

Министерство образования и науки Российской Федерации

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Оренбургский государственный университет»

Кафедра профилактической медицины

Н.В. Малышева, О.А. Науменко, М.В. Фомина

БИОХИМИЯ ПИЩЕВАРЕНИЯ И ПИТАНИЯ

Методические указания к лабораторному практикуму

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом
Государственного образовательного учреждения высшего
профессионального образования
«Оренбургский государственный университет»

Оренбург
ИПК ГОУ ОГУ
2011

УДК 577.1:612.3(076.5)
ББК 28.072:28.707я 7
М20

Рецензент – профессор, доктор медицинских наук С.В. Нотова

М20 **Мальшева, Н.В.**

Биохимия пищеварения и питания: методические указания к лабораторному практикуму / Н.В. Мальшева, О.А. Науменко, М.В. Фомина; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2011. – 42 с.

Методические указания содержат материал по правилам безопасности при работе в биохимической лаборатории, методике осуществления лабораторных опытов, вопросы к защите лабораторных работ, перечень рекомендуемой для изучения дисциплины литературы.

Данные методические указания предназначены для выполнения лабораторных работ по курсу «Биохимия пищеварения и питания» для студентов, обучающихся по программе высшего профессионального образования по специальности 020208.65 – Биохимия и профилю подготовки Биохимия.

УДК 577.1:612.3(076.5)
ББК 28.072:28.707я 7

© Мальшева Н.В.,
Науменко О.А.,
Фомина М.В., 2011
© ГОУ ОГУ, 2011

Содержание

Правила безопасности при работе в биохимической лаборатории.....	5
1 Биохимия ротовой полости.....	7
1.1 Лабораторная работа № 1. Определение роданидов в слюне.....	7
1.2 Лабораторная работа № 2. Определение рН слюны.....	8
1.3 Лабораторная работа № 3. Определение кальция в ткани зуба.....	9
1.4 Вопросы к защите лабораторных работ № 1, 2, 3.....	12
2 Переваривание белка в желудке.....	13
2.1 Лабораторная работа № 4. Анализ переваривания белков пепсином.....	13
2.2 Лабораторная работа № 5. Количественный анализ желудочного сока: определение свободной, связанной и общей кислотности.....	15
2.3 Лабораторная работа № 6. Качественная реакция желудочного сока на молочную кислоту.....	19
2.4 Вопросы к защите лабораторных работ № 4, 5, 6.....	21
3 Конечные продукты белкового обмена.....	22
3.1 Лабораторная работа № 7. Количественное определение аммиака в моче.....	22
3.2 Лабораторная работа № 8. Качественное определение мочевины в моче.....	25
3.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 7, 8.....	27
4 Переваривание липидов в кишечнике.....	28
4.1 Лабораторная работа № 9. Анализ эмульгирования жиров.....	28
4.2 Лабораторная работа № 10. Влияние желчных кислот на активность панкреатической липазы.....	30
4.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 9, 10.....	33
5 Переваривание углеводов.....	34
5.1 Лабораторная работа № 11. Анализ специфичности действия ферментов распада углеводов – амилазы и сахаразы.....	34
5.2 Вопросы к защите лабораторной работы № 11.....	36
6 Биохимия всасывания минеральных веществ.....	37

6.1 Лабораторная работа № 12. Количественное определение хлоридов в моче.....	37
6.2 Вопросы к защите лабораторной работы № 12.....	39
7 Литература, рекомендуемая для изучения дисциплины.....	40
Список использованных источников.....	42

Правила безопасности при работе в биохимической лаборатории

Общие сведения

Запрещается вход в лабораторию в верхней одежде. Работа в биохимической лаборатории допускается только в специальном халате, так как вероятна возможность загрязнения, порчи одежды при попадании на нее едких реактивов.

Обращение со стеклом

Химическая посуда - в большинстве случаев тонкостенная и хрупкая - поэтому при небрежном обращении с ней ее можно разбить и порезаться. Посуду следует держать в руках осторожно, не сжимая сильно пальцами. Химическую посуду нельзя резко ставить на стол. В случае пореза стеклом нужно вначале осмотреть ранку и извлечь из нее осколки стекла, если они есть, а затем обмыть пораженное место, смазать йодом и заклеить лейкопластырем или завязать бинтом.

Обращение с реактивами

Все концентрированные кислоты и щелочи должны находиться в вытяжном шкафу. Наливать или насыпать реактивы следует только над столом. Не следует оставлять открытыми банки с реактивами. Пролитые или рассыпанные реактивы нужно немедленно удалить со стола, вытерев стол тряпкой и обмыв водой. Пролитые концентрированные кислоты следует засыпать песком, а затем собрать песок дощечкой. Облитое место необходимо обмыть раствором соды и вытереть тряпкой. При работе с органическими растворителями (спирты, эфиры, ацетон, бензин, дихлорэтан и др.) нельзя определять вещества по запаху, так как может произойти отравление их парами. Наполнение пипеток растворами органических растворителей, кислот, щелочей проводят только при помощи груши, так как при набирании этих веществ ртом они могут попасть в ротовую полость и вызвать ожоги или даже отравление. В случае попадания на кожу концентрированных кислот пораженное место нужно вначале обмыть большим количеством воды, а затем

разбавленным раствором соды. При попадании растворов щелочей на кожу пораженное место нужно вначале обмыть разбавленным раствором кислоты, а затем водой.

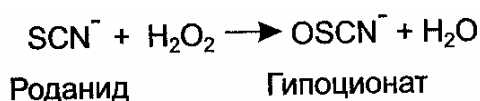
Обращение с нагревательными приборами

На практических занятиях по биохимии часто приходится пользоваться спиртовками. Зажигать спиртовку нужно только спичкой. Нельзя нагревать вещества в толстостенной посуде. В пробирке можно нагревать только небольшие количества вещества, жидкость должна занимать не более $1/3$ объема пробирки. Отверстие пробирки при нагревании в ней жидкости следует направлять в сторону от себя и рядом находящихся людей. Нельзя наклоняться над спиртовкой. Вначале пробирку с веществом следует слегка прогреть всю, а затем нагревать в нужном месте, не вынимая из пламени спиртовки. Нельзя нагревать пробирку долго в одной точке, так как теплопроводность стекла низкая, жидкость быстро закипит и выплеснется из пробирки. Нагревать пробирку нужно ниже уровня жидкости в ней. После нагревания следует сразу погасить спиртовку, накрыв пламя фарфоровым колпачком. Работа с водяной баней осуществляется только под тягой. Перегоревшие электроплитки нужно сразу же выключить, вынув вилку из штепсельной розетки. При неосторожной работе могут быть ожоги нагретой стеклянной посудой.

1 Биохимия ротовой полости

1.1 Лабораторная работа № 1. Определение роданидов в слюне

На местах повреждения слизистой оболочки полости рта происходит эмиграция гранулоцитов, которые принимают участие в защитных реакциях. В гранулоцитах локализован фермент лактопероксидаза, которая окисляет имеющийся в слюне роданид с помощью перекиси водорода бактериального происхождения в гипотиоционат:



Гипотиоционат чрезвычайно бактерициден и совместно с H_2O_2 или ее радикалами действует антикариесогенно. Содержание роданидов велико в слюне курильщиков, что связано с поступлением в их организм синильной кислоты табачного дыма.

