



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Дальневосточный федеральный университет»
(ДФУ)

ШКОЛА ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

«СОГЛАСОВАНО»
Руководитель ОП


М. С. Васильева

« 15 » сентябрь 2017 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
Заведующий кафедрой физической и
аналитической химии


М. С. Васильева

« 15 » сентябрь 2017 г.

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА УЧЕБНОЙ ДИСЦИПЛИНЫ

Биологические методы анализа

Направление подготовки 04.04.01 Химия

Форма подготовки очная

Магистерская программа «Органическая, элементоорганическая и биоорганическая
химия»

курс 2 семестр 1

лекции 4 час.

практические занятия ___ час.

лабораторные работы 22 час.

в том числе с использованием МАО лек. 4 /пр. ___ /лаб. ___ час.

всего часов аудиторной нагрузки 26 час.

в том числе с использованием МАО 4 час.

самостоятельная работа 10 час.

в том числе на подготовку к экзамену ___ час.

контрольные работы (количество)

курсовая работа / курсовой проект ___ семестр

зачет 3 семестр

экзамен ___ семестр

Рабочая программа составлена в соответствии с требованиями образовательного стандарта, самостоятельно устанавливаемого ДВФУ, утвержденного приказом ректора ДВФУ № 12-13-592 от 04.04.2016.

Рабочая программа обсуждена на заседании кафедры физической и аналитической химии протокол № 17 от «20 июня» 2017 г.

Заведующий кафедрой физической и аналитической химии д.х.н., доцент Васильева М.С.
Составитель: д.х.н., доцент Васильева М.С.

Оборотная сторона титульного листа РПУД

I. Рабочая программа пересмотрена на заседании кафедры:

Протокол от «_____» _____ 20__ г. № _____

Заведующий кафедрой _____
(подпись) (И.О. Фамилия)

II. Рабочая программа пересмотрена на заседании кафедры:

Протокол от «_____» _____ 20__ г. № _____

Заведующий кафедрой _____
(подпись) (И.О. Фамилия)

ABSTRACT

Master's degree in training direction 04.04.01 Chemistry

Master's Program "*Organic, elementoorganic and bioorganic chemistry*"

Course title: *Biological methods of analysis*

Facultative part of Block, 1 credit

Instructor: *Vasilyeva Marina*

At the beginning of the course a student should be able to:

- Possession of a system of fundamental chemical concepts;
- the ability to receive and process the results of scientific experiments using modern computer technologies;
- Possession of skills in presenting the results obtained in the form of brief reports and presentations;
- the ability to solve standard tasks of professional activity using modern information and communication technologies, taking into account the basic information security requirements;
- Ability to search and initial processing of scientific and scientific and technical information.

Learning outcomes:

GPC-2. *possession of modern computer technologies in planning research, obtaining and processing the results of scientific experiments, collecting, processing, storing, presenting and transmitting scientific information;*

SPC-2. *possession of theory and practical skills in the chosen field of chemistry.*

Course description: The discipline "Biological Methods of Analysis" is important in ensuring a high level of professional readiness of graduate students. Mastering this discipline will allow students to competently navigate the kinetic, biochemical (enzymatic and immunochemical), as well as biological methods used in chemical analysis; represent the place of these methods among others, the value and scope of each of them; the main ways to improve them.

The student will clearly represent the advantages and disadvantages of the various options for these methods; to understand which of them it is advisable to use for the determination of inorganic and organic compounds in the analysis of objects of different nature and composition; be able to optimize the methods of the chosen methods and correctly apply them in practice.

Main course literature:

Основы аналитической химии : учебник для химического направления и химических специальностей вузов . в 2 т. : т. 2 / [Н. В. Алов, Ю. А. Барбалат, А.

- Г. Борзенко и др.] ; под ред. Ю. А. Золотова. – М.: Академия, 2010 – 408 с.
<http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:668645&theme=FEFU>
2. Будников, Г. К. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицины [Электронный ресурс] / Г. К. Будников, Г. А. Евтюгин, В. Н. Майстренко. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. - 416 с.
<http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=365411>
3. Хенце, Г. Полярография и вольтамперометрия. Теоретические основы и аналитическая практика [Электронный ресурс] / Г. Хенце; пер. с нем. - 2-е изд. (эл.). - М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. - 284 с.: ил. -
<http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=502609>
4. Валова (Копылова), В. Д. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа [Электронный ресурс] : Практикум / В. Д. Валова (Копылова), Е. И. Паршина. - М.: Издательско-торговая корпорация «Дашков и К°», 2013. - 200 с. <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=430507>
5. Биохимические методы анализа / [Г. К. Будников, И. А. Веселова, Б. Б. Дзантиев и др.] ; под ред. Б. Б. Дзантиева ; Российская академия наук, Отделение химии и наук о материалах, Научный совет по аналитической химии. М.: Наука, 2010. – 391 с.
<http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:298897&theme=FEFU>
6. Харитонов, Ю. Я. Аналитическая химия. Аналитика 2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа : учебник для вузов / Ю. Я. Харитонов. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. — 654. с.
<http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:736559&theme=FEFU>

Form of final knowledge control: *pass-fail exam.*

Аннотация к рабочей программе дисциплины «Биологические методы анализа»

Дисциплина «Биологические методы анализа» относится к факультативным дисциплинам учебного плана по направлению подготовки магистров 04.04.01 «Химия», магистерская программа «Органическая, элементоорганическая и биоорганическая химия».

Общая трудоемкость освоения дисциплины составляет 1 ЗЕТ, 36 часов. Учебным планом предусмотрены лекционные занятия (4 час), лабораторные работы (22 час), самостоятельная работа студента (10 час). Изучение дисциплины заканчивается зачетом. Дисциплина реализуется на 2 курсе в 1 семестре. Дисциплина логически и содержательно связана с курсами «Методология химического эксперимента, его статистическая обработка и информационное обеспечение», «Аналитическая химия», «Биоорганическая химия», «Неорганическая химия», «Органическая химия», «Физическая химия», «Химия высокомолекулярных соединений».

Дисциплина «Биологические методы анализа» имеет важное значение в обеспечении высокого уровня профессиональной готовности выпускников магистратуры. Освоение настоящей дисциплины позволит студентам компетентно ориентироваться в кинетических, биохимических (ферментативных и иммунохимических), а также биологических методах, используемых в химическом анализе; представлять место этих методов в ряду других, значение и области применения каждого из них; основные пути их совершенствования. Студент будет четко представлять преимущества и недостатки различных вариантов указанных методов; понимать, какие из них целесообразно применять для определения неорганических и органических соединений при анализе различных по природе и составу объектов; уметь оптимизировать методики выбранных методов и грамотно применять их на практике.

Цель – формирование у магистрантов знаний о современных биологических, биохимических и кинетических методах анализа, применяемых

для анализа различных объектов окружающей среды, биологии, геологии, медицины, различных отраслей промышленности; формирование фундаментальных знаний о принципах, закономерностях, областях применения указанных методов.

