

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания
по выполнению лабораторных работ
по дисциплине ««БИОТЕХНОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ ИЗ ЭНДОКРИННО-
ФЕРМЕНТНОГО СЫРЬЯ»
для студентов направления подготовки
19.03.01 Биотехнология
Направленность (профиль) промышленная биотехнология

Содержание

- 1 ОСНОВНЫЕ АНАЛИЗЫ ОРГАНОПРЕПАРАТОВ И ЭНДОКРИННО-ФЕРМЕНТНОГО СЫРЬЯ (часть 1)
- 2 ОСНОВНЫЕ АНАЛИЗЫ ОРГАНОПРЕПАРАТОВ И ЭНДОКРИННО-ФЕРМЕНТНОГО СЫРЬЯ(часть 1)
- 3 АКТИВНОСТЬ ТЕХНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИНА(часть 1)
- 4 АКТИВНОСТЬ ТЕХНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИНА(часть 2)
- 5 ПРЕПАРАТЫ ИЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ СВИНЫХ ЖЕЛУДКОВ, СЫЧУГОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, МОЛОЧНЫХ ТЕЛЯТ И ЯГНЯТ. (часть 1)
- 6 ПРЕПАРАТЫ ИЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ СВИНЫХ ЖЕЛУДКОВ, СЫЧУГОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, МОЛОЧНЫХ ТЕЛЯТ И ЯГНЯТ. (часть 2)
- 7 ПЕПСИН ПИЩЕВОЙ(часть 1)
- 8 ПЕПСИН ПИЩЕВОЙ(часть 2)
- 9 ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВОГО ПЕПСИНА(часть 1)
- 10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВОГО ПЕПСИНА(часть 2)
- 11 ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛОТНОЙ ЧАСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ И КЕРАТИНОВ(часть 1)
- 12 ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛОТНОЙ ЧАСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ И КЕРАТИНОВ(часть 2)

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №1

ОСНОВНЫЕ АНАЛИЗЫ ОРГАНОПРЕПАРАТОВ И ЭНДОКРИННО-ФЕРМЕНТНОГО СЫРЬЯ

При проверке органопрепаратов и сырья проводят биологические, бактериологические, биохимические и химические анализы.

Для проведения биологических анализов требуется значительное количество разнообразных животных,

ВИВАРИЙ И ЕГО УСТРОЙСТВО

Виварий — помещение для содержания мелких животных в условиях, близких к естественным. Место для строительства вивария должно быть по возможности открытым для прямых солнечных лучей, не затенено высокими зданиями, защищено от холодных ветров и расположено на возвышенном месте, не затопляемом дождевыми и талыми водами. Виварий следует строить в глубине двора на некотором расстоянии от основных корпусов предприятия.

В благоустроенном виварии должны быть следующие помещения: помещение, в котором содержатся в период проведения опыта лабораторные животные (основное); карантинное помещение;

ветеринарная лаборатория со стационаром для незаразных больных животных;

изолятор для инфекционных больных животных. Кроме того, в виварии должны быть помещения для мойки, кухня, кладовая, овощехранилище, сенохранилище, холодильник, помещение для дезинфекции клеток.

Строить здания вивария лучше всего из 'кирпича плит железобетона. Во избежание просачивания почвенной влаги стены следует изолировать от фундамента (Водонепроницаемым слоем (асфальт, толь и пр). Полы лучше всего делать из метлахской плитки. Асфальтовые полы вследствие непрочности их и шероховатости менее желательны. В стенах и потолках не должно быть щелей, в которых обычае гнездятся насекомые и скапливается грязь. Побелку помещения лучше всего производить известковым молоком; масляной краской рекомендуется

покрывать лишь нижнюю часть стен на высоту 1,5 м от пола. Еще лучше панели стен облицовывать керамическими плитками.

Выделяемая при дыхании животных углекислота вредно действует на организм, поэтому нельзя допускать перегрузки вивария животными. Помещение необходимо систематически проветривать и поддерживать определенную влажность. В сыром помещении воздух влажный и холодный, поэтому животные переохлаждаются и часто подвергаются простудным заболеваниям. Кроме того, сырость благоприятствует развитию плесени и бактерии, среди которых могут быть и болезнетворные.

Наиболее благоприятной является влажность воздуха в помещении 30—50% при температуре 18—20 °С.

Форточки делать в окнах не рекомендуется, так как животные размещенные вблизи окон, могут простудиться. В помещении, где содержат животных, нельзя создавать сквозняки. Естественная вентиляция допустима лишь в небольших помещениях. В больших помещениях следует делать приточно-вытяжную вентиляцию.

Рекомендуется центральное водяное отопление, при этом температура поверхности отопительного прибора не должна превышать 70 °С. Недопустимы резкие колебания температуры в различных частях помещения, а также резкие изменения ее /в течение суток.

Солнечные лучи оказывают чрезвычайно благоприятное влияние на здоровье животных, они способствуют усилению обмена веществ в организме, предупреждают развитие рахита и убивают возбудителей заразных болезней. В помещении, где содержатся животные, площадь окон должна быть лишь в 8—10 раз меньше общей площади пола, причем оконные рамы должны иметь небольшое количество переплетов, а стекла необходимо тщательно протирать. Окна следует делать высокими и располагать их так, чтобы помещение хорошо освещалось. В зимнее время для оздоровления воздуха помещения, где содержатся животные, рекомендуется облучать ультрафиолетовым светом (кварцевые лампы).

Помещение (основного вивария) для кошек должно быть отдельным и удовлетворять следующие требования: быть светлым и сухим; теплым (в холодное время года поддерживать температуру 16—18 °С); иметь бетонный или плиточный пол; хорошо оборудованную приточно-вытяжную вентиляцию; размеры помещения достаточные для размещения клеток в нужном количестве.

Помещение (основного вивария) для кроликов, свинок, крыс, мышей следует строить одноэтажным с двумя рядами отделений: в одном ряду располагать животных, в другом препараторские и лаборатории. Каждые два таких отделения должны быть изолированы от других и иметь отдельный вход. В каждом отделении рекомендуется содержать не более 500 подопытных свинок или 800 «крыс, или 1500 мышей. Кубатура помещения должна быть не менее 3,5 м³ на 10 свинок -или 15 крыс. 1.5—2.0 м³ на 20 мышей, 16 м³ па 10 кроликов.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛАГИ В СУХИХ ПРЕПАРАТАХ

Количество влаги в препаратах определяют высушиванием 1-2 порошка в бюксе при температуре 100—105 °С в сушильном шкафу до постоянной массы.

Процентное Содержание влаги в порошке

$$X = \frac{(a_1 - б) 100}{a}$$

где а -масса взятой навески порошка, г; а1- масса бюкса с порошком до сушки, г; б -масса бюкса с порошком, высушенным до постоянной массы, г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУХОГО ОСТАТКА

В предварительно высушенный до постоянной массы бюкс вносят 10 мл препарата, который упаривают на водяной бане досуха, затем подсушивают в сушильном шкафу при температуре 100—105 °С до постоянной массы. Сушка считается законченной, когда последующие взвешивания дадут разницу в массе не более 0,001 г.

Содержание сухого остатка вычисляют по следующей формуле:

$$X = \frac{(б - а) 100}{в}$$

где х — содержание сухого остатка, .%;

а—первоначальная масса пустого бюкса, г; б — масса бюкса с навеской после высушивания, г; в — навеска препарата, г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПРЕПАРАТЕ

Остаток после определения сухого остатка озоляют и охлаждают, затем добавляют 3—5 капель 25%-ной соляной кислоты, перемешивают стеклянной палочкой, добавляют около 10 мл горячей дистиллированной воды, фильтруют через фильтровальную бумагу в чистую пробирку и добавляют 10 мл сероводородной воды или пропускают сероводород в течение 5—10 мин, при этом

не должно появляться темное окрашивание или осадок, допустима слабая опалесценция от выделившейся серы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ХЛОРЕТОНА В ПРЕПАРАТЕ

Для определения 10 мл препарата помещают в коническую колбу, приливают 10 мл 0,5 н. спиртового раствора едкого кали, 5 мл ксилола и нагревают смесь с обратным холодильником в течение 30—40 мин на водяной бане. По охлаждении раствор нейтрализуют разведенной 1 : 1 азотной кислотой, подкисляют 3 мл той же кислоты, прибавляют 25 мл 0,1 н. раствора нитрата серебра и избыток нитрата серебра титруют 0,1 н. раствором роданида аммония (индикатор железоаммиачные квасцы).

Одновременно ставят контрольный опыт с таким же количеством спиртовой щелочи, азотной кислоты, нитрата серебра. Расчет ведут по следующей формуле:

$$X = \frac{(a1 - b)0,006216 \cdot 100}{c}$$

где X — количество хлорэтона;

a — количество роданистого аммония, пошедшее на титрование контрольного раствора;

b — количество роданистого аммония, пошедшее на титрование испытуемого раствора;

c — количество препарата, взятое для анализа.

1 мл 0,1 н. раствора азотнокислого серебра, соответствует 0,006216 г хлорэтона.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛА В ПРЕПАРАТЕ

В коническую колбу с притертой пробкой емкостью 250 мл отвешивают 0,5 г бромистого калия в 50 мл воды, 10 мл испытуемого препарата, 30 мл 0,1 н. бромноватокислого калия (из бюретки), 5 мл 15%-ного раствора серной кислоты и оставляют на 15 мин. Затем к смеси добавляют 2 г йодистого калия, взбалтывают и оставляют стоять в темноте 5 мин, после чего титруют 0,1 н раствором серноватистокислого натрия в присутствии 1%-ного раствора крахмала (растворимого). Титрование t показывает концентрацию не вошедшего в реакцию брома, отсюда вычисляют исходное содержание фенола по следующей формуле:

$$X = \frac{(a - б)0,001568}{в}$$

где х — количество фенола;

а — количество 0,1 н. раствора бромноватокислого калия, взятое для реакции;

б — количество 0,1 н. раствора серноватистокислого натрия, пошедшее на титрование; в — количество препарата, взятое для анализа.

1 мл 0,1н раствора бромноватокислого калия, соответствует 0,001568г фенола.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭТИЛОВОГО СПИРТА В ПРЕПАРАТЕ

Для определения отвешивают на технических весах 100 г исследуемого препарата .с точностью до 0,01 г. Навеску переносят колбу Вюрца емкостью 1 л, смывают стаканчик небольшими порциями дистиллированной воды так, чтобы общий объем воды составлял 120—130 (отводная трубка должна находиться на расстоянии 3—4 см от верхнего конца горлышка колбы Вюрца). Колбу Вюрца соединяют с плоскодонной колбочкой емкостью 250 мл, содержащей примерно 40—50 мм 5%-ного раствора щелочи, раствор добавляют так, чтобы не испачкать горлышка колбочки щелочью. — . „

Плоскодонная колбочка снабжена резиновой про Сноп с двумя стеклянными трубками (длинная и короткая). Конец длинной трубки, несколько расширенный внизу, должен касаться поверхности 'щелочного раствора, но не погружаться глубоко в раствор. Короткая трубка соединена с холодильником Либлха.

После того как аппарат собран, начинают отгонку спирта водяным паром. Одновременно с подачей пара включают колбонагреватель для. нагревания жидкости, находящейся в колбе Вюрца.

Как только жидкость в колбе закипит, колбонагреватель выключают и отгонку продолжают водяным паром. Во избежание перебрасывания жидкости, так как она в этот период сильно пенится, рекомендуется поверхность колбы Вюрца охлаждать мокрой тканью или ватой.

Отгонку проводят с таким расчетом, чтобы объем раствора щелочи в плоскодонной колбе был бы примерно постоянным, для чего время от времени включают электрическую плитку, установленную под плоскодонной колбой. Отгон собирают в мерную колбу емкостью 100 мл до объема 98—99 мл, а затем добавляют дистиллированной водой до метки, перемешивают и определяют плотность пикнометром емкостью 25—30 л/л при температуре 20 °С.

Согласно плотности отгона по алкоголеметрическим таблицам находят массу спирта в 100 г препарата.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРА В ПРЕПАРАТЕ

Отвешивают 5 г препарата и высыпают в гильзу из фильтровальной бумаги. Гильзу с препаратом помещают в экстракционный прибор Сокслета и экстрагируют серным эфиром.

По окончании экстрагирования отгоняют эфир. Остаток растворителя удаляют высушиванием до постоянной массы при температуре 100 С

Содержание жира определяют по формуле:

$$X = \frac{(a - b) 100}{v}$$

Где ч- содержание жира, %

а-масса колбочки с жиром, г

б-масса пустой колбочки, г

в- навеска препарата, г

ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРА В ПРЕПАРАТЕ

На аналитических весах отвешивают в бокс около 10 г препарата и количественно переносят в мерную колбу на 100 мл, смывая препарат 40 мл дистиллированной воды. Колбочку с раствором выдерживают на кипящей водяной бане в течение 10 мин. При нагревании колбочку с раствором тщательно взбалтывают и следят за тем, чтобы кровь не припекалась ко дну колбы. Белок осаждают в горячем растворе 10 мл насыщенного раствора уксуснокислого свинца и 20 мл 10%-ного раствора сернокислого натрия.

Вторично колбочку с раствором выдерживают 10 мин на кипящей водяной бане, взбалтывая раствор. Раствор охлаждают, доводят водой до отметки и фильтруют через бумажный фильтр. В фильтре определяют сахар при помощи сахариметра, для этого раствор переносят в кювету на 100 мм. Кювету с раствором вкладывают и трубку сахариметра, уравнивают поля до одинакового цвета и производят отсчет делений на шкале.

Содержание сахара в препарате рассчитывают по формуле

$$X = \frac{a \cdot 2,26026 \cdot 100}{c}$$

где X — содержание сахара в препарате;

a — показания шкалы сахариметра;

c — навеска препарата, г.

Кювета на 200 мм принята за единицу шкалы сахариметра, так что при работе с кюветой на 100 мм показания шкалы удваивают. Одно деление шкалы соответствует 0,26026 г сахара.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЗОТА В ПРЕПАРАТЕ

Для примера берем инсулин. 2,5 мл раствора инсулина (100 и. е.) переносят в колбу Кьельдаля и сжигают в присутствии 3 мл концентрированной серной кислоты и 0,3 г смеси, состоящей из одной части сернокислой меди и трех частей сернокислого калия. По окончании сжигания (раствор станет светло-зеленым) смеси дают охладиться, затем приливают 4—5 мл воды и присоединяют колбу к аппарату микро-Кьельдаля для отгонки аммиака, добавив затем в ту же колбу 5—6 мл 33%-ного едкого натра. Продолжительность отгонки 15—20 мин. Аммиак отгоняют в приемную колбу - 20—25 мл 0,1 н. раствора серной кислоты (индикатор метилоранж). Избыток кислоты в приемной колбе оттитровывают 0,1 н. раствором едкого натра.

Параллельно ставят контрольный опыт. Количество азота вычисляют по формуле $X = 1,4(a - b)k$

где X — количество азота;

a — количество 0,1 н. щелочи, пошедшее на титрование контрольной пробы;

b — количество 0,1 н. щелочи, пошедшее на титрование испытуемой пробы;

к-количество азота, которому соответствует 1 мл 0,1 н. серной кислоты.

ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К МЕДИЦИНСКОМУ ПЕПСИНУ

Препарат представляет собой белый или слегка желтоватый порошок имеющий слабый своеобразный запах, кисловато-сладкий вкус. Он растворим в воде и 20 °-ном спирте, нерастворим в 90 %м спирте, эфире и хлороформе.

При проведении испытания на чистоту к 10 мл раствора препарата (1:50) прибавляют 2 капли 1%-ного раствора фенолфталеина раствор должен оставаться бесцветным и должен окрашиваться в розовый цвет от прибавления не более 0,6 мл 0.1 н. раствора едкого натра. При взбалтывании 0,2 г препарата с 10 мл воды должно наступать полное растворение пепсина и в течение 1 ч не должно наблюдаться мути (нерастворимые белки).

Около 1 г препарата (точная навеска) помещают в высушенную чашку, содержащую примерно 10 г прокаленного песка. Содержимое перемешивают стеклянной палочкой и высушивают при 100—105 °С до постоянной массы. Потеря массы не должна превышать 5%. Около 0,5 г -препарата (точная навеска) помещают во взвешенный тигель, осторожно сжигают и прокаливают. Масса полученного остатка не должна превышать 1%.

Активность препарата определяют по переваривающей способности: переваривание белка сваренного свежего куриного яйца должно произойти не более чем за 4,5 ч

Хранят препарат в хорошо закупоренных банках в защищенном от света месте при температуре 2—15 °С. СРОК хранения 1 год, после чего проверяют активность.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕВАРИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ПЕПСИНА

Свежее куриное яйцо опускают в кипящую воду и кипятят 10 мин. Затем охлаждают в холодной воде, отделяют белок, растирают его в фарфоровой ступке до получения однородной кашицы и протирают через марлю или сито, которое имеет 100 отверстий на 1 см²; 10 г протертого белка отвешивают в чашку и

переносят в колбу, растирая его в чашке с небольшими порциями воды, нагретой до 50—60 °С. Доводят объем жидкости теплой водой до 100 мл, погружают термометр и при температуре не выше 45°С добавляют 1 г соляной кислоты (плотность 1,12) и 0,1 г пепсина, растворенного в 3—5 мл теплой воды.

Колбу погружают в водяную баню или термостат, перемешивая жидкость каждые четверть часа, наблюдают, чтобы температура смеси не была ниже 40 °С и выше 45 °С. Через 4,5 ч весь белок должен раствориться, причем получается опалесцирующий раствор. Допускается наличие небольшого количества полупрозрачных яичных пленок.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №2
АКТИВНОСТЬ ТЕХНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИНА
ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ,
ПАНКРЕАТИНУ ДЛЯ ТЕХНИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

Панкреатин представляет собой порошок (или чешуйки), содержащий ферменты поджелудочной железы; цвет его слабо-желтый или серовато-желтый содержание влаги не более 10%; активность выраженная в мл 0,1 н раствора едкого натра, не менее 0,7.

Панкреатин для технических целей расфасовывают в банки из белой жести или в крафт-мешки, фанерноштампованные бочки. Внутреннюю сторону банок и бочек обкладывают влагонепроницаемой бумагой.

Хранят панкреатин в сухом, прохладном, хорошо вентилируемом, помещении.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТЕХНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИНА

Для приготовления вытяжки на аналитических весах точно отвешивают 2,5 г испытуемого панкреатина, количественно переносят в мерную колбу и заливают 250 мл 2%-ного раствора сернокислого аммония. Фермент извлекают в течение 60 мин при температуре 38°C, после чего вытяжку фильтруют через двойной слой марли. Затем в мерную колбу на 250 мл пипеткой отмеряют 25 мл фильтрата и доливают дистиллированной водой до метки (в 1 л раствора 1 г панкреатина).

В две колбы пипеткой берут -по 10 мл вытяжки панкреатина и добавляют к ней по 20 мл 5%-ного щелочного раствора казенна. В одну колбу (контрольную) немедленно добавляют 10 мл 0,2 н. раствора соляной кислоты и 10 мл 15%-ного раствора сернокислого натрия для осаждения казеина. Вторую колбу выдерживают в течение часа при температуре 38 °С, после чего осаждают казеин соляной кислотой и сеонокислым натрием.

Осадки в обеих колбах отфильтровывают, затем берут по 10 мл Фильтрата, оттитровывают 0,1 н. раствором едкого натра с одной каплей индикатора (0,5%-ного спиртового раствора крезол красной или 1%-ного спиртового раствора альфанафтолфталеина), при этом оттитровывается кислота, не связанная с казеином.

Разница в количествах 0,1 н. раствора едкого натра, пошедшего на титрование контрольного и испытуемого фильтратов, выраженная в миллиметрах характеризует активность панкреатина.

