

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ МИХАЙЛА ОСТРОГРАДСЬКОГО



МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ  
ЩОДО ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ  
З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ  
**«ОСНОВИ ФІЗИКО-ХІМІЧНОЇ БІОЛОГІЇ»**  
ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДЕННОЇ ФОРМИ НАВЧАННЯ  
ЗІ СПЕЦІАЛЬНОСТІ 101 – «ЕКОЛОГІЯ»  
ЗА ОСВІТНЬО-ПРОФЕСІЙНОЮ ПРОГРАМОЮ  
«ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОЕНЕРГЕТИКА»  
ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ «МАГІСТР»

КРЕМЕНЧУК 2018

Методичні вказівки щодо виконання лабораторних робіт з навчальної дисципліни «Основи фізико-хімічної біології» для студентів денної форми навчання зі спеціальності 101 – «Екологія» за освітньо-професійною програмою «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Укладачі: старш. викл. О. О. Никифорова, к. т. н., доц. А. В. Пасенко

Рецензент д. б. н., проф. В. В. Никифоров,

Кафедра біотехнологій та біоінженерії

Затверджено методичною радою Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського

Протокол №\_\_ від\_\_\_\_\_2018 р.

Голова методичної ради

проф. В. В. Костін

## ЗМІСТ

Вступ.....	4
1 Перелік лабораторних робіт.....	5
Лабораторна робота № 1 Визначення протеїнових фракцій сироватки крові експрес-методом за Олла-Маккордом.....	5
Лабораторна робота № 2 Ферментативний гідроліз білків в організмі людини.....	9
Лабораторна робота № 3 Транспортування речовин через плазматичну мембрану.....	12
Лабораторна робота № 4 Визначення інтенсивності фотосинтезу.....	17
Лабораторна робота № 5 Визначення продукції та деструкції органічної речовини у водних рослин йодометричним методом Вінклера.....	26
Лабораторна робота № 6 Дослідження властивостей нуклеопротейдів і нуклеотидів.....	32
2 Критерії оцінювання знань студентів.....	37
Список літератури.....	39

## ВСТУП

**Предметом** вивчення навчальної дисципліни «Основи фізико-хімічної біології» є питання, які стосуються, молекулярних основ і механізмів спадковості, структури білкових молекул, нуклеїнових кислот, особливості процесів транскрипції і трансляції, структура рибосом.

**Метою** навчальної дисципліни є засвоєння питань щодо молекулярних основ життєдіяльності клітин, генетичної ролі НК, функціонування та побудови геному та пов'язаних з ним структур і молекул.

**Завдання** навчальної дисципліни:

- засвоїти принципи функціонування генетичного коду;
- структуру та функціонування білків;
- механізм реплікації ДНК за участю різноманітних ферментних систем;
- улаштування геномів вірусів, про- й еукаріот;
- структури генів та особливості їх експресії у еукаріот і прокаріот;
- мобільних елементів геному та їх значення у еволюції живих істот.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен

**знати:**

- молекулярні структури, властивостей нуклеїнових кислот – ДНК і РНК;
- принципи функціонування генетичного коду;
- структуру та функціонування білків;
- механізм реплікації ДНК за участю різноманітних ферментних систем;
- улаштування геномів вірусів, про- й еукаріот;
- структури генів та особливості їх експресії у еукаріот і прокаріот;
- мобільних елементів геному та їх значення у еволюції живих істот.

**уміти:**

- аналізувати механізм біосинтезу білка та його регуляції;
- молекулярні механізми рекомбінації;
- порівняти інформаційно-аналітичні методи, що використовуються в біології, сучасні методи визначення первинної структури нуклеїнових кислот.

# 1 ПЕРЕЛІК ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

## Лабораторна робота № 1

**Тема. Визначення протеїнових фракцій сироватки крові експрес-методом за Олла-Маккордом**

**Мета:** вивчення складу білків крові ссавців; набуття навичок біохімічного (протеїнового) аналізу крові з використанням фотокалориметричного устаткування.

**Обладнання і реактиви:** фотокалориметр КФК-2МП, кювети, штатив із пробірками, мікропіпетки 0,5 і 1,0 мл, склограф, ваги; дистиллят,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaOH}$ , хлороформ.

**Навчальні елементи:** сироватка крові, плазма крові, протеїни, протеїди, протеїнограма.

### Короткі теоретичні відомості

**Кров** (*sanguis*) – рідка сполучна тканина, що циркулює в кровоносній системі всіх хребетних і деяких безхребетних тварин.

#### Основні функції крові:

- дихальна (газообмін  $\text{O}_2$  і  $\text{CO}_2$ );
- трофічна і екскреторна (транспортування поживних речовин і продуктів обміну);
- регуляторна (гуморальна);
- захисна (містить антитіла й фактори згортання);
- стабілізувальна (підтримує гомеостаз).

Значну частину крові складають білки – дихальний пігмент (гемоглобін), білки строми еритроцитів та інших формених елементів, а також білки плазми – альбуміни, глобуліни і фібриноген.

**Сироватка крові** – рідка частина крові, відокремлена від кров'яного згустку після її згортання поза організмом. За складом майже тотожна плазмі крові, але на відміну від неї не містить фібриноген. Із сироватки крові імунізованих певними антигенами тварин і людей (донорів) одержують шляхом

її очищення і концентрації імунні сироватки, уживані для серодіагностики, серопрфілактики і серотерапії.

**Плазма крові** – рідка частина крові, позбавлена її формених елементів; колоїдний розчин білків. Із плазми виготовляють лікувальні препарати (суху плазму, альбумін, фібриноген, гамаглобулін та ін.).

### **1 Фізико-хімічні властивості та склад плазми**

Плазма складає близько 55 % об'єму цілісної крові або від 3,3 (у жінок) до 4,4 % (у чоловіків) маси тіла. Відносна щільність і в'язкість плазми крові складає 1,025–1,034 і 1,7–2,2 відповідно, вона має слаболужну реакцію:  $\text{pH} = 7,36$ . Основним компонентом плазми є вода (90–92 %). До складу мінеральних речовин плазми входять солі:  $\text{NaCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{NaHCO}_3$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  та ін.

### **2 Біохімічний склад і функції плазми**

Плазма крові є складною сумішшю білків (7–8 %), амінокислот, вуглеводів, жирів, солей, гормонів, ферментів, антитіл, розчинених газів, продуктів розпаду білка (сечовина, сечова кислота, креатинін, амоніак), що підлягають виведенню з організму. Вміст глюкози коливається в межах 4,44–6,66 ммоль/л, що складає 0,1 % від маси плазми крові. Білки плазми поділяються на **глобуліни** ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  глобуліни), **альбуміни** і **ліпопротеїди**. Функції білків плазми різноманітні:

а) дуже важливе значення має фібриноген – глобулін, що бере участь у процесі згортання крові (у сироватці відсутній);

б) фракція  $\gamma$  – глобулінів містить антитіла, що забезпечують імунітет до певних інфекційних хвороб, білок пропердин, спроможний руйнувати бактерії та віруси;

в) білки альбумінової фракції здійснюють зв'язування і перенос вітамінів, мікроелементів і гормонів (з альбумінами пов'язано 75–82 % кортикостероїдів, 98–99 % естрогенів, виявлених у крові);

г) ліпопротеїди являють собою надмолекулярні утворення і займають ключове положення в транспортуванні й метаболізмі ліпідів.

## Хід роботи

### 1 Процедура визначення білкових фракцій сироватки крові

Принцип методу заснований на властивості розчинів дигідрофосфатів визначеної концентрації осаджувати різноманітні фракції білка.

#### Робочі розчини.

1) 123,5 г (92 мл) основного фосфатного розчину (0) довести дистиллятом до 100 мл (осаджує всі білки);

2) 100 г (76 мл) розчину 0 довести дистиллятом до 100 мл (осаджує всі глобуліни);

3) 78,5 г (59 мл) розчину 0 довести дистиллятом до 100 мл (осаджує  $\beta$ - і  $\gamma$ - глобуліни);

4) 65 г (45 мл) розчину 0 довести дистиллятом до 100 мл (осаджує  $\gamma$ - глобуліни);

5) **Основний фосфатний розчин** – 226,8 г дигідрофосфату калію розчинити в 400 мл розчину, що містить 33,5 г NaOH; після охолодження розчин довести дистиллятом до 500 мл, профільтрувати.

Для попередження бактеріального забруднення за тривалого збереженні в розчини 1–4 рекомендується додати по 1 краплі хлороформу (зберігати в темному, прохолодному місці).

### 2 Порядок виконання роботи

а) у штатив встановлюють 6 пробірок з номерами 0, 1, 2, 3, 4, 5;

0 – 10 мл бідистильованої води;

1 – 4 – по 5 мл робочих розчинів 1, 2, 3, 4 відповідно;

5 – 0,5 мл сироватки (після центрифугування протягом 20–25 хв + 0,75 мл дистилляту + 3,75 мл основного розчину 5 ;

б) у пробірки 1–4 переносять по 0,5 мл вмісту пробірки 5, а в пробірку 0 переносять 1 мл суміші; вміст пробірок старанно перемішують;

в) фотометрію проводять на КФК – 2 МП через 15 хв. Починаючи з пробірки 4 (кювета 1 ; $\lambda$  світофільтра – 750 нм); як компенсвальну рідину (контрольні розчини) використовують вміст пробірки 0.

## **Визначення екстинції та розрахунок протеїнограми**

$E_1$  – загальний білок;  $E_2$  – глобуліни;

$E_3$  –  $\alpha$ - і  $\beta$ - глобуліни;  $E_4$  –  $\gamma$ - глобуліни.

