ПФ, которую собирают в мерной колбе. После этого через колонку несколько раз пропускают смесь растворов сульфосалициловой кислоты и аммиака, собирают элюат в ту же мерную колбу, которую затем доводят до метки дистиллированной водой, и получают раствор желтого цвета, содержащий все исходное железо(III).

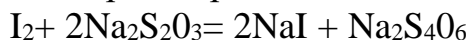
Медь(II) затем элюируют из колонки раствором HCl, собирая элюат в другую мерную колбу. Для этого через колонку с катионитом, содержащим медь(II), пропускают 4 моль/л раствор HCl, после чего колонку несколько раз промывают дистиллированной водой до отрицательной реакции на медь(II). Аммиачный комплекс меди (II) разрушается, и медь(II) элюируется уже в форме хлоридных комплексов.

Элюат и промывные воды, собранные в мерной колбе, доводят дистиллированной водой до метки и получают раствор, содержащий всю отделенную медь(II).

Содержание меди (II) в растворе определяют иодометрическим титрованием. Для этого к аликвотной части раствора, содержащего медь (II), прибавляют избыток 10%-ного раствора KI и оставляют смесь на несколько минут. Протекает реакция



Образовавшийся иод оттитровывают стандартным раствором тиосульфата натрия в присутствии индикатора — крахмала до исчезновения синей окраски титруемого раствора:



Определение железа(III) можно провести фотометрически, например, на фотоэлектроколориметре с использованием светофильтра с максимумом поглощения около 400 нм, измеряя оптическую плотность анализируемого раствора относительно раствора сравнения — дистиллированной воды.

Работа №2. Расчет содержания вещества по результатам ГЖХ-анализа с использованием внутреннего стандарта. Примеси остаточного растворителя — изопропанола — в лекарственном препарате амиодарон определяют методом ГЖХ с использованием внутреннего стандарта —  $\mu$ -пропанола. Для расчетов используют формулу

$$\frac{S_{\text{ст}}}{S_x} = k \frac{m_{\text{ст}}}{m_x},$$

где  $S_{\text{ст}}$  и  $S_x$  — площади пиков на хроматограмме, относящихся к стандарту (н-пропанолу) и определяемому веществу (изопропанолу);  $m_{\text{ст}}$  и  $m_x$  — масса стандарта и определяемого вещества в анализируемой пробе;  $k$  — поправочный коэффициент.

Для нахождения поправочного коэффициента провели хроматографирование 5 эталонных смесей с точно известным содержанием  $\mu$ -пропанола и изопропанола, измерили площади их пиков и по вышеприведенной формуле рассчитали среднее значение поправочного коэффициента, оказавшееся равным  $k = 2,56$ .

Для определения содержания изопропанола в анализируемом препарате амиодарона навеску 0,3000 г препарата растворили в 3 мл раствора внутреннего стандарта —  $\mu$ -пропанола в ледяной уксусной кислоте с содержанием н-пропанола 0,0002 г/мл и получили испытуемый раствор. Отобрали микрошприцем 3 мкл испытуемого раствора, ввели в испаритель хроматографа и провели хроматографирование. По хроматограмме измерили площади пиков  $S_{\text{ст}} = 24$ ,  $S_x = 21$  (в одинаковых единицах измерения).

Требуется определить содержание примеси изопропанола в амиодароне в процентах. Регламентируемое содержание данной примеси в препарате — не более 0,5%.

*Решение.* Найдем массу  $m_x$  изопропанола в испытуемой пробе объемом 3 мкл, воспользовавшись вышеприведенной формулой:

$$m_x = km_{\text{ст}} \frac{S_x}{S_{\text{ст}}} = 2,56m_{\text{ст}} \frac{21}{24} = 2,24m_{\text{ст}}.$$

Масса стандарта в пробе объемом 3мкл равна:

$$m_{\text{ст}} = 3 \cdot 0,0002 \cdot 10^{-3} = 6 \cdot 10^{-7} \text{ г.}$$

Тогда:

$$m_x = 2,24 \cdot 6 \cdot 10^{-7} = 1,344 \cdot 10^{-6} \text{ г.}$$

Масса изопропанола  $m$  в испытуемом растворе (т.е. в навеске препарата **0,3000** г) объемом **3** мл, очевидно, в **1000** раз больше (**1** мл = **1000** мкл):

$$m = 1000m_x = 1,344 \cdot 10^{-3} \text{ г.}$$

Теперь рассчитаем содержание  $W$  в процентах примеси изопропанола в навеске препарата массой 0,3000 г:

$$W = \frac{m}{0,3000} \cdot 100 = \frac{1,344 \cdot 10^{-3}}{0,3000} \cdot 100 = 0,45\%,$$

что укладывается в рамки регламентируемого содержания изопропанола в препарате амиодарона.