Задачи:

- 1) овладение теоретическими знаниями и практическими навыками биологического и биохимического экспериментов;
- 2) приобретение представлений о планировании, организации и проведении биохимического эксперимента и представлению экспериментальных данных регистрации и обработки результатов химических экспериментов;
- 3) формирование у студентов знания об аналитических системах с использованием биологического детектирующего элемента;
- 4) получение представлений о способах построения биосенсоров и их применении.

Для успешного изучения дисциплины «Биологические методы анализа» у обучающихся должны быть сформированы следующие предварительные компетенции:

- владение системой фундаментальных химических понятий;
- способность получать и обрабатывать результаты научных экспериментов с помощью современных компьютерных технологий;
- владение навыками представления полученных результатов в виде кратких отчетов и презентаций;
- способность решать стандартные задачи профессиональной деятельности с использованием современных информационно-коммуникационных технологий с учетом основных требований информационной безопасности;
- способность к поиску и первичной обработке научной и научно-технической информации.

В результате изучения данной дисциплины у обучающихся формируются следующие общекультурные/ общепрофессиональные/ профессиональные компетенции (элементы компетенций).

Код и формулировка компетенции	Этапы формирования компетенции	
ОПК-2 Владение современными компьютерными технологиями при планировании исследований, получении и обработке результатов научных экспериментов, сборе, обработке, хранении, представлении и передаче научной информации	Знает	- основы работы на персональном компьютере и информационные технологии, необходимые для выполнения лабораторных работ по биологическим, кинетическим и физико-химическим методам анализа
	Умеет	- пользоваться информационными технологиями, необходимыми для выполнения лабораторных работ; - организовать самостоятельную работу с системами информационного обеспечения.
	Владеет	- навыками использования основных информационных технологий, необходимых для выполнения лабораторных работ; - навыками поиска и анализа научно-технической информации.
ПК-2 владением теорией и навыками практической работы в избранной области химии	Знает	- основы биологических и биохимических методов анализа; - особенности применения физико-химических методов анализа для исследования биологических объектов
	Умеет	Интерпретировать результаты биологических, кинетических и физико-химических методов анализа
	Владеет	навыками интерпретации результатов биологических, кинетических и физико-химических методов анализа реальных объектов

Для формирования вышеуказанных компетенций в рамках дисциплины «Биологические методы анализа» применяются следующие методы активного/интерактивного обучения: лекция-беседа, проблемная лекция с использованием различных вспомогательных средств: доски, книг, видео, слайдов, постеров, компьютеров и т.п., с последующим обсуждением материалов.

I. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ТЕОРЕТИЧЕСКОЙ ЧАСТИ КУРСА

Содержание теоретической части курса разбивается на темы.

Тема 1. Биологические методы анализа (1 час.)

МАО - лекция-беседа (1 час)

Общие положения. Аналитические индикаторы в биологическом методе.

Микроорганизмы как аналитические индикаторы. Использование

беспозвоночных в качестве индикаторных организмов. Использование позвоночных в качестве индикаторных организмов.

Тема 2. Биохимические сенсоры (1 час.)

МАО - лекция-беседа (2 час)

Селективность биосенсоров, природа лежащих в основе их действия ферментативных и иммунохимических реакций. Чувствительные элементы биосенсоров: иммобилизованные ферменты, антитела, цельные клетки микроорганизмов. Предел обнаружения биосенсоров. Методы детектирования.

Тема 3. Ферментативные методы анализа (1 ч).

МАО – проблемная лекция (1 час)

Ферменты как биологические катализаторы. Методы измерения скорости ферментативной реакции (спектроскопические, электрохимические, радиохимические, биолюминесцентные, термометрические). Иммобилизованные ферменты и их применение в химическом анализе. Ферментные электроды. Ферментативные тест-методы. Области применения ферментативных методов. Ферменты, наиболее часто используемые в химическом анализе. Примеры определения органических и неорганических соединений – субстратов и эффекторов ферментов – в различных объектах: объектах окружающей среды, биологических жидкостях и биомассах, фармацевтических препаратах, пищевых продуктах.

Тема 4. Электрохимические датчики (1 час.)

МАО - лекция-беседа (1 час)

Ионоселективный электрод. Газовый потенциометрический и ферментный электроды. Мембраны в ионоселективных газовых электродах и ферментных электродах. Потенциометрические датчики для определения аминокислот, пенициллина и других антибиотиков. Амперометрические ферментные электроды.

II. СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ПРАКТИЧЕСКОЙ ЧАСТИ КУРСА

Лабораторные работы (38 час.)

Лабораторная работа № 1. Определение активности пероксидазы (5,5 час.)

Определение активности пероксидазы (ПО) в гетеротрофных и автотрофных тканях; сравнение активности пероксидазы у разных видов высших растений. Активность фермента определяют по реакции окисления некоторых фенолов (например гваякола), присутствующих в растениях перекисью водорода, которая катализируется пероксидазой.

Лабораторная работа № 2 Определение активности полифенолоксидазы (5,5 час.)

Определение активности полифенолоксидазы (ПФО) в гетеротрофных и автотрофных тканях; сравнение активности полифенолоксидазы у разных видов высших растений.

Лабораторная работа № 3. Исследование активирующего действия лимонной кислоты на каталитическую активность Мо (VI) (6 час).

Некоторые лиганды могут играть двойственную роль, как активатора, так и ингибитора, что позволяет применять их в различных кинетических методах анализа. Одним из таких лигандов является лимонная кислота, которая активирует каталитические свойства молибдена (VI) и полностью подавляет эти свойства у вольфрама (VI) в одной и той же индикаторной реакции, а именно в реакции окисления йодида пероксидом водорода. Это позволяет определять оба металла в смеси.

Лабораторная работа № 4. Потенциометрическое определение стехиометрических коэффициентов взаимодействия антиоксидантов с гексацианоферратом (III) калия (5,5 час).

Потенциометрическое определение антиоксидантной активности и расчет стехиометрических коэффициентов взаимодействия водорастворимых

антиоксидантов, входящих в состав биологических объектов, с гексацианоферратом (III) калия.

III. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ

Учебно-методическое обеспечение самостоятельной работы обучающихся по дисциплине «Биологические методы анализа» представлено в Приложении 1 и включает в себя:

план-график выполнения самостоятельной работы по дисциплине, в том числе примерные нормы времени на выполнение по каждому заданию;

характеристика заданий для самостоятельной работы обучающихся и методические рекомендации по их выполнению;

требования к представлению и оформлению результатов самостоятельной работы;

критерии оценки выполнения самостоятельной работы.

