

**Східноєвропейський національний університет
імені Лесі Українки
Біологічний факультет
Кафедра ботаніки**

В.О.Голуб, С.М. Голуб, Т.М. Єрмейчук

ФІЗІОЛОГІЯ ТА БІОХІМІЯ РОСЛИН

Лабораторний журнал до виконання лабораторних робіт для студентів заочної форми спеціальностей "Біологія", "Лісове господарство", "Садово-паркове господарство" біологічного факультету

Луцьк 2017

УДК 581.1(072)

ББК 28.57я73-9

Г-38

Рекомендовано до друку науково-методичною радою Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки (протокол № 3 від 15 листопада 2017 р.).

Рецензенти:

Шевчук М.Й. – професор, доктор сільськогосподарських наук, завідувач кафедри лісового та садово-паркового господарства, СНУ імені Лесі Українки

Дмитроца О.Р. –доцент, кандидат біологічних наук, кафедра фізіології людини і тварин, СНУ імені Лесі Українки

Голуб В. О., Голуб С.М., Єрмейчук Т. М.

Г-38 Фізіологія та біохімія рослин: Лабораторний журнал до виконання лабораторних робіт для студентів заочної форми спеціальностей "Біологія", "Лісове господарство", "Садово-паркове господарство" біологічного факультету / Валентина Олександрівна Голуб, Тамара Музаффарівна Єрмейчук – Луцьк : Вежа-Друк, 2017. – 21 с.

В методичних рекомендаціях представлено лабораторні роботи, що висвітлюють основні розділи програми курсу «Фізіологія та біохімія рослин». До кожного заняття подається коротке пояснення теоретичного матеріалу, детально описана методика постановки досліду. Виконання завдань, поставлених у методичних рекомендаціях, допоможе оволодіти студентам сучасними методами науково-дослідної роботи.

Для студентів заочної форм навчання біологічних факультетів університетів.

УДК 581.1(072)

ББК 28.57я73-9

© Голуб В.О., 2017

© Голуб С.М., 2017

© Єрмейчук Т.М, 2017

© Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки, 2017

Зміст

Лабораторна робота №1. Якісне визначення цукрів, жирів та білків у рослинному матеріалі.	4
Лабораторна робота №2. Рослинна клітина як осмотична система. Явище плазмолізу і деплазмолізу. Визначення всисної сили клітин спрощеним методом (за Уршпрунгом)	7
Лабораторна робота №3. Будова та рухи продихів. Визначення показників транспіраційного процесу – інтенсивності та відносної транспірації.....	11
Лабораторна робота № 4. Фізичні та хімічні властивості хлорофілу. Розділення пігментів зеленого листка методом паперової хроматографії	14

Методичні рекомендації розроблені для студентів, які вивчають загальний курс фізіології та біохімії рослин, вони включають лабораторні роботи з усіх основних розділів програми.

Основне завдання видання – познайомити студентів з методами дослідження в області фізіології та біохімії рослин. В посібнику дані теоретичні основи і практичні завдання з основних розділів фізіології рослин: водного обміну, фотосинтезу, дихання, мінерального живлення, росту і розвитку, стійкості рослин.

Студенти знайомляться з показниками стану води у рослині, осмотичними явищами та транспірацією, з пігментами і основними функціями фотосинтетичного апарату, із значенням процесу дихання та альтернативністю дихальних шляхів, вивчають процеси поглинання іонів і їх вплив на стан та функціонування рослинного організму, закономірності росту, адаптивні можливості рослин.

Для кожної роботи дається коротке теоретичне пояснення, перелік матеріалів та обладнання, методика виконання роботи, вказівки по оформленню результатів роботи (форми таблиць, графіків, формули для розрахунків). До кожної роботи подані питання, направлені на осмислення матеріалу.

При виконанні завдань лабораторних робіт записи у зошитах роблять за наступною схемою: 1) назва роботи; 2) мета; 3) обладнання та матеріали; 4) короткі теоретичні відомості; 5) хід роботи; 6) результати; 7) висновки.

Лабораторна робота №1

Тема: Якісне визначення цукрів, жирів та білків у рослинному матеріалі

Мета: Ознайомитись з деякими методами якісного визначення вуглеводів, білків і жирів. Оцінити вміст цих речовин у різних рослинних об'єктах.