### **Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход решения задач. Результаты работы оформляются протоколом.

### **Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно решает задачи. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

### **Контроль усвоения материала занятий.**

1. Опишите принципы газовой хроматографии.
2. Какие соединения можно определять методом газовой хроматографии?
3. Назовите основные виды газовой хроматографии.
4. Сравните эффективность набивных и капиллярных колонок по числу теоретических тарелок
5. Сравните по разрешающей способности капиллярные колонки с модифицированными внутренними стенками, капиллярные колонки, заполненные модифицированными носителями, и колонки с капиллярами с пористым слоем
6. Опишите принципы работы следующих типов детекторов для газовой хроматографии: а) катарометра, б) пламенно-ионизационного, в) электронного захвата.
7. Опишите принципы хромато-масс-спектрометрии. Каковы преимущества метода ГХ-МС?
8. Что такое молекулярный ион?
9. Сформулируйте «азотное правило».

10. Какие источники ионизации обычно используют в ГХ-МС?
11. Какие масс-анализаторы обычно используют в ГХ-МС?
12. Каковы отличия высокоэффективной жидкостной хроматографии от традиционной?
13. Что такое нормально-фазовая хроматография? Что такое обращено-фазовая хроматография?
14. Назовите основные отличия между микропористыми, перфузионными и непористыми частицами? Каковы особенности этих частиц?
15. Какое преимущество дает применение узких колонок в ВЭЖХ?
16. Как влияет температура на разделение методом ВЭЖХ?
17. Что такое молекулярные сита?
18. Перечислите факторы, влияющие на селективность ионообменных смол.
19. Опишите основы ионной хроматографии.
20. Что такое время удерживания? Что такое  $R_f$ ?

#### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильно решать задачи.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

#### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Методы концентрирования и разделения в биохимическом анализе.
2. Хроматографические методы идентификации и разделения.
3. Особенности и примеры применения хроматографии в фундаментальных и прикладных исследованиях и в клинической лабораторной диагностике.

### **Занятие №14**

**Тема: Электрофоретические методы идентификации и разделения. Особенности электрофоретического разделения биологических макромолекул. Идентификация веществ после электрофоретического разделения. Иммуноэлектрофоретические методы в практике лабораторной медицины.**

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК-4; ПК-5.

#### **Цели занятия.**

##### ***Студенты должны уметь:***

- классифицировать электрофоретические методы разделения и анализа веществ;
- охарактеризовывать электрофоретические методы анализа и их значение в биохимическом анализе;
- объяснять особенности методов используемых для биохимического анализа;
- проанализировать результаты биохимических исследований, сформулировать выводы и оформить протокол.

#### **Цели самоподготовки.**

### **Студент должен знать:**

- общую теорию электрофореза;
- особенности электрофоретического разделения биологических макромолекул;
- особенности электрофореза в полиакриламидном геле;
- приборное оснащение.

### **Студент должен уметь:**

- работать с прибором для разделения проб методом электрофореза;
- идентифицировать вещества после электрофоретического разделения;
- охарактеризовать особенности получения и подготовки проб для биохимического анализа.

### **Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35 мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

### **Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

### **Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

### **Вопросы для обсуждения.**

1. Общая теория электрофореза.
2. Особенности электрофоретического разделения биологических макромолекул. Классификация электрофоретических методов разделения и анализа веществ. Электрофорез с подвижной границей.
3. Зональный электрофорез.
4. Электрофорез на бумаге.
5. Электрофорез на ацетате целлюлозы.
6. Электрофоретическое разделение фракций крови и фракций липопротеинов плазму крови в клинической лабораторной диагностике.
7. Электрофорез в полиакриламидном и агарозном гелях.
8. Электрофорез белков и нуклеиновых кислот в гелях.
9. Идентификация патологических белков в биологических жидкостях человека. Идентификация веществ после электрофоретического разделения.
10. Непрерывный электрофорез.
11. Особенности применения электрофореза в биохимическом анализе в препаративных целях.
12. Изоэлектрофокусирование.
13. Изотахофорез.