Роданиды слюны обнаруживают по появлению красного окрашивания при добавлении к слюне хлорного железа. Это типичная и чувствительная реакция на роданиды обусловлена образованием роданистой соли трехвалентного железа в результате взаимодействия ионов Fe^{3+} и SCN^- и образования различных комплексов, имеющих состав от $\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5\text{NCS}^{2+}$ до $\text{Fe}(\text{NCS})_6^{3-}$. Некоторые органические соединения, например, соли лимонной и уксусной кислот, препятствуют образованию окраски.

Реактивы

- 1 Хлорное железо, 0,01 % раствор.
- 2 Соляная кислота, 2 % раствор.

Техника

- 1 К 5 каплям слюны добавляют 2 капли 2 % раствора HCl и 2 капли 0,01 % раствора FeCl_3 .
- 2 Развивается красное окрашивание.

Рекомендации к составлению протокола

При составлении протокола сравните интенсивность окраски роданида железа в слюне курильщика и у некурящих табак.

1.2 Лабораторная работа № 2. Определение рН слюны

Изменение рН в щелочную сторону связано с увеличением количества кальция и фосфора в слюне. Рост концентрации кальция в слюне может приводить к развитию слюннокаменной болезни и образованию камней в протоках слюнных желез. Если рН слюны снижается, то это говорит о недостатке кальция и фосфора в слюне. Сдвиг рН слюны в кислую сторону нарушает процессы минерализации тканей зуба и способствует развитию кариеса, а также созданию условий для воздействия кислых протеиназ на ткани пародонта.

Реактивы

Индикаторная бумага.

Техника

- 1 Каплю слюны наносят на универсальную индикаторную бумагу.
- 2 Немедленно сравнивают полученную окраску со шкалой рН от 6,0 до 8,0.

Рекомендации к составлению протокола

Записать в лабораторный журнал наблюдения, сделанные в процессе работы, и отметить, что слюна имеет рН, близкий к нейтральному (6,4-7,0).

1.3 Лабораторная работа № 3. Определение кальция в ткани зуба

Среди всех видов костной ткани - зубная - наиболее минерализована. В минеральном остатке твердых тканей зуба кальций является основным по содержанию макроэлементом и представлен гидроксилapatитом, фторапатитом и фторидом кальция.

Реактивы и материалы

- 1 Зубы человека или собаки, высушенные спиртом и эфиром.
- 2 Соляная кислота, 10 % раствор.
- 3 Щавелевокислый аммоний, насыщенный раствор.
- 4 Метиловый красный, 0,1% спиртовой раствор.
- 5 Аммиак, разбавленный водой в отношении 1 : 4.
- 6 Серная кислота, разбавленная водой в отношении 1 : 4.
- 7 Марганцовокислый калий, 0,05 н. раствор.
- 8 Аммоний молибденовокислый, 5 % раствор.

Оборудование

- 1 Весы аптечные.
- 2 Конические колбы.
- 3 Мерные цилиндры на 50 мл.
- 4 Мерные колбы на 50 и 100 мл.
- 5 Пипетки емкостью 1, 2 и 5 мл с делениями.
- 6 Центрифуга.
- 7 Стеклянные палочки.
- 8 Водяная баня, нагретая до 70 °С.
- 9 Микробюретки.
- 10 Штатив с пробирками.

Техника

1 Для исследования минерального состава зуба необходимо растворить минеральные вещества (преимущественно апатиты) в соляной кислоте. Для этого навеску в 0,5 г зуба помещают в колбу и добавляют 30 мл 10 % раствора соляной кислоты. Содержимое колбы кипятят на сетке под тягой.

2 Когда зуб полностью растворится, содержимое колбы охлаждают и переносят в мерную колбу или цилиндр на 50 мл. Объем жидкости доводят до 50 мл, добавляя дистиллированную воду. Полученный гидролизат используют для качественного обнаружения кальция и его количественного определения.

3 Качественная реакция на кальций. К 2 мл гидролизата приливают избыток насыщенного раствора щавелевокислого аммония до выпадения белого кристаллического осадка оксалата кальция.

4 Количественное определение кальция. 1мл гидролизата (содержит 0,01 г зуба) вносят в центрифужную пробирку, добавляют 3 капли индикатора метилового красного и нейтрализуют жидкость разбавленным аммиаком до появления оранжевого окрашивания.

5 Для осаждения кальция в чистую пробирку наливают 3 мл насыщенного раствора щавелевокислого аммония и оставляют её на 30 минут, после чего осадок отделяют центрифугированием (предварительно уравновесив пробирки) и сливают надосадочную жидкость, не взбалтывая осадка.

6 Осадок промывают разбавленным аммиаком. Для этого в пробирку после удаления надосадочной жидкости добавляют 5 мл разбавленного аммиака, перемешивая осадок стеклянной палочкой, и центрифугируют. Надосадочную жидкость сливают описанным выше способом, осадок еще один или два раза промывают разбавленным аммиаком.

7 После последнего промывания осадок растворяют в 3 мл разбавленной серной кислоты и на водяной бане подогревают пробирку до 70 °С. Горячую жидкость титруют 0,05 н. раствором марганцовокислого калия до слабо-розового цвета.

8 Параллельно ставят и обрабатывают как опыт контрольную пробу, взяв

вместо 1 мл гидролизата 1 мл дистиллированной воды.

9 Содержание кальция в зубе вычисляют по формуле

$$x = \frac{V \cdot 10000}{1000},$$

где x — содержание кальция в зубе, %;

V — количество марганцовокислого калия, использованное на титрование опыта после вычета контроля, мл;

1 — количество мг кальция, эквивалентное 1 мл 0,05 н. раствора перманганата;

10000 — коэффициент для пересчета на 100 г зуба;

1000 — коэффициент для пересчета мг в г.

Рекомендации к составлению протокола

Вычислить содержание кальция в зубной ткани и полученные данные занести в таблицу 1.

Таблица 1 - Количественное определение минеральных элементов в биологических объектах

Исследуемый объект	Определяемый элемент	Принцип метода	Найденное содержимое минерального элемента

В выводах сопоставить содержание кальция в разных биологических объектах.

1.4 Вопросы к защите лабораторных работ № 1, 2, 3

1 В чем заключается физиологическая роль роданидов слюны?

2 Какие химические реактивы необходимо использовать для обнаружения роданидов в слюне?

3 Опишите технику определения роданидов в слюне.

4 Какова возможная связь между рН слюны и химико-физиологическими процессами в ротовой полости?

5 Какова техника определения рН слюны?

6 Какие химические реактивы используются для исследования содержания кальция в ткани зуба?

7 Опишите технику приготовления гидролизата для исследования содержания кальция в ткани зуба.

8 Опишите технику качественного определения кальция в ткани зуба.

9 Опишите технику количественного определения кальция в ткани зуба.