Натуральні об'єкти: бульба картоплі, насіння злакових, бобових та олійних культур, плоди винограду, горохове і пшеничне борошно.

Реактиви: 20%-ний розчин HCl, розчин судану III, 10%-ний розчин $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 10%-ний розчин NaOH, 1%-ний розчин CuSO_4 , розчин Фелінга.

Обладнання: пробірки в штативах, хімічні склянки, колби, фарфорові ступки, скальпелі, предметні та покривні скельця, мікроскопи, лійки, колби, фільтрувальний папір, електроплитка.

Теоретичні відомості

У живому рослинному організмі внаслідок обміну речовин безперервно відбувається утворення, перетворення і розклад органічних речовин.

Вуглеводи – найбільш поширені органічні речовини у рослині. Загальна формула $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_n$. Вуглеводи поділяються на прості і складні. Прості вуглеводи, або моноцукри (глюкоза, фруктоза, рибоза та ін.), не гідролізуються. Складні вуглеводи є ди-, три- і полісахаридами (сахароза, рафіноза, крохмаль, клітковина та ін.). Під час гідролізу вони розщеплюються на прості.

Основним запасним вуглеводом є крохмаль, який виявляється за допомогою йоду. У деяких рослин, як запасуючі, відкладаються розчинні цукри. Це редукуючі, тобто такі, що мають вільну альдегідну і кетонну групи цукри, у зв'язку з чим володіють відновною здатністю моно- і дисахариди, а також нередукуючі цукри (сахароза).

Ліпіди – велика група органічних речовин, до складу яких входять жири і ліпоїди. Ліпіди не розчиняються у воді, утворюючи з нею емульсії різної стійкості. Жири є сполуками триатомного спирту гліцерину і жирних кислот. Інтенсивне утворення жирів відбувається під час утворення насіння і плодів. При проростанні насіння жири енергійно розщеплюються.

Білки – це азотовмісні високомолекулярні органічні сполуки, що мають пептидні зв'язки і під час гідролізу розщеплюються до амінокислот. У рослинах багато білка міститься у насінні, особливо бобових та олійних культур.

Хід роботи:

Завдання 1. Провести якісне визначення простих і складних вуглеводів у рослинних тканинах.

а) Виявлення крохмалю.

Зробити тонкі зрізи з насіння бобових, злакових і бульби картоплі. Помістити їх на предметне скло і змочити розчином J в KJ. По інтенсивності синього забарвлення зробити висновок про кількісний вміст крохмалю у різних органах рослин (дати фотографію досліджуваних об'єктів).



б) Виявлення моноцукрів (глюкози, фруктози).

Наважку рослинного матеріалу (2-3г) подрібнити, покласти у пробірку, долити 10 мл води і кип'ятити протягом 5 хв. Після кип'ятіння витяжку профільтрувати і розлити у 2 пробірки. В першу пробірку до витяжки долити однаковий об'єм реактив у Фелінга і нагріти до кипіння. В другу пробірку до фільтрату додати 3-4 краплі 20%-ний НС1 і прокип'ятити протягом 1 хв., щоб гідролізувати сахарозу. Пізніше кислоту в пробірці нейтралізувати содою, долити реактив Фелінга і знову нагріти до кипіння.

В обох пробірках відбувається відновлення оксиду міді (II) до оксиду міді (I) в результаті окиснення гексоз. Оксид міді (I) випадає у вигляді осаду червоного кольору і його кількість свідчить про вміст редуруючих цукрів у досліджуваному матеріалі.

Вміст крохмалю оцінити за інтенсивністю забарвлення (синього), а редууючих цукрів – за кількістю утвореного осаду оксиду міді (I) за 4 – бальною шкалою.

