

## ЗАНЯТИЕ 2.4

### «АНАЛИТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕТАБОЛИТОВ»

Метаболом представляет собой полный набор низкомолекулярных веществ — метаболитов — в том или ином биологическом образце в конкретный момент времени. Под «низкомолекулярными» обычно подразумевают молекулы с молекулярной массой до 1000 Да (иногда — до 1500 Да). В роли «образца» могут выступать клетки, ткани, экстракты тканей, органы, биологические жидкости или целый организм в определенный момент времени.

Входящие в метаболом низкомолекулярные вещества могут образовываться в организме естественным путем (аминокислоты, органические кислоты, нуклеиновые кислоты, витамины, пигменты, сахара, витамины, пигменты и др.) или поступать извне (лекарства), загрязнители окружающей среды, пищевые добавки, токсины и др.). Так разделяют эндогенный и экзогенный метаболомы.

Каждый тип клеток и тканей имеет свой уникальный метаболический профиль, тогда как биологические жидкости (кровь, плазма, моча и др.) могут предоставить более общую информацию об организме в целом. По наличию и/или концентрации тех или иных веществ анализы помогают выявлять различные патологические процессы и определять эффективность лечебных мероприятий. Такие вещества-индикаторы называют биомаркерами, а их поиск является одной из важнейших задач метаболомики.

Метаболомика уже внесла свой вклад в понимание этиологии множества заболеваний, включая аутизм и шизофрению, бронхиальную астму, воспалительные заболевания кишечника и различные типы рака.

Десятки биомаркеров уже нашли широкое применение в клинической практике. Например, анализ на определение уровня креатинина в крови и моче используют для оценки функции почек, анализ на содержание желчных кислот в крови — функции печени, анализ крови на определение уровня холестерина — сердечно-сосудистого риска, анализ крови и мочи на содержание глюкозы — диагностики сахарного диабета, а также оценки эффективности сахароснижающей терапии.

#### *Цель занятия:*

Актуализировать знания, умения и навыки, приобретенные в ходе изучения тем модуля 2

*Основные понятия:* метаболом человека, метаболиты, методы исследования метаболитов в биоматериале (титриметрия, фотометрия, хроматография, электрофорез, хромато-масс-спектрометрия, ПЦР, иммуноферментный анализ, энзимодиагностика)

#### **ОСНОВНАЯ УЧЕБНАЯ ЛИТЕРАТУРА**

1. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов/ Ю.А. Ершов и др., 1993: с. 114-119.
2. Биохимия /под ред.Л.А.Даниловой.- 2020.- с.258-260.

#### **ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ**

1. Метаболом человека. Компоненты метаболома.
2. Современные методы исследования метаболома (групповая работа – подготовка презентации – домашнее задание): хроматография, электрофорез, хромато-масс-спектрометрия, ПЦР, иммуноферментный анализ, энзимодиагностика.
3. Повторить вопросы к занятиям модуля 2 – подготовка к контролю.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ (Домашнее задание)**

1. Групповая работа – подготовка презентации: спектрофотометрия;

хроматография, электрофорез, хромато-масс-спектрометрия, ПЦР, иммуноферментный анализ, энзимодиагностика как методы биомедицинского исследования.

## **ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ**

### **Исследование некоторых компонентов метаболома молока**

#### **1. Определение общей кислотности молока**

Кислотность молока обуславливается в основном наличием белков, однозамещенных фосфорнокислых солей и молочной кислоты, образующейся в результате расщепления лактозы под действием бактерий молочнокислого брожения, по мере развития микроорганизмов кислотность молока увеличивается.

Кислотность молока выражается в градусах Тернера. Градусы Тернера показывают количество мл. 0,1 н. раствора гидроксида натрия, идущего на нейтрализацию 100 мл молока в присутствии фенолфталеина. Кислотность свежего молока колеблется в пределах 16-18°Т. Кислотность несвежего молока 23°Т и выше, кислотность разбавленного или имеющего в качестве добавки соду ниже 16°Т.

Оборудование: колба на 200 мл; мерные пробирки

Реактивы: фенолфталеин; молоко; NaOH 0,1н.; дистиллированная. вода

Ход работы:

1. В коническую колбу на 200 мл отмеряют 10 мл молока и приливают 20мл воды, затем к раствору добавляют 5-6 капель фенолфталеина и перемешивают.

2. Полученный раствор титруют 0,1 н. раствором едкого натрия до слабо-розового окрашивания, сохраняющегося в течении 2 мин.

3. Для нахождения кислотности по Тернеру - число мл. 0,1 н. раствора щелочи, пошедшей на титрование, умножают на 10 так как пересчет ведут на 100 мл молока.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:**

**ВЫВОД:**

#### **2. Исследование содержания свободного (ионизированного) кальция**

**НЕОБХОДИМО ДОБАВИТЬ МЕТОДИКУ**

#### **3. Исследование содержания аскорбиновой кислоты**

1. В химическом стакане или колбе 5мл молока разводят дистиллированной водой в соотношении 1:2. При разведении молоко отмеривают пипеткой, а дистиллированную воду наливают из бюретки.

3. Отбирают 5 мл полученного раствора и вносят пипеткой в коническую колбу емкостью 25 мл/50 мл, куда заранее наливают 1 мл 2% раствора соляной кислоты и дистиллированной воды до общего объема 15 мл.

4. Осторожно взбалтывая, содержимое колбы титруют из микробюретки 0,001н раствором натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола, приливая последний по каплям до появления слабо-розового окрашивания, удерживающегося 0,5-1 мин. Для повторного титрования отбирают пробу из той же порции разведенного молока.

5. 4.Содержание витамина С вычисляют по формуле:

$$X = V \cdot 0,088 \cdot C \cdot 100 / 5$$

где **X**- количество аскорбиновой кислоты в 100 мл молока, мг;

**C** - число, выражающее разведение (например, при разведении молока в соотношении 1:2 - разведение 3);

**5** - количество разведенного молока, взятое для титрования, мл;

**0,088** - количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 н. раствора натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола, мг;

**100** - коэффициент для пересчета на 100 г продукта.

Результаты исследования записать в таблицу.

Таблица

### Количественное определение аскорбиновой кислоты в молоке

Исследуемый материал	Разведение	Количество разведенного молока, взятое для анализа, мл	Объем титранта (2,6-дихлорфенолиндофенол), пошедшего на титрование, мл	Количество аскорбиновой кислоты в 100 мл молока, мг
	<b>3</b>			

В выводах сопоставить полученные данные со средним содержанием аскорбиновой кислоты в молоке.

Среднее содержание витамина С в молоке:

коровьем - 1 мг%,

женском - 3 мг%,

кобыльем - 25 мг%.

**РЕЗУЛЬТАТЫ:**

**ВЫВОД:**