2 Переваривание белка в желудке

2.1 Лабораторная работа № 4. Анализ переваривания белков

пепсином

Переваривание белков начинается в желудке под влиянием желудочного сока. Желудочный сок, выделяемый железами слизистой оболочки стенок желудка, представляет собой жидкость, содержащую 99 % воды, свободную соляную кислоту, кислореагирующие фосфаты, хлористый натрий, протеолитический фермент — пепсин, липолитический фермент — липазу (расщепляет только эмульгированный жир и другие вещества). Пепсин выделяется главными клетками желез слизистой желудка в виде неактивного профермента — пепсиногена. Под влиянием соляной кислоты от пепсиногена отщепляются полипептиды, в результате чего пепсиноген превращается в активный фермент пепсин, способный к гидролитическому расщеплению пептидных связей белков. Оптимальное значение рН для пепсина человека составляет 1,5-2,5. В нейтральной и щелочной средах пепсин неактивен. Соляная кислота не только участвует в активации пепсиногена и создании оптимального значения рН, но и способствует набуханию и денатурации белков, что создает более благоприятные условия для действия пепсина.

Пепсин является эндопептидазой, так как действует преимущественно на внутренние пептидные связи. Однако под влиянием пепсина разрываются также некоторые пептидные связи, находящиеся на конце полипептидной цепи, что сопровождается появлением свободных аминокислот. В результате гидролиза белков пепсином образуются пептоны — смесь более или менее сложных полипептидов, а также в небольшом количестве свободные аминокислоты.

Реактивы и материалы

1 Фибрин.

2 Желудочный сок или 0,1 % раствор пепсина в 0,2 % соляной кислоте.

3 Натрий углекислый, 2 % раствор.

4 Едкий натр, 0,4 % и 10 % растворы.

5 Соляная кислота, 0,2 % раствор.

6 Сернокислая медь, 1 % раствор.

Оборудование

1 Штатив с пробирками.

2 Лакмусовая бумага.

3 Капельницы.

4 Термометр.

5 Водяная баня или термостат на 38 - 40 °С.

Техника

1 В одну пробирку наливают 20 капель желудочного сока или 0,1 % раствор пепсина в 0,2 % соляной кислоте.

2 В другую пробирку помещают 20 капель желудочного сока или 0,1 % раствор пепсина в 0,2 % соляной кислоте, нейтрализованный содой.

3 В третью пробирку наливают 20 капель желудочного сока или 0,1 % раствор пепсина в 0,2 % соляной кислоте, предварительно подщелоченного 0,4 % NaOH.

4 В четвертую пробирку закапывают 20 капель желудочного сока или 0,1 % раствор пепсина в 0,2 % соляной кислоте, предварительно подвергнутого кипячению.

5 В пятую пробирку отмеривают 20 капель 0,2 % раствора HCl.

6 Во все пять пробирок добавляют одинаковые небольшие кусочки фибрина, и пробирки помещают в термостат при температуре от 38 °С до 40 °С.

7 После переваривания (растворения) фибрина в первой пробирке (примерно через 30 минут от начала опыта) все пробирки вынимают из термостата и наблюдают изменения фибрина.

Переваривание фибрина в первой пробе указывает на то, что пепсин действует в присутствии соляной кислоты. Фибрин во второй и третьей пробе

остался неизменным, так как пепсин в нейтральной и щелочной средах не активен. В четвертой пробе, где фермент был инактивирован кипячением, и в пятой пробе, в которой пепсина не было, может произойти набухание фибрина под влиянием соляной кислоты.

8 Содержимое каждой пробирки фильтруют и с фильтром производят биуретовую реакцию. Продолжительная реакция обнаруживается только в первой пробе, где был активный пепсин, соляная кислота, фибрин, что указывает на присутствие в фильтре продуктов переваривания белка.

Рекомендации к составлению протокола

Результаты наблюдений занести в таблицу 2.

Таблица 2 - Действие пепсина на фибрин в различных условиях

№ пробы	Фермент	Субстрат	Реакция среды	Инактивация пепсина кипячением	Видимые изменения фибрина	Биуретовая реакция

В соответствии с полученными данными указать оптимальные условия для переваривания белка пепсином и роль соляной кислоты в этом процессе.

2.2 Лабораторная работа № 5. Количественный анализ желудочного сока: определение свободной, связанной и общей кислотности

Желудочный сок представляет собой бесцветную жидкость с сильноокислой реакцией (рН 1,5 - 2,0). За сутки у человека выделяется около 1,5 л желудочного сока; в его состав входят вода, неферментативные белки, ферменты (пепсин, гастриксин), муцин, фактор Касла, соляная кислота, гидрофосфаты и некоторые другие соединения.

Кислая реакция желудочного сока обусловлена присутствием соляной

кислоты, гидрофосфатов, а при патологических процессах — молочной кислоты и жирных кислот.

Совокупность всех веществ желудочного сока, способных быть донорами протонов, составляют **общую кислотность**. Соляную кислоту, связанную с белками и продуктами их переваривания, называют **связанной соляной кислотой**, а находящуюся в несвязанном виде — **свободной соляной кислотой**. Содержание последней подвержено значительным колебаниям, тогда как количество связанной соляной кислоты достаточно постоянно.

В характере секреции желудочного сока различают следующие патологические изменения:

1) гиперхлоргидрию — увеличение содержания свободной соляной кислоты и общей кислотности. Такое состояние преимущественно наблюдается при язвенной болезни желудка;

2) гипохлоргидрию — уменьшение количества свободной соляной кислоты и общей кислотности;

3) ахлоргидрию — полное отсутствие соляной кислоты, общая кислотность при этом значительно снижена;

4) ахилию — отсутствие секреции желудочного сока.

Уменьшение или отсутствие соляной кислоты в желудке может наблюдаться при хроническом гастрите, раке желудка, злокачественном малокровии.

В клинике используют рН-метрию желудочного сока, однако подобную информацию можно получить простым способом, предложенным ниже. Суть метода заключается в последовательном оттитровывании одного из трех образцов желудочного сока раствором NaOH в присутствии двух индикаторов и формировании вывода о кислотности желудочного сока на основании расчетов.

Пользуясь различными индикаторами (диметиламиноазобензол и фенолфталеин), в одной и той же пробе желудочного сока определяют как общую кислотность, так и содержание общей, свободной и связанной соляной кислоты.

Общую кислотность желудочного сока выражают количеством миллилитров 0,1 М раствора NaOH, пошедших на титрование 100 мл желудочного сока в присутствии индикатора фенолфталеина (интервал перехода окраски рН 8,2 – 10,0). В норме общая кислотность составляет 40 - 60 титрационных единиц (ед.).

Свободную соляную кислоту выражают количеством миллилитров 0,1 М раствора NaOH, пошедших на титрование 100 мл желудочного сока в присутствии индикатора диметиламиноазобензола (интервал перехода окраски рН 1,0 - 3,0). В норме содержание свободной соляной кислоты составляет 20 - 40 ед.

Общая соляная кислота — это сумма свободной и связанной с белками соляной кислоты (последнюю находят по разности между общей и свободной соляной кислотой).