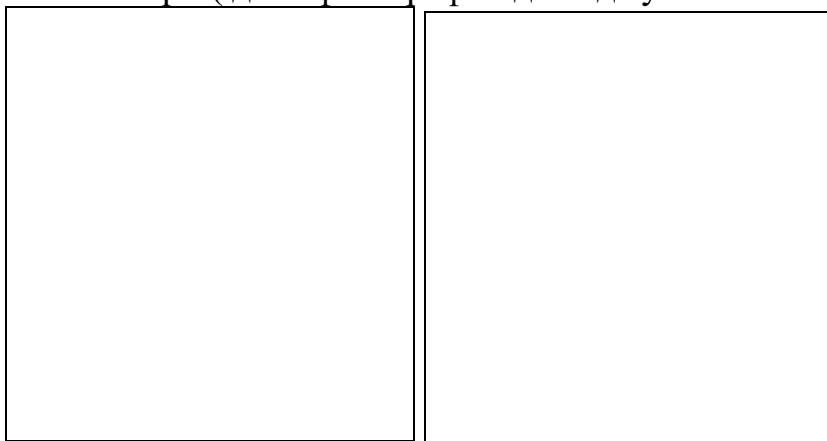
Результати записати у таблицю:

Об'єкт	Вміст речовин у балах		
	Крохмаль	Редууючі цукри	
		до гідролізу	після гідролізу
Яблуко			
Виноград			

Дати фотографію досліджуваних об'єктів

Завдання 2. Провести якісне виявлення жирів у рослинному матеріалі.

Для цього зробити зрізи пророслої насінини кукурудзи і помістити його в краплину розчину судану III на предметне скло і витримати 10-20 хв. Потім зрізи перенести у гліцерин і розглянути під мікроскопом. При наявності жирів рослинний матеріал зафарбовується в яскраво-оранжевий колір. Зробити висновок, в якій частині насінини (зародку, ендоспермі) наявні жири (дати фотографію досліджуваних об'єктів).



Завдання 3. Провести якісне виявлення білка у рослинному матеріалі (біуретова реакція).

Для цього 3 г горохової (пшеничної) муки висипати в колбу, долити 20 мл 10 %-ого розчину $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, закрити колбу корком і збовтувати протягом 3 хв. Потім вміст колби профільтрувати. До одержаного фільтрату додати 5мл 10%-ого розчину NaOH, а потім 1-2 краплини 1%-ний розчину CuSO_4 . Осад гідроксиду міді (II), що при цьому утворюється, при наявності білка розчиняється і забарвлює розчин у фіолетовий колір (дати фотографію досліджуваних об'єктів).

Контрольні питання:

1. На які основні групи поділяються вуглеводи і яке значення вони мають у житті рослин?
2. Що таке відновлюючі (редуючі) цукри? Які вуглеводи належать до цієї групи?
3. Яка хімічна природа рослинних жирів? Яке значення вони мають у житті рослин?
4. Яка хімічна природа білків та яка їх роль у рослинних організмах?

Лабораторна робота №2

Тема: Рослинна клітина як осмотична система. Явище плазмолізу і деплазмолізу. Визначення всисної сили клітин спрощеним методом (за Уршпрунгом)

Мета: З'ясувати ознаки і причини процесів плазмолізу і деплазмолізу.

Натуральні об'єкти: цибулини синьої цибулі.

Реактиви: 8%-ний розчин NaCl.

Обладнання: мікроскопи, предметні та покривні скельця, фільтрувальний папір, скальпелі, скляні палички, хімічні склянки, електроплитка.

Теоретичні відомості

Пограничні мембрани цитоплазми (плазмолема і тонопласт) мають обмежену і вибірккову проникність. Зокрема, через них легко проходять молекули води. Ця властивість називається напівпроникністю, а рух розчинника через напівпроникні мембрани – осмосом. При зануренні клітин в гіпертонічні розчини плазмолітиків виникає осмотичний тиск води з клітин, об'єм вакуолі зменшується. Еластична цитоплазма скорочується вслід за вакуолею, клітинна оболонка втрачає напружений стан, але не скорочується, через це між нею і протопластом виникає простір, заповнений зовнішнім розчином. Такий стан клітини називається **плазмолізом**. При заміні гіпертонічного розчину водою вона починає поступати у вакуолю – проходить **деплазмоліз** клітини, вона починає повертатись у тургорний стан.

Хід роботи:

Завдання 1. Спостереження за неплазмолізованими клітинами епідермісу.

Зробити зріз епідермісу луски цибулі, клітини якого містять антоціан. Помістити зріз в краплю води на предметне скло, накрити покривним і розглянути в мікроскоп. Дати фотографію клітини епідермісу в тургесцентному стані.