При расчете активности панкреатина разницу, выраженную в миллилитрах 0,1 н. NaOH, умножают на его поправку.

ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К ПАНКРЕАТИНУ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ЦЕЛЕЙ

Препарат представляет собой порошок беловато-серого или желтоватого цвета, содержащий в качестве наполнителя сахарную пудру и молочный сахар; он малорастворим в воде, нерастворим в спирте.

Для испытания на чистоту (точная навеска) высушивают при 100 °С до постоянной массы: потеря массы при наполнителе сахарная пудра не должна превышать 4–5% при наполнителе молочный сахар— 7%. Высушенную навеску озоляют, смачивают 0,5—1,0 мл концентрированной серной кислоты. Осторожно нагревают до удаления паров серной кислоты и прокаливают. Остаток не должен давать реакции на тяжелые металлы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ПАНКРЕАТИНА

Для проведения опыта готовят ряд растворов:

- 1) 0,4 М раствор борной кислоты — 12,4 г борной кислоты растворяют в воде и доводят объем до 500 мл;
- 2) боратная смесь — 20 мл первого раствора смешивают с 2 мл 1 н. раствора едкого натра;
- 3) ацетатная смесь — смешивают равные объемы 1 н. раствором ацетата натрия и уксусной кислоты;
- 4) 0,2%-ный раствор казеина — 0,2 г казеина по Гаммерстену обливают 20 мл воды, прибавляют 5 мл 0,1 н. едкого натра и нагревают на водяной бане до полного растворения. По охлаждению прибавляют 5 мл раствора борной кислоты и доводят водой до 100 мл.

Для проведения определения 0,1 г панкреатина растирают в ступке с 1 мл боратной смеси, сливают в мерную колбу на 500 мл, тщательно смывают несколько

раз ступку водой и доводят объем до метки. В смесь пронумерованных пробирок вносят пипеткой следующие объемы экстракта панкреатина и воды:

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7
Объем мл (панкреатин+вода)	5+0	4+1	3,2+1,8	2,5+2,5	2+3	1,5+3,5	1+4

Во все пробирки приливают по 5 мл раствора казеина перемешивают, ставят на водяную баню при 40 С. Через 30 мин вынимают пробирки из бани и прибавляют в каждую по 0,5 мл ацетатной смеси. Та пробирка, в которой при этом сохраняется прозрачность, считается предельной.

Для определения активности препарата в единицах необходимо число 50 разделить на количество миллилитров раствора панкреатина, содержащегося в предельной пробирке. Годным считается панкреатин, содержащий 25 ед. Если панкреатин содержит более 25 ед., то его смешивают с молочным сахаром до нормы.

Определение чистоты и переваривающей способности медицинского пепсина

Оборудование:

Наименование оборудования	Количество, шт.
Электрическая плита	1
Гермометр ртутный	1
Весы аналитические	1
Термостат	1
Сушильный шкаф	1
Посуда:	
Наименование	Количество, шт.
Кастрюля	1
Фарфоровая ступка	1
Чашка	1
Сито (или марля)	1
Колба на 200 мл	1
Пипетка на 10 мл	1
Пипетка на 5 мл	1
Пипетка на 1 мл	1
Чашка с 10 г песка	1
Мерный стакан на 100 мл	1
Колба на 50 мл	
Тигель	1
Бюретка	1

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №3,4

ПРЕПАРАТЫ ИЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ СВИНЫХ ЖЕЛУДКОВ, СЫЧУГОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, МОЛОЧНЫХ ТЕЛЯТ И ЯГНЯТ. ПЕПСИН ПИЩЕВОЙ

Пищевой пепсин (для сыродельной промышленности) — неочищенный фермент, содержащий балластные белки и продукты белкового распада.

Слизистая оболочка сычугов крупного рогатого скота И желудков свиней содержит профермент — пепсиноген, который в кислой среде желудка превращается в пепсин.

Для сравнения в табл. 1 приведены состав и основные свойства очищенных препаратов пепсина и пепсиногена.

Таблица 1

Состав и свойства	Пепсиноген	Пепсин
Элементарный состав, % по сухой массе	1	1
углерод	52,8	51,7
водород	6,88	6,86
азот	14,40	14,70
фосфор	0,09	0,09
сера	—	0,94
аминоазот, % общего азота	4,0	1,4
Изоэлектрическая точка		
по катодфорезу	3,7	нет

по минимуму осаждения . . . 3,6-4,3

.Молекулярная масса по осмотическому давлению

42000 ± 3000 38000 ± 3000

Сырьем для получения пищевого пепсина служит слизистая оболочка свиных желудков и слизистая оболочка сычугов крупного и мелкого рогатого скота.

Учитывая, что процесс гидролиза слизи ведет, с образованием соляной кислоты, желательно применять реакторы из устойчивого материала к агрессивным средам.

Применный расход сырья и материалов (и ил I кг пищевого пепсина активностью 100 тыс. ед. приведен ниже.

Слизистая оболочка свиных желудков 10

сычугов крупного рогатого скота . 9.

Соляная кислота (плотность 1.19) 0,75

Хлористый натрий 3

Ацетон 0,3

Технологическая схема производства

Получение фермента из слизистой оболочки сычугов крупного рогатого скота

1. Гидролиз. В реактор заливают деминерализованную или дистиллированную воду на 1 кг сырья, 24 мл соляной кислоты плотностью 1,19 и при перемешивании загружают измельченную слизистую оболочку. Массу перемешивают в течение 3 :: 2 ч отстаивают: температура 18°C, pH 2.0.

По окончании процесса раствор сифонируют, а к оставшейся массе добавляют на 1 кг сырья 8.5 мл соляной кислоты плотностью 1.19 и 1,75 л воды. При тех же температуре и pH массу перемешивают 2 ч и 2 ч отстаивают. Разделение фракции ведут сепарированием.

2. **Высаливание.** Высаливание проводят попаренной вакуумной солью: на первый фильтр 23% к раствору, на второй 20%. Высол на поверхности уплотняют от первого фильтра 6—8 ч, от второго — 4—5 ч. Отстоявшуюся жидкость сифонруют, а осадок отпрессовывают или очищают на центрифуге.

Отфугованный фермент сушат в калориферной сушилке при 35—38 °C до получения сухого порошка (примерно 20 ч).

Получение фермента из слизистой оболочки свиных желудков

1. **Автолиз.** В реактор загружают измельченное сырье и на каждые 10 кг заливают раствор соляной кислоты, состоящий из 375—380 мл кислоты плотностью 1.19 и 625 мл воды, устанавливают pH смеси 1,9—2.3.

Автолиз ведут 48 ч при температуре 42 °C из них при непрерывном перемешивании 8 ч. Отстоявшийся лизат сифонруют, а оставшуюся массу автолизуют 18 ч при тех же температурах и pH.

2. **Высаливание** Фермент высаливают при непрерывном перемешивании, предварительно охладив до 20 °C. При pH автолизата 1,9—2,0 вносят 20—22% соли, при pH 2.2—2.4—25%.

Высол уплотняют в течение 3 ч, затем его снимают и выдерживают при 5—6 °С до сушки.

я Сишка Высол сушат в вакуумных сушилках при 35—40 °С, Затем его измельчают и просеивают через сито с 400-600 отверстий на 1 см² Проверив активность, порошки пепсина смешивают (говяжий и свиной в отношении 3:1), добавляют 7-8 частей «повареннойсоли из расчета получения пепсина активностью не ниже 100 тыс. ед. и содержанием соли не менее 85%.

Основные технические требования

Внешний вид препарата — однородный порошок тонкого помола. желтовато-серого циста. Запах — специфический, свойственный пепсину.

Активность — способность свертывать молоко, выраженная в успешных единицах, должна быть не менее 100000 ед. Содержание поваренной соли—не менее 85%, влаги — не более 3%,

жира —не более 1%.

Бактериологические показатели — пищевой пепсин не должен Содержать патогенных микробов; в 1 г пищевого пепсина не должно быть более 8000 бактерий; кишечная палочка должна отсутствовать в 0,3 г.

'Наличие каких-либо консервирующих веществ или антисептика. кроме поваренной соли, не допускается.

Пепсин расфасовывают по 250, 500 и 1000 г в банки из белой жести с прокладкой с внутренней стороны пергаментных или

ледпергаментных пакетов. Банки должны быть плотно закрыты крышками. В каждую банку укладывают ложечку емкостью 2,5 г для отмеривания порошка и краткие указания о способе употребления.

На этикетке банки нанесено название препарата, наименование изготовителя, дата выработки, масса, активность и номер серии

Каждую выпускаемую серию пепсина сопровождают удостоверением о качестве, в котором указывают номер серии пепсина, активность, содержание в нем влаги, соли и данные бактериологического исследования. Для контрольных целей от каждой серии отбирают одну банку в оригинальной упаковке, которую хранят в лаборатории сроком до двух месяцев.

Пищевой пепсин хранят в прохладном вентилируемом, сухом, помещении. Срок хранения 1 год с последующим переконтролем!

Препарат допускается к дальнейшему применению при условии соответствия его техническим условиям.

ПЕПСИН МЕДИЦИНСКИЙ И СЫВОРОТОЧНЫЙ

Пепсин медицинский и сывороточный — препараты, содержащие протеолитический фермент. Вырабатывают эти препараты из слизистой оболочки свиных желудков.

Примерный расход сырья и материалов (в кг) на производство 1 кг пепсина медицинского или сывороточного приведен в табл. 2

Таблица 2

Технологическая схема производства

1. Измельчение сырья. Слизистую оболочку измельчают на волчке через решетку, диаметр отверстий которой равен 2—3 мм.

2. Автолиз. В котел с механической мешалкой загружают измельченную слизистую оболочку и при перемешивании вливают раствор соляной кислоты из расчета на 10 кг сырья 1 л раствора соляной кислоты, состоящего из 375 мл соляной кислоты плотностью 1,19 и 625 мл воды.

В рубашку котла пускают горячую воду и содержимое котла нагревают до 42 °С. Автолиз проводят при температуре 40—42 °С при постоянной работе мешалки в течение 8 ч. Затем смесь отстаивают 40 ч при той же температуре. При этом жировая часть непереварившаяся слизистая оболочка всплывают. Прозрачный лизат отделяют от непереварившегося остатка, фильтруют, охлаждают до 18—20 °С.

Неперспаршившийся остаток слизистой оболочки выдерживают еще 1 сутки при температуре 42 °С для получения дополнительного количества лизата.

3 Высаливание. В лизат с рН 1,9—2,3 вносят 20—25% поваренной соли при непрерывном перемешивании до полного растворения.

Высоленная ферментная масса всплывает на поверхность, отделяется от маточника. Ее направляют па сушку. Отделять фермент от маточника лучше всего на специальном сепараторе.

4. Сушка фермента. Фермент сушат в калориферных сушилках, добавляя сахарную пудру 1:1, или применяя сублимационную сушилку при температуре не выше 35—40 °С.

5. Измельчение. Высушенный пепсин измельчают на шаровой мельнице до состояния пудры. Соотношение массы пепсина к массе шаров примерно 1 :5. Измельчение длится 3—4 ч. Измельченный пепсин просеивают через шелковое сито Л*9 32.

6. Смешивание с наполнителем. В зависимости от вида получаемой продукции сухой пепсин смешивают с глюкозой или сахарной пудрой. Медицинский пепсин готовят на сахарной пудре, сывороточный — на глюкозе.

Пепсин с наполнителем смешивают в смесителе; предварительно в концентрате определяют активность препарата.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА №5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВОГО ПЕПСИНА

Активность пепсина для производства сыров определяют методом свертывания натурального молока или раствора казеина в известковой воде.

Определение активности можно проводить по натуральному молоку. В этом случае сравнивают продолжительность свертывания натурального молока испытуемым пепсином с длительностью свертывания того же молока сычужным порошком — эталоном, активность которого заранее установлена.

Для определения активности берут натуральное молоко кислотностью 18—20° Г и способностью сто к свертыванию эталоном в течение 4.5—6 мин

Отвешивают на аналитических весах по 1 г испытуемого пепсина и эталона. Навески вносят в мерные колбы на 100мл и растворяют в 80-90 мл подогретой до 35 °С дистиллированной воды, тщательно перемешивают, ставят на водяную баню с температурой 35 С и выдерживают одновременно оба раствора в течение 15 мин при периодическом перемешивании, после чего растворы охлаждают, доливают до метки и перемешивают.

Затем два химических стакана емкостью 150--200 мл отмеряют по 100 МЛ проверенного, нагретого до 35 °С молока. Оба стакана устанавливают на водяную баню с температурой 35 °С

(тем. поддерживают в течение всего анализа). В один стакан с молоком вносят пипеткой 1 мл раствора эталона, в другой

. МЛ раствора испытуемого пепсина. При внесении растворов молоко быстро перемешивают и после этого оставляют в покое до образования в нем -хлопьев, которые определяют следующим образом время от времени с поверхности осторожно поднимают шпатель по - стенке стакана и при отекании его наблюдают наличие хлопьев.

Продолжительность свертывания молока для обоих порошков определяют по секундомеру, считая с момента внесения растворов ферментов в молоко до появления хлопьев. Отметив продолжительность свертывания молока в минутах эталоном и испытуемым порошком, активность . последнего определяют по формуле

$$\frac{э*в}{в1} = x$$

где x — искомая активность пепсина;

э — активность, эталона,

в — продолжительность свертывания молока эталоном, мин;

продолжительность свертывания молока испытуемым пепсином, мин

Активность сычужного порошка определяют таким же методом.

Активность пищевого пепсина определяют и по раствору казеина в известковой воде. Для этого готовят 10%-ный раствор

гидрата окиси кальция (известковой воды), который выдерживают не менее 24 ч. Затем в ступке растирают казеин, просеивают через марлю и отвешивают 15 г. Порошок растворяют в 400 мл профильтрованного 10%-ного раствора гидрата окиси кальция. Для этих целей берут кислотный технический казеин I сорта.

Растворяют казеин в колбе, закрытой резиновой или корковой пробкой, в течение 24 ч. В течение первых шести часов растворение ведут при нагревании, для чего колбу ставят в термостат, предварительно нагретый до 30 °С. При этой температуре колбу выдерживают 2 ч, после чего постепенно повышают температуру до 50 °С. Для лучшего растворения раствор перемешивают каждые 30 мин и растирают стеклянной палочкой с резиновым наконечником. Затем раствор выдерживают при комнатной температуре еще 18 ч, после чего фильтруют через четыре слоя марли.

В полученном после фильтрации казеиновом растворе окиси кальция должно находиться в пределах 0,006—0,008. Количество окиси кальция определяют титрованием 25 мл казеинового раствора 0,1 н. раствором соляной кислоты до исчезновения розового окрашивания по фенолфталеину: 1 мл 0,1 н. раствора соляной кислоты соответствует 0,028 СаО.

Правильность приготовления казеинового раствора проверяют по свертываемости его сычужным ферментом. Для этого к казеиновому раствору осторожно (по 1 мл) добавляют 1 г 1% раствора

перемешивании во избежание выпадания хлопьев прибавляют 0,1 н. раствор соляной кислоты до получения кислотности 6,0—9,5 °Т.

При подкислении в отдельных пробах определяют кислотность титрованием 0,1 н. раствором NaOH. Затем в две пробирки наливают по 10 мл подкисленного казеинового раствора, ставят их на водяную баню с температурой 40 °С и из бюретки прибавляют в одну пробирку три капли, в другую четыре капли раствора сычужного фермента активностью в 85000 ед. в 100 мл дистиллированной воды и выдержанного в течение 15—20 мин при температуре 35 °С. После прибавления фермента содержимое пробирки тщательно перемешивают, замечают время с момента внесения в первую пробирку последней капли сычужного раствора и наблюдают за свертываемостью казенного раствора.

Если во второй пробирке казеиновый раствор свернется в интервале между четвертой минутой и десятой секундой пятой минуты, а в первой пробирке — через 5 мин, то такой казеиновый раствор следует считать пригодным для определения активности пищевого пепсина.

После проверки казенного раствора на свертывание сычужным ферментом определяют активность пищевого пепсина. Для этого готовят раствор пищевого пепсина следующим образом: отвешивают 0,25 г испытуемого пепсина, переносят в мерную колбу на 100 мл, наливают 70 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивают, погружают в водяную баню с температурой 40 °С и выдерживают 26—30 мин при периодическом

перемешивании. По окончании нагревания раствор охлаждают, доводят дистиллированной водой до метки, тщательно встряхивают и фильтруют через плотный бумажный фильтр.

Затем в девять пронумерованных пробирок наливают по 10 мл проверенного казеинового раствора и из бюретки наливают в первую пробирку одну каплю раствора пепсина, в 2-ю 5 сек со

вторую — две капли, еще через 15 сек в третью пробирку — три капли, в четвертую — четыре, в пятую — пять, в шестую — шесть, в седьмую — семь, в восьмую — восемь, в девятую — девять. Все пробирки в течение анализа выдерживают на водяной бане при 40 °С и после окончания анализа содержимое их перемешивают и в течение 15 сек секундомеру замечают время.

По истечении четырех минут с момента внесения раствора пепсина в первую пробирку просматривают все пробирки для установления свертывания казеинового раствора. Отмечают номер пробирки, в которой образовались хлопья в интервале между четвертой и пятой секундой пятой минуты, после чего по шкале определяют активность пепсина (табл. 1).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕВАРИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ПЕПСИНА

Свежее куриное яйцо опускают в кипящую воду и кипятят 10 мин. Затем охлаждают в холодной воде, отделяют белок, растирают его в фарфоровой ступке до получения однородной кашицы и протирают через марлю или сито, которое имеет 100 отверстий на 1 см²: 10 г протертого белка отвешивают в чашку и переносят в колбу, растирая его в чашке с небольшими порциями

йоды, нагретой до 50 °С. Добавляют объем жидкости теплой водой до 100 мл, погружают терм.-метр и при температуре не выше 15 °С добавляют: от 1 а сотяно", .огн (плотность 1.0) и 0,1 <> пепсина, раствор- того в 3 5 х.: теплой воды.

Колбу по; ру.-кают и водяную баню или термостат; ч'мешичаа жидкость каждые четверть и наблюдают, что "ил гемаерату-ра смеси не был;: ниже 40 °C ;и выше 45 °C. Через 4,5 ч весь белок должен раствориться, причем получается опалесцирующий раствор. Допускается наличие небольшого количества полупрозрачных яич-

ких пленок. Лабораторная рсОспа

Целью данной работы является изучение особенностей химического состава костной ткани и кератинсодержащего сырья, знание которых позволяет выбирать наиболее рациональные технологии комплексной переработки кости и дериватов покровной ткани. В задачи студента входит

- исследование минерального состава и органической части костной ткани;
- выявление специфических особенностей химического состава кератинов;
- анализ полученных результатов и выводы

ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ

Студенты допускаются к работе после инструктажа по технике безопасности. Работа выполняется бригадами по 4 - 5 человек, исследующими по заданию преподавателя один из образцов трубчатой или паспортной кости, полученной от обвалки говяжьих или свиных отрубов.

Предварительное обезжиривание и мацерация исследуемых образцов костной ткани проводится лаборантом. Последовательность и методика химических исследований изложены в разделе 3.

После окончания работы студентами оформляется отчет по работе. Бригада и порядок работы оформляется в «Журнал» преподавателем.

Дежурный проверяет состояние лаборатории, а также методическую литературу и сдает ее на хранение.