Реактивы и материалы

- 1 Желудочный сок.
- 2 Диметиламиноазобензол.
- 3 Фенолфталеин.
- 4 Едкий натр, 10 % раствор.

Оборудование

- 1 Колбы для титрования.
- 2 Бюретки, 10 мл.
- 3 Капельницы.

Техника

В колбу для титрования вносят из бюретки 5 мл исследуемого желудочного сока. Добавляют 1 каплю раствора диметиламиноазобензола и 2 капли раствора фенолфталеина. Появляется розово-малиновое окрашивание. Пробу титруют 0,1 М раствором NaOH до оранжевого окрашивания и отмечают

количество миллилитров щелочи, пошедших на титрование свободной соляной кислоты (I пункт титрования).

Далее титрование продолжают до появления лимонно-желтой окраски и отмечают общее количество миллилитров NaOH, пошедших на титрование от начала общего титрования (II пункт титрования). Затем титрование продолжают до появления малинового окрашивания и отмечают количество миллилитров щелочи, вновь пошедших на титрование от начала общего титрования (III пункт титрования).

Расчеты

Допустим, что на титрование 5 мл желудочного сока до пункта I пошло от 0 до 1,5 мл 0,1 М раствора NaOH, до пункта II — от 0 до 2 мл и до пункта III — от 0 до 3 мл. Тогда общая кислотность составит $3 \cdot 100/5 = 60$ ед., количество свободной соляной кислоты — $1,5 \cdot 100/5 = 30$ ед.; количество общей соляной кислоты (среднее арифметическое между пунктами титрования II и III) — $(2+3)/2 \cdot 100/5 = 50$ ед., а количество связанной соляной кислоты находят по разнице между содержанием общей и свободной соляной кислоты: $50 - 30 = 20$ ед.

Рекомендации к составлению протокола

Результаты титрования и расчетов занести в таблицу 3. На основании расчетов сделать вывод о кислотности желудочного сока: нормальная, повышенная или пониженная. Сравнить с другими образцами и отметить характер изменения общей кислотности, а также общей, свободной и связанной соляной кислоты.

Таблица 3 - Данные титрования и расчета

Пункт титрования	NaOH от 0 до соответствующего пункта титрования, мл	Окраска	Количество соляной кислоты (ед.)			Общая кислотность, ед.
			свободная	общая	связанная	
I						
II						
III						

2.3 Лабораторная работа № 6. Качественная реакция желудочного сока на молочную кислоту (реакция Уфельмана)

Реакция основана на взаимодействии молочной кислоты с фенолятом железа, который окрашен в фиолетовый цвет. В результате реакции образуется молочнокислое железо с зеленовато-желтой окраской. Фенолят железа получается воздействием хлорного железа на фенол.

Реактивы и материалы

- 1 Фенол, 2 % раствор.
- 2 Хлорное железо, 1 % раствор.
- 3 Молочная кислота, 1 % раствор.
- 4 Желудочный сок, содержащий молочную кислоту.
- 5 Желудочный сок, не содержащий молочной кислоты.

Оборудование

- 1 Штатив с пробирками.
- 2 Капельницы.

Техника

- 1 К 25 каплям 2 % раствора фенола добавляют 2-3 капли 1 % раствора

хлорного железа. Образуется темно-фиолетовое окрашивание. Реактив разводят водой до слабой окраски.

2 Полученный реактив, содержащий фенолят железа, разливают в три пробирки.

3 В первую пробирку вносят каплями 1 % раствор молочной кислоты до появления зеленовато-желтого окрашивания, обусловленного выделением молочнокислого железа.

4 Во вторую пробирку добавляют по каплям желудочный сок, содержащий молочную кислоту. Зеленатовато-желтая окраска появится только в том случае, если в желудочном соке соляная кислота или отсутствует, или содержится в незначительном количестве. Это объясняется тем, что сильная соляная кислота полностью разрушает комплекс железа с фенолом, а так же вытесняет более слабую молочную кислоту из ее соли.

5 В третью пробирку наливают по каплям желудочный сок, не содержащий молочную кислоту; тогда фиолетовая окраска исчезает, но зеленовато-желтая не появляется.

Рекомендации по составлению протокола

Результаты качественных реакций занести в таблицу 4. В выводах сформулировать заключение о наличии исследуемых кислот в желудочном соке.

Таблица 4 - Качественные реакции на кислоты желудочного сока

Открываемая кислота	Индикатор или реактив	Наблюдаемое окрашивание
Свободная соляная кислота		
Молочная кислота		

2.4 Вопросы к защите лабораторных работ № 4, 5, 6

- 1 Дайте характеристику биохимических свойств пепсина желудочного сока.
- 2 Укажите оптимальные условия для переваривания белка пепсином и роль соляной кислоты в этом процессе?
- 3 Перечислите химические реактивы и материалы, необходимые для определения пепсина в желудочном соке.
- 4 Опишите технику определения пепсина в желудочном соке.
- 5 Охарактеризуйте химический состав желудочного сока.
- 6 Дайте определение понятию общей кислотности желудочного сока.
- 7 Какие патологические изменения различают в характере секреции желудочного сока?
- 8 Перечислите химические реактивы, необходимые для определения общей кислотности, свободной и связанной соляной кислоты желудочного сока.
- 9 Опишите технику определения общей кислотности желудочного сока.
- 10 Опишите технику определения свободной соляной кислоты желудочного сока.
- 11 Опишите технику определения связанной соляной кислоты желудочного сока.
- 12 Опишите технику определения общей соляной кислоты желудочного сока.
- 13 На чем основана качественная реакция желудочного сока на молочную кислоту?
- 14 Перечислите химические реактивы, необходимые для проведения реакции Уфельмана.
- 15 Опишите технику качественного определения молочной кислоты желудочного сока.

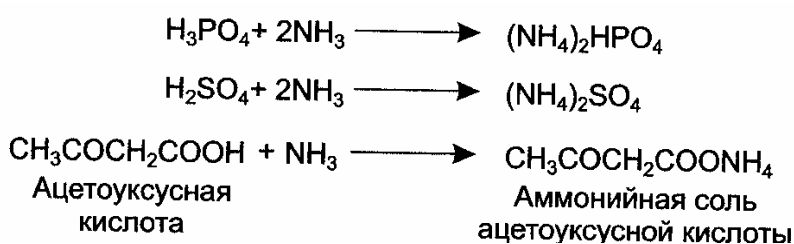
3 Конечные продукты белкового обмена

3.1 Лабораторная работа № 7. Количественное определение аммиака в моче (по Мальфатти)

Основными конечными азотсодержащими продуктами белкового обмена являются аммиак и мочеви́на. Аммиак образуется преимущественно при дезаминировании аминокислот под влиянием дегидрогеназ аминокислот, главным образом глутаматдегидрогеназы. Процесс сводится к потере аминокислотой аминогруппы в виде аммиака, при этом аминокислота превращается в кетокислоту. Устранение аммиака, относящегося к сильным токсическим веществам, осуществляется:

- за счет синтеза аммонийных солей;
- за счет синтеза амида глутаминовой кислоты (глутамина);
- путем связывания угольной кислотой с образованием мочевины.