Завдання 2. Спостереження за явищем плазмолізу.

Замінити воду на 8%-ний розчин NaCl. Для цього нанести на предметне скло поряд з покривним велику краплю розчину, а воду відсмоктати фільтрувальним папером. Під мікроскопом розглянути мікропрепарат. Коли плазмоліз буде добре помітний, зробити фотографії клітин, показавши ступінь і форму плазмолізу, основні структури клітини та напрям осмотичного току води .

Завдання 3. Спостереження за явищем деплазмолізу.

Ввести під покривне скло мікропрепарату краплю води, відсмоктуючи розчин NaCl фільтрувальним папером. Під мікроскопом спостерігати за змінами, що проходять в клітинах, описати і пояснити їх.

Дати фотографію стану клітин через 5-7 хвилин, позначивши основні структури клітин та напрям осмотичного току води.

Контрольні питання:

1. Чим зумовлюється і яке значення має напівпроникність цитоплазми в житті клітини?
2. Охарактеризуйте напрям градієнту хімічного потенціалу води між клітиною і зовнішнім розчином при плазмолізі та деплазмолізі рослинних клітин.
3. Яка відміна між проникністю клітинної оболонки і цитоплазматичних мембран?
4. Які розчини використовують для спостереження явищ плазмолізу та деплазмолізу? Чому?
5. Чим заповнений простір між клітинною оболонкою і плазмолізованим протопластом? Чому?
6. Чи може проходити плазмоліз у неживих клітинах?

Тема: Визначення всисної сили клітин спрощеним методом (за Уршпрунгом)

Мета: Визначити величину всисної сили клітин рослинного об'єкт., Встановити величину тургорного тиску клітин в залежності від ступеня їх оводненості.

Натуральні об'єкти: бульби картоплі.

Реактиви: 1М розчин NaCl, дистильована вода.

Обладнання: ніж, скальпелі, пінцети, пробірки в штативах, лійки, мірні циліндри (пробірки), олівець по склу, лінійки.

Теоретичні відомості

Поступання води в клітину визначається її всисною силою S , яка залежить від ступеня насичення клітини водою. В стані початкового плазмолізу (повне в'янення) тургорний тиск відсутній і всисна сила клітини дорівнює її осмотичному тиску ($P=0$; $S=\pi^*$). При зануренні клітин у воду тургорний тиск досягає максимальної величини, а всисна сила падає до нуля ($P=\pi^*$, $S=0$).

Визначення всисної сили даним методом здійснюється шляхом підбору ізотонічного розчину, в якому не відбувається ні втрати, ні поглинання води клітинами, і на вимірюванні розмірів шматочків рослинної тканини, занурених у розчини відомої концентрації: при зануренні шматка тканини у розчин, всисна сила якого більша всисної сили клітин, розчин забирає воду від клітин і їх розміри зменшуються. Якщо S клітин більша S розчину, то клітини всмоктують воду і збільшуються. При зрівноваженні всисної сили клітин та розчину розміри клітин не змінюються.

Хід роботи:

Завдання 1. Виготовити розчини NaCl наступних концентрацій: 0,8М; 0,6М; 0,4М; 0,2М; 0,1М об'ємом 10 мл кожний. Налити їх у 5 пробірок, у шосту – 1,0М розчин NaCl, а у сьому – воду.

Зробити таблицю приготування розчинів.

Вирізати з бульби картоплі пластинку товщиною 3-4 мм, а з неї - прямокутник завширшки 20-30 мм і завдовжки 30-70 мм. Розрізати його вздовж на сім однакових смужок шириною 2-3 мм, виміряти їх довжину з точністю до 0,5 мм і занурити одну у воду, а інші - у виготовлені розчини (занурення повинно бути повним). Виготовляти і вимірювати смужки

потрібно швидко, не допускаючи в'янення матеріалу.

Завдання 2. Через 20-30 хв. пінцетом вийняти смужки тканини з розчинів, просушити фільтрувальним папером і повторно виміряти їх довжину.