IV. КОНТРОЛЬ ДОСТИЖЕНИЯ ЦЕЛЕЙ КУРСА

№ п/п	Контролируемые темы дисциплины	Коды и этапы формирования компетенций	Оценочные средства		
			текущий контроль	промежуточная аттестация	
1	Биологические методы анализа	ПК-2	Знает:	Собеседование (УО-1)	Собеседование (УО-1), вопрос к зачету 1
			Умеет:	Сообщение (УО-3), Лабораторная работа 1 (ПР-6)	
			Владеет:	Лабораторная работа 1 (ПР-6)	
2	Биохимические сенсоры	ПК-2	Знает:	Собеседование (УО-1)	Собеседование (УО-1), вопросы к зачету 2,3
			Умеет:	Сообщение (УО-3), Лабораторная работа 2 (ПР-6)	
			Владеет:	Лабораторная работа 2 (ПР-6)	

3	Ферментативные методы анализа	ОПК-2	Знает:	Собеседование (УО-1)	Собеседование (УО-1), вопросы к экзамену 4-9
			Умеет:	Сообщение (УО-3), Лабораторная работа 3 (ПР-6)	
			Владеет:	Лабораторная работа 3 (ПР-6)	
4	Электрохимические датчики	ПК-2	Знает:	Собеседование (УО-1)	Собеседование (УО-1), вопросы к зачету 10,11
			Умеет:	Сообщение (УО-3), Лабораторная работа 4 (ПР-6)	
			Владеет:	Лабораторная работа 4 (ПР-6)	

Типовые методические материалы, определяющие процедуры оценивания знаний, умений и навыков и (или) опыта деятельности, а также критерии и показатели, необходимые для оценки знаний, умений, навыков и характеризующие этапы формирования компетенций в процессе освоения образовательной программы, представлены в Приложении 2.

V. СПИСОК УЧЕБНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ И ИНФОРМАЦИОННО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Основная литература

1. Основы аналитической химии : учебник для химического направления и химических специальностей вузов . в 2 т. : т. 2 / [Н. В. Алов, Ю. А. Барбалат, А. Г. Борзенко и др.] ; под ред. Ю. А. Золотова. – М.: Академия, 2010 – 408 с.
<http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:668645&theme=FEFU>
2. Будников, Г. К. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицины [Электронный ресурс] / Г. К. Будников, Г. А. Евтюгин, В. Н. Майстренко. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. - 416 с.
<http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=365411>

3. Хенце, Г. Полярография и вольтамперометрия. Теоретические основы и аналитическая практика [Электронный ресурс] / Г. Хенце; пер. с нем. - 2-е изд. (эл.). - М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. - 284 с.: ил. - <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=502609>
4. Валова (Копылова), В. Д. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа [Электронный ресурс] : Практикум / В. Д. Валова (Копылова), Е. И. Паршина. - М.: Издательско-торговая корпорация «Дашков и К°», 2013. - 200 с. <http://znanium.com/catalog.php?bookinfo=430507>
5. Биохимические методы анализа / [Г. К. Будников, И. А. Веселова, Б. Б. Дзантиев и др.] ; под ред. Б. Б. Дзантиева ; Российская академия наук, Отделение химии и наук о материалах, Научный совет по аналитической химии. М.: Наука, 2010. – 391 с.
<http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:298897&theme=FEFU>
6. Харитонов, Ю. Я. Аналитическая химия. Аналитика 2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа : учебник для вузов / Ю. Я. Харитонов. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. — 654. с.
<http://lib.dvfu.ru:8080/lib/item?id=chamo:736559&theme=FEFU>

Дополнительная литература

1. Экологический мониторинг нефтегазовой отрасли. Физико-химические и биологические методы / М. Н. Саксонов, А. Д. Абалаков, Л. В. Данько, О. А. Бархатова, А. Э. Балаян, Д. И. Стом : учеб. пособие. – Иркутск: Иркут. ун-т, 2005. – 114 с.
2. Будников, Г. К. Модифицированные электроды для вольтамперометрии в химии, биологии и медицине / Г. К. Будников, Г. А. Евтюгин, В. Н. Майстренко. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2010. – 416 с. ISBN 978-5-9963-0199-7.
3. Проблемы аналитической химии. Т. 12. Биохимические методы анализа / под ред. Б. Дзантиева. – М. Наука, 2010. – 392 с. ISBN: 978-5-02-036702-9

4. Wang, J. Clucose biosensors: 40 Years of advanced and challenges. Rewiew / J. Wang // *Electroanalysis*. – 2001. Vol. 13. N. 12. P. 983-988/
5. Кулапина, Е. Г. Мультисенсорные системы в анализе жидких и газовых объектов / Е. Г. Кулапина, Н.М. Макарова. под. ред. – Саратов : Научная книга, 2010. – 165 с. ISBN 978-5-9758-0777-9
6. Биосенсоры: основы и приложения: Пер. с англ. / Под. ред. Э. Тёрнера, И. Карубе, Дж. Уилсона. – М. : Мир, 1992. – 615 с.
7. Варфоломеев, С. Д. Биосенсоры / С.Д. Варфоломеев. // [Соросовский образовательный журнал](#). – 1997. – № 1. – С. 45–49.
<http://www.pereplet.ru/obrazovanie/stsoros/240.html>
8. Прохорова, Г. К. Введение в электрохимические методы анализа / Г. К. Прохорова, под. ред. П. К. Агасян, В. М. Иванова. – М. : МГУ, 1991. – 97 с.
<http://www.chem.msu.ru/rus/books/prochor/all.pdf>
9. Электрохимические методы исследования биологических объектов: лаборатор. Практикум: [учеб.-метод. пособие] / [А. В. Иванова и др.; под общ. ред. С. Ю. Сараевой; науч. ред. В.И. Кочеров]; М-во образования и науки Рос. Федерации, Урал. федер. ун-т. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2014 – 52 с.

VI. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ

Материалы учебно-методического комплекса охватывают все этапы подготовки по дисциплине «Биологические методы анализа». Они позволяют магистранту сосредоточить свое внимание на наиболее важных ее проблемах.

Тематический план данной дисциплины построен таким образом, чтобы, сочетая возможности различных форм и методов обучения, достичь оптимального результата в усвоении учебного материала.

Основными видами занятий с магистрантами предусмотрены лекции и лабораторные работы. В лекциях предполагается дать магистрантам определенную систему знаний по изучаемой дисциплине, обозначить узловые ее проблемы, связав их с содержанием профессиональной подготовки обучаемых. Лабораторные работы имеют своей целью закрепить и углубить

полученные на лекции знания посредством активного участия каждого магистранта в обсуждении вынесенных на рассмотрение вопросов. Для этого необходимо к каждому занятию изучать рекомендованную литературу и нормативно-правовые акты, а также самому вести поиск новейших источников, отражающих современный уровень разработки той или иной проблемы.

Существенную роль в освоении учебного материала призвана сыграть самостоятельная работа магистрантов, четкие представления о которой получены обучаемыми в процессе выполнения бакалаврской программы.

Рекомендации по работе с литературой

Следует отметить, что представленный в учебно-методическом комплексе список литературных источников не является исчерпывающим, а предлагается как определенный ориентир при изучении указанных в планах практических занятий проблем. В связи с этим, каждый магистрант должен уметь вести поиск имеющейся в библиотечных фондах научной информации, следить за новыми публикациями и самостоятельно определяться относительно их теоретической и практической значимости.

На этой основе рекомендуется вырабатывать собственные критерии сравнительной оценки имеющихся источников и основания осознанного предпочтения одних публикаций перед другими.

