

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Горский государственный аграрный университет»
(ФГБОУ ВО Горский ГАУ)

Факультет Биотехнологии

Кафедра Биотехнологии и стандартизации

Учебный год 2024

РАБОЧАЯ ПРОГРАММА ДИСЦИПЛИНЫ

**МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОДУКТОВ БИОСИНТЕЗА И
БИОТРАНСФОРМАЦИИ**

ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ -

ПРОГРАММА МАГИСТРАТУРЫ

Наименование направления подготовки/специальности	19.04.01 Биотехнология
Направленность (профиль)	Промышленная биотехнология и биоинженерия
Реквизиты федерального государственного образовательного стандарта высшего образования	Приказ Минобрнауки России от 10 августа 2021 г. № 737
Год начала подготовки	2022
Очная форма обучения - учебные планы по годам приема	2024
Заочная форма обучения - учебные планы по годам приема	2023, 2024
Номер по реестру ОП ВО ФГБОУ ВО Горский ГАУ	М-190401-2022
Реквизиты решения ученого совета ФГБОУ ВО Горский ГАУ об утверждении ОП ВО	Протокол от 11 апреля 2023 г. №6
Реквизиты приказа ректора или уполномоченного лица об утверждении ОП ВО	Приказ врио ректора от 11 апреля 2023 г. № 85/06
Место дисциплины в структуре учебного плана	Обязательная часть
Количество зачетных единиц	6

ВЛАДИКАВКАЗ 2024

1. ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

№ №	Планируемые результаты освоения образовательной программы		Код и наименование индикатора достижения компетенции	Планируемые результаты обучения по дисциплине	Направление воспитательной работы (для дисциплин, формирующих универсальные компетенции в соответствии с Концепцией воспитательной работы)
	Наименование категории (группы) компетенций	Код и наименование компетенции			
	Системное и критическое мышление	УК-1. Способен осуществлять критический анализ проблемных ситуаций на основе системного подхода, вырабатывать стратегию действий.	УК-1.1. Владеет навыками анализа и синтеза, оценки достоинств и недостатков возможных путей решения проблем и задач, выбора рациональных решений в рамках профессиональной деятельности.	<i>Знает:</i> методологию системного подхода; — содержание основных направлений. <i>Умеет:</i> осуществлять поиск решений проблемных ситуаций на основе действий, эксперимента и опыта; производить анализ явлений и обрабатывать полученные результаты. <i>Владеет:</i> навыками выработки стратегии действий.	Формирование исследовательского и критического мышления, мотивации к научно-исследовательской деятельности
	Исследования и разработки	ОПК-4. Способен выбирать и использовать современные инструментальные методы и технологии, осваивать новые методы и технику исследований для решения конкретных задач профессиональной деятельности	ОПК-4.1. Владеет методами физического, физико-химического, химического, биологического, микробиологического анализа и способностью к освоению новейших методов и техники исследования в рамках профиля подготовки	<i>Знает</i> методы физического, физико-химического, химического, биологического, микробиологического анализа; физико-химические основы методов выделения продуктов биосинтеза и биотрансформации (экстракции, хроматографии, перегонки, ректификации, перекристаллизации и др.); области практического применения основных методов выделения продуктов биосинтеза и биотрансформации (экстракции, хроматографии, перегонки, ректификации, перекристаллизации и др.).	

				<p>Умеет осваивать новейшие методов и техники исследования в рамках профиля подготовки; выделять продукты биосинтеза и биотрансформации с использованием методов экстракции, хроматографии, перегонки, ректификации, перекристаллизации и др.; разделять сложные смеси продуктов биосинтеза и биотрансформации на индивидуальные компоненты; решать задачи, связанные с определением химической структуры продуктов биосинтеза и биотрансформации; проводить идентификацию продуктов биосинтеза и биотрансформации с использованием метода хроматомасс-спектрометрии.</p>	
				<p>Владеет методами физического, физико-химического, химического, биологического, микробиологического анализа и способностью к освоению новейших методов и техники исследования в рамках профиля подготовки</p>	

2. ОБЪЕМ ДИСЦИПЛИНЫ И ВИДЫ УЧЕБНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

2.1. Трудоемкость дисциплины по видам учебной деятельности и формам обучения:

Виды учебной деятельности	Всего часов 144, в том числе часов:	
	Очная форма обучения	Заочная форма обучения
Лекционные занятия	36	4
Практические /лабораторные занятия	48/36	4/4
Самостоятельная работа	96	204
Форма промежуточной аттестации	Зачет с оценкой.	

2.2. Трудоемкость дисциплины по (разделам) темам:

№ № п/п	Наименование разделов, тем	Всего часов							
		Очная форма Обучения				Заочная форма обучения			
		Лекции	Практические занятия	Лабораторные занятия	СРС	Лекции	Практические занятия	Лабораторные занятия	СРС
Раздел 1 Методы выделения продуктов биосинтеза и биотрансформации.									
1	Тема 1. Введение. Предмет и задачи предмета методы выделения и исследования продуктов биосинтеза и биотрансформации. Сущность и классификация методов	2	2	2	4	2	2	2	4
2	Тема 2. Отделение мицелиальной массы от жидкой фазы как первый этап выделения продуктов биотехнологии	2	2	2					20
3	Тема 3. Применение методов осаждения для выделения продуктов микробиологического	2	2	2	8				15
4	Тема 4. Экстракционные методы выделения	2	2	2	8				24
5	Тема 5. Сорбционные методы выделения	2	2	2	8				12
6	Тема 6. Мембранные процессы в выделении продуктов биотехнологии	2	4	2	8				24
7	Тема 7. Сушка продуктов	2	4	2	10				15