Записати результати в таблицю:

Концентрація NaCl, моль/л	1,0	0,8	0,6	0,4	0,2	0,1	0
Всисна сила розчину, МПа							
Довжина смужки, мм	вихідна						
	після перебування в розчині						
Різниця, мм							
Тургор							

У другій графі таблиці записати величину всисної сили розчинів, яка чисельно рівна їх осмотичному тиску, обчисленого за формулою Ван-Гоффа: $S = \pi^* = RTCi$. Записати розрахунки всисної сили при різних концентраціях NaCl.

Дані для 5-ї графі знайти як різницю між більшою і меншою величинами, причому збільшення довжини позначити знаком "+", а зменшення – знаком "-". В останній графі відмітити силу тургору тканини (сильний, середній, слабкий) чи його відсутність. Для визначення цього показника смужки розмістити на підставці так, щоб вони наполовину звисали з її краю.

Встановити, який із розчинів є ізотонічним і визначити величину всисної сили клітин досліджуваного об'єкту.

Пояснити причини зміни розмірів смужок у розчинах різної концентрації.

Контрольні питання:

1. Яке рівняння відображає взаємозв'язок між всисною силою клітин, тургорним та осмотичним тиском?
2. Як змінюється величина всисної сили, тургорного і осмотичного тиску при зміні ступеня оводненості рослинної клітини?
3. Яка причина зміни довжини шматочків тканини у розчинах різної концентрації?
4. Яка форма води в клітині – вільна чи зв'язана – визначає величину тургорного тиску?

Лабораторна робота № 3

Тема: Будова та рухи продихів

Мета: Вивчити будову та гідроактивну реакцію продихів. Визначити стан продихів рослин різних видів методом інфільтрації (за Молішем).

Натуральні об'єкти: листки різних видів рослин.

Реактиви: 5%-ний розчин гліцерину, ксилол, бензол, етиловий спирт.

Обладнання: мікроскопи, предметні і покривні скельця, ножиці, пінцети, піпетки, препарувальні голки.

Теоретичні відомості:

Транспірація – фізіологічний процес випаровування води рослиною, яка здійснюється через продихи, які складаються із двох замикаючих клітин та продихової щілини. Гідроактивна реакція полягає у залежності ступеня відкритості продихів від вмісту води в замикаючих клітинах: чим більше води, тим ширша продихова щілина. Для в'яснення руху продихів у роботі використовується плазмолітик II роду гліцерин. В перший момент його гіпертонічний розчин викликає плазмоліз клітин. Якщо це замикаючі клітини продиху, то в результаті падіння тургорного тиску кривизна їх зменшиться і продихова щілина буде замикатися. По мірі проникнення плазмолітика в клітинні вакуолі і зниження градієнта концентрації між клітинним соком і зовнішнім розчином ступінь плазмолізу клітин зменшиться, об'єм їх збільшиться і відповідно стане відкриватись продихова щілина. Якщо замінити розчин плазмолітика водою, то швидко настає максимальне розширення продихової щілини.

Хід роботи:

Завдання 1. Вивчити гідроактивну реакцію продихів. Виготовити мікропрепарати нижнього епідермісу листків традесканції (свіжих і прив'ялих), та помістити його у краплину води. Знайти продихи, описати їх

стан. Відсмоктати воду фільтрувальним папером і замінити її 5%-ним розчином гліцерину. Які рухи продохів спостерігаються? Чому? Які зміни відбуваються через 20 хвилин? Після цього замінити гліцерин водою, для цього з однієї сторони покривного скельця нанести краплину води, а з іншої відсмоктати гліцерин фільтрувальним папером. Описати, як зміниться стан продохів і пояснити ці зміни (дати фото).

Контрольні питання:

1. Які види транспірації Ви знаєте? Поясніть різницю механізмів продишової та кутикулярної транспірацій.
2. Яка будова продишового апарату у однодольних та дводольних рослин?
3. Які види реакцій продохів Ви знаєте? В чому їх суть?
4. Які фактори впливають на відкривання та закривання продохів?

Тема: Визначення показників транспіраційного процесу – інтенсивності та відносної транспірації

Мета: Засвоїти один з простих методів визначення величин транспірації – інтенсивності та відносної транспірації.

Натуральні об'єкти: листки дослідних рослин.

Обладнання: торсійні та технічні ваги, різноважки, чашки Петрі, міліметровий папір, лінійки.