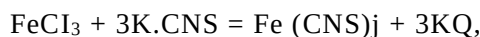
3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Исследование плотной части костной ткани

3.1.1. Исследование минерального состава костной ткани

Кусочек обезжиренной кости примерно 50 г помещают в колбу, приливают 250 мл 6 % раствора HCl и настаивают в течение нескольких суток. Приступая к исследованиям, обращают внимание на состояние упругости костной ткани. В солянокислой вытяжке открывают присутствие ионов: Fe^{3+} , Ca^{2+} и Mg^{2+} и Na^+ , PCU

Уон трехвалентного железа открывают или добавлением к небольшой части оолянокислого раствора роданистого калия (образования роданистого жежза - красное окрашивание):

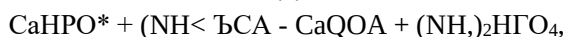


или добавлением раствора желтой кровяной соли (образование железосинеродистой соли окиси железа синее окрашивание): $4\text{FeCl}_3 + 3\text{K}_2[\text{Fe(CN)}_6] = \text{Fe}_3[\text{Fe(CN)}_6]_2 + 12\text{KCl}$

Для открытия ионов кальция, магния и фосфорной кислоты остальную часть солянокислого раствора осторожно нейтрализуют раствором аммиака до появления легкой мути и затем добавляют 10%-ную уксусную кислоту до растворения образовавшейся муш. Опирают 4мл исследуемого раствора в

пробирку и добавляют 3 - 4 капли насыщенного раствора оксалата аммония

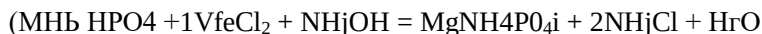
(Ш) C_2O_4 :



образовавшийся осадок щавелевокислого кальция (ОвСа) отфильтровывают и из фильтрата добавлением 3-4 капель концентрированного раствора аммиака осаждают магний в виде фосфорноаммонийномагншевой соли - белый кристаллический осадок):



отфильтровывают и из фильтрата добавлением магниезальной смеси осаждают фосфорную кислоту.



Для того, чтобы установить присутствие фосфорной кислоты в последних двух осадках (MgNH_4FQ^*) их отфильтровывают, слегка промывают водой и растворяют на фильтре в разбавленной азотной кислоте. Азотнокислый раствор нагревают с раствором молибденовокислого аммония, при этом выпадает желтый осадок фосфорномолибденовокислого аммония:

(**NH₄PO₄** 12MoO₃ +21 NH₃, NO,+12CO Шим^ан^

JifiQ&OT^

OTю^^обьпх>к молиб-

Кусочас кости осторожно нагревают в шг№ ^^
' * В - происходит её обугливание; а при сильном
прокаливании обраование золы

3.1.2. Исследование органической части костной ткани

Органическую часть кости тщательно отмывают холодной водой от кислоты и кипятят в течение одного часа, при этом коллаген кости оссеин переходит в желатин

Наличие желатина обнаруживают: биуретовой реакцией и реакцией с пикриновой кислотой

Для проведения биуретовой реакции на обнаружение пептидных связей к 1-2 мл полученного раствора желатина прибавляют двойной объем 30%-го раствора гидроксида натрия, хорошо перемешивают и добавляют 2-3 капли 1%-го раствора сульфата меди. Раствор тщательно перемешивают. Развивается красновато-фиолетовое окрашивание. При малом содержании белка интенсивность реакции можно повысить, добавив на раствор белка в щелочи 2 мл 1%-го раствора сульфата меди. При стоянии на границе двух слоев образуется фиолетовое кольцо.

Реакция с пикриновой кислотой основана на ее восстановлении в глицизиновую за счет SH-групп белков, что сопровождается изменением окраски. К 2 мл раствора желатина прибавляют 0.5 г карбоната натрия. Добавляют 1 мл насыщенного водного раствора пикриновой кислоты. Раствор исчезает и нагревают на пламени горелки несколько минут. Желтый раствор постепенно переходит в красный.

3.2. Исследование кератинов. Для исследования является шерсть с

овчин. Качественными

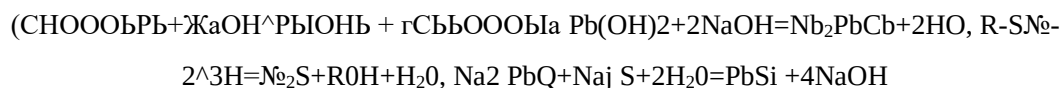
«О

реакциями в кератинодержателе сырье обнаруживают: наличие серы, циклических аминокислот, желатин

3.2.1. Реакция на «слабосвязующую серу»

Известно, что под действием щелочей белки подвергаются частичному гидролизу по пептидным связям, превращаясь в щелочные альбуминаты. Наряду с этим наблюдается отщепление части аминокрупп (реакция дезаминирования) в виде аммиака. При наличии в молекуле белка аминокислот, содержащих серу (цистина, цистеин), от этих аминокислот постепенно отщепляется и сера в виде двухвалентного иона. Его

образование можно обнаружить с помощью ионов тяжелых металлов, например, ионов свинца, образующих с ионами серы черный нерастворимый сульфид свинца:



N_2^3H серы, образующийся из сероводорода в сильнощелочной среде, может быть открыт нитропруссидом натрия, являющимся реактивом на ион серы

Для проведения исследований предварительно проводят щелочной гидролиз: в пробирку помещают примерно 1,5г шерсти, приливают тройной объем

концентрированного раствора щелочи, опускают несколько «кипятильников» и осторожно кипятят смесь, не допуская выгорания жидкости. При этом выделяется аммиак, который может быть обнаружен по запаху и по посинению влажной лакмусовой бумажки, поднесенной к отверстию пробирки (не касаться стенки!).

Горячую щелочную жидкость делят на две части: с первой проводят пробу с бумажкой, смоченной уксуснокислым свинцом и наблюдают желто-бурое или черное окрашивание. Ко второй добавляют несколько капель свежеприготовленного разбавленного раствора нитропрussa натрия, получая

3.2.2. Реакция на наличие циклических аминокислот

Их присутствие обнаруживают с помощью реакции. Это реакция нитрования по радикалам ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана) с образованием желтоокрашенных нитросоединений. В щелочной среде за счет появления хромофорной группы происходит изменение желтой окраски на оранжевую.

Для проведения реакции в пробирку помещают 1-2г шерсти, добавляют двойной объем воды и 5-6 капель концентрированной азотной кислоты. Осторожно нагревают и наблюдают окрашивание раствора в желтый цвет. Охлаждают смесь и постепенно

добавляют к раствору; имеющую кислую реакцию, не взбалтывая, по каплям избыток концентрированного щелочного раствора аммония или едкого натра до щелочной реакции - жидкость окрашивается в ярко-оранжевый цвет.

3.2.3. Определение железа

Около 3 грамм шерсти кипятят 15 минут в 10 мл воды, содержащей $K^+K^+ (CN)_6^-$, серную и винную кислоты. Игрьсть окрашивается в синий цвет - турнбулева синь.

3.2.4. Изменения кератинов под действием высоких температур

При действии высоких температур на кератины происходит их обугливание. Пучок шерсти вводится в пламя, при этом шерсть не вспыхивает, а • обугливается.

4.ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

1. Колбы на 50 и 100 мл
2. Пробирки
3. Пипетки на 1,5 и 10-мл
4. Воронки 0 3 - 4 см
5. Бумажные фильтры
6. Тигли
7. Стеклянные палочки и бусинки (кипятильники)
8. Электроплита v
9. Кафельная печь
10. Лакмусовая бумага
 11. 6% раствор соляной кислоты
 12. 10% раствор уксусной кислоты
13. 5н. раствор роданистого калия: 49г $KSCN$ растворяют в воде и доводят до 1л
14. 0,1н. раствор желтой кровяной соли: 33г $K_4[Fe(CN)_6]$ растворяют в воде и доводят водой до 1л.
15. Насыщенный раствор оксалата аммония
16. Аммиак (конц.)
17. Мгнезиатная смесь: растворяют в воде 100г $MgCl_2$, 200г $NHCl$, 2(Жт концентрированного раствора аммиака и доводят водой до 1л
18. Раствор молибденовокислого аммония (2.5% р-р Mb_2C_3 , в 5н. растворе H_2SO_4). 25г молибдата аммония растворяют в мерной колбе в 450мл воды и после растворения объем раствора доводят до 500мл В мерной колбе на 1л смешивают 139мл конц. H_2SO_4 (пл. 1,84) с 350мл воды ГЪ охлаждении туда же вливают приотгаланнный раствор молибдата аммония, перемешивают и после охлаждения доводят раствор водой до метки
19. 30% раствор едкого натра
20. 3% раствор сернокислой меди
21. Насыщенный водный раствор пикриновой кислоты и
22. 0,1 н. раствор уксуснокислого свинца: 20г $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 6H_2O$ растворяют

в воде и доводят водой до 1л 23.3% р-р нитропруссата натрия
(соединения): $3r Na_2[Fe(NO)(CN)_5]$
 • $2H_2O$ растворяют в 97мл воды. 24. Реактив на железо: 30Сбиг воды, 2г
 железосинеродистого калия $K_2Fe(CN)_6$, 0,5мл конц. H_2SO_4 , 0,5г винной кислоты

5. ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ РАБОТЫ И ЕЁ ЗАЩИТА

Отчет о выполненной лабораторной работе оформляется в тетради и включает:

краткий конспект теоретического обоснования работы;

- цель и задачи работы;
- методики исследований;
- результаты наблюдений, их объяснение и выводы

Работа защищается индивидуально, при этом студент представляет тетрадь с аккуратно оформленным отчетом и отвечает на вопросы по теме работы. Результаты защиты работы фиксируются в тетради и в журнале преподавателя.

6. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ЗАЩИТЕ

f .
%

Г

1. Морфологическое строение костной ткани.
2. Приведите примерный химический состав костной ткани.
3. Какие белки входят в состав кости?
4. Какими свойствами обладает оссеин?
5. Какие макроэлементы доминируют в плотной части кости? 6 Как обезжиривают и мацерируют (деминерализуют) кость? '

и

7. Ионы каких металлов Вы обнаруживали в солянокислой вытяжке из обезжиренной кости?
8. Какими качественными реакциями Вы обнаруживали ион трехвалентного железа?

9. В виде каких соединений присутствуют в кости катионы кальция? Как их определяют? # v
10. Как подтвердить присутствие в кости солей магния'?
11. Какая качественная реакция использовалась в работе для обнаружения фосфорной кислоты?
12. Какими реакциями Вы открывали присутствие белков в органической части кости?
13. Охарактеризуйте особенности белкового состава кграхин-содержащего сырь
14. Как обнаруживается в составе кератинов содержание серби?
15. С помощью какой специфической реакции выявляется присутствие в составе кератинов железа?
16. Какие изменения происходят с кератином при выхжотемпературном нагреве?

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 Аншпова Л.В., Жеребцов НА Биохимия мяса и мясных продуктов- Воронеж Изд-во Воронежского университета, 1991. С 99-1G3,111-118.
- 2 Павловский ПЕ, Пальмин В.В. Биохимия мяса — М: Падевая промышленность, 1975, С 174-191.
3. Месхи А И Биохимия мяса, мясопродуктов и птицепродуктав. - М: Легкая и пищевая промышленность, 1984. С. 191-195,207-209.
4. Технология мяса и мясопродуктов /Апехина Л Т., Большаков АС, Боресков В.Г. и др.; ГЪдред Рогова ИА- М: Агропромиздат. 198% £33-34, 239.

**Министерство общего и профессионального образования Российской
федерации**

Северо-Каикюский государственный технический уиииерситет

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

к лабораторной работе «Изучение основных свойств крови убойных животных» для студентов специальности 270900

Ставрополь 1999

Кровь по состоянию межклеточного вещества рассматривают как жидкую соединительную ткань. При жизни животного основной функцией крови является доставка молекулярного кислорода и питательных веществ к клеткам тканей и органов и освобождение их от углекислого газа и продуктов обмена. Кровь состоит из плазмы (60-63% от массы) и форменных элементов (37-40%)- эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов.

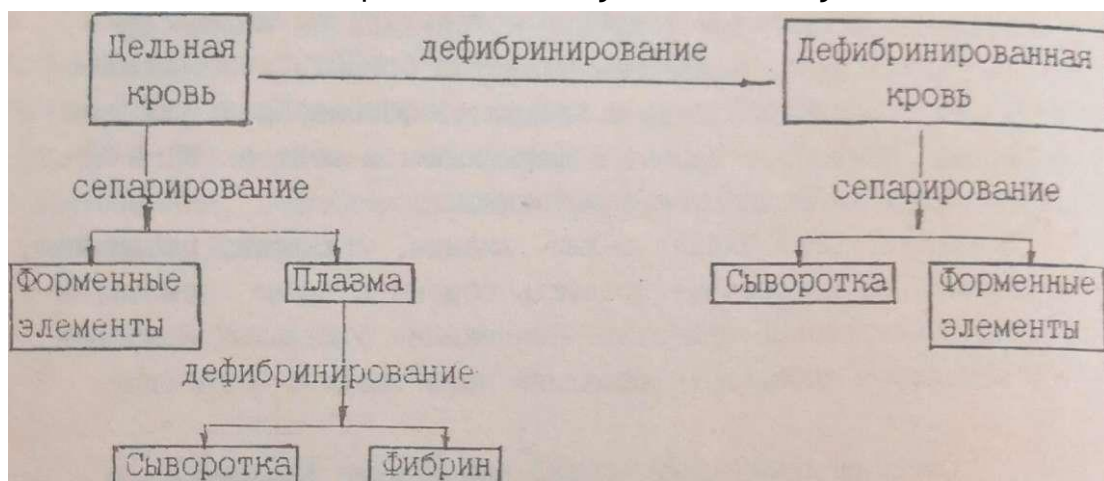
В состав крови входят белки, липиды, углеводы, различные промежуточные и конечные продукты обмена, а также гормоны, витамины, минеральные вещества. Содержание отдельных компонентов **б** цельной крови и ее фракциях представлено в таблице.

Средний химический состав крови и ее фракций

Компоненты	Содержание Д		
	кровь	плазма	форменные элементы
Вода	79-82	91-92	59-63
Белки	16-19	7	33
Липиды	0,4	0,3	0,7
Прочие орг. в-ва	0,6	0,2	-
Минеральные в-ва	0,8	0,8	1,0

Кровь убойных животных - важнейший источник высокоценного животного белка с коэффициентом усвояемости 94-96%, по содержанию которого она практически не отличается от мяса. Основная масса белков крови приходится на альбумин, глобулин, фибриноген, гемоглобин, причем первые три белка плазмы являются полноценными и легкоусвояемыми. Гемоглобин сложный неполноценный белок, входящий в состав эритроцитов и придающий окраску крови.

Составные части крови можно получить по следующей схеме:



Специфической особенностью цельной крови является ее свертывание. Это многоступенчатый полиферментативный процесс, в котором участвуют компоненты плазмы и тромбоцитов, так называемые факторы свертывания крови. В плазме имеется 13 факторов свертывания крови, все они - вещества белковой природы, кроме фактора IV, которым являются катионы Ca . Исключение или нарушение активации одного из компонентов системы свертывания предотвращает процесс свертывания крови.

В процессе свертывания крови можно выделить три основные стадии:



полимер
(сгусток)

Какая последующая стадия катализируется активным фактором, образовавшимся на предыдущей стадии. Следует иметь в виду, что при изъятии тем или иным способом фибриногена из плазмы и при отделении форменных элементов в какой-то степени разрушаются эритроциты и их тромбопластическая функция переносится в сыворотку, что приводит к переходу тромбогена в Тромбин.

Предупредить свертывание крови можно введением антикоагулянтов (фосфатов, цитратов, оксалатов и др.).

При воздействии на кровь органических растворителей (га-Ир, спирт и др.) в результате растворения липидной части оболочки эритроцитов происходит их разрушение и гемоглобин переходит в плазму или сыворотку, окрашивая их в красный цвет. Это явление называется гемолизом, а полученная кровь гемоделизированной или "лаковой", так как она становится тем-но-красной прозрачной жидкостью. Гемолиз происходит также и при разбавлении крови водой. В этом случае нарушение строения эритроцитов вызывает разность в осмотическом давлении внутри эритроцитов и в окружающей среде.

1. ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью данной работы является изучение основных свойств крови убойных животных, знание которых обеспечивает качественное выполнение операций сбора и первичной переработки крови, ее фракционирования, обесцвечивания, получения белковых структурирующихся композиций в мясоперерабатывающем производстве.

В задачи студента входит:

- получение стабилизированной, дефибринированной крови и их разделение на фракции;
- исследование процесса свертывания крови; изучение факторов, вызывающих гемолиз крови;

- получение кристаллов гемина;
- анализ полученных, результатов и формулировка выводов.

С. ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ

Работа выполняется после проведения преподавателем инструктажа по технике безопасности в условиях убойного цеха и филиала кафедры на Ставропольском мясокомбинате подгруппами, исследующими основные свойства говяжьей, свиной или бараньей крови.

В ЦГШС на участке обескровливания и сбора крови каждая бригада отбирает кровь из кровеносного сосуда животного в две колбы. В одну из них для получения стабилизированной крови предварительно наливают 10% раствор щавелевокислого аммония из расчета 1 мл на 100 мл крови. Колбу осторожно вращают до полного перемешивания, в результате чего весь кальций осаждается в виде щавелевокислого кальция и кровь теряет способность свертываться.

В лабораторных условиях филиала кафедры готовят для исследования образец дефибринированной крови, для чего цельную кровь из колбы переливают в стакан и перемешивают стеклянной палочкой, выделяющиеся нити фибрина извлекают из стакана, а хиджук, дефибринированную кровь фильтруют через марлю.

Примерно 50 мл дефибринированной и стабилизированной крови обрабатывают 10-15 минут при 3000 оборотах в минуту на ультрацентрифуге с целью получения, соответственно, сыворотки и плазмы, которые осторожно декантируют с осадка форменных элементов.

Полученные образцы дефибринированной, стабилизированной (оксалатной) крови, сыворотки и плазмы используют для исследования в соответствии с методикой, приведенной в разделе 3.

По окончании работы студенты моют лабораторную посуду, приводят в порядок рабочие места, оформляют работу и отчитываются перед преподавателем.

Дежурный проверяет состояние лаборатории, собирает методическую литературу и сдает ее лаборанту.

3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 3.1. Свертывание

и стабилизация крови Ход работы :

- берут пять пробирок, предварительно в пробирки N1 и N2 вносят по 3 мл оксалатной плазмы, в пробирку N3 - 3 мл де- фибринированной крови, в пробирку N4 - 3 мл сыворотки и в пробирку N5 - 3 мл оксалатной крови;
- во все пробирки, кроме N1, добавляют по 0,3 мл 3%-го раствора хлористого кальция и ставят их в термостат на 15-20 минут при температуре 37-38°C;
- записывают и объясняют результаты наблюдений.

3.2. Гемолиз крови Ход работы:

- для получения гемолизированной крови 1 мл дефибринирован ной крови вносят в пробирку и смешивают с равным объемом воды и 0,5мл эфира ;
- гемолиз при разбавлении водой: в три пробирки вносят по 3 мл дефибринированной крови, а затем в пробирку N1 добавляют 5 мл дистиллированной воды, в пробирку N2 - 5 мл физиологического С 0,9%. го) раствора хлористого натрия, в пробирку N3 - С мл насыщенного раствора хлористого натрия.через несколько секунд из каждой пробирки берут по капле жидкости, помещают на предметное стекло и, накрыв покровным стеклом,исследуют под микроскопом и зарисовывают эритроциты.
- записывают и объясняют результаты наблюдений.

у

о

3.3.Получение кристаллов гемина

Тем является нестойким соединением и, отщепляясь при действии на гемоглобин кйслот, тотчас же окисляется кислородом воздуха с образованием гемина. При действии на гемоглобин концентрированной уксусной кислоты в присутствии хлористого натрия гем отщепляется в окисленной форме, в виде так называемого хлоргемина (в котором железо трехвалентное), в результате

образуются характерные темные кристаллы (ромбоидальные таблички, часто образующие звездообразные сростки) .