	биотехнологических производств								
8	Тема 8. Создание стерильных условий на заключительных этапах производства антибиотиков	2	4	2	10				20
Раздел 2. Методы исследования продуктов биосинтеза и биотрансформации.									
9	Тема 9. Хроматографические методы идентификации продуктов биосинтеза и биотрансформации	4	4	2	6	1	1	1	10
10	Тема 10. Газовая хроматография.	4	4	4	4				10
11	Тема 11. Жидкостная хроматография.	4	2	4	10				10
12	Тема 12. Ионообменная хроматография.	2	4	4	4				10
13	Тема 13. Эксклюзионная хроматография	2	4	2	4				10
14	Тема 14. Высокоэффективная ТСХ	2	4	2	4				10
15	Тема 15. Спектральные методы идентификации продуктов биосинтеза и биотрансформации	2	4	4	4	1	1	1	10
	ИТОГО	36	48	36	96	4	4	4	132

3. СОДЕРЖАНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ, СТРУКТУРИРОВАННОЕ ПО РАЗДЕЛАМ (ТЕМАМ)

Тема 1. Введение. Методы выделения и очистки продуктов биосинтеза

Лекционный материал. Цели и задачи дисциплины. Введение. Основные понятия. Классификация методов и область их применения. Основные принципы выбора метода выделения и очистки продуктов биотехнологии. Зависимость выбора метода от свойств микробной суспензии, выделяемого продукта, требований к конечной форме продукта.

Практическое занятие. Экстракция. Выбор растворителей. Экстрагирование

Лабораторные занятия.

Методы определения белка

Методы выделения и очистки белков

Задания для самостоятельной работы

1. Какие используют экстрагенты в системе «жидкость – жидкость», когда применяют непрерывную экстракцию, а когда дискретную и какой должен быть коэффициент распределения К при той и другой экстракции?

2. В чем состоит отличие в проведении процессов экстрагирования высушенного и свежего растительного сырья?

3. Перечислите и охарактеризуйте факторы, влияющие на процесс экстрагирования.

4. Что такое потери на диффузии и какие существуют возможности их уменьшения?

5. На каких принципах основан выбор технологии экстракционных препаратов?

Тема 2. Отделение мицелиальной массы от жидкой фазы как первый этап выделения продуктов биотехнологии

Лекционный материал. Методы отделения мицелиальной массы (седиментация, фильтрация, центрифугирование, флотация). Области применения, достоинства и недостатки методов. Оборудование для фильтрования и сепарирования культуральной жидкости. Особенности фильтрования культуральной жидкости антибиотиков. Цели предварительной обработки культуральной жидкости. Способы улучшения фильтруемости (термическая и химическая коагуляция белков, применение флокулянтов, наполнителей, электролитов). Особенности фильтрации культуральных жидкостей актиномицетов. Применение пресс-фильтров и барабанных вакуум-фильтров, обоснование выбора фильтровального оборудования, интенсификация процесса.

Практическое занятие. Жидкостная экстракция

Задания для самостоятельной работы

1. По какому закону распределяется растворенное вещество между двумя растворителями?
2. Почему более целесообразно проводить экстракцию многократно, небольшими порциями экстрагента, чем сразу использовать весь объем экстрагента?
3. Какие требования предъявляются к экстрагенту при извлечении вещества: а) из твердой фазы; б) из жидкости?
4. Исходя из свойств веществ, найдите экстрагент для извлечения из водного раствора: а) фенола, б) анилина. Ответ обоснуйте.

Тема 3. Применение методов осаждения для выделения продуктов микробиологического синтеза

Лекционный материал. Области применения, достоинства и недостатки методов осаждения. Технологическая схема химочистки тетрациклинов методом прямого осаждения. Применение осаждения при получении полиеновых антибиотиков. Технологическая схема химической очистки нистатина. Применение флотации в дрожжевом производстве. Типы флотаторов. Осаждение и высаливание при выделении ферментных препаратов. Установка непрерывного осаждения ферментов.

Практическое занятие. Экстрагирование в системе твердое тело – жидкость

Задания для самостоятельной работы

1. По какому принципу различается стадия выделения целевого продукта?
2. Что такое сепарация ?
3. Что такое флотация?
4. Что такое фильтрация?
5. Что такое центрифугирование ?
6. Основные процессы отделение и очистка продуктов?

Тема 4. Экстракционные методы выделения

Лекционный материал. Экстракция из мицелиальных масс. Методы дезинтеграции при выделении внутриклеточных продуктов биосинтеза. Экстракция из нативного раствора. Сущность метода. Требования, предъявляемые к растворителю. Экстракция с переносчиком. Аппаратурное оформление процессов экстракции периодическим способом. Типы смесителей и сепараторов. Экстракционное оборудование для непрерывных процессов. Экстракторы-сепараторы камерного и дифференциально контактного типа. Их сравнительная характеристика. Пути усовершенствования экстракционного оборудования. Технологическая схема химической очистки пенициллина. Недостатки и преимущества экстракционного метода выделения и очистки.

Практические занятия:

Экстракция. Выбор растворителей. Экстрагирование

Расчет статистики процесса жидкостной экстракции

Ректификация.

Лабораторное занятие. Перегонка в вакууме.

Задания для самостоятельной работы

1. Экстрагирование биологически активных веществ из растительного сырья
2. Интенсификация экстракционных процессов под действием ультразвука
3. Методы анализа и контроля процесса экстракции

Тема 5. Сорбционные методы выделения

Лекционный материал. Молекулярная адсорбция (метод перколяции и контактной фильтрации). Адсорбция на ионообменных смолах. Классификация ионообменных смол. Особенности ионного обмена с применением твердых ионитов. Области применения ионитов в производстве антибиотиков (сорбция-десорбция, дополнительная очистка продуктов, деминерализация, нейтрализация, обмен ионов). Применение ионного обмена для выделения антибиотиков аминокликозидов. Аппаратура для проведения ионообменной сорбции-десорбции антибиотиков периодическим и непрерывным методами. Сорбция в псевдооживленном слое адсорбента. Преимущества ионообменного метода выделения и очистки антибиотиков. Технологическая схема химочистки канамицина с помощью ионообменных смол. Возможность проведения процессов сорбции на ионообменных смолах из грубо отфильтрованных культуральных жидкостей. Использование сорбционно-пульсационных колонн. Применение адсорбции в производстве декстрана и витамина В12 для медицинских целей. Особенности ионообменной сорбции при выделении аминокислот, пептидов и белков. Применение аффинной хроматографии и аффинной сорбции для выделения продуктов биотехнологии. Метод гель-фильтрации.