Рекомендации по подготовке к зачету

Подготовка к зачету должна начинаться с внимательного ознакомления с перечнем вопросов, вынесенных кафедрой на итоговую форму контроля по данной учебной дисциплине. Затем, следует подобрать необходимую литературу, где содержатся ответы на подлежащие проработке вопросы и еще раз изучить соответствующие ее темы и разделы. Правильное распределение времени на подготовку к зачету, планомерность проработки учебного материала – залог успешной сдачи предстоящего испытания.

VII. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

Учебная химическая лаборатория, снабженная вытяжной системой. Химическая посуда и химические реактивы, сушильные шкафы, муфельные печи, ротор-испаритель. Спектрофотометр UV-mini (Shimadzu), pH-метр, перемешивающее устройство с подогревом и др. Оборудование Лаборатории молекулярного анализа для проведения физико-химических исследований: ИК-спектрометр HEWLETT PACKARD Series 1110 MSD; дифрактометр Bruker - AXS "D8" Advanced; ЯМР- спектрометр высокого разрешения Avance 400 МГц (Bruker) и др



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Дальневосточный федеральный университет»
(ДВФУ)

ШКОЛА ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ
РАБОТЫ ОБУЧАЮЩИХСЯ**

по дисциплине «Биологические методы анализа»

Направление подготовки 04.04.01 Химия

магистерская программа «Органическая, элементоорганическая и
биоорганическая химия»

Форма подготовки очная

Владивосток

2017

План-график выполнения самостоятельной работы по дисциплине

№ п/п	Дата/сроки выполнения	Вид самостоятельной работы	Примерные нормы времени на выполнение	Форма контроля
1	1 неделя	Работа с литературой, подготовка к собеседованию	2	Собеседование (УО 1)
2	2 неделя	Работа с литературой, подготовка к собеседованию	2	Собеседование (УО 1)
3	3 неделя	Работа с литературой, подготовка к собеседованию	2	Собеседование (УО 1)
4	4 неделя	Работа с литературой, подготовка к собеседованию	2	Собеседование (УО 1)
5	5 неделя	Работа с литературой, подготовка к зачету	2	Собеседование (УО 1)

Характеристика заданий для самостоятельной работы обучающихся и методические рекомендации по их выполнению

Самостоятельная работа студентов включает изучение рекомендованной и дополнительной литературы, самотестирование, подготовку рефератов, докладов, эссе, написание научной работы (тезисов, статьи).

Студентам необходимо руководствоваться следующими правилами правила по планированию и реализации самостоятельной учебной деятельности:

1. Прежде чем выполнить любое дело, четко сформулируйте цель предстоящей деятельности.
2. Подумайте и до конца осознайте, почему вы будете это делать, для чего это нужно.

3. Оцените и проанализируйте возможные пути достижения цели. Постарайтесь учесть все варианты.

4. Выберите наилучший вариант, взвесив все условия.

5. Наметьте промежуточные этапы предстоящей работы, определите время выполнения каждого этапа.

6. Во время реализации плана постоянно контролируйте себя и свою деятельность. Корректируйте работу с учетом получаемых результатов, т. е. осуществляйте и используйте обратную связь.

7. По окончании работы проанализируйте ее результаты, оцените степень их совпадения с поставленной целью. Учтите сделанные ошибки, чтобы их избежать в будущем.

При выполнении заданий самостоятельной работы студентам предстоит:

- самостоятельная формулировка темы задания (при необходимости);
- сбор и изучение информации;
- анализ, систематизация и трансформация информации;
- отображение информации в необходимой форме;
- консультация у преподавателя;
- коррекция поиска информации и плана действий (при необходимости);
- оформление работы;
- поиск способа подачи выполненного задания;
- представление работы на оценку преподавателя или группы (при необходимости).

По итогам самостоятельной работы студенты должны:

- развить такие универсальные умения, как умение учиться самостоятельно, принимать решения, проектировать свою деятельность и осуществлять задуманное, проводить исследование, осуществлять и организовывать коммуникацию;

- научиться проводить рефлексию: формулировать получаемые результаты, переопределять цели дальнейшей работы, корректировать свой образовательный маршрут.

Критерии оценки выполнения самостоятельной работы

Уровень и результаты самостоятельной работы студентов проверяются на практических занятиях, в индивидуальных беседах и в последующем на зачете.

Критерии оценки устанавливает преподаватель и доводит их до сведения студентов. Оценка результатов самостоятельной работы каждого студента группы должна быть прокомментирована преподавателем на занятии.

Общими критериями оценки результатов самостоятельной работы обучающихся являются:

- уровень освоения теоретического материала;
- уровень умения использовать теоретические знания при выполнении практических задач;
- уровень умения активно использовать электронные образовательные ресурсы, находить требуемую информацию, изучать ее и применять на практике;
- обоснованность и четкость изложения материала;
- оформление материала в соответствии с указанными требованиями.



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Дальневосточный федеральный университет»
(ДФУ)

ШКОЛА ЕСТЕСТВЕННЫХ НАУК

ФОНД ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

по дисциплине «Биологические методы анализа»

Направление подготовки 04.04.01 Химия

магистерская программа «Органическая, элементоорганическая и
биоорганическая химия»

Форма подготовки очная

Владивосток
2017

**Фонда оценочных средств
по дисциплине «Биологические методы анализа»**

Код и формулировка компетенции	Этапы формирования компетенции	
<p>ОПК-2 Владение современными компьютерными технологиями при планировании исследований, получении и обработке результатов научных экспериментов, сборе, обработке, хранении, представлении и передаче научной информации</p>	Знает	- основы работы на персональном компьютере и информационные технологии, необходимые для выполнения лабораторных работ по биологическим, кинетическим и физико-химическим методам анализа
	Умеет	- пользоваться информационными технологиями, необходимыми для выполнения лабораторных работ; - организовать самостоятельную работу с системами информационного обеспечения.
	Владеет	- навыками использования основных информационных технологий, необходимых для выполнения лабораторных работ; - навыками поиска и анализа научно-технической информации.
<p>ПК-2 владением теорией и навыками практической работы в избранной области химии</p>	Знает	- основы биологических и биохимических методов анализа; - особенности применения физико-химических методов анализа для исследования биологических объектов
	Умеет	Интерпретировать результаты биологических, кинетических и физико-химических методов анализа
	Владеет	навыками интерпретации результатов биологических, кинетических и физико-химических методов анализа реальных объектов

№ п/п	Контролируемые темы дисциплины	Коды и этапы формирования компетенций	Оценочные средства		
			текущий контроль	промежуточная аттестация	
1	Биологические методы анализа	ПК-2	Знает:	Собеседование (УО-1)	Собеседование (УО-1), вопрос к зачету 1
Умеет:	Сообщение (УО-3), Лабораторная работа 1 (ПР-6)				
Владеет:	Лабораторная работа 1 (ПР-6)				