Теоретичні відомості

Транспірація – процес випаровування води наземними частинами рослин, в основному листками. *Інтенсивність транспірації* – це кількість води, що випаровується за одиницю часу одиницею листової поверхні. У більшості рослин величина цього показника вдень становить від 150 до 2500 мг/дм²·год., а вночі – від 20 до 200 мг/дм²·год. Відношення інтенсивності транспірації до інтенсивності евапорації (випаровування з вільної водної поверхні) за тих же умов називається відносною транспірацією. Цей показник характеризує здатність рослин регулювати транспірацію і звичайно становить 0,1-0,5, а у рослин, добре захищених від втрат води, – 0,01.

Найбільш простий і досить точний метод обліку транспірації – метод швидкого зважування. Встановлене цим методом зменшення маси відповідає кількості випарованої води.

Хід роботи:

Завдання 1. Визначити інтенсивність транспірації досліджуваних рослин. Для цього встановити торсійні ваги у вертикальному положенні (по рівню) і перевірити їх нульову точку. Зрізати листок з невеликим відрізком черешка, повільно покласти його на шальку, швидко зважити, записати час зрівноваження ваг та масу листка у таблицю.

Через 3-4 хв. зробити повторне зважування, також відмітити час, записати масу листка. Якщо випаровування іде повільно, можна продовжити експозицію до 5хв.

Визначити площу дослідного листка з точністю до 1мм^2 , використовуючи міліметровий папір. Дані занести у таблицю.

Завдання 2. Визначити відносну транспірацію досліджуваних рослин. Для цього визначити за тих же умов інтенсивність евапорації (вільного випаровування).

Для цього на технічних вагах зважити чашку Петрі, наповнену майже до країв водою кімнатної температури (зовнішня поверхня чашки повинна бути цілком сухою), і через 30 хв. зробити повторне зважування. Визначити кількість випаруваної води, як різницю між результатами першого та другого зважування.

Визначити випаровуючу поверхню, вимірявши внутрішній діаметр чашки, за формулою $S = \pi r^2$ ($S = \pi d^2 / 4$).

Дані занести у таблицю:

Об'єкт	Час зважування		Експозиція, год.	Маса, мг		Випарувано води, мг	Площа, дм^2
	I-го	II-го		I-а	II-а		
Листок Посудина з водою							

Завдання 3. За одержаними даними провести розрахунки.

Інтенсивність транспірації (I_m) обчислити за формулою:

$$I_m = \frac{m}{S \cdot t}$$

де, m – кількість випаруваної води, мг;

S – площа листкової пластинки, дм^2 ;

t – час експозиції, год.;

Інтенсивність евапорації (I_e) обчислити за тією ж формулою:

За одержаними даними розрахувати величину **відносної транспірації**.

$$BT = \frac{Im}{Ie}$$

На основі величини відносної транспірації зробити висновок про регуляцію листком процесу транспірації, враховуючи, що транспіраційний процес вважається низьким, коли Im/Ie є меншим 0,5.

Контрольні питання:

1. Що таке транспірація і яка її роль у житті рослин?
2. Чим транспірація відрізняється від процесу випаровування з вільної водної поверхні?
3. Як пояснити, що при загальній невеликій площі продихових отворів (не більше 1% від площі листків) інтенсивність транспірації при сприятливих умовах водопостачання наближається до інтенсивності евапорації.
4. На якій підставі при розрахунку інтенсивності транспірації можна знехтувати величиною верхньої сторони листка? Для листків якого віку похибка буде найменшою?
5. Що таке інтенсивність транспірації, відносна транспірація, продуктивність транспірації, транспіраційний коефіцієнт? Які з них відображають взаємозв'язок транспіраційного процесу та фотосинтетичної функції?

Лабораторна робота № 4

Тема: Фізичні та хімічні властивості хлорофілу

Мета: Ознайомитися з деякими фізичними та хімічними властивостями хлорофілу, які зумовлені особливостями будови його молекули.

Натуральні об'єкти: листки дослідних рослин.

Реактиви: 20%-ний – розчин NaOH, 20%-ний – розчин HCl, 96%-ного етиловий спирт, бензин, ацетон, $Cu(CH_3COO)_2$.