Приймаючи  $E_1$  (екстинція або оптична щільність) за 100 % обчислюють вміст кожної фракції у відносних відсотках.

$$A \text{ (альбуміни)} = (E_1 - E_2) / E_2 * 100 \%;$$

$$\alpha \text{ (альфа – глобуліни)} = (E_2 - E_3) / E_t * 100 \%;$$

$$\beta \text{ (бета – глобуліни)} = (E_3 - E_4) / E_1 * 100 \%;$$

$$\gamma \text{ (гама – глобуліни)} = E_4 / E_1 * 100 \%.$$

Середні норми протеїнограми сироватки крові людини складають:  
альбуміни: 62,4 – 66 %;

$\alpha$  – глобуліни: 8,8 – 12,2 %;

$\beta$  – глобуліни: 10,1 – 14,1 %;

$\gamma$  – глобуліни: 11,7 – 14,9 %.

### **Завдання до теми**

1. Приготувати робочі розчини.
2. Визначити за допомогою фотоколориметра оптичні щільності досліджуваних розчинів.
3. Розрахувати протеїнограму для сироватки крові експериментальної теплокровної тварини (або людини).
4. Порівняти отримані результати з нормальною протеїнограмою сироватки крові людини, зробити відповідні висновки.

### **Контрольні питання**

1. Дати визначення понять кров, плазма, сироватка.
2. Назвати фізико-хімічні властивості та біохімічний склад плазми крові людини.
3. Охарактеризувати принцип методики фотокалориметричного визначення білкових фракцій крові.
4. Поміркуйте, на що може вказувати вміст  $\gamma$ -глобулінів у межах 8–10 %?

**Література:** [1, с. 52–58; 3, с. 47–52; 6, с. 33–41; 7, с. 21–32; 8; 9].



## Лабораторна робота № 2

### Тема. Ферментативний гідроліз білків в організмі людини

**Мета:** ознайомитися із процесами перетворення білків у шлунково-кишковому тракті; вивчити обмін продуктів гідролізу білка (амінокислот) у печінці; навчитися проводити якісні реакції на визначення білків та продуктів гідролізу білків, самостійно зробити висновки із отриманих результатів.

**Матеріали, обладнання:** таблиці, слайди, схеми, термостат, водяна баня, звичайні пробірки, піпетки на 1, 2, 5 мл, скляні палички, лопатки, паперові фільтри, чашки Петрі, годинникове скло, індикаторний папір.

**Реактиви:** шлунковий сік (1 мл), натрій двовуглекислий 10 % (1 мл), сульфат міді 1 % розчин, їдкий натр 10 %, сечовина 20 % розчин, нінгідрин 0,1 % (розчин в ацетоні), оцтова кислота концентрована, баритова вода, сечовий аміак, матеріал для досліджування: фібрин, сечовина.

**Навчальні елементи:** амінопептидаза, карбоксипептидаза, дипептидаза, альбумоза, пептон, пепсин, трипсин, хімотрипсин.

### Короткі теоретичні відомості

**Білки** – високомолекулярні органічні сполуки, до складу яких крім вуглецю, водню і кисню, належить азот. Окрім цього, у складі білків може бути сірка, фосфор, а також залізо, мідь, магній, йод. Білки є основним будівельним матеріалом організму і відповідно їх частка – до 30 % від усєї маси організму.

Функції білків різні: скорочувальна, транспортна, секреторна, каталітична, захисна та інші. Основною структурною одиницею білка є амінокислоти. На сьогодні відомо близько 24 амінокислот, але для побудови повноцінної молекули білка необхідно біля 20 амінокислот. Амінокислоти в молекулі білка зв'язані між собою за допомогою пептидного зв'язку, який утворюється під час взаємодії карбоксильної групи однієї амінокислоти й аміногрупи іншої.

Під час гідролізу білків у лабораторних умовах кислотами або ферментами, чи в організмі вони розщеплюються на амінокислоти за принципом розриву пептидних зв'язків. Білки їжі, які потрапляють в організм,

проходять ряд стадій розщеплення, а саме:

– у шлунку під дією ферменту *пепсину* білки розщеплюються на високомолекулярні поліпептиди – *альбумози і пептони*;

– у дванадцятипалій кишці під дією ферментів *трипсину і хімотрипсину* (так званому триптичному гідролізі) *альбумози і пептони* розщеплюються до *амінокислот та поліпептидів* з коротшим ланцюгом;

– у тонкому кишківнику під дією ферментів *пептидаз (амінопептидази, карбоксипептидази і дипептидази)* поліпептиди розщеплюються до *вільних амінокислот*.

Амінокислоти всмоктуються у кров, разносяться по органах і тканинах організму, де відбуваються їх біохімічні перетворення. У товстому кишківнику залишки пептидів і амінокислот, які не всмокталися у кров, під дією ферментів мікрофлори дезамінуються або декарбоксілюються, перетворюючись в отруйні для організму речовини (індол, фенол та інші). Знешкодження їх відбувається в печінці.

До числа отруйних речовин належить й аміак, який утворюється під час дезамінування амінокислот. Аміак проходить ряд перетворень у печінці та виводиться з організму у вигляді сечовини із сечею. Виділення сечовини й аміаку з організму свідчить про інтенсивність білкового обміну. Збільшення виділення сечовини із сечею пов'язане із посиленою білковою дієтою або є результатом посиленого дезамінування амінокислот, амінів, азотистих основ та ін. Крім сечовини, із сечею можуть виділятися й інші продукти білкового обміну, а саме: сечова кислота, креатинін, амонійні солі, гіпурова кислота та інші речовини.

## **Хід роботи**

### **1 Гідроліз білка**

У три пронумеровані пробірки наливають по 1 мл шлункового соку. Вміст першої пробірки кип'ятять дві хвилини і охолоджують. Вміст другої пробірки нейтралізують 10 % розчином  $\text{NaHCO}_3$ , додаючи 1 мл реактиву в пробірку (до рН – 7). Потім в усі три пробірки кладуть по кусочку фібрину і

ставлять у термостат за температури 38° С на 20 хв. Відтак пробірки витягують і проводять біуретову реакцію (додають у кожен пробірку по 2–3 краплі 10 % NaOH і 2–3 краплі сірчаної кислоти міді). Висновки пояснюють і записують.

## **2 Відкриття амінокислот у поті**

Фільтрувальний папір стискають великим і вказівним пальцем так, щоб на ньому залишилися відбитки. Папір беруть пінцетом, змочують його 0,1 % розчином нінгідрину. Кладуть папір на годинникове скло або в чашку Петрі і ставлять у термостат при температурі 60° (можна і при вищій). Через 20–30 хв на місці відбитків утворюється червоно-фіолетова пляма, яка вказує на присутність у поті амінокислот.

## **3 Гідроліз сечовини**

У пробірку наливають 1–2 мл 20 % розчину сечовини і додають подвійний об'єм прозорої та баритової води. На край пробірки поміщають зволожений індикаторний папір. Нагрівають. Спостерігається утворення продуктів реакції, про що засвідчує посиніння лакмусового паперу і помутніння баритової води.

### **Завдання до теми**

1. Значення соляної кислоти та протеолітичних ферментів (пепсину, трипсину і хімотрипсину) у гідролізі білків.
2. Дайте пояснення основних етапів синтезу білка в організмі людини.
3. Дайте характеристику позитивного, негативного азотистого балансу; складіть на основі цього добову потребу організму в білках залежно від віку та фізичних навантажень.
4. Наведіть приклади неповноцінних харчових білків. Що таке замінні та незамінні амінокислоти? Біологічне значення білків
5. Взаємозв'язок обміну білків, вуглеводів і жирів. Подайте схематично.
6. Схема утворення сечовини.

### **Контрольні питання**

1. Як відбувається ферментативний гідроліз білків у шлунково-кишковому тракті та які продукти гідролізу білків всмоктуються у кров?

2. Синтез білка в організмі; азотистий баланс організму.

3. Як відбувається розщеплення амінокислот в організмі (декарбоксілювання, дезамінування та переамінування).

4. Які кінцеві продукти розпаду амінокислот? Синтез сечовини.

**Література:** [2, с. 2–5; 4, с. 17–19; 5, с. 13–14; 7, с. 81–82; 8; 9].

### **Лабораторна робота № 3**

#### **Тема. Транспортування речовин через плазматичну мембрану**

**Мета:** вивчення хімічного складу, молекулярної організації та функції біологічних мембран, основних механізмів перебігу транспортних процесів у мембранах, які є однією з найважливіших умов збереження гомеостазу клітини і організму загалом; виявлення плазмалеми і тонопласта в рослинній клітині та вивчення їхньої проникності; дослідити дію різних чинників на проникність мембран рослинної клітини.

**Матеріали, реактиви, обладнання:** коренеплоди червоного буряка, хлороформ, 50 % розчин оцтової кислоти, 40 % розчин спирту, 1 М розчин  $\text{KNO}_3$ , гаряча вода; свердла діаметром 7–8 мм, пробірки, мірні пробірки місткістю 10 мл, лінійки, мікроскопи, предметні скельця та накривні скельця, ФЕК; цибуля ріпчаста, розчин еозину (50 мг в 100 мл), дослідні рослини; 70 % етиловий спирт, 0,1 % розчин еозину, 0,002 % розчин метиленового синього, 0,1 М розчин лимонної кислоти, 0,2 М розчин  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; піпетки, чашки Петрі.

**Навчальні елементи:** компартменти, протопласт, плазмалема, тонопласт.

#### **Короткі теоретичні відомості**

##### **1 Діагностика пошкодження рослинних тканин за зміною проникності мембран цитоплазми**

До основних функцій, які виконують мембрани належать: бар'єрна, транспортна, осмотична, електрична, структурна, енергетична, біосинтетична, секреторна, рецепторно-регуляторна. Кожна органела теж має власні функції, що здійснюються в унікальному внутрішньому середовищі. Створюється це

середовище завдяки вибірковій проникності та іншим специфічним властивостям мембрани, що оточують органелу та відокремлюють її від решти компартментів протопласта.