2	Биохимические сенсоры	ПК 2	Знает:	Собеседование (УО-1)	Собеседование (УО-1), вопросы к зачету 2,3
			Умеет:	Сообщение (УО-3), Лабораторная работа 2 (ПР-6)	
			Владеет:	Лабораторная работа 2 (ПР-6)	
3	Ферментативные методы анализа	ОПК-2	Знает:	Собеседование (УО-1)	Собеседование (УО-1), вопросы к экзамену 4-9
			Умеет:	Сообщение (УО-3), Лабораторная работа 3 (ПР-6)	
			Владеет:	Лабораторная работа 3 (ПР-6)	
4	Электрохимические датчики	ПК-2	Знает:	Собеседование (УО-1)	Собеседование (УО-1), вопросы к зачету 10,11
			Умеет:	Сообщение (УО-3), Лабораторная работа 4 (ПР-6)	
			Владеет:	Лабораторная работа 4 (ПР-6)	

II. Шкала оценивания уровня сформированности компетенций по дисциплине «Биологические методы анализа»

Код и формулировка компетенции	Этапы формирования компетенции		критерии	показатели
Владение современными компьютерными технологиями при планировании исследований, получении и	знает (пороговый уровень)	- основы работы на персональном компьютере и информационные технологии, необходимые	Сформированность знаний основах работы на персональном компьютере и информационных технологиях	Способность сформулировать основы работы на персональном компьютере и информационные технологии, необходимые для

<p>обработке результатов научных экспериментов, сборе, обработке, хранении, представлении и передаче научной информации (ОПК-2)</p>		<p>для выполнения лабораторных работ по биологическим, кинетическим и физико-химическим методам анализа</p>		<p>выполнения лабораторных работ по биологическим, кинетическим и физико-химическим методам анализа</p>
	<p>умеет (продвинутой)</p>	<p>- пользоваться информационными технологиями, необходимыми для выполнения лабораторных работ;</p> <p>- организовать самостоятельную работу с системами информационного обеспечения.</p>	<p>Сформированность умений пользоваться информационными технологиями, необходимыми для выполнения исследовательских работ</p>	<p>Способность пользоваться информационными и технологиями, необходимыми для выполнения исследовательских работ; организовать самостоятельную работу с системами информационного обеспечения</p>
	<p>владеет (высокой)</p>	<p>- навыками использования основных информационных технологий, необходимых для выполнения лабораторных работ;</p> <p>- навыками поиска и анализа научно-технической информации.</p>	<p>Сформированностью навыками, использования основных информационных технологий, необходимых для выполнения исследовательских и проектных работ</p>	<p>Владеет навыками, навыками использования основных информационных технологий, необходимых для выполнения исследовательских и проектных работ; навыками поиска и анализа научно-технической информации</p>
<p>владением теорией и навыками практической работы в избранной</p>	<p>знает (пороговый уровень)</p>	<p>- основы биологических и биохимических методов анализа;</p>	<p>Сформированностью знаний об основах биологических и биохимических методов анализа</p>	<p>Способностью формулировать особенности применения физико-химических</p>

области химии (ПК-2)		- особенности применения физико-химических методов анализа для исследования биологических объектов		методов анализа для исследования биологических объектов
	умеет (продвинутый)	Интерпретировать результаты биологических, кинетических и физико-химических методов анализа	Сформированностью умений интерпретировать результаты биологических, кинетических и физико-химических методов анализа	Способностью интерпретировать результаты биологических, кинетических и физико-химических методов анализа
	владеет (высокий)	навыками интерпретации и результатов биологических, кинетических и физико-химических методов анализа реальных объектов	Сформированностью навыков интерпретации результатов биологических, кинетических и физико-химических методов анализа реальных объектов	Владеет способностями интерпретировать результаты биологических, кинетических и физико-химических методов анализа реальных объектов

Примерный перечень оценочных средств (ОС)

I. Текущая аттестация студентов

Устный опрос

Собеседование (УО-1) (Средство контроля, организованное как специальная беседа преподавателя с обучающимися на темы, связанные с изучаемой дисциплиной, и рассчитанное на выяснение объема знаний по определенному разделу, теме, проблеме и т.п.). Вопросы к экзамену.

Письменные работы

Лабораторная работа. Отчет (ПР-6) (Средство для закрепления и практического освоения материала по определенному разделу). Комплект лабораторных работ.

Вопросы для подготовки к зачету для промежуточного контроля знаний по дисциплине «Биологические методы анализа»

1. Аналитические индикаторы в биологическом методе. Примеры использования биологических методов для определения различных соединений.
2. Биохимические сенсоры. Селективность биосенсоров, природа лежащих в основе их действия ферментативных и иммунохимических реакций.
3. Чувствительные элементы биосенсоров: иммобилизованные ферменты, антитела, цельные клетки микроорганизмов. Предел обнаружения биосенсоров. Методы детектирования.
4. Ферментативные методы анализа. Ферменты как биологические катализаторы. Классификация ферментов. Важнейшие сведения о структуре ферментов. Апоферменты, кофакторы, коферменты, простетические группы. Субстратная специфичность ферментов. Фермент-субстратные комплексы. Активные центры. Иммобилизованные ферменты и их применение в химическом анализе. Физические и химические методы иммобилизации. Ферментные электроды.
5. Кинетические и термодинамические закономерности ферментативных реакций. Механизмы ферментативного катализа. Уравнение Михаэлиса-Ментен.
6. Эффекторы ферментов. Активаторы. Ингибиторы. Различные типы ингибирования ферментов. Индикаторные ферментативные реакции. Методы измерения скорости ферментативной реакции (спектроскопические, электрохимические, радиохимические, биолюминесцентные, термометрические).
7. Иммобилизованные ферменты и их применение в химическом анализе.
8. Физические и химические методы иммобилизации. Ферментные электроды. Ферментативные тест-методы. Чувствительность и избирательность определения субстратов ферментов и их эффекторов.

9. Области применения ферментативных методов. Ферменты, наиболее часто используемые в химическом анализе. Примеры определения органических и неорганических соединений – субстратов и эффекторов ферментов – в различных объектах: объектах окружающей среды, биологических жидкостях и биомассах, фармацевтических препаратах, пищевых продуктах.

10. Электрохимические датчики. Ионоселективный электрод. Газовый потенциометрический и ферментный электроды.

11. Мембраны в ионоселективных газовых электродах и ферментных электродах. Потенциометрические датчики для определения аминокислот, пенициллина и других антибиотиков. Амперометрические ферментные электроды.

Комплект лабораторных работ

Лабораторная работа № 1. Определение активности пероксидазы

Суть работы. Требуется определить активность пероксидазы (ПО) в гетеротрофных и автотрофных тканях; сравнить активность пероксидазы у разных видов высших растений. Активность фермента определяют по реакции окисления некоторых фенолов (например гваякола), присутствующих в растениях перекисью водорода, которая катализируется пероксидазой. Уравнение реакции:



Образуется окрашенный продукт и оптическая плотность раствора, измеренная при 440 нм, увеличивается.

Реактивы, посуда, аппаратура Фосфатный буфер, 0,06М раствор, рН 6,7. Перекись водорода (H₂O₂), 0,3% -ный раствор. Мерная колба вместимостью 50 мл. Стакан вместимостью 50 мл, 100 мл.