14. Хроматофокусирование.
15. Иммуноэлектрофоретические методы.

### ***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***

Преподаватель совместно со студентами разбирает электрофоретические методы в биохимическом анализе. Обращает внимание студентов на технику работы с прибором при выполнении электрофореза.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по аналитической биохимии.

### **Выполняемая работа.**

**Работа №1.** Способы проявления электрофореграмм. Проявление геля электрофореграмм кумасси ярко-синим.

Реактивы

1. Кумасси ярко-синий марок R250 и G-250
2. Этанол (300мл)
3. Ледяная уксусная кислота (150мл)
4. ТХУ, 12%-ный раствор (200 мл)

Оборудование

1. Водяная баня(электроплитка, емкость для кипячения)
2. Ванночки и стаканы для проявления и отмывки геля.
3. Стеклянные воронки, фильтровальная бумага.
4. Цифровая фотокамера.

Ход работы

Способ1. Окраска кумасси ярко-синим R250, совмещенная с фиксацией

- 1) Подготавливают кипящую водяную баню, установленную в вытяжном шкафу.
- 2) Готовят раствор красителя следующего состава: этанол – 300 мл, ледяная уксусная кислота – 60 мл, кумасси R250 – 0,7г. При необходимости фильтруют (под тягой).

3) Гель помещают в стакан и заливают пятикратным (относительно объема геля) объемом раствора красителя. Стакан с гелем помещают на водяную баню в вытяжной шкаф и кипятят 10 мин. При комнатной температуре окраска также возможна, но займет 4 – 5 ч.

4) Сливают краситель из стакана, промывают гель дистиллированной водой и заливают 7%-ной уксусной кислотой. Кипятят на водяной бане 5 мин, затем дважды меняют раствор уксусной кислоты на свежий и повторяют кипячение. Добавление в раствор уксусной кислоты мелких кусочков фильтровальной бумаги, сорбирующей краситель, ускоряет отмывку.

**Работа №2.** Экстракция белков из растительных тканей.

Приборы и реактивы

1. Растительный материал
2. Среда для выделения ферментов:  
5 мл 0,45 М КНРО  
0,00792 г аскорбата  
0,92 г поливинилпирролидона (ПВП)



0,9 мл 0,05 МЭДТА

Довести рН до 7,0

добавить 25 мкл Тритона X-100

довести объем до 45 мл

3. Ступки с пестиками (предварительно охлажденные)

4. Жидкий азот

5. Центрифуга с охлаждением

### **Ход работы**

Для определения пероксидазной активности 1 г растительного материала 1 г (корни или побеги) фиксируют жидким азотом и затем гомогенизируют в ступке с 4 мл фосфатного буфера (рН 8,0). Гомогенат центрифугируют при 7000 об/мин 15 мин, используют надосадочную жидкость.

При необходимости выделения хлоропластной фракции ферментов. Навеску листьев (1 г) растирают в охлажденной ступке с 7 мл среды выделения. Гомогенат отжимают в центрифужные пробирки через четырехслойную марлю. Уравновешанные пробирки центрифугируют 7 мин при 1000g. После центрифугирования супернатант сливают, а осадок ресуспендируют в 3,5 мл среды (50 mM КНРО, 1 mM ЭДТА, 0,05% тритон-X100, 1 mM аскорбиновая кислота, рН 7,7) затем снова уравновешивают и повторно центрифугируют 20 мин при 16000g. Для дальнейших исследований используют надосадочную жидкость. Для выделения общеклеточной ферментной фракции навеску листьев (1 г) растирают в 3,5 мл среды выделения (50 mM КНРО, 1 mM ЭДТА, 0,05% тритон-X100, 1 mM аскорбиновая кислота, рН 7,7). Суспензию центрифугируют 20 мин при 16000g, Надосадочную жидкость вносят в «карманы» на пластине геля.