Отже, у живій клітині завдяки наявності цитоплазматичних мембран зберігається внутрішньоклітинний гомеостаз . У разі їх пошкодження ця властивість втрачається і речовини, що містяться в клітинному соку, дифундують у середовище. Ступінь пошкодження корелює з кількістю виділених назовні речовин. Отже, інтенсивність виходу сполук із клітини є критерієм пошкодження мембран.

### Хід роботи

1. Із коренеплоду червоного буряка свердлом діаметром 7–8 мм вирізати п'ять циліндричних брусків завдовжки 3 см, старанно промити їх у водогінній воді та внести по одному в п'ять пробірок, які містять по 5 мл різних розчинів відповідно до схеми досліду (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 – Вплив різних чинників на проникність мембран рослинної клітини

Номер пробірки	Схема досліду	Оптична густина розчинів, ум. од.
1	Контроль (водогінна вода кімнатної температури)	
2	Кипляча водогінна вода (див. примітку)	
3	Водогінна вода + 5 краплин хлороформу	
4	30% розчин оцтової кислоти	
5	40% розчин спирту	

**Примітка.** Варіант 2 реалізують так. Витримати 2 хв у киплячій воді один із брусків буряка, потім його вийняти, охолодити й опустити в пробірку з 5 мл водогінної води кімнатної температури.

2. За 30 хв після початку досліду вміст усіх пробірок ретельно перемішати, бруски буряка вийняти.

3. Виміряти оптичну густину розчинів у пробірках за допомогою ФЕК із зеленим світлофільтром ( $\lambda=540-550$  нм.). Результати записати у таблицю.

4. Зробити висновки щодо рівня ушкодження рослинних тканин за дії досліджуваних факторів.

## **2 Порівняльна здатність проникності плазмалеми і тонопласту**

Транспортування йонів крізь мембрану може бути пасивним і активним. Пасивне транспортування (неспецифічна дифузія  $\text{CO}_2$  та  $\text{O}_2$ , пори, канали, везикулярне транспортування) відбувається без витрат метаболічної енергії за градієнтом даної речовини. Рушійною силою пасивного транспортування йонів крізь мембрану електрохімічний потенціал.

**Активне транспортування** – це процес перенесення молекул або йонів крізь мембрану проти електрохімічного градієнта поєднаний з використанням енергії. Транспортування заряджених гідратованих йонів полегшують спеціальні транспортні білки: *канали, білки-переносники (портери) і насоси (помпи)*.

**Канали** – це трансмембранні білки, здатні відкриватися і закриватися внаслідок конформаційних змін білка. Видовжені молекули білків каналів мають заряд і заповнені водою. Канали пропускають йони вибірково, залежно від їхнього заряду і розміру гідратної оболонки. Через канали здійснюється, головним чином, пасивний транспорт. Швидкість дифузії через відкритий канал дуже велика –  $10^6$  йонів за секунду. Зараз встановлена наявність каналів для  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$  та води (*аквапоріни*).

**Білки-переносники** спочатку приєднують до себе на певне місце речовину, яку вони переносять, а потім, дифундують разом із нею крізь мембрану. Процес транспортування закінчується, коли перенесена речовина від'єднується від переносника і він повертається у початкове положення. Білки-переносники переносять  $10^4-10^5$  йонів за секунду, тобто вони працюють значно повільніше, ніж канали. Транспортування за допомогою переносників може бути пасивним і активним.

**Пасивне транспортування** за допомогою білків-переносників називають

полегшеною дифузією. При полегшеній дифузії, як і при простій дифузії, напрямок руху залежить від концентраційного градієнта (для незаряджених молекул) або від електрохімічного градієнта (для йонів). Мембранні білки, пов'язані з активним транспортуванням, називаються *насосами*, тому що за їх роботи йони рухаються з одного боку мембрани на протилежний проти електрохімічного градієнту. Насоси переносять  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  та  $\text{H}^+$ .

**Активне транспортування** чутливе до кисню та метаболічних отрут і слугує для накопичення речовин, концентрація яких назовні незначна, або для видалення речовин, якщо в клітині вони знаходяться у незначній концентрації.

Активне транспортування здійснюється за рахунок енергії АТФ, або енергії окисно-відновних реакцій, яка виділяється у ланцюгу перенесення електронів у мітохондріях і хлоропластах. На сьогодні досить детально вивчені такі насоси як  $\text{H}^+$  –АТФази і  $\text{Ca}^{2+}$  – АТФази.

Щоб охарактеризувати функціональний стан клітини і її осмотичні властивості, використовують порівняльну здатність до проникності клітинних мембран – плазмалеми і тонопласта.

Зовнішня цитоплазматична мембрана – плазмалема має вищу проникність, ніж тонопласт. У цьому можна переконатися, спостерігаючи набрякання цитоплазми під впливом йонів калію, що в ній накопичуються.

### **Хід роботи**

1. Нанести на предметне скло велику краплину 1 М розчину  $\text{KNO}_3$  з розчином еозину і помістити в неї 2–3 шматочки епідерми внутрішньої (угнутої) сторони луски цибулі. Накрити скельцем і спостерігати в клітинах розвиток ковпачкового плазмолізу.

**Примітка.** Спочатку цитоплазма оточує вакуолю тонким шаром. Пізніше цитоплазматичний шар набрякає, суттєво потовщується (особливо з протилежних боків вакуолі) у вигляді ковпачків і забарвлюється еозином в оранжевий колір. Згодом цитоплазма відмирає від надлишку прониклих у неї йонів калію, унаслідок чого крізь плазмалему легко проникає еозин. На препараті видно, що забарвлюється лише цитоплазма. Вакуоля залишається

безбарвною, що свідчить про різну проникну здатність плазмалеми і тонопласта. Топопласт зберігає свої напівпроникні властивості.

### **Завдання до теми**

1. Описати досліджувані реакції і зарисувати клітинні мембрани до і після досліду.
2. Зарисувати будову плазматичної мембрани.
3. Зробити висновки.

### **Контрольні питання**

1. Які функції рослинних мембран відомі?
  2. Що таке гомеостаз?
  3. Чому інтенсивність виходу сполук із клітини може бути критерієм їх ушкодження?
  4. Який із чинників зумовив найбільше пошкодження мембран і чому?
  5. Які чинники докілья впливають на проникність клітинних мембран у природних умовах?
  6. Чи пропускає жива протоплазма речовини клітинного соку?
  7. Чим пояснюється неоднакова швидкість забарвлення рідини у різних варіантах досліду?
  8. Чим зумовлена напівпроникність живої цитоплазми?
  9. Які особливості транспортування йонів крізь напівпроникні мембрани?
  10. Охарактеризуйте транспортні білки локалізовані у мембрані.
  11. Що є рушійною силою активного і пасивного транспортування йонів?
  12. Що таке полегшена дифузія?
  13. Що є джерелом енергії для активного транспортування йонів?
  14. Що свідчить про різну проникність йонів калію крізь плазмалему і тонопласт?
  15. Поясніть, що зумовлює набрякання цитоплазми.
  16. Який фізіологічний сенс різної проникності плазмалеми і тонопласта?
- Література:** [1, с. 124–126; 3, с. 165–168; 6, с. 163–167; 8; 9].



## Лабораторна робота № 4

### Тема. Визначення інтенсивності фотосинтезу

**Мета:** дослідити інтенсивність фотосинтезу залежно від умов навколишнього середовища, а також переконатися в наявності процесів синтезу органічних речовин під час асиміляції вуглекислого газу

**Обладнання:** рослинний матеріал; асиміляційна скляна колба; пробка до колби з вставленою скляною трубкою; термометр; електролампа на 200–300 Вт; темна тканина; піпетка; електронні терези; калька; пробірки; мірні колби; бюретки; фотоелектроколориметр, круглодонні колби; паперові серветки; гумові пробки; гирки; ножиці.

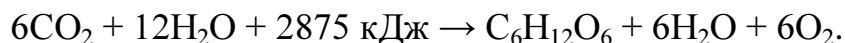
**Реактиви:** 0,001 н розчин  $\text{NaHCO}_3$ ; буферна шкала, індикатор крезоловий червоний, сульфат міді ( $\text{CuSO}_4$ ); сірчана кислота (конц.); біхромат калію ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ); глюкоза, 0,025 н. розчин  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ; 0,025 н. розчин  $\text{HCl}$ ; розчин фенолфталеїну.

**Навчальні елементи:** фотосинтез, тилакоїди, пластидні пігменти, хлорофіл, каротиноїди.

### Короткі теоретичні відомості

#### 1 Фотосинтез – процес синтезу органічних речовин

**Фотосинтез** – це процес засвоєння вуглецю рослинами із вуглекислого газу з використанням світлової енергії:



Фотосинтез проходить в хлоропластах клітин мезофілу. Важливе значення у цьому процесі відіграють пластидні пігменти – хлорофіли і каротиноїди. Тільки вони здатні вловлювати світлову енергію, яка за участю хлорофіл – білкових комплексів тилакоїдних мембран трансформується в енергію АТФ і НАДФ Н.

Серед групи зелених пігментів у рослин найбільш представлені хлорофіли «а» і «b». Причому хлорофіл «а» має основне значення, а «b» – допоміжну. Просторова структура молекули хлорофілу подібна до гему крові. Її основу складає порфіринове кільце, утворене чотирьома з'єднаними між собою

пірольними кільцями з атомом магнію в центрі й одним циклопентановим кільцем. Четверте пірольне кільце утворює зв'язок з спиртом фітолом ( $C_{20}H_{39}OH$ ).