Пипетки. Дозаторы с переменным объёмом «Ленпипет». Фарфоровая ступка с пестиком. Фотометр. Секундомер. Выполнение работы Навеску растительного материала (листья или корни высших растений) массой 50–100 мг (необходимо точно записать массу) растирают в ступке с небольшим количеством (около 5 мл) 0,06 М фосфатного буфера, рН 6,7. Растёртую массу количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки тем же буфером, хорошо перемешивают и оставляют на 15 мин. Затем раствор фильтруют через двойной бумажный фильтр в стаканчик. Фильтрат (вытяжку) используют для определения активности фермента. Для измерения оптической плотности используют три кюветы по 8 мл (l = 2 см) (контроль и две химические повторности). В каждую из трёх кювет вносят: – 2 мл вытяжки; – 2 мл 0,06 М фосфатного буфера, рН 6,7; – 2 мл гваякола. После этого в контрольную кювету вносят 2 мл дистиллированной воды, устанавливают её в кюветное отделение фотометра и вводят в световой луч. Ручками грубой и точной настройки нуля устанавливают "0" оптической плотности по контрольной кювете. Одну из опытных кювет устанавливают в кюветное отделение фотометра и вводят в световой луч. Автоматической пипеткой вносят в опытную кювету 2 мл 0,3% раствора перекиси водорода и одновременно включают секундомер. Записывают значения оптической плотности через каждые 5 (–20–60) секунд. Необходимо снять 5–10 точек. Таким же способом измеряют вторую опытную кювету. Строят график зависимости оптической плотности A₄₄₀ от времени t. На графике находят линейный участок и вычисляют скорость изменения оптической плотности $A'_{440} = (A_{440}^2 - A_{440}^1) / (t^2 - t^1)$. (A'₄₄₀ вычисляется по численным значениям, а не измеряется по графику!) Активность пероксидазы АПО рассчитывают по

$$A_{\text{ПО}} = \frac{A'_{440} * N}{m_{\text{сыр.}} * l_{\text{кюв.}}} \left[\frac{\text{(ед. опт. плотн.)}}{\text{(г сыр. массы) * (сек)}} \right],$$

где A'₄₄₀ – скорость изменения оптической плотности [ед. опт. плот. / сек];

N – разведение;

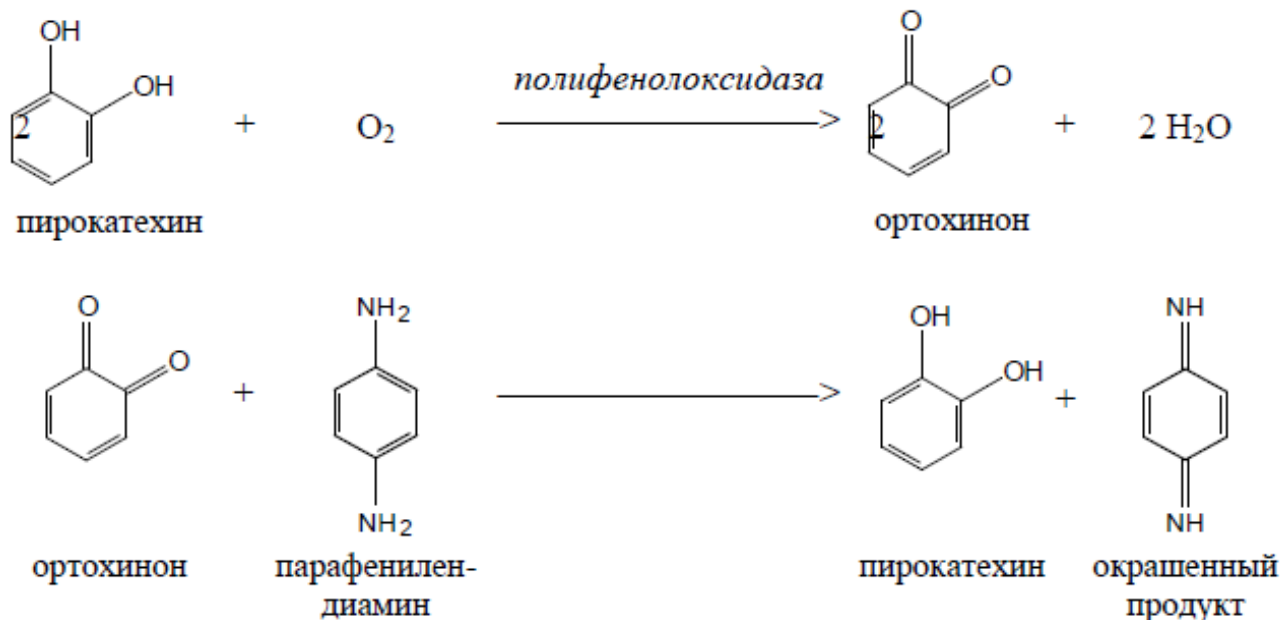
$m_{\text{сыр.}}$ – сырая масса навески, г;

$l_{\text{кюв.}}$ – толщина кюветы, см.

В выводах указать рассчитанную активность фермента, сравнить активность фермента в разных органах /видах/ условиях выращивания растений, объяснить возможные причины различий на основе сведений о функциях фермента в растении.

Лабораторная работа № 2. Определение активности полифенолоксидазы

Суть работы. Требуется определить активность полифенолоксидазы (ПФО) в гетеротрофных и автотрофных тканях; сравнить активность полифенолоксидазы у разных видов высших растений. При окислении фенолов полифенолоксидазой в присутствии диэтилпарафенилендиамина образуется окрашенный продукт и оптическая плотность при 590 нм увеличивается. Реакции, проходящие в реакционной среде:



Реактивы, посуда, аппаратура

Фосфатный буфер, 0,06М раствор, рН 7,0-7,4.

Диэтилпарафенилендиамин, 0,02% раствор.

Пирокатехин, 1%-ный раствор.

Мерная колба вместимостью 50 мл. Стакан вместимостью 50 мл, 100 мл. Пипетки. Дозаторы с переменным объёмом «Ленпипет». Фарфоровая ступка с пестиком. Фотометр. Секундомер.

Выполнение работы

Навеску растительного материала 250–500 мг (необходимо точно записать массу) растирают в ступке с небольшим количеством (около 5 мл) 0,06 М фосфатного буфера, рН 7,0–7,4. Растёртую массу количественно переносят в мерную колбу на 25 мл, доводят до метки тем же буфером, хорошо перемешивают и оставляют на 15 мин. Затем раствор фильтруют через двойной бумажный фильтр в стаканчик. Фильтрат (вытяжку) используют для определения активности фермента. Для измерения оптической плотности используют три кюветы по 8 мл ($l=2\text{см}$) (контроль и две химические повторности).

В каждую из трёх кювет вносят:

- 2 мл вытяжки;
- 2 мл 0,06 М фосфатного буфера, рН 7,0–7,4;
- 2 мл 0,02% раствора диэтилпарафенилендиамина.