Обладнання: фарфорові ступки з товчачиками, пробірки в штативах, мірні пробірки, вага, електроплитка, лійки, фільтрувальний папір.

Теоретичні відомості

Наявність у молекулі хлорофілу великої кількості активних хімічних груп зумовлює його значну реакційну здатність. При обробці хлорофілу лугом ефірні зв'язки омилюються, в результаті чого від його молекули відщеплюються спирти фітол і метанол та утворюється лужна сіль хлорофілінової кислоти, яка зберігає зелене забарвлення.

Наявність у порфіриновому ядрі кон'югованої по колу системи десяти подвійних зв'язків і магнію зумовлюють характерний для хлорофілу зелений колір. При дії сильних кислот іон магнію заміщується на два протони, при

цьому утворюється сполука феофітин, яка має бурий колір. Якщо на феофітин подіяти солями міді, то замість двох протонів у ядро входить метал, зворотно відновлюється металоорганічний зв'язок і знову з'являється зелене забарвлення.

Хлорофіл має здатність до флюоресценції. Це свічення речовин під час поглинання ними світла. Світло, що при цьому випромінюється, завжди має більшу довжину хвилі в порівнянні з поглинутим. Для хлорофілу характерна червона флюоресценція.

Хід роботи:

Завдання 1. Вивчити фізичні властивості хлорофілу – розчинність у різних розчинниках та здатність до флюоресценції.

Для цього розтерти 0,5 г зелених листків у фарфоровій ступці в 5мл води, настояти 5 хвилин і профільтрувати. Отримати так само спиртову, ацетонову та бензинову витяжки. Порівняти колір витяжок і зробити висновок про ступінь розчинності хлорофілу в різних розчинниках. Дати фотографії витяжок.

Спиртову витяжку хлорофілу настояти на яскравому світлі 10-15 хвилин. Для спостереження за явищем флюоресценції витяжку розглянути у відбитих променях. Для цього розмістити пробірку з витяжкою пігментів на чорному фоні та розглянути її зі сторони падаючого світла. Відмітити забарвлення розчину і зробити висновок про здатність хлорофілу до флюоресценції.

Завдання 2. Вивчити хімічні властивості хлорофілу – взаємодію з кислотами і лугами та здатність до окисно-відновних реакцій.

До 2 мл спиртової витяжки хлорофілу додати 4 краплини 20%-ного розчину HCl, перемішати. Як і чому змінився колір? Записати рівняння реакції.

До одержаного у попередньому завданні розчину додати кілька кристаликів оцтової кислоти міді і нагріти. Які зміни відбулись? Чому? Записати рівняння реакції.

До 2 мл спиртової витяжки пігментів додати 1 мл 20%-ного розчину лугу, нагріти до кипіння. Які зміни спостерігаються? Записати рівняння реакції.

До охолодженого розчину долити рівну за об'ємом кількість бензину, 2-3 мл води і перемішати. Утворюються два шари: в одному – жовті пігменти, в другому – лужна сіль хлорофілової кислоти і вільні спирти – метиловий і фітол. Зробити фотографію, який характеризує процес розділення пігментів.

Зробити висновки про вивчені фізичні та хімічні властивості хлорофілу.

Контрольні питання:

1. До якого класу органічних сполук відноситься хлорофіл?
2. Які хімічні властивості характерні для хлорофілів?
3. У яких розчинниках найкраще розчиняються хлорофіли?
4. У чому сутність явища флюоресценції хлорофілу?
5. Які спектри поглинання характерні для хлорофілів вищих рослин? Чим відрізняються спектри поглинання хлорофілів а і в?

Тема: Розділення пігментів зеленого листка методом паперової хроматографії

Мета: Одержати паперову хроматограму пластидних пігментів зеленого листка та встановити їх локалізацію на ній.

Натуральні об'єкти: листки різних видів рослин.

Реактиви: ацетон, бензин, CaCO_3 .

Обладнання: фарфорові ступки з товчачиками, ножиці, ваги, хімічні

склянки, мірні циліндри і пробірки, скляні палички, хроматографічний папір.