За хімічною природою хлорофіли являють собою складний ефір дикарбонової кислоти хлорофіліну ( $MgN_4OH_{32}C_{32}-2COOH$ ) у якого одна карбоксильна група етерифікована метильною групою  $-CH_3$  (хлорофіл «а»), або формільною  $-CHO$  (хлорофіл «b»), а друга залишком спирту фітолу:  $COOCH_3$ .

Каротиноїди (жовті, оранжеві, червоні пігменти) включають близько 400 пігментів, які відносяться до трьох груп:

– каротини (оранжеві, червоні) мають загальну формулу  $C_{40}H_{56}$ ;

– ксантофіли (жовті) являють собою продукти окислення каротинів –  $C_{40}H_{56}O - C_{40}H_{56}O_6$ ;

– каротинові кислоти –  $C_{20}H_{24}O_4$ .

Усі вони за хімічною природою похідні ізопрену. Каротини і ксантофіли містять вісім залишків ізопрену і можуть бути ациклічними, моно- і біциклічними

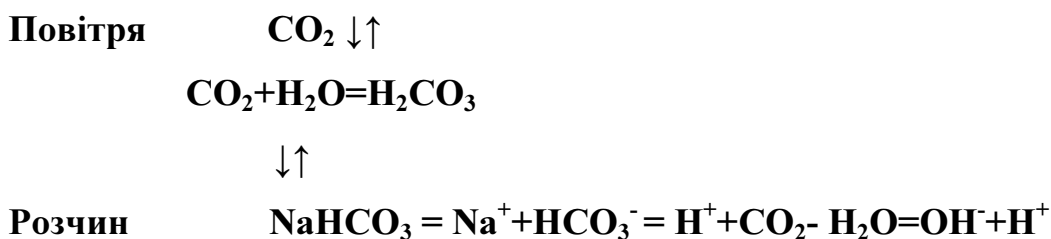
**Інтенсивність фотосинтезу** – це кількість засвоєного вуглекислого газу за одиницю часу одиницею площі, або маси листка ( $mg\ CO_2$ )  $dm^2$  год). Для визначення інтенсивності фотосинтезу використовують декілька методів. Більшість з них базується на визначенні кількості поглинутого вуглекислого газу: газометричне визначення інтенсивності фотосинтезу в природних умовах; радіометричний метод; метод інфрачервоної спектрометрії; монометричний метод. У водоростей інтенсивність фотосинтезу визначають за кількістю виділеного кисню. «Чисту» продуктивність фотосинтезу визначають шляхом зважування вибірки рослин на початку і в кінці досліду.

## **2 Визначення інтенсивності фотосинтезу за методом Олівка-Целлера.**

Інтенсивність фотосинтезу визначається за кількістю вуглекислого газу, яка поглинається в процесі фотосинтезу одним  $m^2$  листя за 1 год. Принцип методу полягає в тому, що розчин бікарбонату натрію має властивість приходити у рівновагу з  $CO_2$  в повітрі, яке знаходиться над ним. Якщо вміст

його у повітрі стане меншим, то розчин віддає  $\text{CO}_2$  у повітря, і навпаки.

У зв'язку з віддачею або поглинанням розчином  $\text{CO}_2$  змінюється його рН. Рівновагу, що встановлюється у системі повітря $\leftrightarrow$ розчин, можна зобразити так:



Із цієї схеми випливає, що за зменшення вмісту  $\text{CO}_2$  у повітрі відбувається віддача  $\text{CO}_2$  з розчину. Унаслідок цього концентрація  $\text{H}_2\text{CO}_3$  і її іонів зменшується та відбувається накопичення іонів  $\text{OH}^-$ , і розчин стає більш лужним. Із цього видно, що кожному парціальному тиску  $\text{CO}_2$  у повітрі відповідає певна концентрація іонів  $\text{H}^+$  у розчині бікарбонату натрію.

Величину рН розчину  $\text{NaHCO}_3$  визначають, порівнюючи зі шкалою, яку готують на підставі боратних буферних сумішей (табл. 4.1).

Таблиця 4.1 – Приготування стандартних буферних розчинів із рН 7,5–8,8 для порівняльної шкали

рН	Кількість розчину, мл		рН	Кількість розчину, мл	
	а	в		а	в
7,0	0,45	9,55	8,1	3,05	6,95
7,1	0,60	9,40	8,2	3,50	6,50
7,2	0,75	9,25	8,3	3,95	6,05
7,3	0,95	9,10	8,4	4,45	5,55
7,4	1,10	8,90	8,5	4,95	5,05
7,5	1,30	8,70	8,6	5,50	4,50
7,6	1,50	8,50	8,7	6,05	3,95
7,7	1,75	8,25	8,8	6,70	3,30
7,8	2,05	7,95	8,9	7,40	2,60
7,9	2,35	7,65	9,0	8,20	1,80
8,0	2,70	7,30			

Примітка: а – 1/20 М розчин бури (19,108 г  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  в 1 л дистильованої води без  $\text{CO}_2$ ); б – 1/5 М розчин борної кислоти + 1/20 М  $\text{NaCl}$  (12,45 г  $\text{H}_3\text{BO}_3$  + 2,925 г  $\text{NaCl}$  в 1 л води). Індикатор – крезоловий червоний.

## Хід роботи

В асиміляційну колбу ємністю 500–700 мл уводять 3 мл 0,001 н розчину  $\text{NaHCO}_3$  і 2 краплини 0,2 % розчину індикатора крезолового червоного. Колбу залишають відкритою на 5 хв для встановлення рівноваги між вмістом  $\text{CO}_2$  у повітрі та розчині.

Далі за шкалою визначають рН розчину  $\text{NaHCO}_3$  (табл. 4.2)

Для визначення площі листка обводять його контур або контури листків на гілочці на кальці, зважують на електронних терезах. Зважують 100  $\text{cm}^2$  кальки та за пропорцією розраховують площу листка:

$$S_{\text{листка}} = \frac{P_{\text{листка}} \cdot 100}{P_{\text{кальки}}},$$

де  $S_{\text{листка}}$  – площа листової пластинки,  $\text{cm}^2$ ;  $P_{\text{листка}}$  – маса листка, г;  $P_{\text{кальки}}$  – маса зразкового аркуша кальки, г; 100 – площа зразкового аркуша кальки,  $\text{cm}^2$ .

У колбу приміщують гілочку або листок, що прив'язують до скляної палички, яка пропущена через пробку. Попередньо листок або пагін зрізують під водою та зріз обгортають мокрим фільтрувальним папером. Колбу з рослиною щільно закривають пробкою (для герметичності заліплюють пластиліном) і визначають рН.

Колбу на 30 хв ставлять на яскраве світло. Одночасно вимірюють температуру за допомогою термометра, який вставлений у отвір пробки. Через 30 хв знову вимірюють рН розчину в колбі. За таблицею 4.2 визначають початковий вміст  $\text{CO}_2$  у розчині та його кількість після досліду. Розраховують кількість вуглекислого газу, яка використана в процесі фотосинтезу. Далі обчислюють інтенсивність фотосинтезу  $I_{\phi}$  в  $\text{mg CO}_2$  на  $1\text{m}^2$  на год за формулою:

$$I_{\phi} = \frac{A_{\text{CO}_2} \cdot 10000}{S \cdot t},$$

де  $I_{\phi}$  – інтенсивність фотосинтезу,  $\text{mg CO}_2/\text{m}^2 \cdot \text{год}$ ;  $S$  – площа листя пагону,  $\text{cm}^2$ ; 10000 – коефіцієнт переведення  $\text{cm}^2$  у  $\text{m}^2$ ;  $A_{\text{CO}_2}$  – маса вуглекислого газу, що поглинула рослина під час фотосинтезу;  $t$  – час досліду, год.

Таблиця 4.2 – Залежність вмісту CO<sub>2</sub> в 0,001 н NaHCO<sub>3</sub> розчині від температури та pH (мг CO<sub>2</sub> на л)

pH	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	15°	16°	17°	18°	19°	20°
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
7,20	2,69	2,73	2,77	2,80	2,84	2,89	2,93	2,97	3,01	3,05	3,09	3,13	3,17	3,22	3,28	3,33
7,25	2,38	2,42	2,46	2,50	2,53	2,56	2,60	2,63	2,68	2,70	2,73	2,75	2,80	2,85	2,90	2,95
7,30	2,11	2,14	2,17	2,20	2,23	2,27	2,30	2,33	2,37	2,40	2,43	2,46	2,49	2,52	2,55	2,60
7,35	1,86	1,89	1,92	1,95	1,98	2,01	2,04	2,07	2,10	2,12	2,15	2,18	2,20	2,23	2,27	2,31
7,40	1,65	1,68	1,70	1,73	1,75	1,78	1,80	1,83	1,86	1,88	1,90	1,92	1,95	1,98	2,02	2,05
7,45	1,46	1,48	1,50	1,53	1,55	1,58	1,60	1,62	1,65	1,67	1,69	1,71	1,73	1,75	1,78	1,81
7,50	1,29	1,31	1,33	1,35	1,37	1,40	1,42	1,44	1,46	1,48	1,50	1,52	1,54	1,56	1,58	1,60
7,55	1,14	1,16	1,18	1,20	1,22	1,24	1,25	1,27	1,28	1,30	1,32	1,33	1,35	1,37	1,40	1,42
7,60	1,01	1,03	1,04	1,06	1,08	1,10	1,12	1,13	1,14	1,16	1,17	1,18	1,20	1,22	1,24	1,26
7,65	0,89	0,91	0,92	0,94	0,95	0,96	0,98	0,99	1,00	1,02	1,03	1,05	1,06	1,08	1,10	1,12
7,70	0,79	0,80	0,81	0,82	0,84	0,85	0,86	0,88	0,89	0,90	0,91	0,92	0,94	0,95	0,97	0,98
7,75	0,70	0,71	0,72	0,73	0,74	0,75	0,76	0,77	0,79	0,80	0,81	0,82	0,83	0,84	0,86	0,87
7,80	0,61	0,62	0,63	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68	0,69	0,70	0,71	0,72	0,73	0,75	0,76	0,77
7,85	0,54	0,55	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,60	0,61	0,62	0,63	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68
7,90	0,48	0,49	0,49	0,50	0,51	0,52	0,53	0,53	0,54	0,55	0,56	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60
7,95	0,42	0,43	0,44	0,44	0,45	0,46	0,47	0,48	0,48	0,49	0,50	0,51	0,51	0,52	0,52	0,53
8,00	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40	0,41	0,41	0,42	0,43	0,43	0,44	0,44	0,45	0,45	0,46	0,46
8,05	0,33	0,34	0,34	0,35	0,35	0,36	0,36	0,37	0,37	0,37	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40	0,40
8,10	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32	0,33	0,34	0,34	0,35	0,35	0,36	0,36	0,37	0,37
8,15	0,26	0,26	0,27	0,27	0,28	0,28	0,29	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32	0,33	0,33
8,20	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,25	0,25	0,26	0,26	0,26	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,29
8,25	0,20	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,25	0,25	0,25
8,30	0,18	0,18	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22
8,35	0,16	0,16	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20
8,40	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,17	0,17	0,17	0,17	0,18
8,45	0,13	0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
8,50	0,11	0,11	0,11	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13	0,14	0,14