Ход работы:

для получения кристаллов хлоргемина каплю крови осторожно высушивают на предметном стекле и нагревают на небольшом пламени с кристаллом хлористого натрия и 1-2 каплями ледяной уксусной кислоты;

- охлаждают и рассматривают под микроскопом;
- зарисовывают и объясняют результаты наблюдений.

4. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

Колбы конические на 500 мл
Стаканы химические на 250 мл
Центрифужные стаканчики
Предметные и покровные стекла
10%-й р-р щавелевокислого аммония
3%-й раствор хлористого кальция
0,9%-й раствор хлористого натрия
Насыщенный р-р хлористого натрия
Кристаллический хлористый натрий
Пробирки
Стеклянные палочки
Центрифуга
Микроскоп
Дистиллированная вода
Эфир
Ледяная уксусная к-та
Термостат
Пипетки на 1 и 5 мл

5. ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ РАБОТЫ И ЕЕ ЗАЩИТА

Отчет о выполненной лабораторной работе оформляется в тетради и включает:

- краткий конспект теоретического обоснования работы;
- цель и задачи работы;
- методики исследований;
- результаты наблюдений, их объяснение и выводы.

Работа защищается индивидуально, при этом студент представляет преподавателю тетрадь с аккуратно оформленным отчетом и отвечает на вопросы по теме работы. Результаты защиты работы фиксируются в тетради и в журнале преподавателя.

6. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ЗАЩИТЕ РАБОТЫ

1. Кратко охарактеризуйте морфологический и химический состав крови.
2. Назовите и кратко охарактеризуйте основные белки плазмы.
3. Объяснив механизм свертывания крови.
4. Для чего и как стабилизируют кровь?
5. На какие фракции разделяют стабилизированную кровь при сепарировании?
6. Дефибринирование крови. Какие продукты получают при ее сепарировании!
7. Сравните пищевую ценность стабилизированной и дефибринированной крови, плазмы и сыворотки.
8. Как можно вызвать процесс свертывания в стабилизированной крови и плазме? С какой целью используют этот прием в мясоперерабатывающем производстве?
9. Что такое гемолиз?
10. Под действием каких факторов происходит гемолиз?
11. Приведите примеры использования направленного гемолиза.
12. Как построен гемоглобин, какова его биологическая ценность?
13. Какие производные дает гемоглобин и чем они отличаются?
14. Как можно отделить гем от глобина? Направления их использования.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Технология мяса и мясопродуктов / Алехина Л.Т., Большаков А.С., Боресков В.Г. и др.; Под ред. Рогова И.А. _М.: Агро-промиздат, 1988, с.44-51.
2. Антипова Л.В., Жеребцов Н.А. Биохимия мяса и мясных продуктов. - Воронеж. Изд-во Воронежского университета, 1991, с.8-33.

3. Судаков Н.В. Переработка и использование крови убойных животных. - М.: Агропромиздат, 1986, -98 с.

4. Павловский П.Е., Пальмин В.-В. Биохимия мяса. -М.:Пищевая промышленность, 1975, с.84-123.

5. Месхи А.И. Биохимия мяса, мясопродуктов и птицепро- дуктов.-М.:Легкая и пищевая промышленность, 1984, с.173-184.

Либерман С.Г.,Пожариская Л.С.,Файвишезский М.Г.Переработка крови убойных животных на мясокомбинатах.-М. .-Пищевая промышленность, 1980, с.6-13.

10. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

10.1. Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины

10.1.1. Перечень основной литературы:

- 1 Тихонов, Г. П. Основы биотехнологии : Методические рекомендации для самостоятельной подготовки студентов / Тихонов Г. П. - Москва : Московская государственная академия водного транспорта, 2009. - 137 с. - Книга находится в базовой версии ЭБС IPRbooks.

10.1.2. Перечень дополнительной литературы:

- 1 Основы научных исследований и инженерного творчества в биотехнологии : методические указания к самостоятельной работе, Направление подготовки 240700.62 - Биотехнология, Профиль "Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ", Квалификация выпускника - бакалавр / сост. А.В. Половянова ; ФГАОУ ВПО Сев.-Кав. федер. ун-та. - Ставрополь : СКФУ, 2014. - 8 с.
- 2 Либерман, С. Г. Переработка крови убойных животных на мясокомбинатах : учеб. пособие для ПТУ / С. Г. Либерман, Л. С. Пожариская, М. Л. Файвишевский. - М. : Пищевая промышленность, 1980. - 200 с. : ил. - Библиогр.: с. 196
- 3 Сельскохозяйственная биотехнология : Учебник для студентов вузов* / Под ред. В.С. Шевелухи. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : Высш. шк., 2003. - 469 с.: ил. - Парал. тит. л. англ. - ISBN 5-06-004264-2
- 4 Файвишевский, М. Л. Переработка крови убойных животных : учебник для проф. обуч. рабочих на производстве / М. Л. Файвишевский. - М. : Агропромиздат, 1988. - 224 с. : ил. - (учебники для кадров массовых профессий). - Библиогр.: с.223. - ISBN 5-10-000220-4

10.2. Перечень учебно-методического обеспечения самостоятельной работы обучающихся по дисциплине

- 1 Методические указания к лабораторным работам, Ставрополь, 2014г.
- 2 Сборник технологических инструкций по заготовке эндокринно-ферментного и специ-ального сырья. М, Госагропром, 1999,139 с.

10.3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины:

- 1 www.2snau.ru/
- 2 www.do.gendocs.ru/
- 3 www.newgreenfield.ru/

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания
по выполнению практических работ
по дисциплине ««БИОТЕХНОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ ИЗ ЭНДОКРИННО-
ФЕРМЕНТНОГО СЫРЬЯ»
для студентов направления подготовки
19.03.01 Биотехнология
Направленность (профиль) промышленная биотехнология

(ЭЛЕКТРОННЫЙ ДОКУМЕНТ)

Содержание

- 1 ОСНОВНЫЕ АНАЛИЗЫ ОРГАНОПРЕПАРАТОВ И ЭНДОКРИННО-ФЕРМЕНТНОГО СЫРЬЯ (часть 1)
- 2 ОСНОВНЫЕ АНАЛИЗЫ ОРГАНОПРЕПАРАТОВ И ЭНДОКРИННО-ФЕРМЕНТНОГО СЫРЬЯ(часть 2)
- 3 АКТИВНОСТЬ ТЕХНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИНА(часть 1)
- 4 АКТИВНОСТЬ ТЕХНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИНА(часть 2)
- 5 ПРЕПАРАТЫ ИЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ СВИНЫХ ЖЕЛУДКОВ, СЫЧУГОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, МОЛОЧНЫХ ТЕЛЯТ И ЯГНЯТ. (часть 1)
- 6 ПРЕПАРАТЫ ИЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ СВИНЫХ ЖЕЛУДКОВ, СЫЧУГОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, МОЛОЧНЫХ ТЕЛЯТ И ЯГНЯТ. (часть 2)
- 7 ПЕПСИН ПИЩЕВОЙ(часть 1)
- 8 ПЕПСИН ПИЩЕВОЙ(часть 2)
- 9 ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВОГО ПЕПСИНА(часть 1)
- 10 ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВОГО ПЕПСИНА(часть 2)
- 11 ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛОТНОЙ ЧАСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ И КЕРАТИНОВ(часть 1)
- 12 ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛОТНОЙ ЧАСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ И КЕРАТИНОВ(часть 2)

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №1

ОСНОВНЫЕ АНАЛИЗЫ ОРГАНОПРЕПАРАТОВ И ЭНДОКРИННО-ФЕРМЕНТНОГО СЫРЬЯ

При проверке органопрепаратов и сырья проводят биологические, бактериологические, биохимические и химические анализы.

Для проведения биологических анализов требуется значительное количество разнообразных животных,

ВИВАРИЙ И ЕГО УСТРОЙСТВО

Виварий — помещение для содержания мелких животных в условиях, близких к естественным. Место для строительства вивария должно быть по возможности открытым для прямых солнечных лучей, не затенено высокими зданиями, защищено от холодных ветров и расположено на возвышенном месте, не затопляемом дождевыми и талыми водами. Виварий следует строить в глубине двора на некотором расстоянии от основных корпусов предприятия.

В благоустроенном виварии должны быть следующие помещения: помещение, в котором содержатся в период проведения опыта лабораторные животные (основное); карантинное помещение;

ветеринарная лаборатория со стационаром для незаразных больных животных;

изолятор для инфекционных больных животных. Кроме того, в виварии должны быть помещения для мойки, кухня, кладовая, овощехранилище, сенохранилище, холодильник, помещение для дезинфекции клеток.

Строить здания вивария лучше всего из 'кирпича плит железобетона. Во избежание просачивания почвенной влаги стены следует изолировать от фундамента (Водонепроницаемым слоем (асфальт, толь и пр). Полы лучше всего делать из метлахской плитки. Асфальтовые полы вследствие непрочности их и шероховатости менее желательны. В стенах и потолках не должно быть щелей, в которых обычае гнездятся насекомые и скапливается грязь. Побелку помещения лучше всего производить известковым молоком; масляной краской рекомендуется

покрывать лишь нижнюю часть стен на высоту 1,5 м от пола. Еще лучше панели стен облицовывать керамическими плитками.

Выделяемая при дыхании животных углекислота вредно действует на организм, поэтому нельзя допускать перегрузки вивария животными. Помещение необходимо систематически проветривать и поддерживать определенную влажность. В сыром помещении воздух влажный и холодный, поэтому животные переохлаждаются и часто подвергаются простудным заболеваниям. Кроме того, сырость благоприятствует развитию плесени и бактерии, среди которых могут быть и болезнетворные.

Наиболее благоприятной является влажность воздуха в помещении 30—50% при температуре 18—20 °С.

Форточки делать в окнах не рекомендуется, так как животные размещенные вблизи окон, могут простудиться. В помещении, где содержат животных, нельзя создавать сквозняки. Естественная вентиляция допустима лишь в небольших помещениях. В больших помещениях следует делать приточно-вытяжную вентиляцию.

Рекомендуется центральное водяное отопление, при этом температура поверхности отопительного прибора не должна превышать 70 °С. Недопустимы резкие колебания температуры в различных частях помещения, а также резкие изменения ее /в течение суток.

Солнечные лучи оказывают чрезвычайно благоприятное влияние на здоровье животных, они способствуют усилению обмена веществ в организме, предупреждают развитие рахита и убивают возбудителей заразных болезней. В помещении, где содержатся животные, площадь окон должна быть лишь в 8—10 раз меньше общей площади пола, причем оконные рамы должны иметь небольшое количество переплетов, а стекла необходимо тщательно протирать. Окна следует делать высокими и располагать их так, чтобы помещение хорошо освещалось. В зимнее время для оздоровления воздуха помещения, где содержатся животные, рекомендуется облучать ультрафиолетовым светом (кварцевые лампы).

Помещение (основного вивария) для кошек должно быть отдельным и удовлетворять следующие требования: быть светлым и сухим; теплым (в холодное время года поддерживать температуру 16—18 °С); иметь бетонный или плиточный пол; хорошо оборудованную приточно-вытяжную вентиляцию; размеры помещения достаточные для размещения клеток в нужном количестве.

Помещение (основного вивария) для кроликов, свинок, крыс, мышей следует строить одноэтажным с двумя рядами отделений: в одном ряду располагать животных, в другом препараторские и лаборатории. Каждые два таких отделения должны быть изолированы от других и иметь отдельный вход. В каждом отделении рекомендуется содержать не более 500 подопытных свинок или 800 «крыс, или 1500 мышей. Кубатура помещения должна быть не менее 3,5 м³ на 10 свинок -или 15 крыс. 1.5—2.0 м³ на 20 мышей, 16 м³ па 10 кроликов.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛАГИ В СУХИХ ПРЕПАРАТАХ

Количество влаги в препаратах определяют высушиванием 1-2 порошка в бюксе при температуре 100—105 °С в сушильном шкафу до постоянной массы.

Процентное Содержание влаги в порошке

$$X = \frac{(a_1 - б) 100}{a}$$

где а -масса взятой навески порошка, г; а1- масса бюкса с порошком до сушки, г; б -масса бюкса с порошком, высушенным до постоянной массы, г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУХОГО ОСТАТКА

В предварительно высушенный до постоянной массы бюкс вносят 10 мл препарата, который упаривают на водяной бане досуха, затем подсушивают в сушильном шкафу при температуре 100—105 °С до постоянной массы. Сушка считается законченной, когда последующие взвешивания дадут разницу в массе не более 0,001 г.

Содержание сухого остатка вычисляют по следующей формуле:

$$X = \frac{(б - а) 100}{в}$$

где х — содержание сухого остатка, .%;

а—первоначальная масса пустого бюкса, г; б — масса бюкса с навеской после высушивания, г; в — навеска препарата, г.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПРЕПАРАТЕ

Остаток после определения сухого остатка озоляют и охлаждают, затем добавляют 3—5 капель 25%-ной соляной кислоты, перемешивают стеклянной палочкой, добавляют около 10 мл горячей дистиллированной воды, фильтруют через фильтровальную бумагу в чистую пробирку и добавляют 10 мл сероводородной воды или пропускают сероводород в течение 5—10 мин, при этом

не должно появляться темное окрашивание или осадок, допустима слабая опалесценция от выделившейся серы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ХЛОРЕТОНА В ПРЕПАРАТЕ

Для определения 10 мл препарата помещают в коническую колбу, приливают 10 мл 0,5 н. спиртового раствора едкого кали, 5 мл ксилола и нагревают смесь с обратным холодильником в течение 30—40 мин на водяной бане. По охлаждении раствор нейтрализуют разведенной 1 : 1 азотной кислотой, подкисляют 3 мл той же кислоты, прибавляют 25 мл 0,1 н. раствора нитрата серебра и избыток нитрата серебра титруют 0,1 н. раствором роданида аммония (индикатор железоаммиачные квасцы).

Одновременно ставят контрольный опыт с таким же количеством спиртовой щелочи, азотной кислоты, нитрата серебра. Расчет ведут по следующей формуле:

$$X = \frac{(a1 - b)0,006216 \cdot 100}{c}$$

где X — количество хлорэтона;

a — количество роданистого аммония, пошедшее на титрование контрольного раствора;

b — количество роданистого аммония, пошедшее на титрование испытуемого раствора;

c — количество препарата, взятое для анализа.

1 мл 0,1 н. раствора азотнокислого серебра, соответствует 0,006216 г хлорэтона.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛА В ПРЕПАРАТЕ

В коническую колбу с притертой пробкой емкостью 250 мл отвешивают 0,5 г бромистого калия в 50 мл воды, 10 мл испытуемого препарата, 30 мл 0,1 н. бромноватокислого калия (из бюретки), 5 мл 15%-ного раствора серной кислоты и оставляют на 15 мин. Затем к смеси добавляют 2 г йодистого калия, взбалтывают и оставляют стоять в темноте 5 мин, после чего титруют 0,1 н раствором серноватистокислого натрия в присутствии 1%-ного раствора крахмала (растворимого). Титрование t показывает концентрацию не вошедшего в реакцию брома, отсюда вычисляют исходное содержание фенола по следующей формуле:

$$X = \frac{(a - б)0,001568}{в}$$

где х — количество фенола;

а — количество 0,1 н. раствора бромноватокислого калия, взятое для реакции;

б — количество 0,1 н. раствора серноватистокислого натрия, пошедшее на титрование; в — количество препарата, взятое для анализа.

1 мл 0,1 н раствора бромноватокислого калия, соответствует 0,001568г фенола.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЭТИЛОВОГО СПИРТА В ПРЕПАРАТЕ

Для определения отвешивают на технических весах 100 г исследуемого препарата .с точностью до 0,01 г. Навеску переносят колбу Вюрца емкостью 1 л, смывают стаканчик небольшими порциями дистиллированной воды так, чтобы общий объем воды составлял 120—130 (отводная трубка должна находиться на расстоянии 3—4 см от верхнего конца горлышка колбы Вюрца). Колбу Вюрца соединяют с плоскодонной колбочкой емкостью 250 мл, содержащей примерно 40—50 мм 5%-ного раствора щелочи, раствор добавляют так, чтобы не испачкать горлышка колбочки щелочью. — . „

Плоскодонная колбочка снабжена резиновой про Сноп с двумя стеклянными трубками (длинная и короткая). Конец длинной трубки, несколько расширенный внизу, должен касаться поверхности 'щелочного раствора, но не погружаться глубоко в раствор. Короткая трубка соединена с холодильником Либлха.

После того как аппарат собран, начинают отгонку спирта водяным паром. Одновременно с подачей пара включают колбонагреватель для. нагревания жидкости, находящейся в колбе Вюрца.

Как только жидкость в колбе закипит, колбонагреватель выключают и отгонку продолжают водяным паром. Во избежание перебрасывания жидкости, так как она в этот период сильно пенится, рекомендуется поверхность колбы Вюрца охлаждать мокрой тканью или ватой.

Отгонку проводят с таким расчетом, чтобы объем раствора щелочи в плоскодонной колбе был бы примерно постоянным, для чего время от времени включают электрическую плитку, установленную под плоскодонной колбой. Отгон собирают в мерную колбу емкостью 100 мл до объема 98—99 мл, а затем добавляют дистиллированной водой до метки, перемешивают и определяют плотность пикнометром емкостью 25—30 л/л при температуре 20 °С.

Согласно плотности отгона по алкоголеметрическим таблицам находят массу спирта в 100 г препарата.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЖИРА В ПРЕПАРАТЕ

Отвешивают 5 г препарата и высыпают в гильзу из фильтровальной бумаги. Гильзу с препаратом помещают в экстракционный прибор Сокслета и экстрагируют серным эфиром.

По окончании экстрагирования отгоняют эфир. Остаток растворителя удаляют высушиванием до постоянной массы при температуре 100 С

Содержание жира определяют по формуле:

$$X = \frac{(a - b) 100}{v}$$

Где ч- содержание жира, %

а-масса колбочки с жиром, г

б-масса пустой колбочки, г

в- навеска препарата, г

ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРА В ПРЕПАРАТЕ

На аналитических весах отвешивают в бокс около 10 г препарата и количественно переносят в мерную колбу на 100 мл, смывая препарат 40 мл дистиллированной воды. Колбочку с раствором выдерживают на кипящей водяной бане в течение 10 мин. При нагревании колбочку с раствором тщательно взбалтывают и следят за тем, чтобы кровь не припекалась ко дну колбы. Белок осаждают в горячем растворе 10 мл насыщенного раствора уксуснокислого свинца и 20 мл 10%-ного раствора сернокислого натрия.

Вторично колбочку с раствором выдерживают 10 мин на кипящей водяной бане, взбалтывая раствор. Раствор охлаждают, доводят водой до отметки и фильтруют через бумажный фильтр. В фильтре определяют сахар при помощи сахариметра, для этого раствор переносят в кювету на 100 мм. Кювету с раствором вкладывают и трубку сахариметра, уравнивают поля до одинакового цвета и производят отсчет делений на шкале.

Содержание сахара в препарате рассчитывают по формуле

$$X = \frac{a \cdot 2 \cdot 0,26026 \cdot 100}{c}$$

где X — содержание сахара в препарате;

a — показания шкалы сахариметра;

c — навеска препарата, г.

