

Министерство науки и высшего образования РФ
Иркутский национальный исследовательский технический университет

Т.С. Лозовая

**Методические указания по выполнению лабораторных работ
по дисциплине «Биотехнология БАВ»
для студентов, обучающихся по направлению
19.04.01 «Биотехнология»,
магистерская программа
«Технология биологически активных веществ»**

Иркутск 2026

Составитель: канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры химии и биотехнологии им. В.В. Тутуриной ФГБОУ ВО ИРНИТУ Т.С. Лозовая

Методические указания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Биотехнология БАВ» для студентов, обучающихся по направлению 19.04.01 «Биотехнология», магистерская программа «Технология биологически активных веществ». – 2026. – 19 с. – Электронный вариант.

Соответствует требованиям ФГОС ВО по направлению подготовки 19.04.01 «Биотехнология» (уровень магистратуры).

Приведён порядок организации и выполнения лабораторных работ, предусмотренных рабочей программой дисциплины «Биотехнология БАВ», их содержание и цели. Изложены основные требования, предъявляемые к студентам при выполнении лабораторных работ, к оформлению и защите отчёта по результатам выполнения работ. Подробно изложены основные разделы, которые необходимы для составления отчёта по каждой лабораторной работе. Методические указания предназначены для студентов очной формы обучения.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. Порядок организации и выполнения лабораторных работ	5
2. Лабораторная работа №1. Определение концентрации белка в культуральной жидкости спектрофотометрическим методом	7
3. Лабораторная работа №2. Моделирование масштабирования ферментации на лабораторных биореакторах разного объёма	10
4. Лабораторная работа №3. Статистическая обработка и интерпретация результатов контроля чистоты промежуточной продукции (метод ВЭЖХ)	13
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	16
Требования к оформлению отчёта по лабораторным работам	17
СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	18
Приложение	19

ВВЕДЕНИЕ

Лабораторные работы по дисциплине «Биотехнология БАВ» представляют собой один из видов учебной деятельности, сочетающий теоретические знания с практической подготовкой в лабораторных условиях, и направлены на формирование, закрепление и приобретение обучающимися навыков проектно-технологической деятельности и компетенций в процессе выполнения определённых видов работ по направлению подготовки 19.04.01 «Биотехнология» (магистратура).

Методические рекомендации предназначены для оказания помощи обучающимся по направлению подготовки 19.04.01 «Биотехнология» при выполнении лабораторных работ и подготовке отчётов после их завершения. В методических указаниях представлены порядок организации и выполнения лабораторных работ, их содержание и цели, требования, предъявляемые к студентам при выполнении лабораторных работ, а также к оформлению и защите отчёта по итогам выполнения работ. Подробно изложены основные разделы, которые необходимы для составления отчёта по каждой лабораторной работе.

Выполнение лабораторных работ направлено на формирование следующих компетенций:

ПК-1.2 – способность к проведению опытно-промышленной отработки технологии и масштабирования процессов биотехнологического производства;

ПК-3.2 – способность к регистрации, обработке и интерпретации результатов испытаний лекарственных средств, сырья, промежуточной продукции и объектов производственной среды.

1 Порядок организации и выполнения лабораторных работ

1.1 Общие положения

Лабораторные работы по дисциплине «Биотехнология БАВ» выполняются студентами в соответствии с рабочей программой дисциплины и учебным планом. Объём лабораторных работ составляет 27 академических часов (3 лабораторные работы).

Лабораторные работы проводятся в специализированной лаборатории кафедры химии и биотехнологии им. В.В. Тутуриной, оснащённой необходимым оборудованием, реактивами и расходными материалами.

Перед выполнением каждой лабораторной работы студент обязан:

1. Изучить теоретический материал по соответствующей теме (лекционный курс, рекомендуемая литература).
2. Ознакомиться с порядком выполнения работы и правилами техники безопасности.
3. Получить допуск у преподавателя после проверки готовности.