Лабораторное занятие. Хроматографическое разделение аминокислот.

Задания для самостоятельной работы.

1. Разделение белков методом хроматографии.
2. Метод гель-хроматографии.
3. Метод ионообменной хроматографии.
4. Электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия.
5. Методы количественного определения белков.
6. Метод Бенедикта.
7. Метод Лоури.
8. Метод Петерсона.

Тема 6. Мембранные процессы в выделении продуктов биотехнологии

Лекционный материал. Баромембранные процессы. Использование мембранного разделения в биотехнологии. Преимущества метода. Схема баромембранного разделения. Эффективность разделения жидких фаз. Физические основы и характеристики процесса. Полупроницаемые мембраны и разделительные элементы на их основе. Характеристики мембран. Мембранный модуль. Конструктивное оформление мембранного разделения жидкостей. Виды мембранных аппаратов. Промышленные мембранные установки. Примеры успешного применения в производстве антибиотиков. Применение ультрафильтрации в пищевой биотехнологии. Диализ и электродиализ. Движущая сила электромембранных процессов. Области применения электродиализа, ограничения метода.

Практические занятия:

Методы получения аминокислот из микробной массы.

Методы экстрагирования из микробной массы ферментов, витаминов и липидов.

Лабораторные занятия.

Выделение полисахаридов животного происхождения и изучение их свойств.

Выделение ферментов и определение их свойств.

Выделение углеводов и определение их свойств.

Выделение липидов и определение их свойств.

Задания для самостоятельной работы:

1. Какие методы применяются для получения аминокислот?
2. Продуценты лизина, их характеристика.
3. Охарактеризуйте биотехнологию получения лизина. Основные технологические параметры.
4. В чем заключается сущность биуретового метода определения концентрации белков?
5. Опишите процесс экстрагирования ферментов из микробной массы.
6. Охарактеризуйте процесс экстрагирования витаминов.
7. Как проводят экстрагирование липидов из микробной массы?

Тема 7. Сушка продуктов биотехнологических производств

Лекционный материал. Продукты микробиологического производства как объекты сушки. Основные принципы выбора метода сушки, температурного режима, конструкции сушильного

оборудования. Контактная сушка. Аппаратура периодического и непрерывного действия для сушки паст во взвешенном состоянии. Методы сушки из растворов. Лиофильная сушка. Стадии и тепловые процессы сублимации. Способы замораживания. Методы удаления влаги. Аппараты для сублимационной сушки. Преимущества и недостатки метода лиофильной сушки. Использование лиофильной сушки в производстве ферментов и бактериальных препаратов. Сушка продуктов микробиологического синтеза методом распыления. Испарительно-сушильные аппараты. Схема двухступенчатой сушки. Современная аппаратура для сушки антибиотиков распылением. Одноступенчатые сушилки. Преимущества и недостатки метода распылительной сушки. Испарительные аппараты для предварительного концентрирования растворов, подаваемых на распылительную сушку. Очистка воздуха для ИСА. Фильтрующие материалы и оборудование.

Лабораторное занятие. Кристаллизация.

Задания для самостоятельной работы:

1. При получении каких продуктов необходимо отделять клеточную массу от культуральной жидкости?
2. Какие способы используют для отделения клеточной массы от культуральной жидкости?
3. На каких физических законах основан процесс центрифугирования?
4. В чем заключается сущность закона Стокса?
5. Чему равна скорость оседания одиночной частицы в гравитационном поле?
6. Чему равна скорость оседания одиночной частицы в центробежном поле?
7. Дайте понятие «несвободного» осаждения частиц.
8. Способы концентрирования.
9. Лиофильное высушивание.
10. Ковективный метод высушивания.
11. Контактный метод высушивания.
12. Терморadiационный метод.
13. Сушка токами высокой частоты.
14. Комбинированные методы высушивания.

Тема 8. Создание стерильных условий на заключительных этапах производства антибиотиков

Лекционный материал. Применение замкнутых герметичных систем оборудования. Конструкция аппаратов, объединяющих ряд последовательных операций. Различные виды стерилизации оборудования, помещений и готовой продукции.

Практическое занятие: Влияние скорости газа-носителя на эффективность колонки.

Задания для самостоятельной работы:

1. В чем сущность хроматографического разделения по методу: а) газо-адсорбционной хроматографии; б) газо-жидкостной хроматографии; в) распределительной жидкостно-жидкостной хроматографии; г) осадочной хроматографии; д) тонкослойной хроматографии; е) ионообменной хроматографии?
2. Дайте определение понятиям «катионит» и «анионит». Какие функциональные группы они содержат?
3. Каково строение катионита КУ-2? Как происходят процессы обмена и регенерации катионита КУ-2?
4. Что из себя представляют амфотерные иониты – амфолиты?
5. От каких факторов зависит ионообменная способность ионитов?

Раздел 2 Методы идентификации

Тема 9. Хроматографические методы идентификации продуктов биосинтеза и биотрансформации

Лекционный материал. Теоретические основы хроматографии Основные характеристики хроматографического процесса. Коэффициент распределения. Удерживаемый объем и время удерживания. Коэффициент емкости. Коэффициент удерживания, его физический смысл. Селективность и эффективность хроматографического разделения. Коэффициент разделения. Разрешение. Теория равновесной хроматографии. Связь скорости перемещения вещества вдоль слоя неподвижной фазы с коэффициентом распределения и изотермой сорбции. Зависимость формы хроматографического пика от вида изотермы сорбции. Размывание хроматографической зоны и его физические причины. Неравновесная хроматография. Основы концепции

теоретических тарелок, связь с противоточным распределением. Число теоретических тарелок и эффективность колонки. Понятие ВЭТТ. Недостатки концепции теоретических тарелок. Кинетические теории хроматографии. Факторы, влияющие на размывание зон (вихревая диффузия, молекулярная диффузия, сопротивление массопередачи в подвижной и неподвижной фазах). Зависимость ВЭТТ от скорости потока. Уравнение Ван-Деемтера. Принципиальная схема хроматографа. Выбор параметров хроматографического определения. Идентификация веществ. Количественный анализ. Измерение площадей и высот пиков. Методы внутреннего и внешнего стандартов. Источники ошибок, воспроизводимость измерений.