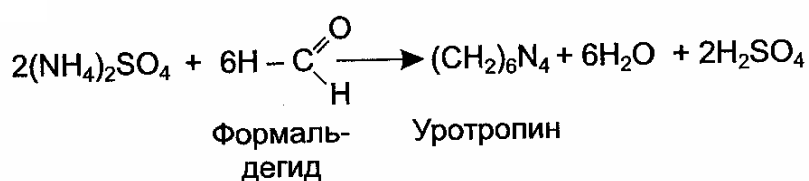
В виде аммонийных солей в норме с мочой за сутки выделяется 0,5 - 1,2 г аммиака. Аммонийные соли образуются при нейтрализации аммиаком кислот, поступающих в организм извне или получающихся в организме в процессах обмена веществ:



Экскреция аммиака с мочой зависит, прежде всего, от кислотно-щелочного равновесия. Выведение аммиака с мочой значительно увеличивается при заболеваниях, сопровождающихся ацидозом, поэтому по количеству выделенного аммиака в виде аммонийных солей можно судить о размерах образования кислот в организме. Ацидоз имеет место, например, при сахарном диабете, когда образуются ацетоновые тела (ацетоуксусная кислота, β -

гидроксимасляная кислота) и увеличивается количество фосфорной и серной кислот в связи с усилением расщепления тканевых белков в организме больного диабетом. Уменьшение количества аммиака в моче характерно для поражения почек за счет потери пораженной почечной тканью способности получать аммиак из глутамина.

Принцип способа состоит в том, что при действии формальдегида на аммонийные соли мочи образуется уротропин (гексаметиленetetрамин) и выделяется эквивалентное аммиаку количество кислоты



Кислоту оттитровывают раствором щелочи, а отсюда вычислением узнают содержание аммиака в моче, учитывая, что 1 мл 0,1 н. раствора едкого натра эквивалентен 0,0017 г аммиака (титр 0,1 н. раствора аммиака).

Реактивы и материалы

- 1 Моча, собранная за сутки.
- 2 Фенолфталеин, 1 % спиртовой раствор.
- 3 Едкий натр, 0,1 н. раствор.
- 4 Формалин, предварительно нейтрализованный раствором едкого натра в присутствии фенолфталеина.

Оборудование

- 1 Конические колбочки.
- 2 Пипетки емкостью 5 мл с делениями.
- 3 Бюретки.
- 4 Капельницы.

Техника

1 5 мл мочи отмеривают в колбу, добавляют 25 мл дистиллированной воды, 2 капли 1 % спиртового раствора фенолфталеина и титруют при помешивании 0,1 н. раствором едкого натра до появления слабозимой окраски. Этим достигается нейтрализация кислореагирующих на фенолфталеин веществ мочи.

2 К содержимому колбы прибавляют 1,5 - 2,5 мл формалина, предварительно нейтрализованного раствором щелочи. Смесь обесцвечивается вследствие разложения аммиачных солей и появления в растворе кислоты.

3 После добавления формалина смесь вновь титруют 0,1 н. раствором NaOH до возникновения розового окрашивания жидкости.

4 Количество израсходованных при последнем титровании миллилитров щелочи умножают на 0,0017 и узнают количество аммиака во взятом для анализа объеме мочи, а отсюда и его содержание в суточной моче.

Расчеты

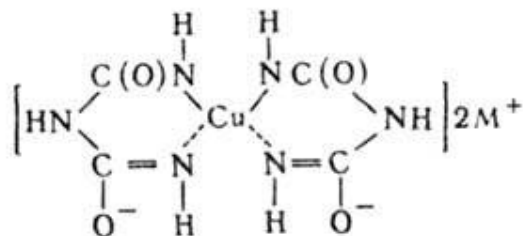
К примеру, суточное количество мочи - 1240 мл, взято для анализа - 5 мл; после добавления формалина израсходовано при титровании 0,1 н. раствора щелочи - 1,33 мл; количество аммиака во взятом для анализа объеме мочи = $1,33 \times 0,0017 = 0,00226$ г. Содержание аммиака в суточной моче = $(0,00226 \times 1240) / 5 = 0,56$ г.

Рекомендации к составлению протокола

Полученные данные содержания аммиака в анализируемой суточной моче сопоставить с количеством аммиака, выделяемым с мочой за сутки в норме. Сделать вывод о наличии или отсутствии ацидоза у исследуемого субъекта.

3.2 Лабораторная работа № 8. Качественное определение мочевины в моче (Биуретовая реакция на мочевины)

Мочевина является главным конечным продуктом белкового обмена. По химической структуре - это диамид угольной кислоты ($\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2$). Синтез мочевины происходит в печени из аммиака и углекислоты в результате цепи последовательных реакций при участии АТФ. В норме за сутки с мочой человека при обычной смешанной пище выводится 20 - 35 г мочевины (в среднем 30 г, т. е. 0,5 моль/сут). Увеличение количества мочевины в моче наблюдается при богатой белками пище и при всех заболеваниях, связанных с усиленным распадом собственных белков организма (лихорадка, гипертиреоз, диабет). Уменьшение выделения мочевины отмечается при употреблении пищи, бедной белками, при заболевании почек, когда затруднено выделение мочевины, при некоторых заболеваниях печени, характеризующихся нарушением синтеза мочевины, при ацидозах в силу недостаточного синтеза мочевины вследствие образования большого количества аммонийных солей.



Принцип метода основан на отщеплении аммиака от нагретой мочевины и образовании биурета, обнаруживаемого по биуретовой пробе. Цветную реакцию на биурет осуществляют, прибавляя к щелочному раствору последнего водный раствор сульфата меди. При этом раствор окрашивается в интенсивный фиолетовый цвет благодаря образованию комплексного соединения. В реакцию, подобную биуретовой, вступают многие вещества, содержащие в молекуле не менее двух амидных группировок (амиды, имида аминокислот и др.).

Продукты реакции в этом случае имеют фиолетовую окраску с красным либо синим оттенком.

Реактивы

- 1 Мочевина кристаллическая.
- 2 Едкий натр, 10 % раствор.
- 3 Сернокислая медь, 1 % раствор.
- 4 Лакмусовая бумага.

Оборудование

- 1 Штатив с пробирками.
- 2 Капельницы.

Техника

1 Несколько кристаллов мочевины помещают в сухую пробирку и расплавляют на маленьком пламени.

2 Процесс продолжают до начала затвердевания расплавленной массы. При этом происходит выделение аммиака, который обнаруживают по запаху и по посинению в парах красной лакмусовой бумажки, смоченной водой.

3 Полученный в пробирке биурет охлаждают, затем растворяют приблизительно в 10 каплях 10 % раствора едкого натра и добавляют по каплям (1 - 2 капли) 1 % раствор сернокислой меди до появления розового окрашивания, обусловленного образованием комплексной медной соли биурета.

Рекомендации к составлению протокола

Полученные данные наличия мочевины в анализируемой суточной моче занести в протокол.