Кювета на 200 мм принята за единицу шкалы сахариметра, так что при работе с кюветой на 100 мм показания шкалы удваивают. Одно деление шкалы соответствует 0,26026 г сахара.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЗОТА В ПРЕПАРАТЕ

Для примера берем инсулин. 2,5 мл раствора инсулина (100 и. е.) переносят в колбу Кьельдаля и сжигают в присутствии 3 мл концентрированной серной кислоты и 0,3 г смеси, состоящей из одной части сернокислой меди и трех частей сернокислого калия. По окончании сжигания (раствор станет светло-зеленым) смеси дают охладиться, затем приливают 4—5 мл воды и присоединяют колбу к аппарату микро-Кьельдаля для отгонки аммиака, добавив затем в ту же колбу 5—6 мл 33%-ного едкого натра. Продолжительность отгонки 15—20 мин. Аммиак отгоняют в приемную колбу - 20—25 мл 0,1 н. раствора серной кислоты (индикатор метилоранж). Избыток кислоты в приемной колбе оттитровывают 0,1 н. раствором едкого натра.

Параллельно ставят контрольный опыт. Количество азота вычисляют по формуле $X = 1,4(a - в)к$

где X — количество азота;

a — количество 0,1 н. щелочи, пошедшее на титрование контрольной пробы;

в — количество 0,1 н. щелочи, пошедшее на титрование испытуемой пробы;

к-количество азота, которому соответствует 1 мл 0,1 н. серной кислоты.

ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К МЕДИЦИНСКОМУ ПЕПСИНУ

Препарат представляет собой белый или слегка желтоватый порошок имеющий слабый своеобразный запах, кисловато-сладкий вкус. Он растворим в воде и 20 °-ном спирте, нерастворим в 90 %м спирте, эфире и хлороформе.

При проведении испытания на чистоту к 10 мл раствора препарата (1:50) прибавляют 2 капли 1%-ного раствора фенолфталеина раствор должен оставаться бесцветным и должен окрашиваться в розовый цвет от прибавления не более 0,6 мл 0.1 н. раствора едкого натра. При взбалтывании 0,2 г препарата с 10 мл воды должно наступать полное растворение пепсина и в течение 1 ч не должно наблюдаться мути (нерастворимые белки).

Около 1 г препарата (точная навеска) помещают в высушенную чашку, содержащую примерно 10 г прокаленного песка. Содержимое перемешивают стеклянной палочкой и высушивают при 100—105 °С до постоянной массы. Потеря массы не должна превышать 5%. Около 0,5 г -препарата (точная навеска) помещают во взвешенный тигель, осторожно сжигают и прокаливают. Масса полученного остатка не должна превышать 1%.

Активность препарата определяют по переваривающей способности: переваривание белка сваренного свежего куриного яйца должно произойти не более чем за 4,5 ч

Хранят препарат в хорошо закупоренных банках в защищенном от света месте при температуре 2—15 °С. СРОК хранения 1 год, после чего проверяют активность.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕВАРИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ПЕПСИНА

Свежее куриное яйцо опускают в кипящую воду и кипятят 10 мин. Затем охлаждают в холодной воде, отделяют белок, растирают его в фарфоровой ступке до получения однородной кашицы и протирают через марлю или сито, которое имеет 100 отверстий на 1 см²; 10 г протертого белка отвешивают в чашку и

переносят в колбу, растирая его в чашке с небольшими порциями воды, нагретой до 50—60 °С. Доводят объем жидкости теплой водой до 100 мл, погружают термометр и при температуре не выше 45°С добавляют 1 г соляной кислоты (плотность 1,12) и 0,1 г пепсина, растворенного в 3—5 мл теплой воды.

Колбу погружают в водяную баню или термостат, перемешивая жидкость каждые четверть часа, наблюдают, чтобы температура смеси не была ниже 40 °С и выше 45 °С. Через 4,5 ч весь белок должен раствориться, причем получается опалесцирующий раствор. Допускается наличие небольшого количества полупрозрачных яичных пленок.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №2
АКТИВНОСТЬ ТЕХНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИНА
ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ,
ПАНКРЕАТИНУ ДЛЯ ТЕХНИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

Панкреатин представляет собой порошок (или чешуйки), содержащий ферменты поджелудочной железы; цвет его слабо-желтый или серовато-желтый содержание влаги не более 10%; активность выраженная в мл 0,1 н раствора едкого натра, не менее 0,7.

Панкреатин для технических целей расфасовывают в банки из белой жести или в крафт-мешки, фанерноштампованные бочки. Внутреннюю сторону банок и бочек обкладывают влагонепроницаемой бумагой.

Хранят панкреатин в сухом, прохладном, хорошо вентилируемом, помещении.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТЕХНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИНА

Для приготовления вытяжки на аналитических весах точно отвешивают 2,5 г испытуемого панкреатина, количественно переносят в мерную колбу и заливают 250 мл 2%-ного раствора сернокислого аммония. Фермент извлекают в течение 60 мин при температуре 38°C, после чего вытяжку фильтруют через двойной слой марли. Затем в мерную колбу на 250 мл пипеткой отмеряют 25 мл фильтрата и доливают дистиллированной водой до метки (в 1 л раствора 1 г панкреатина).

В две колбы пипеткой берут -по 10 мл вытяжки панкреатина и добавляют к ней по 20 мл 5%-ного щелочного раствора казенна. В одну колбу (контрольную) немедленно добавляют 10 мл 0,2 н. раствора соляной кислоты и 10 мл 15%-ного раствора сернокислого натрия для осаждения казеина. Вторую колбу выдерживают в течение часа при температуре 38 °С, после чего осаждают казеин соляной кислотой и сеонокислым натрием.

Осадки в обеих колбах отфильтровывают, затем берут по 10 мл Фильтрата, оттитровывают 0,1 н. раствором едкого натра с одной каплей индикатора (0,5%-ного спиртового раствора крезол красной или 1%-ного спиртового раствора альфанафтолфталеина), при этом оттитровывается кислота, не связанная с казеином.

Разница в количествах 0,1 н. раствора едкого натра, пошедшего на титрование контрольного и испытуемого фильтратов, выраженная в миллиметрах характеризует активность панкреатина.

При расчете активности панкреатина разницу, выраженную в миллилитрах 0,1 н. NaOH, умножают на его поправку.

ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ, ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ К ПАНКРЕАТИНУ ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ ЦЕЛЕЙ

Препарат представляет собой порошок беловато-серого или желтоватого цвета, содержащий в качестве наполнителя сахарную пудру и молочный сахар; он малорастворим в воде, нерастворим в спирте.

Для испытания на чистоту (точная навеска) высушивают при 100 °С до постоянной массы: потеря массы при наполнителе сахарная пудра не должна превышать 4–5% при наполнителе молочный сахар— 7%. Высушенную навеску озоляют, смачивают 0,5—1,0 мл концентрированной серной кислоты. Осторожно нагревают до удаления паров серной кислоты и прокаливают. Остаток не должен давать реакции на тяжелые металлы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ПАНКРЕАТИНА

Для проведения опыта готовят ряд растворов:

- 5) 0,4 М раствор борной кислоты — 12,4 г борной кислоты растворяют в воде и доводят объем до 500 мл;
- 6) боратная смесь — 20 мл первого раствора смешивают с 2 мл 1 н. раствора едкого натра;
- 7) ацетатная смесь — смешивают равные объемы 1 н. раствором ацетата натрия и уксусной кислоты;
- 8) 0,2%-ный раствор казеина — 0,2 г казеина по Гаммерстену обливают 20 мл воды, прибавляют 5 мл 0,1 н. едкого натра и нагревают на водяной бане до полного растворения. По охлаждению прибавляют 5 мл раствора борной кислоты и доводят водой до 100 мл.

Для проведения определения 0,1 г панкреатина растирают в ступке с 1 мл боратной смеси, сливают в мерную колбу на 500 мл, тщательно смывают несколько

раз ступку водой и доводят объем до метки. В смесь пронумерованных пробирок вносят пипеткой следующие объемы экстракта панкреатина и воды:

№ пробирки	1	2	3	4	5	6	7
Объем мл (панкреатин+вода)	5+0	4+1	3,2+1,8	2,5+2,5	2+3	1,5+3,5	1+4

Во все пробирки приливают по 5 мл раствора казеина перемешивают, ставят на водяную баню при 40 С. Через 30 мин вынимают пробирки из бани и прибавляют в каждую по 0,5 мл ацетатной смеси. Та пробирка, в которой при этом сохраняется прозрачность, считается предельной.

Для определения активности препарата в единицах необходимо число 50 разделить на количество миллилитров раствора панкреатина, содержащегося в предельной пробирке. Годным считается панкреатин, содержащий 25 ед. Если панкреатин содержит более 25 ед., то его смешивают с молочным сахаром до нормы.

Определение чистоты и переваривающей способности медицинского пепсина

Оборудование:

Наименование оборудования	Количество, шт.
Электрическая плита	1
Гермометр ртутный	1
Весы аналитические	1
Термостат	1
Сушильный шкаф	1
Посуда:	
Наименование	Количество, шт.
Кастрюля	1
Фарфоровая ступка	1
Чашка	1
Сито (или марля)	1
Колба на 200 мл	1
Пипетка на 10 мл	1
Пипетка на 5 мл	1
Пипетка на 1 мл	1
Чашка с 10 г песка	1
Мерный стакан на 100 мл	1
Колба на 50 мл	
Тигель	1
Бюретка	1

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №3,4

ПРЕПАРАТЫ ИЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ СВИНЫХ ЖЕЛУДКОВ, СЫЧУГОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, МОЛОЧНЫХ ТЕЛЯТ И ЯГНЯТ. ПЕПСИН ПИЩЕВОЙ

Пищевой пепсин (для сыродельной промышленности) — неочищенный фермент, содержащий балластные белки и продукты белкового распада.

Слизистая оболочка сычугов крупного рогатого скота И желудков свиней содержит профермент — пепсиноген, который в кислой среде желудка превращается в пепсин.

Для сравнения в табл. 1 приведены состав и основные свойства очищенных препаратов пепсина и пепсиногена.

Таблица 1

Состав	л	свойства	Пепсиноген		Пепсин
Элементарный состав, % по сухой					1
массе	1				
углерод		52,8	51,7		
водород		6,88	6,86		
азот	14,40	14,70			
фосфор		0,09	0,09		
сера	—	0,94			
аминоазот, % общего азота	. .4,0	1,4			
Изоэлектрическая точка					
по катодфорезу		3,7	нет		

по минимуму осаждения . . . 3,6-4,3

.Молекулярная масса по осмотическому давлению

42000 ± 3000 38000 ± 3000

Сырьем для получения пищевого пепсина служит слизистая оболочка свиных желудков и слизистая оболочка сычугов крупного и мелкого рогатого скота.

Учитывая, что процесс гидролиза слизистом ведет, с образованием соляной кислоты, желательно применять реакторы из устойчивого материала к агрессивным средам.

Применный расход сырья и материалов (и ил I кг пищевого пепсина активностью 100 тыс. ед. приведен ниже.

Слизистая оболочка свиных желудков 10

сычугов крупного рогатого скота . 9.

Соляная кислота (плотность 1.19) 0,75

Хлористый натрий 3

Ацетон 0,3

Технологическая схема производства

Получение фермента из слизистой оболочки сычугов крупного рогатого скота

1. Гидролиз. В реактор заливают деминерализованную или дистиллированную воду на 1 кг сырья, 24 мл соляной кислоты плотностью 1,19 и при перемешивании загружают измельченную слизистую оболочку. Массу перемешивают в течение 3 :: 2 ч отстаивают: температура 18°C, pH 2.0.

По окончании процесса раствор сифонируют, а к оставшейся массе добавляют на 1 кг сырья 8.5 мл соляной кислоты плотностью 1.19 и 1,75 л воды. При тех же температуре и рН массу перемешивают 2 ч и 2 ч отстаивают. Разделение фракции ведут сепарированием.

2. Высаливание. Высаливание проводят попаренной вакуумной солью: на первый фильтр 23% к раствору, на второй 20%. Высол на поверхности уплотняют от первого фильтра 6—8 ч, от второго — 4—5 ч. Отстоявшуюся жидкость сифонруют, а осадок отпрессовывают или очищают на центрифуге.

Отфугованный фермент сушат в калориферной сушилке при 35—38 °С до получения сухого порошка (примерно 20 ч).

Получение фермента из слизистой оболочки свиных желудков

1. Автолиз. В реактор загружают измельченное сырье и на каждые 10 кг заливают раствор соляной кислоты, состоящий из 375—380 мл кислоты плотностью 1.19 и 625 мл воды, устанавливают рН смеси 1,9—2.3.

Автолиз ведут 48 ч при температуре 42 °С из них при непрерывном перемешивании 8 ч. Отстоявшийся лизат сифонруют, а оставшуюся массу автолизуют 18 ч при тех же температурах и рН.

2. Высаливание Фермент высаливают при непрерывном перемешивании, предварительно охладив до 20 °С. При рН автолизата 1,9—2,0 вносят 20—22% соли, при рН 2.2—2.4—25%.

Высол уплотняют в течение 3 ч, затем его снимают и выдерживают при 5—6 °С до сушки.

я Сишка Высол сушат в вакуумных сушилках при 35—40 °С, Затем его измельчают и просеивают через сито с 400-600 отверстий на 1 см² Проверив активность, порошки пепсина смешивают (говяжий и свиной в отношении 3:1), добавляют 7-8 частей «повареннойсоли из расчета получения пепсина активностью не ниже 100 тыс. ед. и содержанием соли не менее 85%.

Основные технические требования

Внешний вид препарата — однородный порошок тонкого помола. желтовато-серого циста. Запах — специфический, свойственный пепсину.

Активность — способность свертывать молоко, выраженная в успешных единицах, должна быть не менее 100000 ед. Содержание поваренной соли—не менее 85%, влаги — не более 3%,

жира —не более 1%.

Бактериологические показатели — пищевой пепсин не должен Содержать патогенных микробов; в 1 г пищевого пепсина не должно быть более 8000 бактерий; кишечная палочка должна отсутствовать в 0,3 г.

'Наличие каких-либо консервирующих веществ или антисептика. кроме поваренной соли, не допускается.

Пепсин расфасовывают по 250, 500 и 1000 г в банки из белой жести с прокладкой с внутренней стороны пергаментных или

ледпергаментных пакетов. Банки должны быть плотно закрыты крышками. В каждую банку укладывают ложечку емкостью 2,5 г для отмеривания порошка и краткие указания о способе употребления.

На этикетке банки нанесено название препарата, наименование изготовителя, дата выработки, масса, активность и номер серии

Каждую выпускаемую серию пепсина сопровождают удостоверением о качестве, в котором указывают номер серии пепсина, активность, содержание в нем влаги, соли и данные бактериологического исследования. Для контрольных целей от каждой серии отбирают одну банку в оригинальной упаковке, которую хранят в лаборатории сроком до двух месяцев.

Пищевой пепсин хранят в прохладном вентилируемом, сухом, помещении. Срок хранения 1 год с последующим переконтролем!

Препарат допускается к дальнейшему применению при условии соответствия его техническим условиям.

ПЕПСИН МЕДИЦИНСКИЙ И СЫВОРОТОЧНЫЙ

Пепсин медицинский и сывороточный — препараты, содержащие протеолитический фермент. Вырабатывают эти препараты из слизистой оболочки свиных желудков.

Примерный расход сырья и материалов (в кг) на производство 1 кг пепсина медицинского или сывороточного приведен в табл. 2

Таблица 2

Технологическая схема производства

1. Измельчение сырья. Слизистую оболочку измельчают на волчке через решетку, диаметр отверстий которой равен 2—3 мм.

2. Автолиз. В котел с механической мешалкой загружают измельченную слизистую оболочку и при перемешивании вливают раствор соляной кислоты из расчета на 10 кг сырья 1 л раствора соляной кислоты, состоящего из 375 мл соляной кислоты плотностью 1,19 и 625 мл воды.

В рубашку котла пускают горячую воду и содержимое котла нагревают до 42 °С. Автолиз проводят при температуре 40—42 °С при постоянной работе мешалки в течение 8 ч. Затем смесь отстаивают 40 ч при той же температуре. При этом жировая часть непереварившаяся слизистая оболочка всплывают. Прозрачный лизат отделяют от непереварившегося остатка, фильтруют, охлаждают до 18—20 °С.

Неперспаршившийся остаток слизистой оболочки выдерживают еще 1 сутки при температуре 42 °С для получения дополнительного количества лизата.

3 Высаливание. В лизат с рН 1,9—2,3 вносят 20—25% поваренной соли при непрерывном перемешивании до полного растворения.

Высоленная ферментная масса всплывает на поверхность, отделяется от маточника. Ее направляют па сушку. Отделять фермент от маточника лучше всего на специальном сепараторе.

4. Сушка фермента. Фермент сушат в калориферных сушилках, добавляя сахарную пудру 1:1, или применяя сублимационную сушилку при температуре не выше 35—40 °С.

5. Измельчение. Высушенный пепсин измельчают на шаровой мельнице до состояния пудры. Соотношение массы пепсина к массе шаров примерно 1 :5. Измельчение длится 3—4 ч. Измельченный пепсин просеивают через шелковое сито Л*9 32.

6. Смешивание с наполнителем. В зависимости от вида получаемой продукции сухой пепсин смешивают с глюкозой или сахарной пудрой. Медицинский пепсин готовят на сахарной пудре, сывороточный — на глюкозе.

Пепсин с наполнителем смешивают в смесителе; предварительно в концентрате определяют активность препарата.

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №5
ОПРЕДЕЛЕНИЕ АКТИВНОСТИ ПИЩЕВОГО
ПЕПСИНА

Активность пепсина для производства сыров определяют методом свертывания натурального молока или раствора казеина в известковой воде.

Определение активности можно проводить по натуральному молоку. В этом случае сравнивают продолжительность свертывания натурального молока испытуемым пепсином с длительностью свертывания того же молока сычужным порошком — эталоном, активность которого заранее установлена.

Для определения активности берут натуральное молоко кислотностью 18—20° Г и способностью сто к свертыванию эталоном в течение 4.5—6 мин

Отвешивают на аналитических весах по 1 г испытуемого пепсина и эталона. Навески вносят в мерные колбы на 100мл и растворяют в 80-90 мл подогретой до 35 °С дистиллированной воды, тщательно перемешивают, ставят на водяную баню с температурой 35 С и выдерживают одновременно оба раствора в течение 15 мин при периодическом перемешивании, после чего растворы охлаждают, доливают до метки и перемешивают.

Затем два химических стакана емкостью 150--200 мл отмеряют по 100 МЛ проверенного, нагретого до 35 °С молока. Оба стакана устанавливают на водяную баню с температурой 35 °С

(тем. поддерживают в течение всего анализа). В один стакан с молоком вносят пипеткой 1 мл раствора эталона, в другой

. МЛ раствора испытуемого пепсина. При внесении растворов молоко быстро перемешивают и после этого оставляют в покое до образования в нем -хлопьев, которые определяют следующим образом время от времени с поверхности осторожно поднимают шпатель по - стенке стакана и при отекании его наблюдают наличие хлопьев.

Продолжительность свертывания молока для обоих порошков определяют по секундомеру, считая с момента внесения растворов ферментов в молоко до появления хлопьев. Отметив продолжительность свертывания молока в минутах эталоном и испытуемым порошком, активность . последнего определяют по формуле

$$\frac{э*в}{в1} = x$$

где x — искомая активность пепсина;

э — активность, эталона,

в — продолжительность свертывания молока эталоном, мин;

продолжительность свертывания молока испытуемым пепсином, мин

Активность сычужного порошка определяют таким же методом.

Активность пищевого пепсина определяют и по раствору казеина в известковой воде. Для этого готовят 10%-ный раствор

гидрата окиси кальция (известковой воды), который выдерживают не менее 24 ч. Затем в ступке растирают казеин, просеивают через марлю и отвешивают 15 г. Порошок растворяют в 400 мл профильтрованного 10%-ного раствора гидрата окиси кальция. Для этих целей берут кислотный технический казеин I сорта.