Тема 10. Газовая хроматография.

Лекционный материал. Принцип метода. Теоретические основы метода. Определяемые вещества. Основные аналитические характеристики. Газо-адсорбционная и газо-жидкостная хроматография. Аппаратура для газовой хроматографии. Хроматографические колонки, термостаты, детекторы. Классификация детекторов и их важнейшие характеристики (линейность, чувствительность, отношение сигнал/шум, предел обнаружения). Программирование температуры. Газы-носители, адсорбенты и неподвижные фазы, требования к ним. Модифицирование носителей. Реакционная газовая хроматография. Высокоэффективная капиллярная хроматография. Примеры применения. Качественный газо-хроматографический анализ. Идентификация веществ на основе величины удерживания. Метод тестеров. Индексы удерживания Ковача. Источники погрешностей при их определении. Методика количественной газовой хроматографии. Хромато-масс-спектрометрия. Области применения.

Тема 11. Жидкостная хроматография.

Лекционный материал. Принцип метода. Определяемые вещества. Аналитические характеристики современной высокоэффективной хроматографии (ВЭЖХ). Аппаратура для жидкостной хроматографии. Жидкостные хроматографы (колоночные, капиллярные). Насосы. Вводы проб. Колонки. Детекторы и их выбор. Подготовка пробы. Адсорбционная хроматография. Основные представления о механизме жидкостной адсорбционной хроматографии (ЖАХ): роль химии поверхности адсорбента и природы жидкой подвижной фазы. Силикагель, его структура и химия поверхности. Модифицированные силикагели, принципы их получения и свойства. Оксид алюминия и другие сорбенты в ЖАХ. Требования к ним. Подвижная фаза (элюент) и требования к ней. Элюирующая сила подвижной фазы, элюотропные ряды. Влияние природы и состава элюента на селективность разделения в ЖАХ. Изократическое и градиентное элюирование. Влияние температуры на элюирование. Нормально-фазовая ЖАХ на силикагеле. Модели удерживания и типы взаимодействия сорбата с поверхностью сорбента. Роль воды. Области применения нормально-фазовой ЖАХ. Обращенно-фазовая хроматография на модифицированных сорбентах. Механизмы удерживания. Сольвофобная теория удерживания. Влияние структуры сорбатов на удерживание (дипольный момент, поляризуемость, объемы молекул, площадь гидрофобной поверхности). Влияние соотношения полярных и неполярных групп, внутримолекулярных связей и распределения электронной плотности в молекулах сорбата на их удерживание. Применение обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Практическое занятие. Хроматограмма и хроматографические параметры.

Тема 12. Ионообменная хроматография.

Лекционный материал. Сущность метода. Основные представления о механизме ионного обмена. Ионообменное равновесие. Константа равновесия, селективность, фактор разделения. Ряды селективности. Кинетика ионного обмена. Ионный обмен в неводных и смешанных средах. Неорганические и органические ионообменники, их классификация. Комплексообразующие сорбенты. Физико-химические свойства ионообменников (обменная емкость, набухание, термическая и реакционная устойчивость). Синтез ионообменников. Ионный обмен в колонках. Применение в анализе. Определение общей солевой концентрации, концентрирование микропримесей из разбавленных растворов. Разделение элементов с близкими химическими свойствами и аминокислот. Ионная хроматография. Основы ионной хроматографии (ИХ). Сорбенты, требования к ним. Синтез сорбентов. Выбор сорбентов, размер частиц, матрица, функциональные группы. Время удерживания иона, его связь с коэффициентом селективности, обменной емкостью, объемом сорбента. Элюенты. Состав и элюирующая способность. Влияние рН и концентрации элюента на удерживание ионов. Аппаратура для ИХ, способы детектирования.

Двухколоночная и одноколоночная ионная хроматография. Условия определения анионов и катионов. Примеры применения ИХ в анализе смесей неорганических и органических анионов и катионов.

Практическое занятие. Влияние скорости газа-носителя на эффективность колонки.

Тема 13. Эксклюзионная хроматография.

Лекционный материал. Сущность метода. Особенности механизма удерживания молекул. Области применения. Лигандобменная хроматография. Сущность метода. Сорбенты и подвижные фазы для разделения аминов и аминокислот. Жидкость-жидкостная (распределительная) хроматография. Основы метода. Коэффициент распределения, факторы, влияющие на его величину. Носители, подвижные фазы, требования к ним. Подвижные фазы. Противоточная хроматография. Примеры применения. Тонкослойная и бумажная хроматография. Теоретические основы методов. Величина R_f , ее связь с коэффициентом распределения. Методы определения этой величины. Факторы на нее влияющие. Бумага для хроматографии, подложки, сорбенты для тонкослойной хроматографии (ТСХ). Растворители для бумажной и тонкослойной хроматографии. Техника получения хроматограмм: восходящая, нисходящая, одномерная, двумерная и круговая. Электрофоретическая бумажная хроматография. Методы качественного и количественного анализа.

Практическое занятие. Определение состава сухого газа на хроматографе расшифровка хроматограмм.

Тема 14. Высокоэффективная ТСХ.