**Работа №3.** Подготовка проб крови и мышечной ткани для электрофоретических исследований.

Кровь крысы (2-3 мл) собирают в сухую центрифужную пробирку и оставляют на 30 мин при 37 С. По окончании экспозиции стеклянной палочкой осторожно отделяют сгусток от стенок пробирки, кровь центрифугируют (10 мин, 3000 об/мин). Полученную сыворотку сливают в чистую пробирку.

При изучении изоформного состава тайтина могут использоваться как свежие образцы скелетных и сердечных мышц, так и образцы, хранившиеся непродолжительное время при температуре -80 С.

Образцы мышечной ткани инкубируются в солюбилизирующем растворе в течение 30-40 минут при комнатной температуре (20-30 С). Солюбилизирующий раствор должен содержать 10 mM трис-HCl, 1,5% ДСН, 10% глицерина, 2% β-меркаптоэтанола (или 75 mM ДТТ), 8-10 мкг/мл ингибитора протеиназ леупептина или E-64, рН 6,8-7,0. Раствор, полученный в результате солюбилизации используется для проведения электрофоретического исследования.

### **Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход решения задач. Результаты работы оформляются протоколом.

### **Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно решает задачи. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

### **Контроль усвоения материала занятий.**

1) Классификация различных электрофоретических методов разделения макромолекул (аналитические и препаративные методы разделения в электрическом поле, электрофорез со свободной границей, зональный электрофорез, вытеснительные методы электрофореза).

2) Перемещение частиц в электрическом поле. Зависимость скорости перемещения от напряженности электрического поля, заряда частицы и силы трения, препятствующей движению заряженной частицы. Влияние ионной силы на перемещение частиц в электрическом поле. Зависимость скорости перемещения заряженной частицы от ее молекулярной массы и формы.

3) Электрофорез с подвижной границей. Различные виды зонального электрофореза. Бумажный электрофорез и разделение аминокислот и пептидов. Зависимость электрофоретической подвижности аминокислот от  $pK$  и  $pH$ . Условия разделения аминокислот и пептидов на бумаге. Используемые буферы и приборное оснащение. Методы детекции аминокислот, пептидов и нуклеотидов при электрофорезе на бумаге. Электрофорез на нитроцеллюлозе.

4) Электрофорез в крахмале, агарозе и полиакриламидном геле. Достоинства полиакриламидного геля. Механические и оптические свойства полиакриламидных гелей.

5) Способы детекции белков в полиакриламидном геле (окрашивание анионными красителями Кумасси и амидовый черный, окрашивание универсальным красителем stains-all, осаждение кислотами, окрашивание серебром).

6) Капиллярный электрофорез. Приборное оснащение, влияние электроэндоосмоса. Различные варианты капиллярного электрофореза (зональный электрофорез, мицеллярная электрокинетическая хроматография, капиллярный гель-электрофорез, использование изоэлектрофокусирования и изотахофореза в капиллярном электрофорезе).

7) Одно- и двумерное электрофоретическое разделение белков. Элюция белков с геля и определение их молекулярной массы с помощью методов масс-спектрокопии.

8) Изотахофорез. Принципы метода и его разрешающая способность. Управляющее уравнение Кольрауша и соотношение концентрации исследуемых веществ в разделяемых зонах. Техническое оснащение метода изотахофореза. Использование амфолинов для разделения зон веществ, фракционируемых при изотахофорезе. Разрешающая способность изотахофореза и сравнение процессов, происходящих при изотахофорезе, с процессами, происходящими при диск-электрофорезе.

### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильно решать задачи.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

**Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Элетрофоретические методы разделения белков в диагностике заболеваний.
2. Свободный (фронтальный) электрофорез.
3. Зональный электрофорез.

**Занятие №15.**

**Тема: Биохимический анализ с использованием методов непосредственного наблюдения. Комплексное использование аналитических подходов в биохимическом анализе: гибридные методы анализа.**

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОК-5; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК- 4; ПК-5.

