

Міністерство освіти і науки України

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

Кафедра фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

“ЗАТВЕРДЖУЮ”

Проректор з науково-педагогічної роботи

_____ А.В. Пантелеймонов

Робоча програма навчальної дисципліни

Методи біохімічного аналізу рослин

(назва навчальної дисципліни)

рівень вищої освіти _____ перший (бакалаврський) _____

галузь знань _____ 09 Біологія _____
(шифр і назва)

спеціальність _____ 091 Біологія _____
(шифр і назва)

освітня програма _____ Біологія _____
(шифр і назва)

спеціалізація _____ _____
(шифр і назва)

вид дисципліни _____ за вибором _____
обов'язкова / за вибором

факультет _____ біологічний _____

2019 / 2020 навчальний рік

Програму рекомендовано до затвердження вченою радою факультету

19 червня 2019 року, протокол № 6

РОЗРОБНИКИ ПРОГРАМИ: Тимошенко В.Ф., кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів,
Щоголев А.С., кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

Програму схвалено на засіданні кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів
Протокол від 14 червня 2019 року, № 21

В.о. завідувача кафедри фізіології і біохімії рослин та мікроорганізмів

_____ В.Ф. Тимошенко
(підпис)

Програму погоджено методичною комісією біологічного факультету
Протокол від 18 червня 2019 року, № 11

Голова методичної комісії біологічного факультету

_____ В.В. Мартиненко
(підпис)

ВСТУП

Програма навчальної дисципліни “МЕТОДИ БІОХІМІЧНОГО АНАЛІЗУ РОСЛИН” складена відповідно до освітньо-професійної програми підготовки Біологія

перший (бакалаврський)

(назва рівня вищої освіти)

спеціальності Біологія

спеціалізації _____

1. Опис навчальної дисципліни

1.1. Мета викладання навчальної дисципліни: навчитися проводити науково-дослідницьку роботу.

1.2. Основні завдання вивчення дисципліни: здобути практичні навички аналізу вмісту вуглеводів, азот- та фосфоровмісних сполук.

1.3. Кількість кредитів – 4.

1.4. Загальна кількість годин – 120.

1.5. Характеристика навчальної дисципліни	
Нормативна / <u>за вибором</u>	
Денна форма навчання	Заочна (дистанційна) форма навчання
Рік підготовки	
4-й	4-й
Семестр	
7-й	7-й
Лекції	
0 год.	0 год.
Практичні, семінарські заняття	
0 год.	0 год.
Лабораторні заняття	
24 год.	28 год.
Самостійна робота	
96 год.	92 год.
Індивідуальні завдання	
0 год.	

1.6. Заплановані результати навчання

У результаті вивчення даного курсу студент повинен

знати:

техніку лабораторних робіт, методи аналізу вуглеводів, азот- та фосфоровмісних сполук та як застосовувати оптимальний метод залежно від поставленої задачі

вміти:

вибирати методики для рішення конкретного питання, планувати і готувати експеримент, проводити визначення, аналізувати отримані данні.

2. Тематичний план навчальної дисципліни

Розділ 1. Визначення вмісту вуглеводів.

Тема 1. Техніка лабораторних робіт. Обладнання лабораторії. Класифікація реактивів. Характеристика та отримання дистильованої води. Отримання де мінералізованої води. Хімічний посуд. Перевірка каліброваного посуду. Нагрівальні прилади. Ваги та вивішування. Прилади для вимірювання температури. Подрібнювання реактивів та рослинного матеріалу. Фільтри та фільтрування. Екстракція речовин з рослинного матеріалу. Очистка реактивів. Перекристалізація хімічних реактивів.

Методи вирощування рослин для фізіологічних та біохімічних аналізів. Польовий метод. Вегетаційний метод: піщана та водна культури.

Відбір рослинних проб для хімічного аналізу, фіксація, збереження.

Тема 2. Методи визначення розчинних цукрів. Особливості цукрів та методи їх визначення. Виділення цукрів із рослинного матеріалу, водна та спиртова витяжки. Визначення розчинних та редуруючих цукрів. Визначення загального вмісту цукрів. Визначення глюкози, фруктози.

Тема 3. Аналіз вмісту полімерних вуглеводів. Виділення та очистка крохмалю. Об'ємний та калориметричний методи визначення кількості крохмалю.