Растворяют казеин в колбе, закрытой резиновой или корковой пробкой, в течение 24 ч. В течение первых шести часов растворение ведут при нагревании, для чего колбу ставят в термостат, предварительно нагретый до 30 °С. При этой температуре колбу выдерживают 2 ч, после чего постепенно повышают температуру до 50 °С. Для лучшего растворения раствор перемешивают каждые 30 мин и растирают стеклянной палочкой с резиновым наконечником. Затем раствор выдерживают при комнатной температуре еще 18 ч, после чего фильтруют через четыре слоя марли.

В полученном после фильтрации казеиновом растворе окиси кальция должно находиться в пределах 0,006—0,008. Количество окиси кальция определяют титрованием 25 мл казеинового раствора 0,1 н. раствором соляной кислоты до исчезновения розового окрашивания по фенолфталеину: 1 мл 0,1 н. раствора соляной кислоты соответствует 0,028 СаО.

Правильность приготовления казеинового раствора проверяют по свертываемости его сычужным ферментом. Для этого к казеиновому раствору осторожно (по 1 мл) добавляют 1 г 1%-ного

перемешивании во избежание выпадения хлопьев прибавляют 0,1 н. раствор соляной кислоты до получения кислотности 6,0—9,5 °Т.

При подкислении в отдельных пробах определяют кислотность титрованием 0,1 н. раствором NaOH. Затем в две пробирки наливают по 10 мл подкисленного казеинового раствора;; ставят их на водяную баню с температурой 40 °С и из бюретки прибавляют в одну пробирку три капли, в другую четыре капли раствора сычужного фермента активностью в 85000 ед. в 100 мл дистиллированной воды и выдержанного в течение 15—20 мин при температуре 35 °С. После прибавления фермента содержимое пробирки тщательно перемешивают, замечают время с момента внесения в первую пробирку последней капли сычужного раствора и наблюдают за свертываемостью казенного раствора.

Если во второй пробирке казеиновый раствор свернется в интервале между четвертой минутой и десятой секундой пятой минуты, а в первой пробирке — через 5 мин, то такой казеиновый раствор следует считать пригодным для определения активности пищевого пепсина.

После проверки казенного раствора на свертывание сычужным ферментом определяют активность пищевого пепсина. Для этого готовят раствор пищевого пепсина следующим образом: отвешивают 0,25 г испытуемого пепсина, переносят в мерную колбу на 100 мл, наливают 70 мл дистиллированной воды, тщательно перемешивают, погружают в водяную баню с температурой 40 °С и выдерживают 26—30 мин при периодическом

перемешивании. По окончании нагревания раствор охлаждают, доводят дистиллированной водой до метки, тщательно встряхивают и фильтруют через плотный бумажный фильтр.

Затем в девять пронумерованных пробирок наливают по 10 мл проверенного казеинового раствора и из бюретки наливают в первую пробирку одну каплю раствора пепсина, в 2-ю 5 сек со

вторую — две капли, еще через 15 сек в третью пробирку — три капли, в четвертую — четыре, в пятую — пять, в шестую — шесть, в седьмую — семь, в восьмую — восемь, в девятую — девять. Все пробирки в течение анализа выдерживают на водяной бане при 40 °С и после окончания анализа содержимое их перемешивают. В течение 15 мин секундомеру замечают время.

По истечении четырех минут с момента внесения раствора пепсина в первую пробирку просматривают все пробирки для установления свертывания казеинового раствора. Отмечают номер пробирки, в которой образовались хлопья в интервале между четвертой и пятой секундой пятой минуты, после чего по шкале определяют активность пепсина (табл. 1).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕРЕВАРИВАЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ МЕДИЦИНСКОГО ПЕПСИНА

Свежее куриное яйцо опускают в кипящую воду и кипятят 10 мин. Затем охлаждают в холодной воде, отделяют белок, растирают его в фарфоровой ступке до получения однородной кашицы и протирают через марлю или сито, которое имеет 100 отверстий на 1 см²: 10 г протертого белка отвешивают в чашку и переносят в колбу, растирая его в чашке с небольшими порциями

йоды, нагретой до 50 °С. Добавляют объем жидкости теплой водой до 100 мл, погружают терм.-метр и при температуре не выше 15 °С добавляют: от 1 а сотяно", .огн (плотность 1.0) и 0,1 <> пепсина, раствор- того в 3 5 х.: теплой воды.

Колбу по; ру.-кают и водяную баню или термостат; ч'мешичаа жидкость каждые четверть и наблюдают, что "ил гемаерату-ра смеси не был;: ниже 40 °C ;и выше 45 °C. Через 4,5 ч весь белок должен раствориться, причем получается опалесцирующий раствор. Допускается наличие небольшого количества полупрозрачных яич-

ких пленок. Практическая рсОспа

Целью данной работы является изучение особенностей химического состава костной ткани и кератинсодержащего сырья, знание которых позволяет выбирать наиболее рациональные технологии комплексной переработки кости и дериватов покровной ткани. В задачи студента входит

- исследование минерального состава и органической части костной ткани;
- выявление специфических особенностей химического состава кератинов;
- анализ полученных результатов и выводы

ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ

Студенты допускаются к работе после инструктажа по технике безопасности. Работа выполняется бригадами по 4 - 5 человек, исследующими по заданию преподавателя один из образцов трубчатой или паспортной кости, полученной от обвалки говяжьих или свиных отрубов.

Предварительное обезжиривание и мацерация исследуемых образцов костной ткани проводится лаборантом. Последовательность и методика химических исследований изложены в разделе 3.

После окончания работы студентами оформляется отчет по работе. Бригады и порядок работы оформляются в журнале, который ведется преподавателем.

Дежурный проверяет состояние лабораторной, а также методическую литературу и сдает ее в библиотеку.

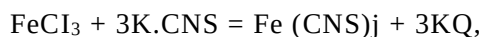
3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Исследование плотной части костной ткани

3.1.1. Исследование минерального состава костной ткани

Кусочек обезжиренной кости примерно 50 г помещают в колбу, приливают 250 мл 6 % раствора HCl и настаивают в течение нескольких суток. Приступая к исследованиям, обращают внимание на состояние упругости костной ткани. В солянокислой вытяжке обнаруживают присутствие ионов: Fe^{3+} , Ca^{2+} и Mg^{2+} и Na^+ , PCU

Уон трехвалентного железа открывают или добавлением к небольшой части оолянокислого раствора роданистого калия (образования роданистого жежза - красное окрашивание):

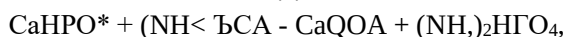


или добавлением раствора желтой кровяной соли (образование желеэосинеродисюй соли окиси железа синее окрашивание): $4\text{FeCl}_3 + 3\text{K}_2[\text{Fe(CN)}_6] = \text{Fe}_3[\text{Fe(CN)}_6]_2 + 12\text{KCl}$

Для открытия ионов кальция, магния и фосфорной кислоты остальную часть солянокислого раствора осторожно нейтрализуют раствором аммиака до появления легкой мути и затем добавляют 10%-ную уксусную кислоту до растворения образовавшейся муш. Опирают 4мл исследуемого раствора в

пробирку и добавляют 3 - 4 капли насыщенного раствора оксалата аммония

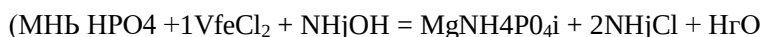
(Ш) C_2O_4 :



образовавшийся осадок щавоювосоого кальция (ОвСА) отфильтровывают и из фильтрата добавлением 3-4 капель концентрированного раствора аммиака осаждают магний в виде фосфорноаммонийномагтшевой соли - белый кристаличесзсий осадок):



отфильтровывают и из фильтрата добавлением магниезальной смеси осаждают фосфорную кислоту.



Для того, чтобы установить присутствие фосфорной кислоты в последних двух осадках ($\text{MgNH}_4\text{P}_2\text{O}_7$) их отфильтровывают, слегка промывают водой и растворяют на фильтре в разОзвленной азотной кислоте. Азотнокислый раствор нагревают с раствором молибденовокислого аммония, при этом выпадает желтый осадок ффоофрномолибденовокислош аммония:

(**NH₄PO₄** 12MoO₃ +21 NH₃, NO,+12CO Шим^ан^

JifiQ&OT^

OTю^^обьпх>к молиб-

Кусочас кости осторожно нагревают в шг№ ^^
' * В - происходит её обугливание; а при сильном
прокаливании обраование золы

3.1.2. Исследование органической части костной ткани

Органическую часть кости тщательно отмывают холодной водой от кислоты и кипятят в течение одного часа, при этом коллаген кости оссеин переходит в желатин

Наличие желатина обнаруживают: биуретовой реакцией и реакцией с пикриновой кислотой

Для проведения биуретовой реакции на обнаружение пептидных связей к 1-2 мл полученного раствора желатина прибавляют двойной объем 30%-го раствора гидроксида натрия, хорошо перемешивают и добавляют 2-3 капли 1%-го раствора сульфата меди. Содержимое тщательно перемешивают. Развивается красновато-фиолетовое окрашивание. При малом содержании белка интенсивность реакции можно повысить, добавив на раствор белка в щелочи 2 мл 1%-го раствора сульфата меди. При стоянии на границе двух слоев образуется фиолетовое кольцо.

Реакция с пикриновой кислотой основана на ее восстановлении в глицизиновую за счет SH-групп белков, что сопровождается изменением окраски. К 2 мл раствора желатина прибавляют 0.5 г карбоната натрия. Добавляют 1 мл насыщенного водного раствора пикриновой кислоты. Содержимое перемешивают и нагревают на пламени горелки несколько минут. Желтый раствор постепенно переходит в красный.

3.2. Исследование кератинов (кожа) для исследования является шерсть с

овчин. Качественными

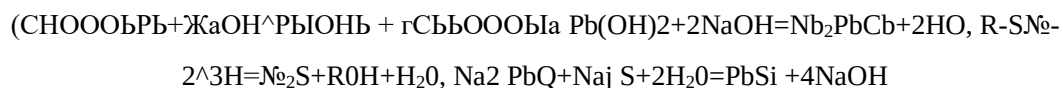
«О

реакциями в кератинодержателе сырье обнаруживают! присутствие серы, циклических аминокислот, желатин

3.2.1. Реакция на «слабосвязующую серу»

Известно, что под действием щелочей белки подвергаются частичному гидролизу по пептидным связям, превращаясь в щелочные альбуминаты. Наряду с этим наблюдается отщепление части аминокрупп (реакция дезаминирования) в виде аммиака. При наличии в молекуле белка аминокислот, содержащих серу (цистина, цистеин), от этих аминокислот постепенно отщепляется и сера в виде двухвалентного иона. Его

образование можно обнаружить с помощью ионов тяжелых металлов, например, ионов свинца, образующих с ионами серы черный нерастворимый сульфид свинца:



$N_2^{\wedge}h$ серы, образующийся из сероводорода в сильнощелочной среде, может быть открыт нитропруссидом натрия, являющимся реактивом на ион серы

Для проведения исследований предварительно проводят щелочной гидролиз: в пробирку помещают примерно 1,5г шерсти, приливают тройной объём

концентрированного раствора щелочи, опускают несколько «кипятильников» и осторожно кипятят смесь, не допуская выгорания жидкости. При этом выделяется аммиак, который может быть обнаружен по запаху и по посинению влажной лакмусовой бумажки, поднесенной к отверстию пробирки (не касаться стенки!).

Горячую щелочную жидкость делят на две части: с первой проводят пробу с бумажкой, смоченной уксуснокислым свинцом и наблюдают желто-бурое или черное окрашивание. Ко второй добавляют несколько капель свежеприготовленного разбавленного раствора нитропруссиды натрия, получая

3.2.2. Реакция на наличие циклических аминокислот

Их присутствие обнаруживают ксантропротеиновой реакцией. Это реакция нитрования по радикалам ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана) с образованием желтоокрашенных нитросоединений. В щелочной среде за счет появления хромофорной группы происходит изменение желтой окраски на оранжевую.

Для проведения реакции в пробирку помещают 1-2г шерсти, добавляют двойной объем воды и 5-6 капель концентрированной азотной кислоты. Осторожно нагревают и наблюдают окрашивание раствора в желтый цвет. Охлаждают смесь и постепенно

добавляют к раствору; имеющую кислую реакцию, не взбалтывая, по каплям избыток концентрированного щелока аммония или едкого натра до щелочной реакции - жидкость окрашивается в ярко-оранжевый цвет.

3.2.3. Определение железа

Около 3 грамм шерсти кипятят 15 минут в 10 мл воды, содержащей $K^+K^+ (CN)_6^-$, серную и винную кислоты. Игрьсть окрашивается в синий цвет - турнбулева синь.

3.2.4. Изменения кератинов под действием высоких температур

При действии высоких температур на кератины происходит их обугливание. Пучок шерсти вводится в пламя, при этом шерсть не вспыхивает, а • обугливается.

4.ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАКТИВЫ

11. Колбы на 50 и 100 мл

12. Пробирки

13. Пипетки на 1,5 и 10-мл

14. Воронки 0 3 - 4 см

15. Бумажные фильтры

16. Тигли

17. Стекланные палочки и бусинки (кипятильники)

18. Электроплита

v

19. Кафельная печь

20. Лакмусовая бумага

11.6% раствор соляной кислоты

12.10% раствор уксусной кислоты

13. 5н. раствор роданистого калия: 49г $KSCN$ растворяют в воде и доводят до 1л

14. 0,1н. раствор желтой кровяной соли: 33г $K_4[Fe(CN)_6]$ растворяют в воде и доводят водой до 1л.

15. Насыщенный раствор оксалата аммония

16. Аммиак (конц.)

17. Мгнезиальная смесь: растворяют в воде 100г $MgCl_2$, 200г $NHCl$,

2. (Жт концентрированного раствора аммиака и доводят водой до 1л

18. Раствор молибденовокислого аммония (2.5% р-р M_2C_3 , в 5н. растворе H_2SO_4).
25г молибдата аммония растворяют в мерной колбе в 450мл воды и после растворения объем раствора доводят до 500мл. В мерной колбе на 1л смешивают 139мл конц. H_2SO_4 (пл. 1,84) с 350мл воды. При охлаждении туда же вливают приготовленный раствор молибдата аммония, перемешивают и после охлаждения доводят раствор водой до метки

19. 30% раствор едкого натра

20. 3% раствор сернистой меди

21. Насыщенный водный раствор пикриновой кислоты
и

22. 0,1 н. раствор уксуснокислого свинца: 20г $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 6H_2O$ растворяют

в воде и доводят водой до 1л 23.3% р-р нитропруссата натрия
(соединения готовый): $3\text{r Na}_2[\text{Fe}(\text{NO})(\text{CN})_5]$
 • $2\text{H}_2\text{O}$ растворяют в 97мл воды. 24. Реактив на железо: 30% водн. р-р
 железосинеродистого калия $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 0,5мл конц. H_2SO_4 , 0,5г винной кислоты

5. ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ РАБОТЫ И ЕЁ ЗАЩИТА

Отчет о выполненной лабораторной работе оформляется в тетради и включает:

краткий конспект теоретического обоснования работы;

- цель и задачи работы;
- методики исследований;
- результаты наблюдений, их объяснение и выводы

Работа защищается индивидуально, при этом студент представляет тетрадь с аккуратно оформленным отчетом и отвечает на вопросы по теме работы. Результаты защиты работы фиксируются в тетради и в журнале преподавателя.

6. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ЗАЩИТЕ

f .
%

Г

1. Морфологическое строение костной ткани.
2. Приведите примерный химический состав костной ткани.
3. Какие белки входят в состав кости?
4. Какими свойствами обладает оссеин?
5. Какие макроэлементы доминируют в плотной части кости? 6 Как обезжиривают и мацерируют (деминерализуют) кость? '

и

7. Ионы каких металлов Вы обнаруживали в солянокислой вытяжке из обезжиренной кости?
8. Какими качественными реакциями Вы обнаруживали ион трехвалентного железа?

9. В виде каких соединений присутствуют в кости катионы кальция? Как их определяют? # v
10. Как подтвердить присутствие в кости солей магния'?
11. Какая качественная реакция использовалась в работе для обнаружения фосфорной кислоты?
12. Какими реакциями Вы открывали присутствие белков в органической части кости?
13. Охарактеризуйте особенности белкового состава кграхин-содержащего сырья
14. Как обнаруживается в составе кератинов содержание серби?
15. С помощью какой специфической реакции выявляется присутствие в составе кератинов железа?
16. Какие изменения происходят с кератином при выхжотемпературном нагреве?

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 Аншпова Л.В., Жеребцов НА Биохимия мяса и мясных продуктов- Воронеж Изд-во Воронежского университета, 1991. С 99-1G3,111-118.
- 2 Павловский ПЕ, Пальмин В.В. Биохимия мяса — М: Падевая промышленность, 1975, С 174-191.
3. Месхи А И Биохимия мяса, мясопродуктов и птицепродукгав. - М: Легкая и пищевая промышленность, 1984. С. 191-195,207-209.
4. Технология мяса и мясопродуктов /Апехина Л Т., Большаков АС, Боресков В.Г. и др.; ГЪдред Рогова ИА- М: Агропромиздат. 198% £33-34, 239.

**Министерство общего и профессионального образования Российской
федерации**

Северо-Каикюский государственный технический уиииерситет

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

к лабораторной работе «Изучение основных свойств крови убойных животных» для студентов специальности 270900

Ставрополь 1999

Кровь по состоянию межклеточного вещества рассматривают как жидкую соединительную ткань. При жизни животного основной функцией крови является доставка молекулярного кислорода и питательных веществ к клеткам тканей и органов и освобождение их от углекислого газа и продуктов обмена. Кровь состоит из плазмы (60-63% от массы) и форменных элементов (37-40%)- эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов.

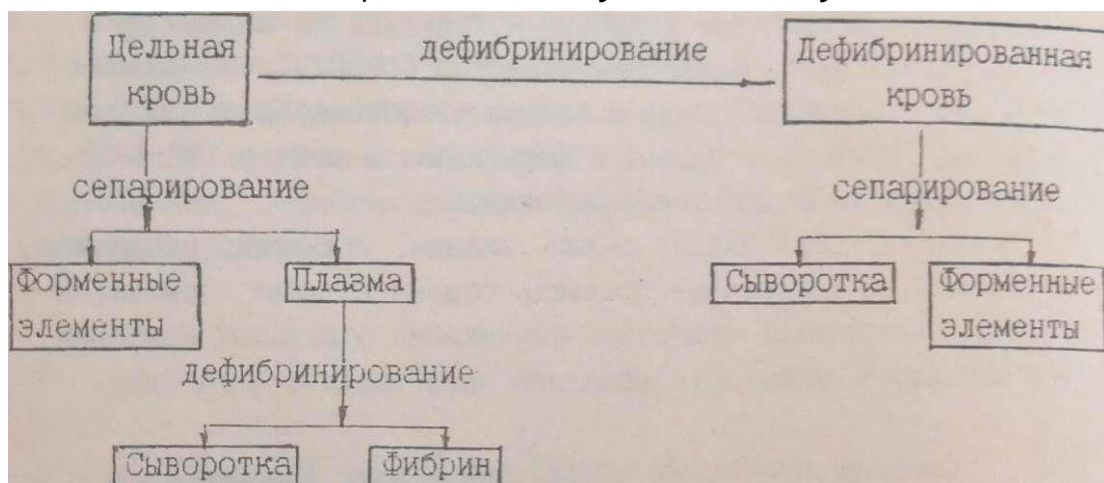
В состав крови входят белки, липиды, углеводы, различные промежуточные и конечные продукты обмена, а также гормоны, витамины, минеральные вещества. Содержание отдельных компонентов **б** цельной крови и ее фракциях представлено в таблице.