**Работа на занятии**

**Цели занятия.**

- сформировать у студентов понимание принципов, условий применимости в использовании методов количественного и структурного анализа биологически значимых химических соединений в биологических пробах и умение адекватно выбирать необходимые подходы для решения конкретных задач биохимического анализа.

***Студенты должны уметь:***

-описать значение и принцип основных биохимических методов, применяемых в диагностической медицине;

- описать методы биохимического исследования: аналитические методы и методы разделения.

**Цели самоподготовки.**

**Студент должен знать:**

-методы непосредственного наблюдения

-аналитические методы и методы разделения, применяющиеся в биохимических исследованиях биологических жидкостей.

**Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

**Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

**Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль проводится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

### **Вопросы для обсуждения.**

1. Биохимический анализ с использованием методов непосредственного наблюдения.
2. Значение методов непосредственного наблюдения для биохимического анализа. Оптическая микроскопия. Электронная микроскопия. Рентгеновская микроскопия.
3. Методы разделения. Разделение с помощью мембран. Центрифугирование. Электрофорез. Хроматография. Виды хроматографии.
4. Принципы комплексного использования различных методов анализа в аналитической биохимии. Спектроскопия. Колориметрия и спектрофотометрия. Спектрофлуориметрия. Пламенная спектрофотометрия. ЭПР-спектрометрия. ЯМР-спектрометрия. Радиоизотопные методы. Потенциометрия.
5. Гибридные методы анализа.

### **Коррекция исходного уровня знаний студентов.**

Преподаватель совместно со студентами разбирает методы разделения и аналитические методы в биохимическом анализе.

### **Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по аналитической биохимии.

### **Выполняемая работа.**

#### **Работа №1. Заполнить таблицу: Непосредственное наблюдение.**

<b>Методы непосредственного наблюдения</b>	<b>Краткое описание</b>
1. Электронная микроскопия	
2. Рентгеноструктурный анализ	

#### **Работа №2. Заполнить таблицу: Методы разделения.**

<b>Метод разделения</b>	<b>Краткая характеристика</b>
1. Разделение с помощью мембран	
2. Центрифугирование	
3. Электрофорез	
4. Хроматография. Виды хроматографии.	

#### **Работа №3. Заполнить таблицу: Аналитические методы анализа.**

<b>Метод разделения</b>	<b>Краткая характеристика</b>
1. Спектроскопические методы.	
2. Колориметрия и спектрофотометрия	
3. Инфракрасная спектроскопия	
4. Спектро-флуориметрия	
5. Пламенная спектрофотометрия	
6. ЭПР-спектрометрия	
7. ЯМР- спектрометрия.	
8. Масс-спектрометрия	
9. Радио-изотопные методы	

**Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход заполнения таблиц.

**Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно заполняет таблицы. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

**Контроль усвоения материала занятий.**

Контроль усвоения материала проводится в форме индивидуальной беседа со студентами в процессе проверки протоколов. Для проведения контроля рекомендуется использовать следующие вопросы:

1. Охарактеризуйте методы непосредственного наблюдения в биохимическом анализе.
2. Опишите методы разделения.
3. Перечислите аналитические методы анализа.
4. Опишите спектрометрические и колориметрические методы анализа.
5. Охарактеризуйте метод инфракрасной спектроскопии.
6. Опишите методы ЭПР-спектроскопии ЯМР-спектроскопии.
7. Охарактеризуйте гибридные методы анализа.

**Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильного заполнения таблиц.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

**Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**

1. Биохимический анализ с использованием методов непосредственного наблюдения.
2. Комплексное использование аналитических подходов в биохимическом анализе: гибридные методы анализа.

**Занятие №16**

**Тема:** Методы решения задачи выбора оптимальных аналитических подходов в биохимических исследованиях и клинической лабораторной диагностике. Получение и подготовка биологических образцов. Хранение биологических проб. Значение современных информационных и телекоммуникационных технологий в деятельности врача-биохимика. Заключительный коллоквиум.

**Место проведения:** учебные аудитории кафедры микробиологии и иммунологии с курсом биологической химии.

**Продолжительность занятия:** 3 часа.

**Формируемые компетенции:** ОК-1; ОПК- 1; ОПК-5; ОПК-9; ПК- 4; ПК-5, ПК-6.

**Цели занятия.**

**Студенты должны уметь:**

- получать и подготавливать биологические образцы;

- использовать аналитические подходы в биохимическом анализе;
- объяснять особенности методов используемых для биохимического анализа;
- анализировать результаты биохимических исследований, сформулировать выводы и оформить протокол.