Выполнение лабораторной работы включает следующие этапы:

- проведение эксперимента (или расчётно-аналитических процедур) под контролем преподавателя;
- обработка полученных результатов;
- оформление отчёта по установленной форме;
- защита лабораторной работы (устный ответ на контрольные вопросы).

1.2 Права и обязанности студентов при выполнении лабораторных работ

Студент при выполнении лабораторных работ обязан:

- соблюдать правила техники безопасности и внутреннего распорядка лаборатории;
- выполнять работу в соответствии с утверждённой методикой;
- вести записи в лабораторном журнале (или черновике отчёта);

- оформлять отчёт в установленный преподавателем срок;
- представлять отчёт к защите и отвечать на контрольные вопросы.

Студент имеет право:

- получать консультации преподавателя по вопросам выполнения работы;
- использовать рекомендованную литературу и программное обеспечение;
- повторно выполнять отдельные этапы работы для уточнения результатов (по согласованию с преподавателем).

1.3 Требования к технике безопасности

При выполнении лабораторных работ необходимо:

- использовать средства индивидуальной защиты (халат, перчатки, защитные очки – по необходимости);
- соблюдать осторожность при работе с химическими реактивами, стеклянной посудой и электроприборами;
- запрещается принимать пищу и напитки в лаборатории;
- немедленно сообщать преподавателю о любых аварийных ситуациях (разлив реактивов, поломка оборудования, травма).

2 Лабораторная работа №1. Определение концентрации белка в культуральной жидкости спектрофотометрическим методом (10 часов)

2.1 Введение

Количественное определение белка является одной из важнейших задач при культивировании микроорганизмов – продуцентов БАВ. Наиболее распространённым экспресс-методом является спектрофотометрическое определение с использованием красителя Кумасси бриллиантовый синий G-250 (метод Бредфорда). Метод основан на связывании красителя с ароматическими и основными аминокислотными остатками белка, что приводит к сдвигу максимума поглощения красителя с 465 нм до 595 нм.

2.2 Цель и задачи работы

Цель работы: освоение метода количественного определения белка в культуральной жидкости с использованием спектрофотометрии и построение калибровочного графика.

Задачи работы:

1. Приготовить серию разведений стандартного раствора белка (бычий сывороточный альбумин, БСА).
2. Провести реакцию с красителем (метод Бредфорда).
3. Измерить оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре.
4. Построить калибровочный график и определить концентрацию белка в образце культуральной жидкости.
5. Оценить погрешность определения.

2.3 Оборудование и реактивы

- Спектрофотометр (длина волны 595 нм)
- Кюветы
- Пипетки автоматические (100–1000 мкл)

- Пробирки или планшет для разведений
- Стандартный раствор БСА (1 мг/мл)
- Реактив Бредфорда (Coomassie Brilliant Blue G-250)
- Образец культуральной жидкости (модельный или реальный)

2.4 Порядок выполнения работы

Этап 1. Приготовление стандартных разведений

Приготовить не менее 5 стандартных растворов БСА с концентрациями в диапазоне от 0 до 100 мкг/мл. Заполнить таблицу разведений: указать объём исходного раствора, объём буфера, итоговую концентрацию.

Этап 2. Проведение реакции

Добавить в каждую пробирку стандартный раствор и реактив в соотношении 100 мкл образца + 1 мл реактива Бредфорда. Инкубировать при комнатной температуре в течение 10 минут. Измерить оптическую плотность каждого стандарта и образца. Каждое измерение провести не менее 2 раз.

Этап 3. Построение калибровочного графика

Построить график зависимости оптической плотности от концентрации белка. Рассчитать уравнение линейной регрессии ($y = a \cdot x + b$) и коэффициент корреляции R^2 .

Этап 4. Определение концентрации белка в образце

По калибровочному графику определить концентрацию белка в исследуемом образце. При необходимости учесть разведение образца.

Этап 5. Оценка погрешности

Рассчитать среднее значение концентрации, стандартное отклонение и коэффициент вариации. Сравнить полученное значение с нормой (если задана).