3.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 7, 8

1 Дайте краткую характеристику биохимическим свойствам основных конечных азотсодержащих продуктов белкового обмена.

2 От чего зависит величина экскреции аммиака с мочой?

3 В чем заключается принцип определения аммиака в моче по Мальфатти?

4 Перечислите химические реактивы, необходимые для осуществления реакции Мальфатти.

5 Опишите технику определения аммиака в моче способом Мальфатти.

6 Дайте характеристику биохимических свойств мочевины и физиологических условий ее выведения с мочой.

7 В чем заключается принцип метода качественного определения мочевины в моче (Биуретовой реакции)?

8 Какие химические реактивы необходимо использовать в Биуретовой реакции?

9 Опишите технику качественного определения мочевины в моче.

4 Переваривание липидов в кишечнике

4.1 Лабораторная работа № 9. Анализ эмульгирования жиров

Эмульгирование жиров необходимо для ускорения переваривания жиров пищи в полости кишечника ферментом липазой, так как оно вызывает увеличение соприкосновения жира с водным раствором липазы. Эмульгаторами являются:

- поверхностно-активные вещества – белки,
- соли желчных кислот,
- мыла.

Наибольшей эмульгирующей активностью обладают щелочно-реагирующие соли желчных кислот, которые вместе с желчью изливаются в двенадцатиперстную кишку через желчный проток. Они адсорбируются на поверхности жировых капель, образуя тончайший слой, причем гидрофильные группы желчных кислот обращены в сторону водной фазы, а гидрофобные радикалы направлены к жиру. При этом происходит уменьшение поверхностного уменьшения на разделе двух фаз (вода/жир), что приводит к распаду капелек жира на более мелкие.

Реактивы и материалы

- 1 Растительное масло или рыбий жир.
- 2 Желчь, разведенная в два раза.
- 3 Раствор белка.
- 4 Натриевое мыло, 1 % раствор.
- 5 Натрий углекислый , 1 % раствор.

Оборудование

- 1 Штатив с пробирками.
- 2 Капельницы.

Техника

1 Берут 5 пробирок:

- в первую наливают 15 капель дистиллированной воды,
- во вторую – 15 капель разведенной желчи,
- в третью – 15 капель раствора белка,
- в четвертую – 15 капель 1 % раствора мыла,
- в пятую – 15 капель 1 % раствора соды.

2 В каждую пробирку добавляют по 3 - 4 капли растительного масла, одновременно взбалтывают содержимое всех пробирок и ставят их по порядку в штатив.

3 Наблюдают в первой пробирке расслоение неустойчивой эмульсии на жир и воду, а во второй, третьей, четвертой, пятой – образование эмульсии.

Эмульгирование жира содой обусловлено образованием мыла в результате взаимодействия углекислого натрия с присутствующими в жире свободными жирными кислотами.

Рекомендации к составлению протокола

Результаты опыта занести в таблицу 5, отметив стойкость образовавшейся эмульсии и степень ее дисперсности.

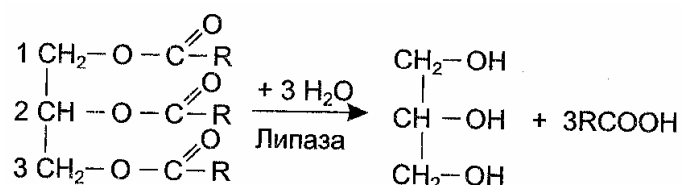
Таблица 5 - Эмульгирование жира

Исследуемый жир	Эмульгаторы				
	без эмульгаторов	желчь	белок	мыло	сода

В выводах указать, в присутствии каких эмульгаторов получалась наиболее стойкая эмульсия. Отметить сравнительную значимость разных физиологических эмульгаторов жиров в процессе переваривания их в кишечнике.

4.2 Лабораторная работа № 10. Влияние желчных кислот на активность панкреатической липазы

Расщепление жиров в кишечнике на глицерин и высшие жирные кислоты совершается, главным образом, при участии липазы, секретируемой поджелудочной железой, и, в меньшей степени, липазы, выделяемой железами слизистой оболочки кишечника. Липаза отщепляет сначала остатки жирных кислот от триглицеридов, преимущественно в α -положениях. Образующийся β -моноглицерид изомеризуется в α -моноглицерид, после чего также может быть расщеплен липазой на глицерин и жирную кислоту. В итоге, триглицерид распадается на глицерин и три молекулы жирных кислот



Для действия липазы на жир необходимо присутствие желчных кислот, образующихся в печени. Они вызывают эмульгирование жиров, приводящее к увеличению поверхности соприкосновения жира с липазой.

Опыт основан на расщеплении жира молока под воздействием липазы на глицерин и жирные кислоты. Последние сдвигают реакцию среды в кислотную сторону и обнаруживаются титрованием щелочью. Опыт предусматривает три варианта воздействия на молочный жир:

- 1) липазой без желчи;
- 2) липазой вместе с желчными кислотами;
- 3) желчью без липазы.

Реактивы и материалы

1 Молоко прокипяченное.

2 Фенолфталеин, 1 % раствор в этиловом спирте.

3 Едкий натр, 10 % раствор

4 Едкий натр, 0,1 н. раствор.

5 Панкреатин – препарат поджелудочной железы, содержащий липазу (навески по 100 мг).

6. Желчь.

Оборудование

1 Мерный цилиндр.

2 Конические колбочки.

3 Бюретки.

4 Пипетки на 5 мл.

Техника

1 В колбочку наливают 20 мл молока и нейтрализуют его кислотность, обусловленную присутствием кислых солей. Для этого в колбу приливают 2 капли 1 % раствора фенолфталеина и 4 капли 10 % раствора едкого натра (избегать избытка), после чего при тщательном перемешивании содержимого колбы осторожно добавляют 0,1 н. раствор едкого натра до слаборозовой окраски.

2 Из нейтрализованного молока готовят в конических колбочках опытные пробы по схеме, указанной в таблице 6.

3 Пробы тщательно перемешивают и оставляют при комнатной температуре.

4 Через 15 минут от начала инкубации пробы титруют из бюретки 0,1 н. раствором NaOH до слабо-розовой окраски, после чего вновь оставляют при комнатной температуре. Количество израсходованной щелочи фиксируют в таблице 6.

5 Титрование проб повторяют через 30, 45 и 60 минут от начала инкубации. Каждый раз оттитровывается то количество жирных кислот, которое

освобождается из жира молока при его гидролизе липазой за данный отрезок времени (15 минут).

Таблица 6 - Гидролиз жира молока липазой

№ пробы	Молоко, мл	Панкреатин, мг	Желчь, мл	Вода, мл	Результаты титрования в мл 0,1 н. раствора NaOH			
					через 15 мин	через 30 мин	через 45 мин	через 60 мин
1	5	100	-	1				
2	5	100	1	-				
3	5	-	1	-				

Рекомендации к составлению протокола

Изобразить графически динамику расщепления жира липазой для каждой пробы, откладывая на оси абсцисс время в минутах, а на оси ординат – количество 0,1 н. раствора NaOH (в мл), израсходованного на нейтрализацию жирных кислот, образовавшихся за данное время (15, 30, 45, 60 минут).