Виділення, розчинення та кількісне визначення вмісту клітковини. Виділення та гідроліз фруктозанів. Кількісне визначення вмісту фруктозанів.

Розділ 2. Аналіз азот- та фосфоровмісних сполук

Тема 4. Методи визначення азотовмісних сполук. Визначення азоту по К'ельдалю. Підготовка матеріалу, зпопіння. Визначення білкового і небілкового азоту за методом К'ельдалю. Колориметричний метод визначення білка (по Лоурі). Аналіз білка по Лоурі у модифікації Міллера. Аналіз вмісту амоніаку. Методи визначення кількості нітратів.

Тема 5. Фосфорні сполуки в рослинах, методи їх визначення. Визначення загального фосфору в листках, стеблах, насінні за методом Фіске-Суббароу. Визначення загального вмісту фосфору в рослинному матеріалі. Підготовка матеріалу, зпопіння, забарвлення, колориметрування. Послідовний хід екстракції різних фосфорних сполук з рослинного матеріалу. Визначення кислоторозчинного фосфору в листках, стеблах. Екстракція та кількісне визначення ліпідного фосфору в рослинах. Розрахунки. Визначення фосфору за методом Лоурі і Лопеса.

Методи визначення нуклеїнових кислот. Підготовка зразків до екстракції. Дослідження вмісту РНК і ДНК в листках проростків. Методика виділення ДНК із рослинного матеріалу за допомогою СТАВ-методу. Визначення кількості та оцінювання якості ДНК за допомогою спектрофотометрії. Методика використання мікросателітних маркерів (SSR) для ідентифікації сортів сої. Умови проведення ПЛР. Візуалізація SSR продуктів ампліфікації (електрофорез).

Розділ 3. Методи ензимології рослин.

Тема 6. Основні принципи виділення та очистки ферментів.

Виготовлення екстракту. Подрібнення тканин, склад середовища для виділення білка, центрифугування. Вимірювання швидкості ферментної реакції. Прийоми, використовувані при роботі з білковими розчинами. Концентрування. Видалення солей, зміна буферів. Стабілізуючі фактори для ферментів. Методи очищення ферментів. Детергенти. Осадження білків. Висолювання. Денатурація. Використання хроматографічних колонок.

Тема 7. Дослідження каталітичних властивостей ферментів.

Визначення константи Міхаеліса. Умови проведення ферментативної реакції. Залежність швидкості реакції від температури та рН. Вплив активаторів та інгібіторів на активність ферментів.

3. Структура навчальної дисципліни

Назви модулів і тем	Кількість годин											
	Денна форма						Заочна форма					
	Усього	у тому числі					Усього	у тому числі				
		л	п	лаб	інд	ср		л	п	лаб	інд	ср
Розділ 1. Визначення вмісту вуглеводів												
Тема 1. Техніка лабораторних робіт.	8	0	0	2	0	6	8	0	0	2	0	6
Тема 2. Методи визначення розчинних цукрів.	28	0	0	4	0	24	28	0	0	4	0	24
Тема 3. Аналіз вмісту полімерних вуглеводів.	22	0	0	4	0	18	22	0	0	4	0	18
Разом за розділом 1	58	0	0	10	0	48	58	0	0	10	0	48
Розділ 2. Визначення азот- та фосфоромісних сполук												
Тема 4. Методи визначення азотомісних сполук.	22	0		6	0	16	22	0	0	6	0	16
Тема 5. Фосфорні сполуки в рослинах, методи їх визначення.	14	0	0	2	0	12	14	0	0	2	0	12
Разом за розділом 2	36	0	0	8	0	28	36	0	0	8	0	28
Розділ 3. Методи ензимології рослин.												
Тема 6. Основні принципи виділення та очистки ферментів.	15	0	0	4	0	11	14	0	0	6	0	8
Тема 7. Дослідження каталітичних властивостей ферментів.	11	0	0	2	0	9	12	0	0	4	0	8
Разом за розділом 3	26	0	0	6	0	20	26	0	0	10	0	20
Усього годин	120	0	0	24	0	96	120	0	0	28	0	92