2.5 Содержание отчёта

Отчёт оформляется по СТО ИРНИТУ 05-04 и должен содержать:

- Титульный лист
- Цель работы

- Таблицу стандартных разведений и результатов измерений
- Калибровочный график
- Расчёт концентрации белка в образце
- Оценку погрешности
- Вывод

2.6 Контрольные вопросы для защиты

1. В чём заключается принцип метода Бредфорда?
2. Как построить калибровочный график и оценить его линейность?
3. Что такое предел обнаружения (LOD) и предел количественного определения (LOQ)?
4. Почему важно измерять каждый стандарт в двух или трёх повторностях?
5. Какие факторы могут повлиять на точность определения белка?

3 Лабораторная работа №2. Моделирование масштабирования ферментации на лабораторных биореакторах разного объёма (10 часов)

3.1 Введение

При переходе от лабораторных исследований к промышленному производству возникает проблема «масштабного эффекта» – изменения гидродинамических, массообменных и тепловых характеристик при увеличении объёма биореактора. Одним из ключевых параметров, определяющих продуктивность аэробных процессов, является объёмный коэффициент массопередачи кислорода (k_La). Сохранение k_La при масштабировании позволяет поддерживать одинаковую скорость потребления кислорода и, как следствие, выход целевого продукта.

3.2 Цель и задачи работы

Цель работы: освоение методов расчёта параметров масштабирования биотехнологического процесса с сохранением массообменных характеристик (k_La).

Задачи работы:

1. Рассчитать значения k_La для лабораторного реактора заданного объёма.
2. Выполнить расчёт скорости перемешивания для пилотного реактора при сохранении $k_La = \text{const}$.
3. Оценить пригодность полученного режима по максимально допустимым параметрам.

3.3 Теоретическое обоснование

При масштабировании биореакторов одной из ключевых задач является сохранение объёмного коэффициента массопередачи k_La , который характеризует эффективность переноса кислорода из газовой фазы в жидкость. Эмпирическая зависимость имеет вид:

$$k_La \propto (P/V)^a \cdot Vg^b$$

где: P/V – удельная мощность перемешивания,

Vg – объёмная скорость газа на единицу объёма среды (vvm).

При геометрическом подобии диаметр мешалки $D \propto V^{(1/3)}$, а удельная мощность $P/V \propto N^3 \cdot D^5 / V \propto N^3 \cdot V^{(5/3-1)} = N^3 \cdot V^{(2/3)}$. Для сохранения $k_L a$ при постоянной аэрации ($Vg = \text{const}$) необходимо сохранить $(P/V)^{0.4}$, откуда $P/V = \text{const}$, а следовательно:

$$N_2 = N_1 \cdot (V_1/V_2)^{(5/9)} \approx N_1 \cdot (V_1/V_2)^{(0.555)}$$

3.4 Порядок выполнения работы

Этап 1. Исходные данные

Получить у преподавателя значения:

- V_1 (объём лабораторного реактора), л
- V_2 (объём пилотного реактора), л
- N_1 (скорость перемешивания лабораторного реактора), об/мин
- k_{La1} (экспериментальное значение или задано), ч^{-1}
- $N_{\max}$ (максимально допустимая скорость для мешалки пилотного реактора),

об/мин

Этап 2. Расчёт N_2 по формуле масштабирования

Рассчитать N_2 по формуле: $N_2 = N_1 \cdot (V_1/V_2)^{(5/9)}$. Записать промежуточные вычисления.

Этап 3. Проверка пригодности режима

Сравнить рассчитанное N_2 с $N_{\max}$. Сделать вывод: режим пригоден ($N_2 \leq N_{\max}$) или требуется корректировка (например, увеличение числа мешалок, изменение типа мешалки).

Этап 4. Альтернативный расчёт по P/V

По желанию преподавателя выполнить расчёт масштабирования по критерию $P/V = \text{const}$ по формуле: $N_2 = N_1 \cdot (V_1/V_2)^{(2/9)}$.

Этап 5. Сравнение результатов

Сравнить значения N_2 , полученные разными методами. Обосновать выбор критерия масштабирования для данного типа процесса.