После этого в контрольную кювету вносят 2 мл дистиллированной воды, устанавливают кювету в кюветное отделение фотометра и вводят в световой луч. Ручками грубой и точной настройки нуля устанавливают "0" оптической плотности по контрольной кювете. Одну из опытных кювет устанавливают внутри фотометра и вводят в световой луч. Автоматической пипеткой вносят в опытную кювету 2 мл 1% раствора пирокатехина и одновременно включают секундомер. Записывают значения оптической плотности через каждые 5 (–20–60) секунд. Необходимо снять 5–10 точек. Таким же способом измеряют вторую опытную кювету. Строят график зависимости оптической плотности A_{590} от времени t . На графике находят линейный участок и вычисляют скорость изменения оптической плотности $A'_{590} = (A_{590}^2 - A_{590}^1) / (t^2 - t^1)$. (A'_{590} вычисляется по численным значениям, а не измеряется по графику!) Активность полифенолоксидазы АПФО рассчитывают по формуле:

$$A_{\text{ПФО}} = \frac{A'_{590} * N}{m_{\text{сыр.}} * l_{\text{кюв.}}} \left[\frac{(\text{ед. опт. плотн.})}{(\text{г сыр. массы}) * (\text{сек})} \right],$$

где A'_{590} – скорость изменения оптической плотности [ед.опт.плот. / сек];

N – разведение;

$m_{\text{сыр.}}$ – сырая масса навески, г;

$l_{\text{кюв.}}$ – толщина кюветы, см.

В выводах указать рассчитанную активность фермента, сравнить активность фермента в разных органах/видах/условиях выращивания растений, объяснить возможные причины различий на основе сведений о функциях фермента в растении.

Лабораторная работа № 3. Исследование активирующего действия лимонной кислоты на каталитическую активность Mo (VI)

Сущность работы. Некоторые лиганды могут играть двойственную роль, как активатора, так и ингибитора, что позволяет применять их в различных кинетических методах анализа. Одним из таких лигандов является лимонная кислота, которая активирует каталитические свойства молибдена (VI) и полностью подавляет эти свойства у вольфрама (VI) в одной и той же индикаторной реакции, а именно в реакции окисления йодида пероксидом водорода. Это позволяет определять оба металла в смеси, так как каталитические эффекты обоих ионов в отсутствие модификатора суммируются. Зависимость концентрации йода (или пропорциональной ей оптической плотности раствора йод-крахмального комплекса) от времени имеет в начальном периоде линейный характер и тангенс угла наклона прямой оптическая плотность - время пропорционален скорости реакции, а, следовательно, и концентрации молибдена в растворе (способ тангенсов).

Реактивы, посуда, аппаратура

Стандартный раствор молибдата аммония $((\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4)$ ($1,9 \cdot 10^{-5}$ г/мл).

Растворяют 0,9700 г $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ в 100 мл воды и раствор разбавляют в 500 раз.

Пероксид водорода (H_2O_2), $1 \cdot 10^{-2}$ М раствор.

Иодид калия (KI), $5 \cdot 10^{-3}$ М раствор. Навеску 0,8300 г дважды перекристаллизованного из спирта KI растворяют в 1 л воды.

Соляная кислота (HCl), 1 М раствор.

Крахмал, 0.2%-ный раствор, приготовленный в день работы.

Лимонная кислота, $1 \cdot 10^{-4}$ М раствор.

Спектрофотометр.

Секундомер.

Выполнение работы

В мерные колбы вместимостью 50,0 мл вносят 1,5 мл раствора молибдата аммония, 1 мл раствора лимонной кислоты с концентрацией $5 \cdot 10^{-5}$, $1 \cdot 10^{-5}$, $5 \cdot 10^{-6}$ и $1 \cdot 10^{-6}$ М (таблица), 5 мл раствора йодида калия, 5 мл соляной кислоты, 1 мл раствора крахмала и доводят объем дистиллированной водой до 35-40 мл. Раствор тщательно перемешивают и вносят в него 5 мл раствора пероксида водорода, одновременно включают секундомер. Затем объем раствора доводят до метки, перемешивают, помещают в кювету фотометра ($l = 1$ см, $\lambda = 600$ нм) и измеряют оптическую плотность каждые 30 сек. в течение 5 минут.

Строят градуировочный график зависимости скорости реакции от концентрации лимонной кислоты. Скорость реакции рассчитывают методом тангенсов.

Таблица – приготовление растворов лимонной кислоты методом разбавления

№ раств ора	Концентрация лимонной кислоты, М	Объем раствора лимонной кислоты, мл (в колбу на 50 мл довести до метки водой)
1	$5 \cdot 10^{-5}$ М	25 мл $1 \cdot 10^{-4}$ М
2	$1 \cdot 10^{-5}$ М	5 мл $1 \cdot 10^{-4}$ М
3	$5 \cdot 10^{-6}$ М	5 мл раствора №1
4	$1 \cdot 10^{-6}$ М	5 мл раствора № 2

Лабораторная работа №4 «Потенциометрическое определение стехиометрических коэффициентов взаимодействия антиоксидантов с гексацианоферратом (III) калия»

Цель работы. Освоение методики потенциометрического определения антиоксидантной активности и расчет стехиометрических коэффициентов взаимодействия водорастворимых антиоксидантов, входящих в состав биологических объектов, с гексацианоферратом (III) калия.

Антиоксиданты – это вещества различной химической природы, способные тормозить или устранять свободно-радикальное окисление органических соединений различными АФК. Важную роль в организме человека играют низкомолекулярные антиоксиданты, которые при взаимодействии с радикалами образуют малоактивные продукты, так называемые «перехватчики свободных радикалов». Среди низкомолекулярных водорастворимых антиоксидантов большое внимание уделяется мочевой кислоте. Также одним из важнейших антиоксидантов биологических сред является аскорбиновая кислота (витамин С).

Она используется организмом для биохимических окислительно-восстановительных процессов. Ее восстановительные свойства могут использоваться не только для ликвидации активных форм кислорода, но и для регенерации других антиоксидантов биологических сред. Кроме того, особо выделяют группу тиольных антиоксидантов, к которым относится глутатион. Глутатион играет одну из ключевых ролей в защите клеток и внутриклеточной среды от поражения активными формами кислорода. Снижение внутриклеточного содержания восстановленного глутатиона существенно снижает устойчивость клеток и организма к лучевому поражению или интоксикации. Роль антиоксидантов выполняют и некоторые аминокислоты, особое внимание уделяется цистеину, который также относится к группе антиоксидантов, содержащих тиоловую группировку. Цистеин входит в со-

став белков и проявляет достаточно сильные антиоксидантные свойства. Цистеин является предшественником глутатиона.

Таким образом, особо важной является информация об антиоксидантной активности (АОА) различных биологических сред при широкой группе патологических состояний организма, таких как сердечно-сосудистые патологии, эндокринные заболевания, заболевания центральной нервной системы, процессы старения организма и многих других. Поэтому одной из важных задач современной медицинской диагностики является создание простых и доступных методов определения интегральной антиоксидантной активности биологических объектов, которые в силу своей простоты и экспрессности могут быть пригодны для масштабных диагностических исследований.