Для визначення чистого фотосинтезу враховують кількість CO<sub>2</sub>, яка виділяється рослиною у результаті дихання за 30 хв. Із цією метою колбу накривають темною тканиною та витримують протягом ще 30 хв, після чого знову вимірюють рН розчину та повторюють обчислення, як у попередньому варіанті досліду.

### ***Приготування реактивів***

#### **Реактив № 1**

0,001 н розчин бікарбонату натрію NaHCO<sub>3</sub> – 0,084 г (бікарбонат натрію розчиняють у дистильованій воді та доводять об'єм розчину до 1 л).

#### **Реактив № 2**

Стандартна шкала для рН 7,0–9,0 – з перекристалізованих компонентів готують наступні розчини: *a* – 1/20 М (0,05 М) розчин бури (19,108 г Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O); *b* – 1/5 М (0,2 М) розчин борної кислоти + 1/20 М (0,05 М) розчин NaCl (12,45 г H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> + 2,925 г NaCl розчиняють у 1 л H<sub>2</sub>O). Розчини змішують у пропорціях, указаних у табл. 1.1 та додають у кожен пробірку 3 краплини індикатору крезолового червоного та кристалик тимолу.

#### **Реактив № 3**

0,2 % розчину індикатору кризоловий червоний – розчиняють 0,2 г барвника у 50 мл етилового спирту і доводять до 100 мл дистильованою водою.

### **3 Фотометричне визначення інтенсивності фотосинтезу за накопиченням органічних речовин**

Під час спалення рослинного матеріалу у хромовій суміші відбувається окислення вуглеводів за схемою:



У результаті цього процесу іони Cr<sup>+6</sup> жовтого кольору відновлюються до іонів Cr<sup>+3</sup> зеленого кольору. Кількість іонів Cr<sup>+3</sup> знаходиться у лінійній залежності від кількості окисленої глюкози. Аналіз вмісту вуглецю заснований на визначенні змін оптичної густини розчину хромової суміші після спалення в ній рослинного матеріалу. Вимірювання проводять на фотоелектроколориметрі або спектрофотометрі за довжини хвилі 528–590 нм (жовтий світлофільтр). Для

визначення кількості вуглецю у рослинному матеріалі використовують калібрувальний графік.

### Хід роботи

Відібрати пробу з половинки листка, як у попередній роботі (вміст вуглецю має становити 2–4,5 мг). Перенести у пробірку, прилити 10 мл хромової суміші. Отриману реакційну суміш кип'ятять протягом 5 хв. Після повного охолодження розчин з пробірки кількісно переносять у мірну колбу на 50 мл і доводять водою до мітки, перемішують. Оптичну густина хромової суміші визначають за допомогою фото- колориметру або спектрофотометру.

Як контроль використовують чисту хромову суміш, оптичну густина якої вимірюють на фотоколориметрі. Через 2–3 год визначення вмісту вуглецю повторюють, відбираючи проби з другої половинки листка.

За оптичною густиною чистої хромової суміші ( $D_{\text{контр.}}$ ) та хромової суміші після спалення листків ( $D_{\text{досл.}}$ ) обчислюють кількість органічної речовини у пробі в перерахунку на глюкозу. Попередньо обчислюється коефіцієнт  $K_{\text{гг}}$  за котангенсом кута нахилу калібрувального графіка ( $\text{ctg } \alpha$ ) для отриманої оптичної густини.

$$M_{\text{гг}} = K_{\text{гг}} (D_{\text{досл.}} - D_{\text{контр.}}),$$

Ураховуючи співвідношення атомних (або молекулярних мас), можна перерахувати вміст органічної речовини на вуглець ( $M_{\text{C}}$ ) або вуглекислий газ ( $M_{\text{CO}_2}$ ):

$$M_{\text{C}} = 0,4 \cdot M_{\text{гг}} = 0,4 \cdot K_{\text{гг}} (D_{\text{досл.}} - D_{\text{контр.}}),$$

$$M_{\text{C}} = 1,47 \cdot M_{\text{гг}} = 1,47 \cdot K_{\text{гг}} (D_{\text{досл.}} - D_{\text{контр.}}),$$

де  $M_{\text{гг}}$  – кількість глюкози, яка відповідає вмісту органічної речовини у рослинній пробі, мг; 0,4 та 1,47 – коефіцієнти перерахунку відповідно на вуглець і діоксид вуглецю.

Далі проводять перерахунок кількості вуглецю та поглинутого вуглекислого газу (мг) на одиницю сирої маси (1 г) або на одиницю площі листка (1 см<sup>2</sup>, 1 дм<sup>2</sup>). Кількість вуглецю органічної речовини (в мг), яка

міститься у одиниці площі листка, розраховують за формулою:

$$X = \frac{0,4 \cdot M_{\text{глі}}}{S},$$

Для обчислення інтенсивності фотосинтезу розраховують різницю між вмістом вуглецю до витримки рослини на освітленні ( $X_1$ ) та після зняття досліду ( $X_2$ ), віднесена до часу досліду:

$$I = \frac{X_2 - X_1}{t},$$

де  $X_1$  – вміст вуглецю до експозиції, мг;  $X_2$  – вміст вуглецю після експозиції, мг;  $T$  – час експозиції, год.

### ***Побудова калібрувального графіка***

Для визначення кількості вуглецю у рослинному матеріалі будують калібрувальний графік. Для цього в одинадцять пробірок приливають 0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9 і 1,0 мл стандартного розчину глюкози, 10 мл хромової суміші.

Реакційну суміш кип'ячать протягом 5 хв на піщаній бані. Після охолодження розчини з пробірок кількісно переносяться у мірні колби на 50 мл, доводять до мітки водою, перемішують і вимірюють оптичну густину на фотоелектроколориметрі (кювета завтовшки 3 см).

За отриманими точками залежності оптичної густини від кількості глюкози будують калібрувальний графік. За котангенсом кута нахилу калібрувального графіка ( $\text{ctg } \alpha$ ) знаходять коефіцієнт ( $K_{\text{глі}}$ ) для глюкози (він дорівнює котангенсу кута  $\alpha$ ). Цей показник знаходять як відношення  $a/b$ .

***Приготування розчину біхромату калію.*** Для приготування 1 л 0,4 н розчину біхромату калію ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) наважку (19,614 г) розчиняють у мірній колбі на 1 л приблизно у 500 мл води. Як каталізатор додають 10 мл 10 % розчину сірчанокислої міді ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), об'єм розчину доводять до мітки водою. Хромову суміш 0,2 н концентрації, необхідну для фотоколориметричного визначення вуглецю, отримують розведенням 0,4 н розчину  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  концентрованою  $\text{H}_2\text{SO}_4$  у співвідношенні 1:1.



#### **4 Визначення інтенсивності фотосинтезу методом асиміляційної колби за Л. А. Івановим і Н. Л. Коссовичем**

Метод заснований на визначенні кількості диоксиду вуглецю, який поглинається листям під час фотосинтезу. Пагін або окремих листок приміщують у повернуту догори дном скляну колбу та ставлять на світло на певний час. Частина диоксиду вуглецю використовується у процесі фотосинтезу. Далі  $\text{CO}_2$ , який не був поглинутий листям, зв'язують за допомогою надлишку розчину лугу, а залишок лугу титрують соляною або щавлевою кислотою. Так само вчиняють з контрольною колбою (без рослини) і зіставляють результати титрування.

Якщо дослідна та контрольна колби мають однаковий об'єм і в обидві колби була налита однакова кількість розчину  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ , то кількість диоксиду вуглецю, який поглинула рослина, буде прямо пропорційною різниці результатів титрування вмісту цих колб. Реакції поглинання диоксиду вуглецю та титрування ідуть за рівняннями:



Із цих рівнянь витікає, що 1 моль  $\text{HCl}$  відповідає 0,5 моля  $\text{CO}_2$ , або  $44/2 = 22$  г  $\text{CO}_2$ .

#### **Хід роботи**

Взяти дві однакові колби та обгорнути їхні горла папером або серветками. Витримати колби в однакових умовах відкритими протягом 20–30 хв для заповнення повітрям. Вставити у них пробки з отворами, закритими скляними пробками, не допускаючи нагрівання колб від дотику рук.

