

**ЗАДАНИЯ**  
**практического тура заключительного этапа XXXII Всероссийской**  
**олимпиады школьников по биологии. 2015-16 уч. год. 11 класс**

**БИОХИМИЯ**

**Исследование метаболизма микроорганизмов при выращивании в анаэробных и аэробных условиях**

**Реактивы и оборудование для определения концентрации глюкозы:** 6% раствор NaOH, раствор CuSO<sub>4</sub>, вода (в пробирках). Чистые пустые пробирки, пипетки, водяная баня, стандартный ряд пробирок с продуктами реакции, полученный при использовании растворов глюкозы с концентрацией **0, 10, 20, 30, 40 и 50 мМ**.

**Реактивы и оборудование для титрования:** 5 мМ раствор NaOH, раствор фенолфталеина (в капельнице), бюретка, пипетки, колбы для титрования, дистиллированная вода (в промывалке).

Два вида микроорганизмов (дрожжи *S.cerevisiae* и клостридии *C.aceticum*) выращивались при температуре 30°C в анаэробных и аэробных условиях в культуральной среде, содержащей в качестве единственного источника углерода глюкозу, а также необходимые минеральные соли. Через 12 часов микроорганизмы были удалены фильтрованием через бактериальные фильтры, и культуральная среда была собрана для анализа.

**Задание 1 (14 баллов).** Вам предоставлены 5 пробирок, которые содержат по 10 мл раствора: пробирка **О** – исходная культуральная среда, и пробирки **А, В, С и D** – культуральная среда, полученная после выращивания микроорганизмов. Вам необходимо определить, в каких пробирках (**А – D**) находится среда, полученная после выращивания каждого из микроорганизмов в разных (анаэробных или аэробных) условиях. Для этого нужно измерить концентрацию глюкозы и концентрацию кислоты во всех 5 пробирках.

Для измерения концентрации глюкозы из каждой из 5 пробирок (**О – D**) надо отобрать по **0,2 мл** среды в чистые пустые пробирки, добавить **0,8 мл** дистиллированной воды, **1 мл** раствора 6% NaOH и **0,7 мл** раствора CuSO<sub>4</sub> и тщательно перемешать. Пробирки поместите в кипящую водяную баню на 5 минут, выньте, подождите, пока осядет взвесь твердых частиц, после чего сравните Ваши пробирки с пробирками стандартного ряда (стоят на рабочих столах) и определите концентрацию глюкозы во всех пяти культуральных средах (**О – D**). Результаты внесите в **Таблицу в Листе ответов**.

Для измерения концентрации кислоты из каждой из 5 пробирок (**О – D**) надо отобрать по 1 мл среды в чистую пустую колбу для титрования, добавить в колбу примерно 20-25 мл дистиллированной воды (из промывалки), 1-2 капли фенолфталеина и оттитровать 5 мМ раствором NaOH. Ополосните колбу дистиллированной водой и повторите титрование. Исходя из объема щелочи, затраченной на титрование (среднее для двух проб), рассчитайте концентрацию кислоты во всех 5 пробирках. Результаты (среднее значение объема щелочи и концентрация кислоты) внесите в **Таблицу в Листе ответов**.

На основании наблюдаемых изменений состава среды в пробирках **А – D** по сравнению с исходной средой **О** определите, какие микроорганизмы и в каких условиях в них выращивались. Результаты внесите в **Таблицу в Листе ответов**.

**Задание 2 (2 балла).** Укажите в **Листе ответов**, какие основные метаболиты накапливаются в пробах **А – D** за счет расщепления глюкозы в реакциях энергетического обмена?

**Задание 3 (1 балл).** С накоплением какой кислоты связано закисление среды при выращивании дрожжей?

**Задание 4 (1 балл).** Считая, что получение энергии у клостридий в анаэробных условиях происходит только за счёт окисления глюкозы до кислоты, рассчитайте, сколько потребленной клостридиями глюкозы (в процентах) было использовано в реакциях пластического обмена?

**Задание 5 (2 балла).** Используя данные, полученные Вами в **Задании 4**, рассчитайте, сколько сухой биомассы (в мг) можно получить в данных условиях выращивания из 1 литра культуры при условии, что весь углерод глюкозы, вошедшей в пластический обмен, сохраняется в биомассе бактерий, и содержание углерода в сухой биомассе составляет 50%.