Средний химический состав крови и ее фракций

Компоненты	Содержание Д		
	кровь	плазма	форменные элементы
Вода	79-82	91-92	59-63
Белки	16-19	7	33
Липиды	0,4	0,3	0,7
Прочие орг. в-ва	0,6	0,2	-
Минеральные в-ва	0,8	0,8	1,0

Кровь убойных животных - важнейший источник высокоценного животного белка с коэффициентом усвояемости 94-96%, по содержанию которого она практически не отличается от мяса. Основная масса белков крови приходится на альбумин, глобулин, фибриноген, гемоглобин, причем первые три белка плазмы являются полноценными и легкоусвояемыми. Гемоглобин сложный неполноценный белок, входящий в состав эритроцитов и придающий окраску крови.

Составные части крови можно получить по следующей схеме:



Специфической особенностью цельной крови является ее свертывание. Это многоступенчатый полиферментативный процесс, в котором участвуют компоненты плазмы и тромбоцитов, так называемые факторы свертывания крови. В плазме имеется 13 факторов свертывания крови, все они - вещества белковой природы, кроме фактора IV, которым являются катионы Ca . Исключение или нарушение активации одного из компонентов системы свертывания предотвращает процесс свертывания крови.

В процессе свертывания крови можно выделить три основные стадии:



полимер
(сгусток)

Какая последующая стадия катализируется активным фактором, образовавшимся на предыдущей стадии. Следует иметь в виду, что при изъятии тем или иным способом фибриногена из плазмы и при отделении форменных элементов в какой-то степени разрушаются эритроциты и их тромбопластическая функция переносится в сыворотку, что приводит к переходу тромбогена в Тромбин.

Предупредить **свертывание крови можно введением антикоагулянтов** (фосфатов, цитратов, оксалатов и др.).

При воздействии на кровь органических растворителей (а-Ир, спирт и др.) в результате растворения липидной части оболочки эритроцитов происходит их разрушение и гемоглобин переходит в плазму или сыворотку, окрашивая их в красный цвет. Это явление называется гемолизом, а полученная кровь гемолизированной или "лаковой", так как она становится тем-но-красной прозрачной жидкостью. Гемолиз происходит также и при разбавлении крови водой. В этом случае нарушение строения эритроцитов вызывает разность в осмотическом давлении внутри эритроцитов и в окружающей среде.

1. ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью данной работы является изучение основных свойств крови убойных животных, знание которых обеспечивает качественное выполнение операций сбора и первичной переработки крови, ее фракционирования, обесцвечивания, получения белковых структурирующихся композиций в мясоперерабатывающем производстве.

В задачи студента входит:

- получение стабилизированной, дефибринированной крови и их разделение на фракции;
- исследование процесса свертывания крови; изучение факторов, вызывающих гемолиз крови;

- получение кристаллов гемина;
- анализ полученных, результатов и формулировка выводов.

С. ОРГАНИЗАЦИЯ ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТЫ

Работа выполняется после проведения преподавателем инструктажа по технике безопасности в условиях убойного цеха и филиала кафедры на Ставропольском мясокомбинате подгруппами, исследующими основные свойства говяжьей, свиной или бараньей крови.

В ЦГШС на участке обескровливания и сбора крови каждая бригада отбирает кровь из кровеносного сосуда животного в две колбы. В одну из них для получения стабилизированной крови предварительно наливают 10% раствор щавелевокислого аммония из расчета 1 мл на 100 мл крови. Колбу осторожно вращают до полного перемешивания, в результате чего весь кальций осаждается в виде щавелевокислого кальция и кровь теряет способность свертываться.

В лабораторных условиях филиала кафедры готовят для исследования образец дефибринированной крови, для чего цельную кровь из колбы переливают в стакан и перемешивают стеклянной палочкой, выделяющиеся нити фибрина извлекают из стакана, а хиджук, дефибринированную кровь фильтруют через марлю.

Примерно 50 мл дефибринированной и стабилизированной крови обрабатывают 10-15 минут при 3000 оборотах в минуту на ультрацентрифуге с целью получения, соответственно, сыворотки и плазмы, которые осторожно декантируют с осадка форменных элементов.

Полученные образцы дефибринированной, стабилизированной (оксалатной) крови, сыворотки и плазмы используют для исследования в соответствии с методикой, приведенной в разделе 3.

По окончании работы студенты моют лабораторную посуду, приводят в порядок рабочие места, оформляют работу и отчитываются перед преподавателем.

Дежурный проверяет состояние лаборатории, собирает методическую литературу и сдает ее лаборанту.

3. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 3.1. Свертывание

и стабилизация крови Ход работы :

- берут пять пробирок, предварительно в пробирки N1 и N2 вносят по 3 мл оксалатной плазмы, в пробирку N3 - 3 мл де- фибринированной крови, в пробирку N4 - 3 мл сыворотки и в пробирку N5 - 3 мл оксалатной крови;
- во все пробирки, кроме N1, добавляют по 0,3 мл 3%-го раствора хлористого кальция и ставят их в термостат на 15-20 минут при температуре 37-38°C;
- записывают и объясняют результаты наблюдений.

3.2. Гемолиз крови Ход работы:

- для получения гемолизированной крови 1 мл дефибринирован ной крови вносят в пробирку и смешивают с равным объемом воды и 0,5мл эфира ;
- гемолиз при разбавлении водой: в три пробирки вносят по 3 мл дефибринированной крови, а затем в пробирку N1 добавляют 5 мл дистиллированной воды, в пробирку N2 - 5 мл физиологического С 0,9%. го) раствора хлористого натрия, в пробирку N3 - С мл насыщенного раствора хлористого натрия.через несколько секунд из каждой пробирки берут по капле жидкости, помещают на предметное стекло и, накрыв покровным стеклом,исследуют под микроскопом и зарисовывают эритроциты.
- записывают и объясняют результаты наблюдений.

у

о

3.3.Получение кристаллов гемина

Тем является нестойким соединением и, отщепляясь при действии на гемоглобин кйслот, тотчас же окисляется кислородом воздуха с образованием гемина. При действии на гемоглобин концентрированной уксусной кислоты в присутствии хлористого натрия гем отщепляется в окисленной форме, в виде так называемого хлоргемина (в котором железо трехвалентное), в результате

образуются характерные темные кристаллы (ромбоидальные таблички, часто образующие звездообразные сростки) .

Ход работы:

для получения кристаллов хлоргемина каплю крови осторожно высушивают на предметном стекле и нагревают на небольшом пламени с кристаллом хлористого натрия и 1-2 каплями ледяной уксусной кислоты;

- охлаждают и рассматривают под микроскопом;
- зарисовывают и объясняют результаты наблюдений.

4. АППАРАТУРА, МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ВЫПОЛНЕНИЯ РАБОТЫ

Колбы конические на 500 мл
Стаканы химические на 250 мл
Центрифужные стаканчики
Предметные и покровные стекла
10%-й р-р щавелевокислого аммония
3%-й раствор хлористого кальция
0,9%-й раствор хлористого натрия
Насыщенный р-р хлористого натрия
Кристаллический хлористый натрий
Пробирки
Стеклянные палочки
Центрифуга
Микроскоп
Дистиллированная вода
Эфир
Ледяная уксусная к-та
Термостат
Пипетки на 1 и 5 мл

5. ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ РАБОТЫ И ЕЕ ЗАЩИТА

Отчет о выполненной лабораторной работе оформляется в тетради и включает:

- краткий конспект теоретического обоснования работы;
- цель и задачи работы;
- методики исследований;
- результаты наблюдений, их объяснение и выводы.

Работа защищается индивидуально, при этом студент представляет преподавателю тетрадь с аккуратно оформленным отчетом и отвечает на вопросы по теме работы. Результаты защиты работы фиксируются в тетради и в журнале преподавателя.

7. КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ К ЗАЩИТЕ РАБОТЫ

1. Кратко охарактеризуйте морфологический и химический состав крови.
2. Назовите и кратко охарактеризуйте основные белки плазмы.
3. Объяснив механизм свертывания крови.
4. Для чего и как стабилизируют кровь?
5. На какие фракции разделяют стабилизированную кровь при сепарировании?
6. Дефибринирование крови. Какие продукты получают при ее сепарировании!
7. Сравните пищевую ценность стабилизированной и дефибринированной крови, плазмы и сыворотки.
8. Как можно вызвать процесс свертывания в стабилизированной крови и плазме? С какой целью используют этот прием в мясоперерабатывающем производстве?
9. Что такое гемолиз?
10. Под действием каких факторов происходит гемолиз?
11. Приведите примеры использования направленного гемолиза.
12. Как построен гемоглобин, какова его биологическая ценность?
13. Какие производные дает гемоглобин и чем они отличаются?
14. Как можно отделить гем от глобина? Направления их использования.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Технология мяса и мясопродуктов / Алехина Л.Т., Большаков А.С., Боресков В.Г. и др.; Под ред. Рогова И.А. _М.: Агро-промиздат, 1988, с.44-51.
2. Антипова Л.В., Жеребцов Н.А. Биохимия мяса и мясных продуктов. - Воронеж. Изд-во Воронежского университета, 1991, с.8-33.

3. Судаков Н.В. Переработка и использование крови убойных животных. - М.: Агропромиздат, 1986, -98 с.

4. Павловский П.Е., Пальмин В.-В. Биохимия мяса. -М.:Пищевая промышленность, 1975, с.84-123.

5. Месхи А.И. Биохимия мяса, мясопродуктов и птицепро- дуктов.-М.:Легкая и пищевая промышленность, 1984, с.173-184.

Либерман С.Г.,Пожариская Л.С.,Файвишезский М.Г.Переработка крови убойных животных на мясокомбинатах.-М. .-Пищевая промышленность, 1980, с.6-13.

10. Учебно-методическое и информационное обеспечение дисциплины

10.1. Перечень основной и дополнительной литературы, необходимой для освоения дисциплины

10.1.1. Перечень основной литературы:

- 1 Тихонов, Г. П. Основы биотехнологии : Методические рекомендации для самостоятельной подготовки студентов / Тихонов Г. П. - Москва : Московская государственная академия водного транспорта, 2009. - 137 с. - Книга находится в базовой версии ЭБС IPRbooks.

10.1.2. Перечень дополнительной литературы:

- 1 Основы научных исследований и инженерного творчества в биотехнологии : методические указания к самостоятельной работе, Направление подготовки 240700.62 - Биотехнология, Профиль "Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ", Квалификация выпускника - бакалавр / сост. А.В. Половянова ; ФГАОУ ВПО Сев.-Кав. федер. ун-та. - Ставрополь : СКФУ, 2014. - 8 с.
- 2 Либерман, С. Г. Переработка крови убойных животных на мясокомбинатах : учеб. пособие для ПТУ / С. Г. Либерман, Л. С. Пожариская, М. Л. Файвишевский. - М. : Пищевая промышленность, 1980. - 200 с. : ил. - Библиогр.: с. 196
- 3 Сельскохозяйственная биотехнология : Учебник для студентов вузов* / Под ред. В.С. Шевелухи. - 2-е изд., перераб. и доп. - М. : Высш. шк., 2003. - 469 с.: ил. - Парал. тит. л. англ. - ISBN 5-06-004264-2
- 4 Файвишевский, М. Л. Переработка крови убойных животных : учебник для проф. обуч. рабочих на производстве / М. Л. Файвишевский. - М. : Агропромиздат, 1988. - 224 с. : ил. - (учебники для кадров массовых профессий). - Библиогр.: с.223. - ISBN 5-10-000220-4

10.2. Перечень учебно-методического обеспечения самостоятельной работы обучающихся по дисциплине

- 1 Методические указания к лабораторным работам, Ставрополь, 2014г.
- 2 Сборник технологических инструкций по заготовке эндокринно-ферментного и специ-ального сырья. М, Госагропром, 1999,139 с.

10.3. Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет», необходимых для освоения дисциплины:

- 1 www.2snau.ru/
- 2 www.do.gendocs.ru/
- 3 www.newgreenfield.ru/

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

**Методические рекомендации по организации самостоятельной работы
по дисциплине**
по дисциплине ««БИОТЕХНОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ ИЗ ЭНДОКРИННО-
ФЕРМЕНТНОГО СЫРЬЯ»
для студентов направления подготовки
19.03.01 Биотехнология
Направленность (профиль) промышленная биотехнология

Оглавление

1.	Введение	
2.	Общая характеристика самостоятельной работы специалиста при изучении дисциплины	
3.	План-график выполнения самостоятельной работы	5
4.	<u>Порядок выполнения самостоятельной работы студентом</u>	
	<i>4.1. Методические рекомендации по работе с учебной литературой</i>	Ошибка! Закладка не определена.
	<i>4.2. Методические рекомендации по подготовке к практическим занятиям</i>	Ошибка! Закладка не определена.
	<i>4.3. Методические рекомендации по самопроверке знаний</i>	Ошибка! Закладка не определена.
	<i>4.4. Методические рекомендации по написанию научных текстов (докладов, рефератов, научных статей и т.д.)</i>	Ошибка! Закладка не определена.
	<i>4.5. Методические рекомендации по подготовке к экзаменам и зачетам</i>	Ошибка! Закладка не определена.
	<u>Контроль самостоятельной работы студентов</u>	Ошибка! Закладка не определена.

Введение

Самостоятельная работа - планируемая учебная, учебно-исследовательская, научно-исследовательская работа студентов, выполняемая во внеаудиторное (аудиторное) время по заданию и при методическом руководстве преподавателя, но без его непосредственного участия (при частичном непосредственном участии преподавателя, оставляющем ведущую роль за работой студентов).

Самостоятельная работа студентов (СРС) в ВУЗе является важным видом учебной и научной деятельности студента. Самостоятельная работа студентов играет значительную роль в рейтинговой технологии обучения.

К основным видам самостоятельной работы студентов относятся:

- формирование и усвоение содержания конспекта лекций на базе рекомендованной лектором учебной литературы, включая информационные образовательные ресурсы (электронные учебники, электронные библиотеки и др.);
- написание докладов;
- подготовка к семинарам, практическим и лабораторным работам, их оформление;
- составление аннотированного списка статей из соответствующих журналов по отраслям знаний (педагогических, психологических, методических и др.);
- выполнение учебно-исследовательских работ, проектная деятельность;
- подготовка практических разработок и рекомендаций по решению проблемной ситуации;
- выполнение домашних заданий в виде решения отдельных задач, проведения типовых расчетов, расчетно-компьютерных и индивидуальных работ по отдельным разделам содержания дисциплин и т.д.;
- компьютерный текущий самоконтроль и контроль успеваемости на базе электронных обучающих и аттестующих тестов;
- выполнение курсовых работ (проектов) в рамках дисциплин;
- выполнение выпускной квалификационной работы и др.

Методика организации самостоятельной работы студентов зависит от структуры, характера и особенностей изучаемой дисциплины, объема часов на ее изучение, вида заданий для самостоятельной работы студентов, индивидуальных качеств студентов и условий учебной деятельности.

Процесс организации самостоятельной работы студентов включает в себя следующие этапы:

- подготовительный (определение целей, составление программы, подготовка методического обеспечения, подготовка оборудования);
- основной (реализация программы, использование приемов поиска информации, усвоения, переработки, применения, передачи знаний, фиксирование результатов, самоорганизация процесса работы);
- заключительный (оценка значимости и анализ результатов, их систематизация, оценка эффективности программы и приемов работы, выводы о направлениях оптимизации труда).

1 Общая характеристика самостоятельной работы специалиста при изучении дисциплины «Методология научных исследований»

<i>Виды самостоятельной работы</i>	<i>Цели и задачи каждого вида самостоятельной работы</i>	<i>Формируемые данным видом деятельности компетенции</i>

Подготовка к собеседованию: Темы 1-7	Цель: сформировать у студентов целостное, системное восприятие теоретических знаний, освоение методов и приёмов, освоения возможностей использования оборудования для освоения теоретических основ планирования эксперимента и математической обработки полученных результатов в технологии мясного производства, которое позволяет прогнозировать получение продукции с высоким качеством и ориентирует специалистов на необходимость обеспечения высокого технологического уровня производства, предупреждение потерь и изготовление доброкачественной продукции, безопасной для потребителя в соответствии с требованиями технического регламента с учётом общекультурных компетенций. Задачи: сформировать у студентов целостное представление об основах вопросов изучения структуры и основных методов научного исследования, примеров работы с научной литературой изучение вопросов проведения литературного и патентного поиска, вопросы научной организации и постановки эксперимента, обработки полученных данных методами математической статистики, необходимых для решения технологических задач. на основе изучаемого материала сформировать у студентов стремление к изучению теоретических основ планирования эксперимента и математической обработки полученных результатов в технологии мясного производства, которое позволяет прогнозировать получение продукции с высоким качеством и ориентирует специалистов на необходимость обеспечения высокого технологического уровня производства, предупреждение потерь и изготовление доброкачественной продукции, безопасной для потребителя в соответствии с требованиями технического регламента в отношении сырья и при производстве готовых пищевых продуктов.	УК-1 (ИУК-1.1 ИУК-1.2 ИУК-1.3) ОПК-1 (ИОПК-1.1; ИОПК-1.2; ИОПК-1.3) ОПК-5 (ИОПК-5.1; ИОПК-5.2; ИОПК-5.3) ПК-1(ИПК-1.1, ИПК-1.2 ; ИПК-1.3) ПК-3(ИПК-3.1; ИПК-3.2;ИПК-3.3) ПК-8(ИПК-8.1;ИПК-8.2; ИПК-8.3)
---	--	--

Самостоятельное изучение источников и литературы: Темы: 1-7	<i>Цель:</i> сформировать у студентов целостное, системное восприятие теоретических знаний, освоение методов и приёмов, освоения возможностей использования оборудования для освоения теоретических основ планирования эксперимента и математической обработки полученных результатов в технологии мясного производства, которое позволяет прогнозировать получение продукции с высоким качеством и ориентирует специалистов на необходимость обеспечения высокого технологического уровня производства, предупреждение потерь и изготовление доброкачественной продукции, безопасной для потребителя в соответствии с требованиями технического регламента с учётом общекультурных компетенций. <i>Задачи:</i> сформировать у студентов целостное представление об основах вопросов изучения структуры и основных методов научного исследования, примеров работы с научной литературой изучение вопросов проведения литературного и патентного поиска, вопросы научной организации и постановки эксперимента, обработки полученных данных методами математической статистики, необходимых для решения технологических задач. на основе изучаемого материала сформировать у студентов стремление к изучению теоретических основ планирования эксперимента и математической обработки полученных результатов в технологии мясного производства, которое позволяет прогнозировать получение продукции с высоким качеством и ориентирует специалистов на необходимость обеспечения высокого технологического уровня производства, предупреждение потерь и изготовление доброкачественной продукции, безопасной для потребителя в соответствии с требованиями технического регламента в отношении сырья и при производстве готовых пищевых продуктов.	УК-1 (ИУК-1.1 ИУК-1.2 ИУК-1.3) ОПК-1 (ИОПК-1.1; ИОПК-1.2; ИОПК-1.3) ОПК-5 (ИОПК-5.1; ИОПК-5.2; ИОПК-5.3) ПК-1(ИПК-1.1, ИПК-1.2 ; ИПК-1.3) ПК-3(ИПК-3.1; ИПК-3.2;ИПК-3.3) ПК-8(ИПК-8.1;ИПК-8.2; ИПК-8.3)
---	---	--

1. План-график выполнения самостоятельной работы

№ п/п	№ темы	Задание	Итоговый продукт самостоятельной работы	Средства и технологии оценки
1	Темы: 1-7	Подготовка к собеседованию по темам: 1-7	собеседование	собеседование

2	Темы: 1-7	Самостоятельное изучение источников и литературы по темам: 1-7	конспект	собеседование
---	-----------	--	----------	---------------

4.1. Методические рекомендации по работе с учебной литературой

При работе с книгой необходимо подобрать литературу, научиться правильно ее читать, вести записи. Для подбора литературы в библиотеке используются алфавитный и систематический каталоги.