3.5 Содержание отчёта

- Титульный лист
- Цель работы
- Исходные данные (таблица)
- Расчётные формулы и ход вычислений
- Таблица результатов расчёта (для разных критериев)
- Вывод о пригодности режима и рекомендации по масштабированию

3.6 Контрольные вопросы для защиты

1. Что такое $k_L a$ и почему он важен для аэробных процессов?
2. Какой критерий масштабирования предпочтителен для процессов, лимитируемых массопередачей кислорода?
3. В чём различие масштабирования по $k_L a$ и по P/V ?
4. Какие факторы ограничивают максимальную скорость перемешивания?
5. Что такое компартментный анализ и для чего он применяется?

4 Лабораторная работа №3. Статистическая обработка и интерпретация результатов контроля чистоты промежуточной продукции (метод ВЭЖХ) (7 часов)

4.1 Введение

В производстве БАВ обязательным этапом является контроль качества промежуточной продукции. Результаты аналитических измерений (например, ВЭЖХ) всегда содержат случайную погрешность. Для принятия обоснованного решения о соответствии или несоответствии партии спецификации необходимо применять статистические методы: проверку нормальности, выявление выбросов, расчёт доверительных интервалов.

4.2 Цель и задачи работы

Цель работы: освоение методов статистической обработки результатов аналитических измерений, проверка на выбросы, расчёт доверительного интервала и принятие решения о соответствии продукции спецификации.

Задачи работы:

1. Получить выборку результатов хроматографического анализа (модельные данные).
2. Проверить нормальность распределения выборки.
3. Выявить возможные выбросы с использованием статистических критериев.
4. Рассчитать среднее значение, стандартное отклонение и доверительный интервал.
5. Сравнить полученные результаты со спецификацией и сделать заключение о соответствии партии.

4.3 Исходные данные (пример)

При контроле промежуточной продукции (содержание целевого БАВ, мг/мл) получены следующие результаты ($n = 10$): 5,2; 5,3; 5,1; 5,4; 4,8; 5,2; 5,3;

5,1; 5,2; 5,3. Спецификация: 5,0–5,5 мг/мл.

4.4 Порядок выполнения работы

Этап 1. Первичная статистическая обработка

Упорядочить выборку по возрастанию. Рассчитать:

- среднее арифметическое: $\bar{x} = \sum x_i / n$
- выборочное стандартное отклонение: $s = \sqrt{[\sum (x_i - \bar{x})^2 / (n-1)]}$
- коэффициент вариации: $CV = (s / \bar{x}) \cdot 100\%$

Этап 2. Проверка нормальности распределения

Для $n = 10$ проверка выполняется визуально (построение гистограммы) или с использованием критерия Шапиро–Уилка (по таблице коэффициентов).

Этап 3. Выявление выбросов (тест Граббса)

Рассчитать статистику Граббса: $G = \max |x_i - \bar{x}| / s$. Сравнить полученное G с табличным критическим значением $G_{\text{табл}}$ (для $n = 10$, $\alpha = 0,05$, $G_{\text{табл}} \approx 2,29$). Если $G > G_{\text{табл}}$ – выброс есть; если $G \leq G_{\text{табл}}$ – выбросов нет.

Этап 4. Расчёт доверительного интервала

Для доверительной вероятности $p = 0,95$ коэффициент Стьюдента t ($n-1 = 9$) $\approx 2,262$. Доверительный интервал: $\bar{x} \pm t \cdot (s/\sqrt{n})$.

Этап 5. Интерпретация и заключение

Определить, попадает ли доверительный интервал в пределы спецификации. Сделать заключение: «партия соответствует спецификации» или «партия не соответствует спецификации». При наличии выброса – предложить действие (повторный анализ, исключение выброса при наличии причины, браковка партии).