Лекционный материал. Области применения. Сверхкритическая флюидная хроматография. Сущность метода. Сверхкритические флюиды, основные их свойства (плотность, вязкость, коэффициент диффузии). Колонки, области применения. Сравнение методов ВЭЖХ, газовой и сверхкритической флюидной хроматографии. Электросепарационные методы. Основные принципы электросепарационных разделений. Варианты методов: капиллярный зонный электрофорез, капиллярный изотахофорез, капиллярный гель-электрофорез, капиллярное изоэлектрофокусирование, мицеллярная электрокинетическая хроматография и капиллярная электрохроматография. Физико-химические основы. Аппаратура. Детекторы. Модифицирование капилляра. Области применения.

Практическое занятие. Хромато-масс-спектрометрическое исследование компонентного состава эфирных масел

Задания для самостоятельной работы:

1. Диффузионно-массообменная теория.
2. Основные параметры, характеризующие эффективность колонки: число теоретических тарелок, число эффективных тарелок, реальное число теоретических тарелок, высота, эквивалентная теоретической тарелке, число разделений.
3. Выбор оптимальной скорости газа-носителя на основе уравнения Ван-Деемтера.
4. В чем заключается физико-химическая сущность любого хроматографического метода?
5. Какие вы знаете разновидности хроматографического анализа?
6. На чем основана газоадсорбционная хроматография?
7. На чем основана газожидкостная хроматография?
8. Принцип действия хроматографа.
9. Методика расчета хроматограмм по площади пиков.

Раздел 3. Спектральные методы

Тема 15. Спектральные методы идентификации продуктов биосинтеза и биотрансформации. Лекционный материал. Инструментальные методы анализа. Общая характеристика спектральных методов анализа, их классификация, достоинства и недостатки. Оптические методы анализа. Общий принцип метода. Классификация оптических методов анализа. Резонансная спектроскопия. Стационарные состояния. Резонансные переходы. Спектры поглощения и испускания. Методы атомно-эмиссионного спектрального анализа. Спектрографический метод. Атомно-эмиссионный анализ различных материалов. Атомно-флуоресцентный метод анализа. Методы атомно-абсорбционного анализа с атомизацией пробы в пламени. Атомно-абсорбционный анализ

с электротермическим способом атомизации пробы.

Практические занятия.

Рефрактометрия

ИК-Фурье спектроскопия и масс-спектрометрия в идентификации органических соединений

Лабораторные занятия.

Определение содержания сахарозы в водных растворах рефрактометрическим методом

Определение массовой доли лактозы

Задания для самостоятельной работы

1. Природа электромагнитного излучения. Взаимодействие электромагнитного излучения с веществом.

2. Теоретические основы спектроскопии. Стационарные состояния. Уровни энергии и переходы между ними. Типы энергетических переходов.

3. Квантовая теория поглощения и излучения. Положение, интенсивность и форма полос в спектрах.

4. Методы обработки спектров. Представление результатов спектроскопических измерений

5. Абсорбционная молекулярная электронная спектроскопия и ее применение для целей качественного и количественного анализа.

6. Эмиссионная молекулярная электронная спектроскопия и ее применение для целей качественного и количественного анализа.

7. Основные законы светопоглощения. Закон Бугера-Ламберта-Бера.

8. Методики спектрофотометрического анализа образцов.

9. Методы количественного определения концентрации веществ в растворе на основе данных их спектров поглощения.

10. Колебательная (ИК) спектроскопия и ее применение в экспертизе объектов, материалов и веществ.

11. Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) и ее применение в экспертизе объектов, материалов и веществ.

12. Спектроскопия ЭПР. Сущность метода и его использование в экспертизе объектов, материалов и веществ.

4. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ИНФОРМАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДИСЦИПЛИНЫ

4.1. ОСНОВНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Миронов, П. В. Методы выделения и анализа продуктов биосинтеза : учебное пособие / П. В. Миронов, Е. В. Алаудинова. — Красноярск : СибГУ им. академика М. Ф. Решетнёва, 2019. — 116 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/147482>. — Режим доступа: для авториз. пользователей.
2. Конюхов, В. Ю. Хроматография : учебник / В. Ю. Конюхов. — Санкт-Петербург : Лань, 2022. — 224 с. — ISBN 978-5-8114-1333-1. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/210989>. — Режим доступа: для авториз. пользователей.
3. Миронов, П. В. Методы выделения и анализа продуктов биосинтеза : учебное пособие / П. В. Миронов, Е. В. Алаудинова. — Красноярск : СибГУ им. академика М. Ф. Решетнёва, 2019. — 116 с. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/147482>. — Режим доступа: для авториз. пользователей.
4. Берсенёва, В. С. Сорбционные методы выделения продуктов биосинтеза : учебное пособие / В. С. Берсенёва, В. А. Бакулев. — Екатеринбург : УрФУ, 2018. — 80 с. — ISBN 978-5-7996-2495-8. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/170102>. — Режим доступа: для авториз. пользователей.
5. Фарафонова, О. В. Сорбционно-спектроскопические методы анализа : учебное пособие / О. В. Фарафонова. — Липецк : Липецкий ГТУ, 2021. — 48 с. — ISBN 978-5-00175-087-1. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/271145>. — Режим доступа: для авториз. пользователей.
6. Бурова, Т.Е.. Экологическая биотехнология : Учебное пособие / Т.Е. Бурова, О.Б. Иванченко — Санкт-Петербург : ГИОРД, 2018. — 176 с. — ISBN 978-5-98879-204-8. — URL: <https://book.ru/book/942641>. — Текст : электронный.

