

Фамилия \_\_\_\_\_  
 Имя \_\_\_\_\_  
 Регион \_\_\_\_\_  
 Шифр \_\_\_\_\_

Шифр \_\_\_\_\_

Вариант № \_\_\_\_\_

**Задания**  
**практического тура регионального этапа XXXIV Всероссийской**  
**олимпиады школьников по биологии. 2017-18 уч. год.**  
**11 класс, кабинет БИОХИМИИ**

**Сначала внимательно прочтите все задание!**

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКОГО ФОСФАТА И РАСЧЕТ АКТИВНОСТИ**  
**ФОСФАТАЗЫ И СОДЕРЖАНИЯ ФОСФОРА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ**

Для определения неорганического фосфата Вам предоставляются следующие реактивы:

1. Стандартный раствор неорганического фосфата с концентрацией 31 мкг/мл (в расчете на P).
2. Молибдат аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ , 2% водный раствор.
3. 3M ацетатный буфер, pH 4,5.
4. Раствор аскорбиновой кислоты с концентрацией 10 мг/мл.
5. 10 пустых пробирок в штативе для стандартного ряда фосфата (пробирки 1-6) и для опытных проб (пробирки 8-10).
6. Две пробирки X1 и X2 (опытные пробы), которые содержат по 4 мл раствора глюкозо-6-фосфата с одинаковой концентрацией, в который либо не был (пробирка X1), либо был добавлен (пробирка X2) раствор фермента щелочной фосфатазы (отщепляет неорганический фосфат от глюкозо-6-фосфата) до конечной концентрации 10 мкг/мл. Пробирка X2 инкубировалась 20 мин при 25°C, после чего реакция была остановлена.

**Ход определения:** К исследуемому раствору, содержащему неорганический фосфат (пробы 1-10), приливают дистиллированную воду до 1,0 мл, добавляют 1 мл ацетатного буфера, 0,5 мл молибдата аммония и 0,5 мл раствора аскорбиновой кислоты. Содержимое пробирок тщательно перемешивают и оставляют на 5-10 мин при комнатной температуре. Следят за развитием окраски.

**Задание 1 (10 баллов).** Впишите в Таблицу те объемы раствора фосфата и воды, которые Вы добавили в пробирки 1-6, и заполните пробирки, согласно Вашим расчетам:

№ пробы	Количество во фосфата, мкг	Станд. раствор фосфата, мл	Проба X1, мл	Проба X2, мл	H <sub>2</sub> O, мл (до 1 мл)	Ацетатный буфер, 1 мл	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> , 0,5 мл	Аскорбат, 0,5 мл	*
1	0		-	-					
2	6,2		-	-					
3	12,4		-	-					
4	18,6		-	-					
5	24,8		-	-					
6	31,0		-	-					
7	-	-	1,0 мл	-	-				
8	-	-	1,0 мл	-	-				
9	-	-	-	1,0 мл	-				
10	-	-	-	1,0 мл	-				

Оставьте пробирки на столе на 5-10 мин.

**Задание 2 (3 балла).** Пока развивается окраска, решите следующую задачу. Один грамм пшеничной муки с влажностью 8% полностью окислили серной кислотой при нагревании. Полученный материал нейтрализовали щёлочью и объём раствора довели до 100 мл. В полученном растворе определили содержание фосфата. Оно составило 0,32 мкмоль в мл. Каково содержание фосфора в муке в % на сухой вес? Ответ округлите до второго знака после запятой.

**Содержание фосфора составляет \_\_\_\_\_ % на сухой вес муки.**

**Задание 3 (7 баллов).** Рассчитайте, какова концентрация стандартного раствора фосфата, ответ выразите в мМ (2 балла).

После развития окраски сравните пробирки 7, 8 и 9, 10 (пробы X1 и X2) с пробирками из стандартного ряда (пробирки 1-6) и определите в них содержание неорганического фосфата. Поставьте знак «плюс» в последнем столбце (\*) Таблицы напротив тех проб стандартного ряда, с которыми совпадает окраска пробирок 7, 8 и 9, 10 и впишите в этот столбец содержание фосфата в пробах X1 и X2 в мкг/мл.

Рассчитайте активность фермента щелочной фосфатазы, выразив её в международных единицах активности ферментов (мкмоль/мин на 1 мг белка) (5 баллов).

<b>Концентрация стандартного раствора фосфата</b>	<b>мМ</b>
<b>Активность фермента щелочной фосфатазы</b>	<b>мкмоль/мин на 1 мг белка</b>

**Закончив работу, штативы и заполненные листы ответов оставьте на рабочем месте и позовите преподавателя, который примет Вашу работу.**

**Все расчеты производить только на обратной стороне листов ответа!**