4.5 Содержание отчёта

- Титульный лист
- Цель работы
- Исходная выборка данных
- Таблица промежуточных расчётов

- Расчёт среднего, стандартного отклонения, доверительного интервала
- Результаты проверки на выбросы
- Заключение о соответствии партии
- Вывод

4.6 Контрольные вопросы для защиты

1. Для чего используется проверка нормальности распределения?
2. В чём суть теста Граббса для выявления выбросов?
3. Как рассчитывается доверительный интервал и что он означает?
4. Что такое спецификация и как она связана с доверительным интервалом?
5. Какое решение принимает технолог, если доверительный интервал выходит за пределы спецификации?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполнение лабораторных работ по дисциплине «Биотехнология БАВ» позволяет студентам приобрести следующие практические навыки и компетенции:

1. В области аналитического контроля (ПК-3.2):

- проведение количественного определения БАВ спектрофотометрическим методом;
- статистическую обработку результатов измерений (расчёт среднего, стандартного отклонения, доверительного интервала);
- выявление выбросов с использованием критерия Граббса;
- принятие обоснованных решений о соответствии продукции спецификации.

2. В области масштабирования биотехнологических процессов (ПК-1.2):

- расчёт параметров перехода от лабораторного к пилотному реактору;
- обоснование выбора критерия масштабирования (kLa , P/V);
- оценку пригодности рассчитанных режимов с учётом конструктивных ограничений.

Успешное выполнение и защита всех трёх лабораторных работ является обязательным условием допуска к экзамену по дисциплине.

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ ОТЧЁТА ПО ЛАБОРАТОРНЫМ РАБОТАМ

1. Отчёт выполняется на листах формата А4 с одной стороны.
2. Титульный лист оформляется по образцу, установленному СТО ИРНИТУ 05-04.
3. Нумерация страниц – внизу по центру, начиная с третьей страницы (титульный лист не нумеруется).
4. Таблицы и рисунки нумеруются и снабжаются названиями.
5. Графики выполняются на миллиметровой бумаге или с использованием компьютерных программ (Excel, Origin) с обязательным масштабированием осей.
6. Единицы измерения физических величин указываются в соответствии с СИ.
7. Окончательные результаты расчётов округляются до двух-трёх значащих цифр.
8. Отчёт подписывается студентом с указанием даты выполнения.
9. Отчёт сдаётся преподавателю в электронном и распечатанном виде в установленный срок (не позднее 2 недель после выполнения работы).

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная литература:

1. Биотехнология: учебник для вузов по сельскохозяйственным, естественнонаучным, педагогическим, специальностям и магистерским программам / И. В. Тихонов [и др.]; под ред. Е. С. Воронина. – 2008. – 703 с.

Дополнительная литература:

2. Чекакина Е. В. Методические указания к лабораторному практикуму по дисциплине «Технология белковых и биологически активных веществ». – 2004. – 18 с.

3. Комов В. П., Шведова В. Н. Биохимия: учеб. для вузов по направлению 655500 «Биотехнология». – 2004. – 638 с.

4. Грачева И. М., Кривова А. Ю. Технология ферментных препаратов : учеб. по специальности «Биотехнология». – 2000. – 512 с.

5. Луканин А. В. Инженерная биотехнология: процессы и аппараты микробиологических производств. – 2016. – 449 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Статистические таблицы

Таблица А.1 – Критические значения критерия Граббса $G_{\text{табл}}$ для $\alpha = 0,05$

n	$G_{\text{табл}}$	n	$G_{\text{табл}}$
5	1,672	12	2,412
6	1,822	13	2,462
7	1,938	14	2,507
8	2,032	15	2,549
9	2,110	20	2,713
10	2,290	25	2,822

Таблица А.2 – Коэффициенты Стьюдента $t(\alpha, f)$ для $\alpha = 0,05$ (двусторонний)

$f = n-1$	$t_{\text{табл}}$	$f = n-1$	$t_{\text{табл}}$
4	2,776	10	2,228
5	2,571	12	2,179
6	2,447	15	2,131
7	2,365	20	2,086
8	2,306	30	2,042
9	2,262	∞	1,960

Лозовая Татьяна Сергеевна

Методические указания по выполнению лабораторных работ по дисциплине «Биотехнология БАВ» для студентов, обучающихся по направлению 19.04.01 «Биотехнология», магистерская программа «Технология биологически активных веществ». – 2026. – 20 с. – Электронный вариант.