4.2. ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Мушкамбаров, Н. Н. Аналитическая биохимия : монография : в 3 томах / Н. Н. Хроматографические методы анализа: Учебное пособие / Пашкова Е.В., Волосова Е.В., Шипуля А.Н. - Москва :СтГау "Агрус", 2017. - 59 с.: ISBN. - Текст : электронный. - URL: <https://new.znanium.com/catalog/product/976652>
2. Жебентяев, А. И. Аналитическая химия. Хроматографические методы анализа : учеб. пособие / А.И. Жебентяев. — Минск : Новое знание ; М. : ИНФРА-М, 2017. — 206 с. : ил. — (Высшее образование). - ISBN 978-5-16-104380-6. - Текст : электронный. - URL: <https://new.znanium.com/catalog/product/520527>
3. Инструментальный анализ биологически активных веществ и лекарственных средств: Учебное пособие / Слепченко Г.Б., Дерябина В.И., Гиндуллина Т.М. - Томск:Изд-во Томского политех. университета, 2015. - 198 с. - Текст : электронный. - URL: <https://new.znanium.com/catalog/product/701660>

4.3. СОСТАВ ЛИЦЕНЗИОННОГО И СВОБОДНО РАСПРОСТРАНЯЕМОГО ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ, В ТОМ ЧИСЛЕ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

1. Microsoft Windows 7 Pro
2. Office 2007 Standard
3. Moodle 3.8

4.4. СОВРЕМЕННЫЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЕ БАЗЫ ДАННЫХ, ИНФОРМАЦИОННЫЕ СПРАВОЧНЫЕ СИСТЕМЫ, ЭЛЕКТРОННЫЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫЕ РЕСУРСЫ

1. Информационно-правовой портал «Гарант» <http://www.garant.ru/>
2. Система автоматизации библиотек ИРБИС64; ООО «ЭйВиДи –систем» <http://support.open4u.ru>
3. Электронная библиотечная система ООО «КноРус медиа» www.book.ru
4. Электронная библиотечная система издательства «Лань»; www.e.lanbook.ru
5. Национальная электронная библиотека (НЭБ) <http://нэб.рф>

5. МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ, ОБОРУДОВАНИЕ И ТЕХНИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА ОБУЧЕНИЯ

Учебная аудитория для проведения занятий лекционного типа, групповых и индивидуальных консультаций, текущего контроля и промежуточной аттестации.

Специализированная мебель на 20 посадочных мест, доска настенная, рабочее место преподавателя. Проектор EPSON Multi Media Projector EB-824H, ноутбук Asus K52D, проекционный экран Lumien. Учебный корпус № 12. (факультет биотехнологии).

Учебная лаборатория для проведения лабораторно-практических занятий.

1. Специализированная мебель на 15 посадочных мест, лабораторное оборудование и приборы: прибор Кварц-24, рефрактометр ИРФ-454, анализатор молока Клевер-2, рН-метр рН 150 М, фотоэлектрокалориметр КФК-3, печь муфельная СНОЛ, Атомно-адсорбционный анализатор (ААС)-флорно 4. Рефрактометр ИРФ-22, RL3. Плитка электрическая Aliaska. Спектрофотометр СФ -46. рН – метр N 5123, R 5170. Вытяжной шкаф WCS2. Весы аналитические MW-150T. Установка для простой перегонки. Установка для перегонки с дефлегмацией. Установка для перегонки в вакууме. Установка для экстракции. Реакторы для проведения биохимических процессов. Испаритель ротационный. Ультрацентрифуга. Весы технические и аналитические. Набор ареометров. Баня водяная лабораторная. Сушильный шкаф ШС-80, центрифуга ЦЛ «ОКА», весы аналитические, весы электронные CUW-420, термостат ТС-80, водяная баня, прибор для титрования, аквадистиллятор АДЭ-5; доска стационарная, рабочее место преподавателя. Учебный корпус № 12. (факультет биотехнологии).

Помещение для самостоятельной работы обучающихся с возможностью подключения к сети Интернет, обеспечением доступа в электронную информационно-образовательную среду Горского ГАУ, наличием необходимого комплекта лицензионного и свободно распространяемого программного обеспечения. Учебный корпус № 6. Библиотека.

Читальные залы; электронно-информационный отдел библиотеки Горского ГАУ.
Специализированная мебель; система комфортного кондиционирования с (подогревом) форм-фактор – сплит-система GREE; книжный сканер ЭЛАР-ПланСкан АЗ-Ц; комплект компьютерной техники в сборе (10 единиц) с возможностью подключения к сети Интернет и обеспечения доступа в электронно-информационную образовательную среду Горского ГАУ. Учебный корпус № 6. Библиотека.

6. ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА

6.1. Тематика курсовых работ (при наличии). Не предусмотрено учебным планом

6.2 Перечень вопросов к зачету, экзамену, иное.

1. В чем преимущества элюентной хроматографии перед фронтальной и вытеснительной?
2. Почему предпочитают использовать величину исправленного объема удерживания, а не удерживаемого объема?
3. Какие величины характеризуют эффективность хроматографической колонки? Как ее повысить?
4. Как оценивают эффективность разделения в хроматографии?
5. Почему выражение $V'R = DVs$ считают основным уравнением хроматографии?
6. Какие числовые значения может принимать величина N ? Каково теоретически минимальное значение?
7. Объясните, почему при больших объемах элюирования хроматографические пики получаются низкими и широкими?
8. Найдите длину хроматографической колонки, если $H = 0,1$ мм, а $N = 10000$.
9. Как влияет скорость потока на эффективность хроматографической колонки?
10. Постройте график зависимости величины N от скорости потока в газовой и жидкостной хроматографии.
11. Предложите практические рекомендации для успешного разделения двух веществ исходя из теории теоретических тарелок, кинетической теории и основного уравнения хроматографии $V'R = DVs$.
12. Почему нежелательны слишком высокие и очень низкие значения коэффициентов распределения?
13. Площадь перекрытия пиков двух веществ с равными концентрациями при $RS = 1,0$ составляет $\sim 2\%$ от их общей площади: при каком значении RS перекрытие уменьшится до $\sim 0,1\%$?
14. В каких случаях можно добиться удовлетворительного разделения двух веществ, если $a < 1,1$ или $a > 5$?
15. Какие хроматографические условия надо менять, чтобы уменьшить вклад в величину N трех составляющих уравнения Ван-Деемтера?
16. Какие хроматографические параметры можно использовать для идентификации компонентов смеси?
17. Укажите возможности и ограничения разных количественных методов хроматографического анализа.
18. Назовите источники систематических погрешностей при хроматографических определениях.
19. Какие вещества обычно служат образцами сравнения при определении индекса Ковача?
20. Почему результаты идентификации веществ более надежны, если использовать индексы удерживания, а не удерживаемый объем?
21. При анализе смеси из трех компонентов методом газожидкостной хроматографии два оператора независимо друг от друга получили хроматограммы. Как подтвердить наличие одинаковых компонентов в смесях по полученным хроматограммам? Как оформляют хроматограммы и какие данные должны быть в подписях к ним?
22. Что такое градиентное элюирование, какое оно дает преимущество?
23. Предложите условия разделения n -углеводородов и ароматических соединений методом газожидкостной хроматографии. Какие неподвижные фазы и максимальные рабочие температуры нужно рекомендовать?
24. Как вы относитесь к следующему утверждению: газожидкостная хроматография один из лучших хроматографических методов анализа неорганических веществ? Ответ поясните.
25. Какой детектор вы выбрали бы при анализе объектов окружающей среды на содержание пестицидов? Укажите условия приготовления образца и проведения газохроматографического разделения.
26. Какова роль основных узлов в газовом и жидкостном хроматографах высокого давления? Что общего и каковы принципиальные отличия?
27. Сравните роль подвижных фаз в газожидкостной и жидкостной хроматографии.
28. Какова роль полярности подвижной фазы при разделении органических соединений, например при разделении изомеров бензола?