Зрізати гілку або окремих листок, оновити зріз під водою та поставити в заповнену кип'яченою водою пробірку, прикріплену до палички, вставленої у пробку. Швидко вставити пробку з рослиною у асиміляційну колбу та виставити її на світло. Під час досліду потрібно стежити за температурою у колбі. У разі її перегріву колбу охолоджують водою.

Тривалість досліду повинна бути такою, щоб листки встигли поглинути не більше 25 %  $\text{CO}_2$ , який міститься у колбі (для колб об'ємом 1 л експозиція

становить близько 5 хв, для більшого об'єму – 15–20 хв). Після закінчення досліду видаляють з колби рослину, закривають колбу і через отвір у пробці приливають 20 мл 0,025 Н розчину  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  та 2–3 краплі фенолфталеїну. Те ж саме чинять і з контрольною колбою, у яку не приміщувалася рослина.

Колби з розчином  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  збовтують протягом 20 хв для поглинання диоксиду вуглецю. Далі проводять титрування через отвір у пробці 0,025 н. соляною кислотою до зникнення рожевого забарвлення.

Інтенсивність фотосинтезу обчислюють за формулою:

$$I_{\phi} = \frac{(A - B) \cdot K \cdot 0,55 \cdot 60}{S \cdot t}$$

де  $A$  – кількість  $\text{HCl}$ , витраченої на титрування бариту у дослідній колбі, мл;  $B$  – кількість  $\text{HCl}$ , витраченої на титрування бариту у контрольній колбі, мл;  $K$  – поправка до титру  $\text{HCl}$ ; 0,55 – число мг  $\text{CO}_2$ , яке відповідає 1 мл 0,025 н.  $\text{HCl}$ ;  $S$  – площа листків,  $\text{дм}^2$ ;  $t$  – експозиція, хв; 60 – коефіцієнт перерахунку хвилин у години.

### Завдання до теми

1. Охарактеризуйте принцип методів визначення інтенсивності фотосинтезу, використаний у цій роботі.
2. Назвіть основні етапи виконання роботи. У яких межах має знаходитися кількість органічної речовини у матеріалі?
3. Наведіть методику побудови калібрувального графіка та обчислення результатів дослідів.
4. Подайте схему фотосинтезу.

### Контрольні питання

1. Який показник називають інтенсивністю фотосинтезу? У яких одиницях він вимірюється?
2. Як визначити чистий фотосинтез?
3. Які показники називають видимим і чистим фотосинтезом?
4. Чим відрізняється запропонований метод визначення інтенсивності фотосинтезу від метода Тюріна?

5. Яка різниця між поняттями «продуктивність фотосинтезу» і «інтенсивність фотосинтезу»?
  6. У яких одиницях вимірюється інтенсивність фотосинтезу?
  7. Які речовини є первинними продуктами фотосинтезу?
  8. Які сполуки утворюються у світлових реакціях фотосинтезу, як вони використовуються під час фіксації CO<sub>2</sub>?
  9. Назвіть недоліки визначення інтенсивності фотосинтезу в замкненому просторі.
  10. Які речовини є акцепторами вуглекислоти у рослин?
  11. Як відбувається регенерація рибулозо-1,5-бісфосфату в процесі фотосинтезу?
  12. Чому відбувається знебарвлення кольорового розчину?
- Література:** [1, с. 176–178; 3, с. 289–294; 6, с. 185–189; 8; 9].

### **Лабораторна робота № 5**

**Тема. Визначення продукції та деструкції органічної речовини у водних рослин йодометричним методом Вінклера**

**Мета:** встановити залежність між кількістю вільного CO<sub>2</sub> в середовищі та використанням його для фотосинтезу водними рослинами.

**Обладнання:** водні рослини; колби з широким горлом на 100 мл із притертими пробками; піпетки; бюретка; колби Ейленмейера.

**Реактиви:** розчин MnCl<sub>2</sub>; розчин NaOH + KI; 0,1 Н розчин Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; концентрована соляна або сірчана кислота; 10 % розчин KI; 1 % розчин крохмалю.

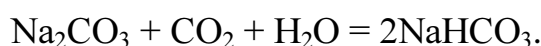
**Навчальні елементи:** гідатофіти, фототрофи, макрофіти.

### **Короткі теоретичні відомості**

Вода та водні живильні розчини відрізняються від повітря тим, що вміст CO<sub>2</sub> в них коливається в широких межах. Наявність у природних водах карбонатних (CO<sup>3-</sup>) і гідрокарбонатних (HCO<sup>3-</sup>) йонів суттєво впливає на кількість у них вільного CO<sub>2</sub>. У воді і розчинах із лужною реакцією (рН > 8)

вільного CO<sub>2</sub> немає.

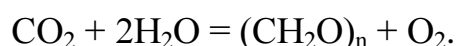
У зв'язку з цим фотосинтетична активність водяних рослин цілком залежить від доступного CO<sub>2</sub>, який значною мірою зумовлює продукційний процес фототрофних організмів. Принцип методу базується на реакції заміщення вільного CO<sub>2</sub> розчином Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> або NaOH відомих концентрацій згідно з реакцією:



За наявності індикатора визначають перехід кислої реакції розчину в слабколужну.

Ідею щодо можливості вимірювання швидкості новоутворення органічної речовини за зміною концентрації кисню в склянках після їхньої експозиції вперше висунув Пюттер в 1908 р. Згодом цей підхід став загальноприйнятим і сьогодні його широко використовують під час визначення продукції макрофітів і фітопланктону.

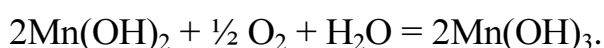
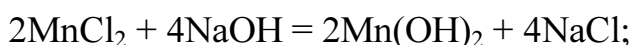
Визначення продукції макрофітів кисневим методом базується на вимірюванні кількості виділеного під час фотосинтезу кисню, яка пов'язана з новоутвореною органічною речовиною прямою залежністю, як це видно із базового рівняння фотосинтезу:



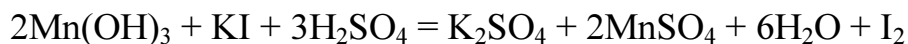
Під час використання цього методу проби досліджуваної води з водними макрофітами в склянках експонують за умов, подібних до природних – «in situ», або за штучного освітлення. Концентрації кисню у воді найчастіше визначають методом Вінклера. Останнім часом широко розповсюдилися також електрохімічні методи визначення кисню у воді.

Йодометричний метод визначення кількості виділеного або поглинутого кисню (метод Вінклера) базується на послідовних хімічних реакціях.

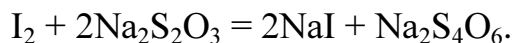
Зв'язування кисню, що міститься в склянці, відбувається шляхом наступних реакцій:



Подальше підкислення за наявності KI призводить до виділення вільного I<sub>2</sub> у кількості, еквівалентній зв'язаному кисню:



Йод, що виділяється, титрують розчином тіосульфату відомої нормальності за наявності крохмалю як індикатора:



Слід зазначити, що йодометричний метод визначення кисню дає відтворювані результати лише під час аналізу порівняно чистих вод, які не містять у великих кількостях нітратів, солей тривалентного заліза, сірководню, а також розчинених органічних сполук.

Окрім того, за методом Вінклера враховують лише кисень, розчинений у воді. Кисень, який залишається у міжклітинних порожнинах і повітряних каналах водних рослин, не враховують.

### **Хід роботи**

Колби з широким горлом на 100 мл з притертими пробками заповнюють відстояною водопровідною водою з постійним вмістом кисню і вносять туди дослідні рослини – не вкоріненні гідатофіти (елодею, наяду, рдест, кушир тощо). Рослини підбирають подібні за зовнішнім виглядом, приблизно однакового розміру, без видимих пошкоджень. Перед зануренням їх в колби, рослини зважують на аналітичних терезах.

Колби закривають так, щоб в них не залишилося пухирців повітря, для цього дають змогу воді деякий час переливатися через край, і експонують їх в оптимальних умовах температури (20–27° С) і освітлення (1800–2000 Лк) для визначення продукції, або в темряві – для визначення деструкції органічної речовини).

Одночасно з дослідними колбами експонують контрольні колби з водою або з досліджуваними рідинами (залежно від схеми досліду), але без рослин. Повторність має бути трикратною. Щоб визначити продукцію, експозиція дорівнює 30–60 хв, для визначення деструкції вона має бути довшою – не менше 120 хв.

Після закінчення експозиції рослини із колб обережно виймають і довгою піпеткою вводять на дно колби по 1 мл 40 %  $\text{MnCl}_2$  і 1 мл 30 %  $\text{NaOH}$  (з додаванням 10 г  $\text{KIO}_3$  на 100 мл розчину), не струшуючи. Піпетку кожний раз занурюють спочатку до половини колби, а потім, у міру того як розчин виливається, піднімають її угору. Кількість води, яка витискається цими розчинами (2 мл), слід урахувати під час розрахунків вмісту кисню.

Знову ретельно закривають колбу, стежачи, щоб не було пухирців повітря. Розчин енергійно збовтують, перевертаючи колбу, потім протягом 5–10 хв дають відстоятися білому осаді (осад, що утворився, має опуститися на дно), після чого додають 2 мл концентрованої  $\text{HCl}$ , закривають і знову сильно струшують до повного розчинення осаді. Розчин буріє від йоду, що звільнюється. Кількість рідини, яка витікає під час додавання кислоти, під час розрахунків не враховують, оскільки кисню в ній уже немає, він весь зафіксований в осаді.

У колби Ерленмейєра відбирають 25–30 мл розчину і титрують 0,1 н розчином тіосульфату натрію майже до знебарвлення. Потім додають кілька краплин 1 % розчину крохмалю і титрують до зникнення синього забарвлення. З'ясовано, що 1 мл 0,1 Н тіосульфату відповідає 0,8 мг або 0,558 мл кисню за температури  $0^\circ \text{C}$  і тиску 760 мм рт. ст. Результати титрування трьох проб усереднюють.