Теоретичні відомості

В основу методу покладено розподільну хроматографію, яка ґрунтується на різному розподілі компонентів суміші між двома фазами, що не змішуються, при цьому одна з фаз є рухомою, а інша – нерухомою. Твердий носій (хроматографічний папір) утримує на своїй поверхні нерухомих фазу розчинника (найчастіше воду). Інший органічний розчинник, що частково або зовсім не змішується з водою, є рухомих. Суміш речовин, яку треба розділити, наносять на хроматографічний папір і пропускають чистий рухомий розчинник. У зв'язку з тим, що різні речовини суміші мають різні коефіцієнти розподілу, під час хроматографування окремі компоненти захоплюються рухомих розчинником і переносяться з неоднаковою швидкістю. Тому різні речовини досліджуваної суміші відокремлюються одна від одної і розташовуються на різних ділянках у вигляді забарвлених плям.

Розділення пігментів у даній роботі ґрунтується на різній швидкості їх просування на папері з розчинником, що обумовлено різною адсорбцією їх хроматографічним папером і частково різною розчинністю в бензині.

Хід роботи:

Завдання 1. Виготовити ацетонову витяжку пігментів.

Для цього 1,0 г листків подрібнити ножицями, відкинувши крупні жилки і черешки, помістити в ступку, додати на кінчику скальпеля CaCO_3 , розтерти рослинний матеріал з крейдою, доливаючи порціями 10мл ацетону. Настояти витяжку 5хвилин, а потім відфільтрувати.

Завдання 2. З фільтрувального паперу вирізати смужку завширшки 1,5-2,0 см і завдовжки 20 см. Тримаючи паперову смужку вертикально, кінець її опустити на кілька секунд у витяжку пігментів, налиту в склянку. При короткочасному зануренні витяжка піднімається по паперу на 1,0-1,5 см. Потім папір підсушити на повітрі і знову занурити в розчин пігментів. Цю операцію повторити 5-7 разів до того часу поки біля верхньої межі поширення пігментів на папері утвориться яскрава зелена полоса. Після цього нижній кінець паперової смужки на кілька секунд занурити в ацетон, щоб всі пігменти піднялися на 1,0-1,5 см.

Завдання 3. Смужку хроматографічного паперу добре висушити (до зникнення запаху ацетону), помістити її у вертикальному положенні в циліндр, на дно якого налитий бензин, так, щоб розчинник не торкався зони пігментів. Циліндр закрити корком. Через 5-15 хвилин розчинник підніметься на 10-12 см. Суміш пігментів при цьому розділиться на окремі компоненти у вигляді смуг, які розміщуються в такому порядку: перший знизу хлорофіл *b*, над ним хлорофіл *a*, потім ксантофіл і найвище – каротин.

Після закінчення хроматографування хроматограму вийняти з циліндра, висушити, підписати назву пігментів, звернувши увагу на їх забарвлення.

Записати емпіричні формули пігментів, обчислити їх молекулярні маси:

хлорофіл *b*:

хлорофіл *a*:

ксантофіл:

каротин:

Зробити висновок про розділення пігментів зеленого листка методом паперової хроматографії.

Контрольні питання:

1. На чому базується метод паперової хроматографії?
2. В якому співвідношенні у рослинному організмі наявні хлорофіл *a* і *b*?
3. Чому хлорофіл *a* вважається базовим пігментом фотосинтезу? Яка роль хлорофілу *b* у рослинному організмі?
4. Хлорофіли є головними пігментами хлоропласта. У чому роль допоміжних пігментів – каротиноїдів?

Навчально-методичне видання

Голуб Валентина Олександрівна

Голуб Сергій Миколайович

Єрмейчук Тамара Музаффарівна

Фізіологія та біохімія рослин

Лабораторний журнал до виконання лабораторних робіт для студентів заочної форми спеціальностей "Біологія", "Лісове господарство", "Садово-паркове господарство" біологічного факультету

Друкується в авторській редакції

Формат 60x84 ¹/₁₆. Обсяг 3,72 ум. друк. арк., 3,66 обл.-вид. арк.
Наклад 300 пр. Зам. 162. Видавець і виготовлювач – Вежа-Друк
(м. Луцьк, вул. Бойка, 1, тел. (0332) 29-90-65).
Свідоцтво Держ. комітету телебачення та радіомовлення України
ДК № 4607 від 30.08.2013 р.