Выразить активность липазы как концентрацию карбоксильных групп жирных кислот, образовавшихся в 100 мл молока за все время исследования, пользуясь следующей формулой:

$$x = \frac{g - \text{экв } COOH - \text{ групп} \times 0,1 \times A \times 100}{5},$$

где x – концентрация COOH – групп, образующихся в 100 мл молока, мг %;

0,1 – нормальность раствора NaOH;

A – количество 0,1 н. раствора NaOH, израсходованного на титрование 5 мл молока за все время инкубации (сумма всех титрований), мл;

5 – количество молока в титруемой пробе, мл.

На основании хода кривых на графике и полученных данных

концентрации карбоксильных групп сделать вывод о зависимости активности липазы от присутствия желчных кислот. Отметить зависимость количества образовавшихся свободных жирных кислот от продолжительности ферментативного действия.

4.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 9, 10

1 В чем заключается биохимическая роль эмульгирования жиров при переваривании пищи в кишечнике?

2 Перечислите химические реактивы и материалы, необходимые для анализа эмульгирования жиров.

3 Опишите технику исследования эмульгирования жиров.

4 Какова роль и условия активности панкреатической липазы в расщеплении жиров?

5 Перечислите химические реактивы, необходимые для анализа влияния желчных кислот на активность панкреатической липазы.

6 Опишите технику анализа влияния желчных кислот на активность панкреатической липазы.

5 Переваривание углеводов

5.1 Лабораторная работа № 11. Анализ специфичности действия ферментов распада углеводов – амилазы и сахаразы

Крахмал и сахароза – обычные углеводы пищи. Амилаза и сахараза – ферменты, участвующие в расщеплении этих углеводов. Амилаза слюны расщепляет крахмал до мальтозы, а затем мальтоза расщепляет последнюю до свободной глюкозы. Сахараза кишечного сока расщепляет сахарозу до глюкозы и фруктозы.

Источником ферментов могут быть *слюна* (для амилазы) и *пекарские дрожжи* (для сахарозы).

Принцип метода основан на специфичности действия амилазы слюны и сахаразы дрожжей на соответствующие субстраты. О расщеплении крахмала и сахарозы судят по образованию глюкозы, которую определяют пробой Троммера (модификация пробы «медного зеркала» на альдегидную группу). Крахмал и сахароза не содержат способной окисляться альдегидной группы и не дают положительной пробы Троммера при нагревании.

Реактивы и материалы

- 1 Едкий натр, 30 % раствор.
- 2 Сернокислая медь, 7 % раствор.
- 3 Крахмал.
- 4 Сахароза.
- 5 Слюна.
- 6 Пекарские дрожжи.

Оборудование

- 1 Штатив с пробирками.
- 2 Водяная баня или термостат на 40 °С.
- 3 Горелка.

Техника

1 Слюну разводят в соотношении 1:5 и полученный раствор используют как источник амилазы.

2 Получение сахаразы осуществляют следующими образом: 10 г пекарских дрожжей тщательно растирают в ступке, добавляют 15 мл воды, а полученный фильтрат используют как источник фермента.

3 В четыре пробирке по каплям добавляют следующие реактивы: крахмал, сахароза, амилаза, сахараза.

4 Пробы перемешивают и инкубируют при 40 °С в течение 10 мин, а затем проводят пробу Троммера с содержимым каждой пробирки:

а) к содержимому исследуемого раствора добавляют равный объем 30 % раствора NaOH и 1 каплю 7 % раствора CuSO₄ (так, чтобы не растекались по стенкам пробирки) до появления в верхнем слое не исчезающей голубой мути - вследствие образования гидроксида меди (II) Cu(OH)₂;

б) осторожно, не встряхивая пробирку, нагревают ее на горелке. При кипячении выпадает желтый осадок гидроксида меди (I) CuOH или красный осадок Cu₂O. В случае избытка CuSO₄ образуется черный осадок CuO.

Рекомендации к составлению протокола

Результаты анализа проб в реакциях на наличие глюкозы записывают в таблицу 7.

Таблица 7 - Результаты проб Троммера

Номер пробы	Крахмал	Сахароза	Амилаза	Сахараза	Окраска в реакции Троммера на наличие глюкозы
1	10 капель	-	5 капель	-	
2	10 капель	-	-	5 капель	
3	-	10 капель	5 капель	-	
4	-	10 капель	-	5 капель	

5.2 Вопросы к защите лабораторной работы № 11

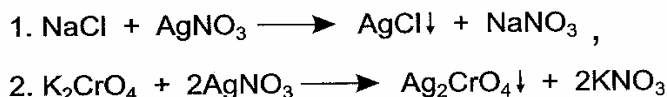
1 На чем основан принцип анализа специфичности действия ферментов распада углеводов?

2 Опишите технику определения специфичности действия амилазы слюны и сахаразы кишечного сока.

6 Биохимия всасывания минеральных веществ

6.1 Лабораторная работа № 12. Количественное определение хлоридов в моче (по Мору)

Хлориды мочи с ионами серебра образуют нерастворимое хлористое серебро, выпадающее в осадок. Для определения окончания реакции используют хромат калия K_2CrO_4 , который с избытком ионов серебра, получающимся после осаждения всех ионов хлора, дает нерастворимый осадок хромовокислого серебра. В этом случае в жидкости будут протекать две реакции



Обе полученные соли ($AgCl$ и Ag_2CrO_4) нерастворимы в воде. Первоначально образуется $AgCl$ и только потом, когда все ионы хлора будут удалены из раствора, начинается выделение хромата серебра Ag_2CrO_4 . В этот момент цвет осадка начинает изменяться: из белого или желтого он будет переходить в кирпично-красный, по появлению которого судят о том, что реакция между ионами хлора и серебра закончилась. Такая последовательность образования обоих осадков обусловлена тем, что хлористое серебро менее растворимо, чем хромовокислое серебро.

Реактивы и материалы

1 Моча.

2 Едкий натр, 0,1 н. раствор.

3 Хромовокислый калий, 10 % раствор.

4 Азотнокислое серебро (раствор, содержащий 29,061 г химически чистого $AgNO_3$ на 1 л дистиллированной воды: 1 мл этого раствора соответствует 0,01 г хлористого натрия).

Оборудование

- 1 Пипетки емкостью 5 и 10 мл.
- 2 Мерная колба на 100 мл.
- 3 Лакмусовая бумага.
- 4 Конические колбочки.
- 5 Микробюретка.

Техника

1 Отмеривают точно 10 мл профильтрованной мочи из суточного объема в мерную колбу емкостью 100 мл, прибавляют при помешивании 0,1 н. раствор едкого натра до момента получения нейтральной реакции на лакмус и доливают водой до 100 мл.

2 Для анализа берут 5 или 10 мл жидкости в коническую колбочку (0,5 или 1 мл мочи), прибавляют несколько капель 10 % раствора хромовокислого калия в качестве индикатора и титруют из микробюретки раствором азотнокислого серебра до появления не исчезающего при взбалтывании кирпично-красного окрашивания.