**Цели самоподготовки.**

***Студент должен знать:***

- методы статистической обработки биохимических и клинико-диагностических данных; программное обеспечение.
- методы поиска информации с использованием электронных поисковых систем, библиографических баз данных и агентов;
- использование информационных технологий в аналитической биохимии;
- особенности получения биологических образцов;
- условия хранения биологических проб;
- приборное оснащение.

***Студент должен уметь:***

- комплексно использовать аналитические подходы в биохимическом анализе;
- охарактеризовать особенности получения и подготовки проб для биохимического анализа
- владеть методами статистической обработки биохимических и клинико-диагностических данных
- оценивать результаты биохимического эксперимента с использованием современных информационных технологий.

**Технологическая карта занятия**

<b>Этапы занятия</b>	<b>Время</b>
1. Организационные вопросы	10 мин
2. Контроль исходного уровня знаний студентов и его коррекция	35мин
3. Организация самостоятельной работы студентов	10 мин
4. Самостоятельная работа студентов	50 мин
5. Контроль усвоения материала занятия	30 мин

**Организационные вопросы занятия.**

Преподаватель выясняет, есть ли отсутствующие, обращает внимание на форму одежды студентов, сообщает цели занятия.

**Контроль исходного уровня знаний и его коррекция.**

Контроль провидится в виде, устного опроса студентов с одновременной коррекцией и дополнением ответов с привлечением всех студентов группы. Оценки выставляются в кафедральном журнале.

**Вопросы для обсуждения.**

1. Получение и подготовка биологических образцов для исследования.
2. Получение образца для анализа, правила отбора клинических биологических проб.
3. Методы разрушения клеток: механические, ультразвуковые, химические, комбинированные.

4. Разделение субклеточных фракций. Выделение и очистка исследуемых соединений. Последовательное использование различных методов разделения веществ в биохимическом анализе.
5. Особенности хранения биологических образцов в зависимости от аналитической задачи.
6. Методы оценки результатов биохимического анализа.
7. Способы фиксации (записи) экспериментальных данных.
8. Использование компьютерных баз данных для хранения необработанное разнородной экспериментальной и диагностической информации.
9. Методы статистической обработки биохимических и клинико-диагностических данных. Программное обеспечение.
10. Общие принципы планирования, проведения и оценки результатов биохимического эксперимента.
11. Преаналитические процедуры, зависимость выбора методов пробоотбора и пробоподготовки от последующих аналитических процедур.
12. Комплексного использования методов аналитической биохимии в анализе биологических проб.
13. Способы рационального и эффективного информационного поиска и их применение в решении задач аналитической биохимии.

***Коррекция исходного уровня знаний студентов.***

Преподаватель совместно со студентами разбирает методы решения задачи выбора оптимальных аналитических подходов в биохимических исследованиях и клинической лабораторной диагностике. Обращает внимание студентов на методы получения и подготовки биологических образцов; хранение биологических проб.

**Организация самостоятельной работы студентов.**

В качестве ориентировочной основы действия используется литература по аналитической биохимии.

**Выполняемая работа.**

**Работа №1. Ферментативное определение глюкозы в крови.**

Компоненты реакционной среды внести в пробирки в количествах, указанных в таблице 1:

Отмерить, мл	Опытная проба	Калибровочная проба	Контрольная (холостая) проба
Сыворотка крови	0,01	-	-
Калибровочный раствор глюкозы	-	0,01	-
Вода дистиллированная	-	-	0,01
Рабочий раствор	1,00	1,00	1,00

Содержимое пробирок тщательно перемешивают и инкубируют в течение 15 минут при температуре 37°C или в течение 30 минут при комнатной температуре (+18-25°C). Через 5-10 минут после начала инкубации пробирки интенсивно встряхнуть. После окончания инкубации измерить величину оптической плотности калибровочной и опытных проб против контрольной пробы при длине волны 504

(490-550) нм в кювете с толщиной поглощающего свет слоя 10 или 5 мм. Окраска устойчива в течение 1 часа после окончания инкубации.