Важно помнить, что рациональные навыки работы с книгой - это всегда большая экономия времени и сил.

Правильный подбор учебников рекомендуется преподавателем, читающим лекционный курс. Необходимая литература может быть также указана в методических разработках по данному курсу.

Изучая материал по учебнику, следует переходить к следующему вопросу только после правильного уяснения предыдущего, описывая на бумаге все выкладки и вычисления (в том числе те, которые в учебнике опущены или на лекции даны для самостоятельного вывода).

При изучении любой дисциплины большую и важную роль играет самостоятельная индивидуальная работа.

Особое внимание следует обратить на определение основных понятий курса. Студент должен подробно разбирать примеры, которые поясняют такие определения, и уметь строить аналогичные примеры самостоятельно. Нужно добиваться точного представления о том, что изучаешь. Полезно составлять опорные конспекты. При изучении материала по учебнику полезно в тетради (на специально отведенных полях) дополнять конспект лекций. Там же следует отмечать вопросы, выделенные студентом для консультации с преподавателем.

Выводы, полученные в результате изучения, рекомендуется в конспекте выделять, чтобы они при перечитывании записей лучше запоминались.

Опыт показывает, что многим студентам помогает составление листа опорных сигналов, содержащего важнейшие и наиболее часто употребляемые формулы и понятия. Такой лист помогает запомнить формулы, основные положения лекции, а также может служить постоянным справочником для студента.

Чтение научного текста является частью познавательной деятельности. Ее цель – извлечение из текста необходимой информации. От того, насколько осознанно читающим собственная внутренняя установка при обращении к печатному слову (найти нужные сведения, усвоить информацию полностью или частично, критически проанализировать материал и т.п.) во многом зависит эффективность осуществляемого действия.

Выделяют **четыре основные установки в чтении научного текста:**

информационно-поисковый (задача – найти, выделить искомую информацию)

усваивающая (усилия читателя направлены на то, чтобы как можно полнее осознать и запомнить как сами сведения излагаемые автором, так и всю логику его рассуждений)

аналитико-критическая (читатель стремится критически осмыслить материал, проанализировав его, определив свое отношение к нему)

творческая (создает у читателя готовность в том или ином виде – как отправной пункт для своих рассуждений, как образ для действия по аналогии и т.п. – использовать суждения автора, ход его мыслей, результат наблюдения, разработанную методику, дополнить их, подвергнуть новой проверке).

Основные виды систематизированной записи прочитанного:

Аннотирование – предельно краткое связное описание просмотренной или прочитанной книги (статьи), ее содержания, источников, характера и назначения;

Планирование – краткая логическая организация текста, раскрывающая содержание и структуру изучаемого материала;

Тезирование – лаконичное воспроизведение основных утверждений автора без привлечения фактического материала;

Цитирование – дословное выписывание из текста выдержек, извлечений, наиболее существенно отражающих ту или иную мысль автора;

Конспектирование – краткое и последовательное изложение содержания прочитанного.

Конспект – сложный способ изложения содержания книги или статьи в логической последовательности. Конспект аккумулирует в себе предыдущие виды записи, позволяет всесторонне охватить содержание книги, статьи. Поэтому умение составлять план, тезисы, делать выписки и другие записи определяет и технологию составления конспекта.

Методические рекомендации по составлению конспекта:

1. Внимательно прочитайте текст. Уточните в справочной литературе непонятные слова. При записи не забудьте вынести справочные данные на поля конспекта;

2. Выделите главное, составьте план;

3. Кратко сформулируйте основные положения текста, отметьте аргументацию автора;

4. Законспектируйте материал, четко следуя пунктам плана. При конспектировании старайтесь выразить мысль своими словами. Записи следует вести четко, ясно.

5. Грамотно записывайте цитаты. Цитируя, учитывайте лаконичность, значимость мысли.

В тексте конспекта желательно приводить не только тезисные положения, но и их доказательства. При оформлении конспекта необходимо стремиться к емкости каждого предложения. Мысли автора книги следует излагать кратко, заботясь о стиле и выразительности написанного. Число дополнительных элементов конспекта должно быть логически обоснованным, записи должны распределяться в определенной последовательности, отвечающей логической структуре произведения. Для уточнения и дополнения необходимо оставлять поля.

Овладение навыками конспектирования требует от студента целеустремленности, повседневной самостоятельной работы.

4.2. Методические рекомендации по подготовке к практическим занятиям

Для того чтобы практические и лабораторные занятия приносили максимальную пользу, необходимо помнить, что упражнение и решение задач проводятся по вычитанному на лекциях материалу и связаны, как правило, с детальным разбором отдельных вопросов лекционного курса. Следует подчеркнуть, что только после усвоения лекционного материала с определенной точки зрения (а именно с той, с которой он излагается на лекциях) он будет закрепляться на практических занятиях как в результате обсуждения и анализа лекционного материала, так и с помощью решения проблемных ситуаций, задач. При этих условиях студент не только хорошо усвоит материал, но и научится применять его на практике, а также получит дополнительный стимул (и это очень важно) для активной проработки лекции.

При самостоятельном решении задач нужно обосновывать каждый этап решения, исходя из теоретических положений курса. Если студент видит несколько путей решения проблемы (задачи), то нужно сравнить их и выбрать самый рациональный. Полезно до начала вычислений составить краткий план решения проблемы (задачи). Решение проблемных задач или примеров следует излагать подробно, вычисления располагать в строгом порядке, отделяя вспомогательные вычисления от основных. Решения при необходимости нужно сопровождать комментариями, схемами, чертежами и рисунками.

Следует помнить, что решение каждой учебной задачи должно доводиться до окончательного логического ответа, которого требует условие, и по возможности с выводом. Полученный ответ следует проверить способами, вытекающими из существа данной задачи. Полезно также (если возможно) решать несколькими способами и сравнить полученные результаты. Решение задач данного типа нужно продолжать до приобретения твердых навыков в их решении.

4.3. Методические рекомендации по самопроверке знаний

После изучения определенной темы по записям в конспекте и учебнику, а также решения достаточного количества соответствующих задач на практических занятиях и самостоятельно студенту рекомендуется, провести самопроверку усвоенных знаний, ответив на контрольные вопросы по изученной теме.

В случае необходимости нужно еще раз внимательно разобраться в материале.

Иногда недостаточность усвоения того или иного вопроса выясняется только при изучении дальнейшего материала. В этом случае надо вернуться назад и повторить плохо усвоенный материал. Важный критерий усвоения теоретического материала - умение решать задачи или пройти тестирование по пройденному материалу. Однако следует помнить, что правильное решение задачи может получиться в результате применения механически заученных формул без понимания сущности теоретических положений.

4.4. Методические рекомендации по написанию научных текстов (докладов, рефератов, научных статей и т.д.)

Перед тем, как приступить к написанию научного текста, важно разобраться, какова истинная цель вашего научного текста - это поможет вам разумно распределить свои силы и время.

Во-первых, сначала нужно определиться с идеей научного текста, а для этого необходимо научиться либо относиться к разным явлениям и фактам несколько критически (своя идея – как иная точка зрения), либо научиться увлекаться какими-то известными идеями, которые нуждаются в доработке (идея – как оптимистическая позиция и направленность на дальнейшее совершенствование уже известного). Во-вторых, научиться организовывать свое время, ведь, как известно, свободное (от всяких глупостей) время – важнейшее условие настоящего творчества, для него наконец-то появляется время. Иногда именно на организацию такого времени уходит немалая часть сил и талантов.

Писать следует ясно и понятно, стараясь основные положения формулировать четко и недвусмысленно (чтобы и самому понятно было), а также стремясь структурировать свой текст. Каждый раз надо представлять, что ваш текст будет кто-то читать и ему захочется сориентироваться в нем, быстро находить ответы на интересующие вопросы (заодно представьте себя на месте такого человека). Понятно, что работа, написанная «сплошным текстом» (без заголовков, без выделения крупным шрифтом наиболее важных мест и т. п.), у культурного читателя должна вызывать брезгливость и даже жалость к автору (исключения составляют некоторые древние тексты, когда и жанр был иной и к текстам относились иначе, да и самих текстов было гораздо меньше – не то, что в эпоху «информационного взрыва» и соответствующего «информационного мусора»).

Объем текста и различные оформительские требования во многом зависят от принятых в конкретном учебном заведении порядков.

Реферат (доклад) - это самостоятельное исследование студентом определенной проблемы, комплекса взаимосвязанных вопросов.

Реферат не должен состояться из фрагментов статей, монографий, пособий. Кроме простого изложения фактов и цитат, в реферате должно проявляться авторское видение проблемы и ее решения.

Рассмотрим основные этапы подготовки реферата студентом.

Выполнение реферата начинается с выбора темы.

Затем студент приходит на первую консультацию к руководителю, которая предусматривает:

- обсуждение цели и задач работы, основных моментов избранной темы;
- консультирование по вопросам подбора литературы;
- составление предварительного плана.

Следующим этапом является работа с литературой. Необходимая литература подбирается студентом самостоятельно.

После подбора литературы целесообразно сделать рабочий вариант плана работы. В нем нужно выделить основные вопросы темы и параграфы, раскрывающие их содержание.

Составленный список литературы и предварительный вариант плана уточняются, согласуются на очередной консультации с руководителем.

Затем начинается следующий этап работы - изучение литературы. Только внимательно читая и конспектируя литературу, можно разобраться в основных вопросах темы и подготовиться к самостоятельному (авторскому) изложению содержания реферата. Конспектируя первоисточники, необходимо отразить основную идею автора и его позицию по исследуемому вопросу, выявить проблемы и наметить задачи для дальнейшего изучения данных проблем.

Систематизация и анализ изученной литературы по проблеме исследования позволяют студенту написать работу.

Рабочий вариант текста реферата предоставляется руководителю на проверку. На основе рабочего варианта текста руководитель вместе со студентом обсуждает возможности доработки текста, его оформление. После доработки реферат сдается на кафедру для его оценивания руководителем.

Требования к написанию реферата

Написание 1 реферата является обязательным условием выполнения плана СРС по любой дисциплине профессионального цикла.

Тема реферата может быть выбрана студентом из предложенных в рабочей программе или фонде оценочных средств дисциплины, либо определена самостоятельно, исходя из интересов студента (в рамках изучаемой дисциплины). Выбранную тему необходимо согласовать с преподавателем.

Реферат должен быть написан научным языком.

Объем реферата должен составлять 20-25 стр.

Структура реферата:

- Введение (не более 3-4 страниц). Во введении необходимо обосновать выбор темы, ее актуальность, очертить область исследования, объект исследования, основные цели и задачи исследования.
- Основная часть состоит из 2-3 разделов. В них раскрывается суть исследуемой проблемы, проводится обзор мировой литературы и источников Интернет по предмету исследования, в котором дается характеристика степени разработанности проблемы и авторская аналитическая оценка основных теоретических подходов к ее решению. Изложение материала не должно ограничиваться лишь описательным подходом к раскрытию выбранной темы. Оно также должно содержать собственное видение рассматриваемой проблемы и изложение собственной точки зрения на возможные пути ее решения.
- Заключение (1-2 страницы). В заключении кратко излагаются достигнутые при изучении проблемы цели, перспективы развития исследуемого вопроса
- Список использованной литературы (не меньше 10 источников), в алфавитном порядке, оформленный в соответствии с принятыми правилами. В список использованной литературы рекомендуется включать работы отечественных и зарубежных авторов, в том числе статьи, опубликованные в научных журналах в течение последних 3-х лет и ссылки на ресурсы сети Интернет.
- Приложение (при необходимости).

Требования к оформлению:

- текст с одной стороны листа;
- шрифт Times New Roman;
- кегль шрифта 14;
- межстрочное расстояние 1,5;

- поля: сверху 2,5 см, снизу – 2,5 см, слева - 3 см, справа 1,5 см;
- реферат должен быть представлен в сброшюрованном виде.

Порядок защиты реферата:

Защита реферата проводится на практических занятиях, после окончания работы студента над ним и исправления всех недочетов, выявленных преподавателем в ходе консультаций. На защиту реферата отводится 5-7 минут времени, в ходе которого студент должен показать свободное владение материалом по заявленной теме. При защите реферата приветствуется использование мультимедиа-презентации.

Оценка реферата

Реферат оценивается по следующим критериям:

- соблюдение требований к его оформлению;
- необходимость и достаточность для раскрытия темы приведенной в тексте реферата информации;
- умение студента свободно излагать основные идеи, отраженные в реферате;
- способность студента понять суть задаваемых преподавателем и сокурсниками вопросов и сформулировать точные ответы на них.

Критерии оценки:

Оценка «отлично» выставляется студенту, если в докладе студент исчерпывающе, последовательно, четко и логически стройно излагает материал; свободно справляется с задачами, вопросами и другими видами применения знаний; использует для написания доклада современные научные материалы; анализирует полученную информацию; проявляет самостоятельность при написании доклада.

Оценка «хорошо» выставляется студенту, если качество выполнения доклада достаточно высокое. Студент твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, не допуская существенных неточностей в ответе на вопросы по теме доклада.

Оценка «удовлетворительно» выставляется студенту, если материал доклада излагается частично, но пробелы не носят существенного характера, студент допускает неточности и ошибки при защите доклада, дает недостаточно правильные формулировки, наблюдаются нарушения логической последовательности в изложении материала.

Оценка «неудовлетворительно» выставляется студенту, если он не подготовил доклад или допустил существенные ошибки. Студент неуверенно излагает материал доклада, не отвечает на вопросы преподавателя.

Описание шкалы оценивания

Максимально возможный балл за весь текущий контроль устанавливается равным 55. Текущее контрольное мероприятие считается сданным, если студент получил за него не менее 60% от установленного для этого контроля максимального балла. Рейтинговый балл, выставляемый студенту за текущее контрольное мероприятие, сданное студентом в установленные графиком контрольных мероприятий сроки, определяется следующим образом:

Уровень выполнения контрольного задания	Рейтинговый балл (в % от максимального балла за контрольное задание)
Отличный	100
Хороший	80
Удовлетворительный	60
Неудовлетворительный	0

4.5. Методические рекомендации по подготовке к экзаменам и зачетам

Изучение многих общепрофессиональных и специальных дисциплин завершается экзаменом. Подготовка к экзамену способствует закреплению, углублению и обобщению знаний, получаемых, в процессе обучения, а также применению их к решению практических задач.

Готовясь к экзамену, студент ликвидирует имеющиеся пробелы в знаниях, углубляет, систематизирует и упорядочивает свои знания. На экзамене студент демонстрирует то, что он приобрел в процессе обучения по конкретной учебной дисциплине.

Экзаменационная сессия - это серия экзаменов, установленных учебным планом. Между экзаменами интервал 3-4 дня. Не следует думать, что 3-4 дня достаточно для успешной подготовки к экзаменам.

В эти 3-4 дня нужно систематизировать уже имеющиеся знания. На консультации перед экзаменом студентов познакомят с основными требованиями, ответят на возникшие у них вопросы. Поэтому посещение консультаций обязательно.

Требования к организации подготовки к экзаменам те же, что и при занятиях в течение семестра, но соблюдаться они должны более строго. Во-первых, очень важно соблюдение режима дня; сон не менее 8 часов в сутки, занятия заканчиваются не позднее, чем за 2-3 часа до сна. Оптимальное время занятий, особенно по математике - утренние и дневные часы. В перерывах между занятиями рекомендуются прогулки на свежем воздухе, неустойчивые занятия спортом. Во-вторых, наличие хороших собственных конспектов лекций. Даже в том случае, если была пропущена какая-либо лекция, необходимо вовремя ее восстановить (переписать ее на кафедре), обдумать, снять возникшие вопросы для того, чтобы запоминание материала было осознанным. В-третьих, при подготовке к экзаменам у студента должен быть хороший учебник или конспект литературы, прочитанной по указанию преподавателя в течение семестра. Здесь можно эффективно использовать листы опорных сигналов.

Вначале следует просмотреть весь материал по сдаваемой дисциплине, отметить для себя трудные вопросы. Обязательно в них разобраться. В заключение еще раз целесообразно повторить основные положения, используя при этом листы опорных сигналов.

Систематическая подготовка к занятиям в течение семестра позволит использовать время экзаменационной сессии для систематизации знаний.

Правила подготовки к зачетам и экзаменам:

- Лучше сразу сориентироваться во всем материале и обязательно расположить весь материал согласно экзаменационным вопросам (или вопросам, обсуждаемым на семинарах), эта работа может занять много времени, но все остальное – это уже технические детали (главное – это ориентировка в материале!).

- Сама подготовка связана не только с «запоминанием». Подготовка также предполагает и переосмысление материала, и даже рассмотрение альтернативных идей.

- Готовить «шпаргалки» полезно, но пользоваться ими рискованно. Главный смысл подготовки «шпаргалок» – это систематизация и оптимизация знаний по данному предмету, что само по себе прекрасно – это очень сложная и важная для студента работа, более сложная и важная, чем простое поглощение массы учебной информации. Если студент самостоятельно подготовил такие «шпаргалки», то, скорее всего, он и экзамены сдавать будет более уверенно, так как у него уже сформирована общая ориентировка в сложном материале.

- Как это ни парадоксально, но использование «шпаргалок» часто позволяет отвечающему студенту лучше демонстрировать свои познания (точнее – ориентировку в знаниях, что намного важнее знания «запомненного» и «тут же забытого» после сдачи экзамена).

- Сначала студент должен продемонстрировать, что он «усвоил» все, что требуется по программе обучения (или по программе данного преподавателя), и лишь после этого он вправе высказать иные, желательно аргументированные точки зрения.

Контроль самостоятельной работы студентов

Контроль самостоятельной работы проводится преподавателем в аудитории.

Предусмотрены следующие виды контроля: собеседование, оценка реферата, оценка презентации, оценка участия в круглом столе, оценка выполнения проекта.

Подробные критерии оценивания компетенций приведены в Фонде оценочных средств для проведения текущей и промежуточной аттестации.

Рекомендуемая литература:

Основная:

1. Методология научных исследований Электронный ресурс / Королев Е. В., Иноземцев А. С., Гришина А. Н., Иноземцев С. С., Смирнов В. А. : учебное пособие для обучающихся магистратуры по всем угсн, реализуемым ниу мгсу, обучающихся специалитета по направлению подготовки 08.05.01 строительство уникальных зданий и сооружений. - Москва : МИСИ – МГСУ, 2020. - 104 с. - ISBN 978-5-7264-2088-2, экземпляров неограничено
2. Ренгольд, О. В. Методология научных исследований Электронный ресурс / Ренгольд О. В. : учебно-методическое пособие. - Омск : СибАДИ, 2019. - 46 с., экземпляров неограничено

Дополнительная:

1. Лапаева, М. Г. Методология научных исследований Электронный ресурс : Учебное пособие / М. Г. Лапаева, С. П. Лапаев. - Оренбург : Оренбургский государственный университет, ЭБС АСВ, 2017. - 249 с. - Книга находится в премиум-версии ЭБС IPR BOOKS. - ISBN 978-5-7410-1791-3, экземпляров неограничено

Информационные ресурсы:

1. www.nlr.ru/ – Российская национальная библиотека.
2. <https://elibrary.ru/> – Научная электронная библиотека.
3. www.rsl.ru/ – Российская государственная библиотека.
4. aris.ru/ – аграрная Российская информационная система
5. <http://www.mshsk.ru/> – Официальный интернет-портал Министерства сельского хозяйства Ставропольского края
6. <http://window.edu.ru/> – единое окно доступа к образовательным ресурсам
7. <http://biblioclub.ru> – ЭБС «Университетская библиотека ONLINE»