29. Какой вариант высокоэффективной жидкостной хроматографии вы выбрали бы при разделении аминов, спиртов, н-углеводородов; нормально- или обращенно-- фазовый? Предложите схему хроматографического разделения.
30. Предложите условия хроматографического разделения смесей: 1) аминокислот; 2) Al^{3+} , $Co(II)$, $Fe(III)$, $Cu(II)$; 3) Na^+ , K^+ и Ca^{2+} методами ионообменной и ионной хроматографии.
31. В чем разница между химически модифицированными и динамически модифицированными сорбентами? Роль модификаторов? Приведите примеры.
32. Какими детекторами надо пользоваться в ионообменной, ионной и ионпарной хроматографии при разделении органических и неорганических веществ?
33. Что такое программирование температуры, почему оно позволяет улучшать разделение?
34. Какова последовательность элюирования C_6H_{14} , $C_{10}H_{22}$ и $C_{14}H_{30}$ с временем удерживания 14,0; 12,5; 10,8 с в условиях высокоэффективной жидкостной хроматографии с нормальными и обращенными стационарными фазами?
35. Каковы преимущества двухмерной хроматографии перед простой одномерной бумажной или ТСХ?
36. Как идентифицировать пятна органических соединений в методе ТСХ? 37. Как выполнить количественный анализ в методе ТСХ?

6.3 Тестовые задания для диагностической работы.

1. Атомная спектроскопия - это метод определения элементного состава вещества по его
- а) электромагнитному или изотопному спектру;
 - б) взаимодействию вещества и света с узким набором длин волн из инфракрасной или другой части спектра;
 - в) взаимодействию вещества и света с узким набором длин волн из видимой части спектра;
 - г) взаимодействию вещества и света с узким набором длин волн из ультрафиолетовой.
2. Атомная абсорбция (АА) – это процесс, происходящий, когда атом, находящийся в ...
- а) возбужденном состоянии излучает энергию в виде света с определенной длиной волны и переходит в основное состояние;
 - б) невозбужденном (основном) состоянии поглощает энергию в виде света с определенной длиной волны и переходит в возбужденное состояние;
 - в) соответствующих колебательных переходах;
 - г) соответствующих вращательных переходах.
3. Перекристаллизация — метод очистки вещества, основанный на
- а) различии растворимости вещества в растворителе при различных температурах (обычно интервал температур от комнатной до температуры кипения растворителя, если растворитель — вода, или до какой-то более высокой температуры);
 - б) различии растворимости вещества в растворителе при комнатной температуре;
 - в) переходе вещества из твердого состояния сразу в газообразное, минуя жидкое;
 - г) выделении растворенных веществ из раствора путем прибавления большого количества какой-либо легко растворимой соли.
4. Переход вещества из твердого состояния сразу в газообразное, минуя жидкое называется
- а) сублимация (возгонка);
 - б) перекристаллизация;
 - в) высаливание;
 - г) десублимация.
5. Процесс удаления растворителя из замороженных растворов, гелей, суспензий и биологических объектов, без образования макроколичеств жидкой фазы называют
- а) сублимационная сушка (лиофилизация; лиофильная сушка);
 - б) перекристаллизация;
 - в) высаливание;
 - г) десублимация.

«Хроматографические методы анализа»