Концентрації кисню у склянках обчислюють за формулою:

$$X_{\text{O}_2} = \frac{0,08 \cdot K \cdot a \cdot 1000}{V},$$

де  $K$  – поправка до титру;  $a$  – кількість тіосульфату, що витратили на титрування проби, мл;  $V$  – об'єм проби, що титрують.

Оскільки титр розчину тіосульфату з часом змінюється, потрібно вводити поправку ( $K$ ). Для цього в окрему колбу додають 2 мл 10 %  $\text{KI}$ , 3 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$  і 20 мл точно виготовленого розчину 0,02 н  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ . Через 2–3 хв цю суміш титрують розчином тіосульфату за наявності крохмалю як індикатора. Поправку до титру тіосульфату розраховують за формулою:

$$K = \frac{20}{V},$$

де 20 – об'єм розчину  $K_2CrO_4$ , мл;  $V$  – об'єм розчину тіосульфату, яку витратили на титрування, мл.

Валову ( $P_g$ ) і чисту ( $P_n$ ) продукції а також деструкцію ( $D$ ) розраховують за формулами:

$$P_g = \frac{C_c - C_n}{t},$$

$$P_g = \frac{C_c - C_m}{t},$$

$$P_g = \frac{C_n - C_m}{t},$$

де  $C_n$  – початкова концентрація кисню в склянці;  $C_c$  – кінцева концентрація кисню в світловій склянці після експозиції;  $C_m$  – кінцева концентрація кисню в темновій склянці після експозиції;  $D$  – концентрація кисню в темновій склянці після експозиції;  $T$  – час експозиції, год.

### ***Приготування реактивів***

#### **Реактив № 1**

Розчин  $MnCl_2$ : 40 мг  $MnCl_2$  (або еквівалентну кількість  $MnSO_4$ ) розчиняють у дистильованій воді та доводять об'єм розчину до 100 мл. У разі появи каламуті розчин треба профільтрувати. Сіль марганцю не має містити заліза.

#### **Реактив № 2**

Розчин  $NaOH + KI$ : 33 г  $NaOH$  (або еквівалентну кількість  $KOH$ ) розчиняють у дистильованій воді, додають 20 г  $KI$  і доводять розчин до 100 мл. Якщо розчин мутний, його слід профільтрувати крізь скляний фільтр або скляну вату.

#### **Реактив № 3**

0,1 н розчин  $Na_2S_2O_3$  (тіосульфат натрію): готують з фіксаналу на воді, звільненій від  $CO_2$  кип'ятінням, і зберігають у темній склянці. Для кращого

зберігання в розчин додають кілька мл ксилолу або толуолу.

#### **Реактив № 4**

1 % розчин крохмалю: 1 г крохмалю розчиняють у кількох мл холодної води і вливають отриманий розчин в 100 мл води, що кипить. Кип'ятять кілька хвилин, доки розчин не стане прозорим.

#### **Завдання до теми**

1. У якій формі водянні рослини асимілюють  $\text{CO}_2$  із води?
2. Чи варто добавляти в акваріум газовану воду столового призначення?
3. Чи можна використати для вищенаведеної роботи інші індикатори?
4. Чому під час стояння відтитрованих проб рожеве забарвлення виникає знову?
5. Як можна збільшити вміст  $\text{CO}_2$  у дослідній воді?
6. Які переваги та недоліки має цей метод?
7. Як впливають на вміст  $\text{CO}_2$  у воді зміни рН?
8. Чому під час визначення фотосинтезу за змінами  $\text{CO}_2$  використовують  $^{14}\text{C}$  мічені за вуглецем сполуки?

#### **Контрольні питання**

1. Наведіть особливості визначення фотосинтезу у водних рослин. Які показники характеризують цей процес?
2. Як можна визначити концентрацію кисню у воді? Надайте характеристику хімічному методу визначення.
3. Охарактеризуйте полеграфічний метод визначення кисню у водному середовищі. Який з методів точніший і чому?
4. Що таке асиміляція та деструкція? Як визначаються ці показники за методом Вінклера?
5. Для чого обчислюється поправка до титру? Наведіть методику визначення цього показника.

**Література:** [1, с. 193–197; 2, с. 48–53; 3, с. 88–94; 6, с. 305–308; 7, с. 186–187; 8; 9].



## Лабораторна робота № 6

**Тема.** Дослідження властивостей нуклеопротейдів і нуклеотидів

**Мета:** дослідити властивості нуклеопротейдів і нуклеотидів.

**Обладнання та реактиви:** колба, зворотний холодильник, водяна лазня, воронка, паперовий фільтр, пробірки, терези, піпетка мірка на 1 мл, пекарські дріжджі; сірчана кислота (10 % водний розчин); гідроксид натрію (10 % водний розчин); гідроксид натрію (30 % водний розчин); сульфат купруму (1 % водний розчин); сульфат купруму (7 % водний розчин); аміак (концентрований розчин); молібденова рідина,  $\text{HClO}_4$  – 0,2 н. і 0,5 н. розчини.

**Навчальні елементи:** нуклеопротейд, нуклеозид, пурини, піримідини.

### Короткі теоретичні відомості

**1. Нуклеїнові кислоти** – це біополімери, мономерними ланками яких є нуклеотиди. У живих організмах нуклеїнові кислоти належать до складу нуклеопротейдів. Нуклеопротейди – комплекси білка, які є складовими елементами ядер живих клітин і вірусів. Зв'язок білка, який має основні властивості, з молекулами нуклеїнової кислоти (НК) відбувається завдяки солеподібним і водневим зв'язкам і легко руйнується шляхом солевої коагуляції. У результаті цього НК можуть бути виділені у чистому вигляді.

**Нуклеотидами** називають природні чи синтетичні сполуки, у яких гідроксили вуглеводного залишку етерифіковані однією або декількома фосфатними групами.

**Нуклеозиди** – природні чи синтетичні сполуки, молекули яких складаються з пуринової чи піримідинової основи, зв'язаної N-глікозидним зв'язком з залишком D-рибози чи 2-дезоксид-D-рибози. Важливе значення у встановленні будови НК має реакція гідролізу, яка може відбуватися відповідно до наведеної схеми:

**Нуклеопротейд → Нуклеїнова кислота (+ Білок) → Нуклеотид →**

**Нуклеозид (+ $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) → Пурини + Піримідини + Пентози**

Молекули НК усіх типів живих організмів – це довгі нерозгалужені полімери нуклеотидів. Значення містка між нуклеотидами виконує 3,5–

фосфодієфірний зв'язок, який поєднує 5-фосфатний залишок одного нуклеотиду і 3-гідроксильний залишок вуглеводної частини наступного ланцюга. Тому ланцюг є полярним. Цей тип зв'язку відбиває «первинну структуру» нуклеїнових кислот. Нуклеїнові кислоти класифікують на 2 типи:

1 – дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК), з яких при повному гідролізі можна виділити аденін, гуанін, цитозин, тимін, дезоксирибозу і фосфорну кислоту;

2 – рибонуклеїнові кислоти (РНК), які гідролізуються до аденіну, гуаніну, цитозину, урацилу, рибози и фосфорної кислоти. Нуклеїнові кислоти у клітині знаходяться у вигляді нуклеопротейдних комплексів, які розглядаються як складні білки, простетичною групою яких є нуклеїнові кислоти.

## **2 Обмін інформацією. Кількісне визначення сумарного вмісту нуклеїнових кислот (за О. С. Спіріним)**

Спадкова інформація зберігається в молекулах ДНК у вигляді генетичного коду – послідовності триплетів нуклеотидів. Ця інформація використовується для підтримки структурно-функціональної організації клітин і їх тривалого стабільного існування як системи. Інформація переписується з ДНК на молекули РНК, які забезпечують синтез необхідних структурних білків і ферментів. Утворювані білки забезпечують прояв певних ознак і властивостей клітин. Іншими словами, потік інформації в клітинах направлений від ДНК до ознаки:

**ДНК ↔ РНК → білок → ознака.**

Перетворення і передача інформації забезпечується процесами транскрипції, трансляції і експресії.

Окрім цього, життя пов'язане зі зберіганням і передачею потоку інформації в клітинних поколіннях і поколіннях організмів. Отже, ще один інформаційний потік направлений від ДНК однієї клітини до ДНК дочірньої клітини. Цей потік інформації пов'язаний з процесом розмноження. Він забезпечується реплікацією молекул ДНК материнської клітини, утворенням хромосом, процесом рівномірного розподілу спадкового матеріалу між

дочірніми клітинами під час мітозу. Цей потік інформації забезпечує відтворення і тривале існування популяцій клітин.

Методи кількісного визначення нуклеїнових кислот, ґрунтуються на спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці спектру, відрізняються високою чутливістю і простотою проведення аналізу. Необхідним етапом різних методів спектрофотометричного визначення нуклеїнових кислот є їх екстракція із біологічного матеріалу, спряжена з гідролізом полінуклеотидів. У зв'язку з цим треба мати на увазі, що із досліджуваного матеріалу спочатку необхідно вилучити вільні нуклеотиди. В основу методу покладено екстракцію їх з біологічного матеріалу гарячою надхлорною кислотою з подальшим визначенням поглинання екстрактами в ультрафіолетовій області спектру при 270 і 290 нм.

### **Хід роботи**

Для якісного аналізу хімічного складу нуклеопротейдів використовують гідролізат дріжджів як об'єкт, багатий на нуклеопротейди. За часткового гідролізу нуклеопротейди розпадаються на білок (протаміни чи гістони) і нуклеїнові кислоти. За повного гідролізу нуклеопротейдів можуть бути виявлені: поліпептиди (біуретова реакція), пуринові основи (дають специфічну реакцію із залишками солей срібла); фосфорну кислоту виявляють молібдатом амонію, рибозу чи дезоксирибозу – за реакції «срібного дзеркала», з реактивом Фелінга чи пробою Тромера.