Наиболее доступными и экспрессными методами определения АОА являются электрохимические методы. Кроме преимуществ, связанных с низкой стоимостью аппаратуры и реактивов, они позволяют напрямую оценить электронно-донорно-акцепторные свойства исследуемой системы, т. е. свойства, определяющие антиоксидант/оксидантный баланс организма.

Сущность метода определения

Экспериментально полученные значения стехиометрических коэффициентов коррелируют с количеством гидроксильных (-ОН) и тиоловых (-SH) групп антиоксидантов, что дает информацию об антиоксидантной активности соединения.

Объекты анализа

0,01 М растворы исследуемых антиоксидантов: аскорбиновой кислоты, мочевой кислоты, глутатиона и цистеина. Аликвота вносимой пробы антиоксиданта выбирается таким образом, чтобы концентрация антиоксиданта в электрохимической ячейке составляла 0,0001; 0,0005; 0,0010; 0,0015 и 0,0020 М-экв.

Реактивы

– Калий железосинеродистый ($K_3[Fe(CN_6)]$) по ГОСТ 420675, х.ч.;

– Калий железистосинеродистый ($K_4[Fe(CN)_6]$) по ГОСТ 4207-75, ч.д.а.

- Медиаторная система состава 0,5 М $K_3[Fe(CN)_6]$ + 0,005 М $K_4[Fe(CN)_6]$ готовится в пробирке вместимостью 5 см³.

– Натрий фосфорнокислый 2-замещенный, 12-водный ($Na_2HPO_4 \times 12 H_2O$) по ГОСТ 4172-76, х.ч.;

– Калий фосфорнокислый 1-замещенный (KH_2PO_4) по ГОСТ 4198-75, ч.д.а.

- Фосфатный буферный раствор, рН 7,4: в мерную колбу вместимостью 50 см³ помещают 1,73 г $Na_2HPO_4 \times 12 H_2O$ и 0,26 г KH_2PO_4 .

– Кислота аскорбиновая 99% (Panreac);

– L-глутатион восстановленный 98,0–101,0% (Panreac);

– L-цистеин гидрохлорид 99% (Panreac);

– Мочевая кислота 99% (Sigma–Aldrich); –

Вода деионизированная.

Выполнение работы

В электрохимическую ячейку помещают фосфатный буферный раствор с рН 7,4. Затем добавляют 0,1 см³ медиаторной системы, содержащей 0,5 М $K_3[Fe(CN)_6]$ и 0,005 М $K_4[Fe(CN)_6]$. Объем буферного раствора рассчитывают таким образом, чтобы после добавления медиаторной системы и аликвоты исследуемого антиоксиданта суммарный объем электрохимической ячейки составлял 5 см³. Заполняют таблицу 1.

Таблица 1 - Рабочие условия определения АОА модельных растворов антиоксидантов (С = 0,01 М).

Концентрация антиоксиданта в электрохимической ячейке, М	Суммарный объем электрохимической ячейки, см ³	Аликвота антиоксиданта, см ³	Объем буферного раствора, см ³	Концентрация медиаторной системы в суммарном объеме ячейки, C _{Оx} /C _{Red} , М/М
0,0001	5			10 ⁻² /10 ⁻⁴
0,0005				
0,0010				
0,0015				
0,0020				

В ячейку помещают рабочий платиновый электрод и хлоридсеребрянный электрод сравнения, подключенные к рН-метру–иономеру, и фиксируют потенциал E в течение 3–5 мин. Эксперимент проводится при постоянном перемешивании с помощью магнитной мешалки. Далее добавляют аликвоту исследуемого раствора антиоксиданта. Фиксируют потенциал E_1 до момента выхода кривой $E = f(t)$ на плато. Измерения для каждого образца проводят 3 раза. Для каждого измерения вычисляют сдвиг потенциала в системе ($\Delta E = E - E_1$) и значение антиоксидантной активности (АОА) исследуемого объекта в ячейке по формулам:

$$AOA = \frac{C_{Ox} - \alpha C_{Red}}{1 + \alpha},$$

где коэффициент α представляет собой:

$$\alpha = C_{Ox} / C_{Red} \cdot 10^{(E_1 - E)nF/2.3RT}.$$

учитывая разбавление медиаторной системы в ячейке. Результаты вычислений заносят в таблицу 2.

Таблица 2 - Антиоксидантная активность и стехиометрические коэффициенты реакции взаимодействия антиоксидантов с гексациано-ферратом (III) калия.

Вещество	Концентрация антиоксиданта, М					$n_{\text{эксп}}$ (средн)	$n_{\text{теор}}$
	0,0001	0,0005	0,0010	0,0015	0,0020		
	АОА, М-экв						
Мочевая кислота							2
Аскорбиновая кислота							2
Цистеин							1
Глутатион							1

Расчет стехиометрических коэффициентов взаимодействия антиоксидантов с гексацианоферратом (III) калия. Стехиометрические коэффициенты реакции антиоксидантов с гексацианоферратом (III) калия (n) рассчитывают для каждого измерения по уравнению: $n = \text{АОА}/C$, (6) где АОА – антиоксидантная активность, М-экв, рассчитывается по уравнениям (4)–(5) из теоретической части (стр. 9); C – исходная концентрация антиоксиданта, М. Рассчитывают среднеарифметические значения n для каждой концентрации антиоксидантов и в целом для каждого анти оксиданта. Полученные результаты ($n_{\text{эксп(средн)}}$) заносят также в таблицу 2.

Вывод должен содержать краткий обзор проделанной работы, принцип проведения анализа объекта на предмет антиоксидантной активности, а также заключение о степени соответствия полученных данных теоретически ожидаемым.

Приложение 5

Примерное содержание методических рекомендаций, определяющих процедуры оценивания результатов освоения дисциплины «Биологические методы анализа».

Текущая аттестация студентов. Текущая аттестация студентов по дисциплине «Биологические методы анализа» проводится в соответствии с локальными нормативными актами ДВФУ и является обязательной.

Текущая аттестация по дисциплине «Биологические методы анализа» проводится в форме контрольных мероприятий (собеседований и лабораторных работ) по оцениванию фактических результатов обучения студентов и осуществляется ведущим преподавателем.

Объектами оценивания выступают:

- учебная дисциплина (активность на занятиях, своевременность выполнения различных видов заданий, посещаемость всех видов занятий по аттестуемой дисциплине);
- степень усвоения теоретических знаний;
- уровень овладения практическими умениями и навыками по всем видам учебной работы;
- результаты самостоятельной работы.

По каждому объекту дается характеристика процедур оценивания в привязке к используемым оценочным средствам.

Промежуточная аттестация студентов. Промежуточная аттестация студентов по дисциплине «Биологические методы анализа» проводится в соответствии с локальными нормативными актами ДВФУ и является обязательной. В зависимости от вида промежуточного контроля по дисциплине и формы его организации могут быть использованы различные критерии оценки знаний, умений и навыков. Для промежуточной аттестации по дисциплине предусмотрен устный опрос в форме собеседования.