Правильные ответы помечены +

1. Что называется временем удерживания компонента в газовой хроматографии?
 - время нахождения компонента в испарителе хроматографа
 - время нахождения компонента в подвижной фазе колонки
 - время нахождения компонента в неподвижной фазе колонки
 - + время от момента ввода пробы, до появления максимума на хроматограмме
2. С какой целью в газовой хроматографии используют время удерживания вещества?
 - + для качественной идентификации
 - для характеристики газа-носителя
 - для количественного определения
 - для оценки параметров колонки
3. С помощью какой характеристики проводят качественную идентификацию веществ в газовой хроматографии?
 - по площади хроматографического пика
 - + по времени удерживания анализируемого компонента
 - по времени нахождения компонента в испарителе хроматографа
 - по времени пребывания анализируемого компонента в подвижной фазе
4. От чего в первую очередь зависит высота хроматографического пика на хроматограмме при неизменном режиме работы хроматографа?
 - от наличия посторонних компонентов в пробе
 - + от концентрации анализируемого вещества
 - от природы газа-носителя
 - от природы сорбента-поглотителя
5. Каким параметром характеризуется количественное содержание компонента в анализируемой смеси?
 - + площадью пика на хроматограмме
 - шириной пика на хроматограмме
 - временем удержания компонента
 - изотермой адсорбции данного компонента
6. Что называют элюентом?
 - поток жидкости или газа, прошедший через слой неподвижной фазы
 - неподвижную фазу
 - + поток жидкости или газа, перемещающий анализируемые вещества вдоль неподвижной фазы
 - смесь анализируемых веществ
7. Что называют элюатом?
 - + поток жидкости или газа на выходе из хроматографической колонки– поток жидкости или газа на входе в хроматографическую колонку
 - поток жидкости или газа в хроматографической колонке
 - неподвижную фазу
8. Что такое «мертвое» время в колоночной хроматографии?
 - время пребывания введенной пробы в испарителе хроматографа
 - фактическое время пребывания сорбирующегося компонента в подвижной фазе
 - инерционность системы хроматографа
 - время, в течение которого сорбируется элюент-носитель
 - + время выхода компонента, не взаимодействующего с неподвижной фазой
9. Что характеризует коэффициент распределения $D = C_{\text{неподв}}/C_{\text{подв}}$?
 - распределение веществ в хроматографируемой смеси
 - + распределение веществ между неподвижной и подвижной фазами
 - распределение веществ в неподвижной фазе
 - распределение веществ в элюате
10. Что характеризует удерживание вещества в сорбенте в тонкослойной хроматографии?
 - скорость передвижения подвижной фазы
 - + отношение расстояния, пройденное зоной компонента, к расстоянию, пройденному фронтом подвижной фазы за то же время
 - высоту пика на хроматограмме
 - коэффициент распределения
11. Что характеризует полноту разделения компонентов a и b ?
 - + коэффициент селективности альфа, равный отношению D_a/D_b

- "мертвое" время
 - отношение площадей пиков на хроматограмме S_a/S_b
 - отношение ширины пика компонента а к ширине пика компонента b
12. От чего не зависит время удерживания сорбирующегося компонента в газовой хроматографии?
- от скорости газа-носителя
 - от природы газа-носителя
 - от природы сорбента-поглотителя
 - + от концентрации компонента
 - от режима работы хроматографа
13. Обязательно ли строго соблюдать одни и те же объемы, вводимые в испаритель хроматографа, стандартных веществ и пробы при определении относительного содержания компонентов в смеси?
- строго обязательно
 - + желательно
 - Необязательно
14. В чем основное назначение бумажной осадочной хроматографии?
- для разделения компонентов смеси с целью их последующего количественного определения другими методами
 - для разделения компонентов смеси с целью их качественной идентификации
 - + для непосредственного количественного определения веществ
 - только для выделения чистых веществ
15. Какие задачи решают с помощью газовой хроматографии?
- только качественную идентификацию веществ
 - только количественный анализ веществ
 - + выполняют как качественные, так и количественные определения веществ
 - используют только для выделения чистых веществ
16. Когда в газовой хроматографии используют метод нормировки?
- при качественной идентификации веществ
 - при выделении чистых веществ
 - + при количественном определении относительного содержания веществ
 - при количественном определении абсолютного содержания веществ
17. Получена хроматограмма от веществ 1, 2 и 3 методом газовой хроматографии. Площади пиков равны: $S_1=11$, $S_2=5$, $S_3=4$ относительных единиц. Оцените относительное процентное содержание компонента 2 (указать только число без знака %)
- Ответ: 25
18. Когда в газовой хроматографии применяют метод внешних стандартов?
- при качественной идентификации веществ
 - при выделении чистых веществ
 - + при количественном определении абсолютного содержания веществ
 - при количественном определении относительного содержания веществ
19. Что можно сказать об эффективности и селективности колонки и условий хроматографирования смеси двух компонентов по представленной хроматограмме?
- + Высокие эффективность и селективность
 - Высокая селективность, но низкая эффективность
 - Низкая селективность, но высокая эффективность
 - Низкие эффективность и селективность
20. Что можно сказать об эффективности и селективности колонки и условий хроматографирования смеси двух компонентов по представленной хроматограмме?
- Высокие эффективность и селективность
 - Высокая селективность, но низкая эффективность
 - + Низкая селективность, но высокая эффективность
 - Низкие эффективность и селективность
21. Что можно сказать об эффективности и селективности колонки и условий хроматографирования смеси двух компонентов по представленной хроматограмме?
- Высокие эффективность и селективность
 - + Высокая селективность, но низкая эффективность
 - Низкая селективность, но высокая эффективность

- Низкие эффективность и селективность
22. Что понимают под теоретической тарелкой в хроматографии?
- + виртуальную зону сорбента, где достигается квазиравновесие между сорбируемым компонентом и сорбентом
 - зону сорбента, где поглощается основное содержание сорбируемого вещества
 - зону сорбента, где поглощается только элюент
 - объем зоны сорбента, кратный всему объему сорбента в колонке
23. Что такое изотерма адсорбции?
- + зависимость количества адсорбированного вещества от его концентрации в растворе (газовой фазе) в состоянии равновесия
 - изменение концентрации адсорбированного вещества при изменении температуры
 - изменение концентрации адсорбированного вещества при изменении давления
 - зависимость скорости десорбции от концентрации адсорбированного вещества в состоянии равновесия
24. Что такое ряд селективности в хроматографии?
- + Ряд, вещества в котором расположены по увеличению их сродства к неподвижной фазе
 - Ряд, вещества в котором расположены по увеличению их сродства к подвижной фазе
 - Ряд веществ, не взаимодействующих с неподвижной фазой
 - Ряд, вещества в котором расположены по увеличению взаимодействия между собой
 - Гомологический ряд
25. За счет чего происходит разделение смеси веществ на компоненты в тонкослойной хроматографии?
- + за счет сил адсорбции
 - за счет образования осадков с различающимися произведениями растворимости
 - за счет образования ионных связей компонентов с неподвижной фазой– за счет разных коэффициентов диффузии компонентов на поверхности неподвижной фазы.