**1 Проведення аналізу нуклеїнових кислот складається з кількох етапів:**

1. Проведення гідролізу: у колбу вносять 0,5 г пекарських дріжджів, приливають 4 мл 10 % розчину сульфатної кислоти і кип'ятять на водяній бані годину. Колбу охолоджують і вміст фільтрують через складчастий фільтр. Фільтрат ділять на 4 частини.

2. Проведення біуретової реакції: до 0,5 мл гідролізату додають 10 крапель розчину гідроксиду натрію (10 %) до лужного середовища і 2 краплі розчину сульфату купруму. Аналітичний ефект: суміш забарвлюється у

фіолетовий колір.

3. Проведення проби Тромера на рибозу та дезоксирибозу: до 0,5 мл гідролізату 10 крапель розчину гідроксиду натрію (30 %) і 2–3 краплі розчину сульфату купруму (7 %). Суміш перемішують і нагрівають. Аналітичний ефект: через 3–5 хв утворюється жовтий осад сполук купруму (I).

4. Проведення реакції на фосфорну кислоту: до 20 мл молібденової рідини додають 3–4 краплі гідролізату та кип'ятять на спиртівці. Аналітичний ефект: через 3–5 хв випадає лимонно-жовтий осад, який утворює лимонно-жовту суміш.

## **2 Кількісне визначення сумарного вмісту нуклеїнових кислот**

Подрібнену на холоді наважку тканини (100–200 мг) поміщають у центрифужну пробірку з 5–10 мл охолодженого 0,2 н. розчину надхлорної кислоти. Вміст пробірки ретельно перемішують і центрифугують на холоді (3000 г, 10 хв). Супернатант відкидають, а осад ще раз промивають надхлорною кислотою. Така попередня обробка матеріалу необхідна для видалення кислоторозчинних нуклеотидів. Після видалення супернатанту до осаду додають 5–10 мл 0,5 н розчину  $\text{HClO}_4$  і, заклавши пробірки корками з повітряним холодильником, нагрівають їх у киплячій водяній бані протягом 30 хв. Ця процедура забезпечує кількісну екстракцію нуклеїнових кислот з досліджуваного матеріалу та їх кислотний гідроліз до розчинних фрагментів. Гідролізати охолоджують і центрифугують. Осад ще раз піддають екстракції 0,5 н  $\text{HClO}_4$ . Гідролізати об'єднують, і визначають величину поглинання на СФ-46 при 270 і 290 нм проти контрольної проби (0,5 н.  $\text{HClO}_4$ ). За необхідності гідролізати розводять тим же розчином (0,5 н  $\text{HClO}_4$ ).

Розраховують вміст фосфору нуклеїнових кислот в 1 мл досліджуваного розчину за формулою:

$$C_{\text{мкг Фн}} = (D_{270} - D_{290}) / 0,19,$$

де 0,19 – значення  $\Delta D$  ( $D_{270} - D_{290}$ ), яке має гідролізат нуклеїнових кислот, що містить 1 мкг нуклеїнового фосфору в 1 мл розчину. У подальших розрахунках

ураховують загальний об'єм гідролізату і розведення. Для перерахунку кількості фосфору в нуклеїнових кислотах на кількість нуклеїнових кислот користуються середнім коефіцієнтом 10,3:

$$C_{\text{мкгНК}} = C_{\text{мкг Фн}} \cdot 10,3.$$

Рекомендується проводити додаткові визначення оптичної густини при 260 нм; оптична густина при 260 і 270 нм має відрізнятися не більше ніж на  $\pm 15\%$

### Завдання до теми

1. Отримані результати подати у вигляді таблиці:

Реагент	Біуретова реакція	Проба Тромера	Молібденова рідина
Аналітичний ефект			

2. Провести розрахунки.

3. Зробити висновки.

### Контрольні питання

1. Дайте визначення поняттям: нуклеопротейди, нуклеїнові кислоти, нуклеотиди, нуклеозиди, азотисті основи.

2. Напишіть структурні формули пуринових і піримідинових основ.

3. Дайте характеристику білкам, що утворюють комплекси з нуклеїновими кислотами.

4. У чому полягає принцип методу якісного аналізу хімічного складу нуклеопротейдів?

5. Які якісні реакції використовують для дослідження властивостей нуклеотидів і нуклеопротейдів?

**Література:** [1, с. 342–346; 3, с. 256–258; 4, с. 459–461; 5, с. 1–35; 6, с. 354–358; 7, с. 381–382; 8; 9].

## **2 КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ ЗНАНЬ СТУДЕНТІВ**

Контроль знань і умінь студентів (поточний і підсумковий) з навчальної дисципліни «Основи фізико-хімічної біології» здійснюють згідно з кредитно-модульною системою організації навчального процесу. Рейтинг студента з засвоєння навчальної дисципліни визначається за 100-бальною шкалою. Він складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої відводиться 70 балів, і рейтингу з атестації (іспиту) – 30 балів. На лабораторних заняттях кожен студент з кожної теми виконує індивідуальні завдання. Рівень знань оцінюється так:

### **«Відмінно»**

Студент дає вичерпні, обґрунтовані, теоретично і практично правильні відповіді не менш ніж на 90 % запитань, розв'язання задач і практичні справи правильні, демонструє знання підручників, посібників, інструкцій, проводить узагальнення і висновки, акуратно оформляє завдання, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем навчального курсу.

### **«Добре»**

Студент володіє знаннями матеріалу, але допускає незначні помилки у формуванні термінів, категорій і розрахунків, проте за допомогою викладача швидко орієнтується і знаходить правильні відповіді, був присутній на лекціях, має конспект лекцій чи реферати з основних тем навчального курсу.

### **«Задовільно»**

Студент дає правильну відповідь не менше ніж на 60 % питань, або на всі запитання дає недостатньо обґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки, які виправляє за допомогою викладача. При цьому враховується наявність конспекту за темою завдань і самостійність.

### **«Незадовільно з можливістю повторного складання»**

Студент дає правильну відповідь не менше ніж на 35 % питань, або на всі запитання дає необґрунтовані, невичерпні відповіді, допускає грубі помилки. Має неповний конспект лекцій.

### **Підсумкова (загальна оцінка) курсу навчальної дисципліни**

Є сумою рейтингових оцінок (балів), одержаних за окремі оцінювані форми навчальної діяльності: поточне та підсумкове тестування рівня засвоєності теоретичного матеріалу під час аудиторних занять і самостійної роботи (модульний контроль); оцінка (бали) за виконання лабораторних досліджень.

Підсумкова оцінка виставляється після повного вивчення навчальної дисципліни, що виводиться як сума проміжних оцінок за змістовні модулі.

Остаточна оцінка рівня знань складається з рейтингу з навчальної роботи, для оцінювання якої відводиться 70 балів, і рейтингу з атестації (іспиту) – 30 балів.

<b>Сума балів за всі види навчальної діяльності</b>	<b>Оцінка ECTS</b>	<b>Оцінка за національною шкалою для іспиту</b>
90–100	A	Відмінно
82–89	B	Добре
74–81	C	
64–73	D	Задовільно
60–63	E	
35–59	FX	Незадовільно з можливістю повторного складання
0–34	F	Незадовільно з обов'язковим повторним вивченням навчальної дисципліни

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

### Основна

1. Сиволоб А. В. Молекулярна біологія / А. В. Сиволоб. – Київ : Видавничо- поліграфічний центр «Київський університет», 2008. – 384 с.
2. Великов В. А. Молекулярная биология. Практическое руководство В. А. Великов – Саратов : Саратовский источник, 2013. – 84 с.
3. Молекулярная біологія : структура и биосинтез нуклеиновых кислот. / Под ред. акад. А. С. Спирина. – Москва : Высшая школа, 1990. – 350 с.
4. Тоцький В. М. Генетика. / В. М. Тоцький – Одеса : Астропринт, 1998. – 476 с.

### Додаткова

5. Ушакова Г. О. Сучасні методи клінічної діагностики (ПЛР) / Г. О. Ушакова, М. І. Долженко. – ДНУ, 2003.– С. 1–35.
6. Стент Г. Молекулярная генетика / Г. Стент, Р. Кэлиндар – Москва : Мир, 1981, – 380 с.
7. Миллер Дж. Эксперименты в молекулярной генетике / Дж. Миллер. – Москва : Мир, 1976. – 400 с.

### Інформаційні ресурси

8. Бібліотека ДНУ ім. О. Гончара.
9. Internet мережа: [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov), [www.highwire.edu](http://www.highwire.edu)



Методичні вказівки щодо лабораторних робіт з навчальної дисципліни «Основи фізико-хімічної біології» для студентів денної форми навчання зі спеціальності 101 – «Екологія» за освітньо-професійною програмою «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Укладачі: старш. викл. О. О. Никифорова, к. т. н., доц. А. В. Пасенко  
к. т. н., доц.. Т. Ф. Козловська

Відповідальний за випуск зав. кафедри біотехнологій та біоінженерії  
к. х. н., доц. Т. Ф. Козловська

Підп. до др. \_\_\_\_\_ 2018 р. Формат 60x84 1/16. Папір тип. Друк ризографія.  
Ум. друк. арк. \_\_\_\_\_. Наклад \_\_\_\_\_ прим. Зам. № \_\_\_\_\_. Безкоштовно.

Видавничий відділ  
Кременчуцького національного університету  
імені Михайла Остроградського  
вул. Першотравнева 20, м. Кременчук, 39600