Расчеты

1 мл раствора азотнокислого серебра соответствует 0,01 г хлористого натрия, поэтому число израсходованных на титрование мочи миллилитров AgNO_3 умножают на 0,01; результат соответствует количеству граммов хлористого натрия во взятом для титрования количестве мочи. Вычисляют количество хлористого натрия (в граммах), выделенного с мочой за сутки, по формуле

$$x = \frac{a \cdot 0,01 \cdot U}{b},$$

где x - количество хлористого натрия, выделенное с мочой за сутки, г;

a - количество раствора азотнокислого серебра, использованное на

титрование взятого количества мочи, мл;

0,01 - количество хлористого натрия, соответствующее 1 мл раствора азотнокислого серебра, г;

U - количество мочи, собранной за сутки, мл;

b - количество мочи, взятой для титрования, мл (0,5 или 1 мл). Если хотят результат выразить в количестве хлорид-ионов в ммоль за 24 ч, то полученное число x умножают на 17,11.

При наличии в моче белка его следует предварительно удалить, так как белок способен осаждаться, образуя соединения с серебром.

Рекомендации к составлению протокола

Результаты определения занести в таблицу 8. Сравнить полученные данные с нормальными показателями и сделать соответствующий вывод.

Таблица 8 - Количественное определение минеральных элементов в биологических объектах

Исследуемый объект	Определяемый элемент	Принцип метода	Найденное содержимое минерального элемента

В выводах сопоставить полученные результаты с нормальными.

6.2 Вопросы к защите лабораторной работы № 12

1 В чем заключается принцип количественного определения хлоридов в моче?

2 Какие химические реактивы используются для количественного определения хлоридов в моче?

3 Опишите технику расчетов содержания хлористого натрия, выделенного с мочой за сутки.

7 Литература, рекомендуемая для изучения дисциплины

7.1 Основная

7.1.1 Биохимия : учеб. для студентов мед. вузов / под ред. Е. С. Северина.- 5-е изд. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 766 с. : ил. - Прил. : с. 735-760. - Предм. указ.: с. 748-760. - ISBN 978-5-9704-1195-7.

7.1.2 Комов, В. П. Биохимия : учебник для вузов / В. П. Комов, В. Н. Шведова .- 2-е изд., испр. - М. : Дрофа, 2006. - 638 с. - (Высшее образование: Современный учебник). - Предм. указ.: с. 620. - ISBN 5-358-01012-2.

7.1.3 Комов, В. П. Биохимия : учеб. для вузов / В. Т. Комов, В. Н. Шведова .- 3-е изд., стер. - М. : Дрофа, 2008. - 640 с. - (Высшее образование: Современный учебник). - Предм. указ.: с. 620-630. - ISBN 978-5-358-04872-0.

7.1.4 Пищевая химия : учеб. для вузов / под ред. А. П. Нечаева. - 2-е изд., перераб. и испр. - СПб. : ГИОРД, 2003. - 640 с. - (Учеб. и учеб. пособия). - ISBN 5-901065-38-0.

7.1.5 Пищевая химия : учеб. для студентов / под ред. А. П. Нечаева .- 3-е изд., испр. - СПб. : ГИОРД, 2004. - 640 с. - Список лит.: с. 607-616. - Алф.-пред. указ.: с. 617-625. - ISBN 5-901065-71-9.

7.2 Дополнительная

7.2.1 Биохимия: учебник / под ред. Е.С. Северина. – 3-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР-Медия, 2005. – 784 с.: ил. – ISBN 5-9704-0012-2.

7.2.2 Клиническая биохимия : учеб. пособие для студентов мед. вузов / под ред. В. А. Ткачука .- 3-е изд., испр. и доп. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 462 с. : ил.. - Библиогр.: с. 430. - Предм. указ.: с. 451-454. - ISBN 978-5-9704-0733-2.

7.2.3 Кольман, Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рём : пер. с нем. – 3-е изд. – М.: Мир; БИОНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – 469 с.: ил. - ISBN 978-5-9963-0126-3 (БИОНОМ. ЛЗ), ISBN 978-5-03-003811-7 (Мир).

7.2.4 Мусил, Я. Современная биохимия в схемах / Я. Мусил, О. Новакова, К. Кунц ; пер. с англ. С. М. Аваевой, А. А. Байкова. - М. : Мир, 1981. - 215 с : ил.. - Библиогр.: с. 208.

7.2.5 Степаненко, Б. Н. Химия и биохимия углеводов : моносахариды: учеб. пособие для вузов / Б. Н. Степаненко . - М. : Высш. шк., 1977. - 224 с. : ил.

7.2.6 Стрекаловская, А. Д. Биохимия [Электронный ресурс] : метод. указ. / А. Д. Стрекаловская. - Оренбург : ГОУ ОГУ, 2007. – 26 с.

7.2.7 Филиппович, Ю. Б. Биохимия белка и нуклеиновых кислот : учеб. пособие для пед. ин-тов / Ю. Б. Филиппович. - М. : Просвещение, 1978. - 192 с.

7.2.8 Филиппович, Ю.Б. Основы биохимии : учеб. для вузов / Ю.Б. Филиппович . - 4-е изд., перераб. и доп. - М. : Агар ; СПб. : Флинта : Лань, 1999. - 512 с. : ил.. - Библиогр.: с. 485-494 . - ISBN 5-89218-046-8 .

7.2.9 Химический состав российских пищевых продуктов : справочник / под ред. И.М. Скурихина, В.А. Тутельяна . - М. : ДеЛи принт, 2002. - 236 с - ISBN 5-94343-028-8.

7.2.10 Эллиот, В. Биохимия и молекулярная биология = Biochemistry and Molecular Biology : учеб. пособие для вузов / В. Эллиот, Д. Эллиот . - М. : Наука ; Интерпериодика, 2002. - 446 с. : ил.. - Парал. тит. л. на англ. яз. - Предм. указ.: с. 416-433. - ISBN 5-7846-0036-2.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1 Биохимия: краткий курс с упражнениями и задачами / под ред. члена-корреспондента РАН, проф. Е.С. Северина, проф. А.Я. Николаева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 448 с.: ил. – (XX век). – ISBN 5-9231-0053-3.

2 Биохимия: руководство к практическим занятиям : учебное пособие / под ред. проф. Н.Н. Чернова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 240 с.: ил. - ISBN 978-5-9704-1287-9.

3 Зубаиров, Д.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / Д.М. Зубаиров, В.Н. Тимербаев, В.С. Давыдов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – 392 с.: ил. - ISBN 5-9704-0007-6.

4 Практикум по биохимии : учеб. пособие / под ред. С.Е. Северина, Г.А. Соловьевой .- 2-е изд., перераб. и доп. - М. : МГУ, 1989. - 509 с. : ил. - ISBN 5-211-00406-X.

5 Стрекаловская, А. Д. Биохимия : метод. указ. к лаб. работам / А. Д. Стрекаловская. - Оренбург : ГОУ ОГУ. - 2007. - 26 с. - Библиогр.: с. 26.