Концентрацию глюкозы рассчитать по формуле:

$$C = \frac{E_{оп}}{E_{к}} * 10$$

где С – концентрация глюкозы в опытной пробе, ммоль/л;

E<sub>оп</sub> – оптическая плотность опытной пробы, ед.опт.плотн.;

E<sub>к</sub> - оптическая плотность калибровочной пробы, ед.опт.плотн.;

10 - концентрация глюкозы в калибровочном растворе ммоль/л.

## **Работа №2. Получение гомогената печени и определение в ней интенсивности ПОЛ по накоплению малонового диальдегида.**

Для получения гомогената удаленную ткань отмывают от крови охлажденным до +4°C 0,9% раствором NaCl, гомогенизируют при +4°C с 0,9% раствором NaCl (в соотношении 1:10), содержащим 3 мМ ЭДТА.

0,5 мл гомогената добавляют в 1 мл 15% раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУК), перемешивают и центрифугируют при 3000 об/мин в течение 10 минут. К 1 мл надосадочной жидкости (центрифугат должен быть прозрачен) добавляют 2 мл 0,8% раствора ТБК. Пробирки помещают в кипящую водяную баню на 15 минут. После охлаждения в течение 30 минут пробы колориметрируют при 532 нм на фоне контроля (1 мл ТХУК и 2 мл ТБК). Количество МДА в пробирках рассчитывают, используя молярный коэффициент экстинкции  $1,56 * 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

### **Объяснение содержания лабораторной работы и формы отчетности.**

Преподаватель объясняет ход решения задач. Результаты работы оформляются протоколом.

### **Самостоятельная работа студентов.**

Каждый студент самостоятельно решает задачи. Преподаватель контролирует и корректирует действия студентов. Студенты показывают преподавателю результаты работы.

### **Контроль усвоения материала занятий.**

1. Перечислите основные компоненты крови.
2. Что такое гемолиз и почему о нем нужно знать
3. Почему к образцам крови, анализируемым на содержание глюкозы, часто добавляют фторид натрия?
4. Почему образцы цельной крови нельзя замораживать?
5. Какие наиболее распространенные виды клинического анализа?
6. Что такое антитело?
7. Объясните принципы иммуноанализа. Какие метки используют в этом методе? Какие возможные варианты этого метода вы знаете?

### **Критерии достижения цели занятия.**

1. Правильные ответы на поставленные вопросы.
2. Умение правильно решать задачи.
3. Правильное оформление протокола и умение сформулировать выводы по проведенной работе.

### **Темы для подготовки рефератов, докладов и презентаций в рамках самостоятельной работы студентов:**



1. Методы решения задачи выбора оптимальных аналитических подходов в биохимических исследованиях и клинической лабораторной диагностике.
2. Получение и подготовка биологических образцов.
3. Хранение биологических проб.
4. Значение современных информационных и телекоммуникационных технологий в деятельности врача-биохимика.

Учебное издание

Авторы:

С.А. Лужнова, к.б.н., доц.; .Е.О. Куличенко; Ю.К. Василенко, д-р мед.наук, проф.;  
А.М. Темирбулатова, канд.фарм.наук; Е.О. Сергеева, канд.фарм.наук; И.В. Скульте,  
канд.фарм наук; Е.П. Парфентьева, канд.фарм.наук, доцент; С.С. Сигарева.

**Методические рекомендации для преподавателей к практическим занятиям по дисциплине «Медицинская биохимия. Принципы измерительных технологий в биохимии. Патохимия, диагностика. Биохимия злокачественного роста» - по специальности 30.05.01 «Медицинская биохимия» (уровень специалитета)  
Семестр VIII**

Подписано в печать «\_\_» \_\_\_\_\_ 2020г.

Формат 60\*84 1/16 Бумага офсетная .

Печать ротапунктная. Усл.печ 3,0

Уч.-изд.л. 3,0

Тираж \_\_\_\_\_ заказ \_\_\_\_\_

**ПЯТИГОРСКИЙ МЕДИКО-ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ – филиал  
ФГОУ ВО ВолгГМУ, г.Пятигорск, пр. Калинина, 11.**