4. Теми семінарських (практичних, лабораторних) занять

Теми лабораторних занять

№ з/п	Назва теми	Кількість годин	
		Денна форма	Заочна форма
1.	Підготовка досліду.	1	1
2.	Польовий та вегетаційний методи вирощування рослин.	1	
3.	Відбір рослинних проб для аналізу, фіксація, збереження	1	1
4.	Виділення розчинних цукрів.	1	1
5.	Методи визначення вмісту редуруючих цукрів з фериціанідом калію	2	2
6.	Визначення вмісту глюкози	1	0
7.	Визначення вмісту фруктози	1	0
8.	Визначення крохмалю об'ємним методом.	1	0
9.	Визначення крохмалю колориметричним методом .	1	3
10.	Виділення та визначення вмісту клітчатки.	1	0
11.	Виділення білкового та небілкового азоту.	1	0
12.	Спопільнення матеріалу за Кьельдалем. Відгонка амоніаку в апараті Моргама. Розрахунки результатів.	2	2
13.	Визначення білка за методом Лоурі.	1	3
14.	Визначення аміаку фотоколориметричним методом і титруванням.	1	0
15.	Визначення вмісту нітратів.	1	0
16.	Визначення загального фосфору	1	0

17.	Аналіз фракційного складу фосфоровмісних сполук. Отримання кислотної витяжки.	1	2
18.	Вивчення мінерального, макроергічного та загального кислото-розчинного фосфору.	1	2
19.	Виділення та визначення ліпідного фосфору.	1	0
20.	Виділення та визначення фосфору нуклеїнових кислот.	1	1
21.	Основні принципи виділення та очистки ферментів	1	6
22.	Дослідження каталітичних властивостей ферментів.	1	4
Разом		24	28

5. Завдання для самостійної роботи

№ з/п	Види, зміст самостійної роботи	Кількість годин	
		Денна форма	Заочна форма
1	Використовуючи джерела зі списку літератури або інтернет-посилання проаналізувати і підготуватись до виконання лабораторних робіт. Техніка лабораторних робіт	6	6
2	Підготовка до виконання лабораторних робіт , скласти схему досліду. Побудувати калібрувальний графік. Методи визначення розчинних цукрів	24	24
3	Аналіз вмісту полімерних вуглеводів. Оформлення результатів та протоколів лабораторних робіт.	18	18
4	Підготовка до виконання лабораторних робіт , скласти схему досліду. Методи визначення азотовмісних сполук.	16	14
5	Підготовка до виконання лабораторних робіт , скласти схему досліду. Фосфорні сполуки в рослинах, методи їх визначення Оформлення результатів та протоколів лабораторних робіт.	12	12
6	Основні принципи виділення та очистки ферментів. Використання хроматографічних колонок.	8	8
7	Дослідження каталітичних властивостей ферментів. Підготовка до захисту лабораторних робіт та складання заліку	12	10
Разом		96	92

6. Індивідуальні завдання

Навчальним планом не передбачені.

7. Методи контролю

Поточний контроль. Програма передбачає наступні форми поточного контролю:

- **усне опитування:** здійснюється впродовж лабораторних занять з метою контролю засвоєння теоретичних положень щодо теми лабораторного дослідження, яке виконується;

- **тестування:** проводиться у формі експрес-контролю за тестовими завданнями, слугує для контролю за самостійною роботою студентів;

захист лабораторної роботи: призначена для контролю та формування здатності студентів узагальнювати отримані практичні результати та пояснювати їх на основі набутих знань.

Підсумковий контроль: залікова робота у письмовій формі (денна форма навчання); підсумкова контрольна робота (заочна форма навчання).

8. Схема нарахування балів

Поточний контроль, самостійна робота, індивідуальні завдання					Залікова робота	Сума
Розділ 1	Розділ 2	Розділ 3	Контрольна робота, передбачена навчальним планом	Разом		
15	20	15	10	60	40	100

Шкала оцінювання

Сума балів за всі види навчальної діяльності протягом семестру	Оцінка
	для дворівневої шкали оцінювання
90 – 100	зараховано
70 – 89	
50 – 69	
1 – 49	не зараховано

9. Рекомендована література

Основна література

1. Тимошенко В.Ф., Жмурко В.В. Методи аналізу вуглеводів. Метод. посібник, 1999. 48 с.
2. Тимошенко В.Ф., Жмурко В.В. Аналіз азотмісних сполук. Метод. посібник, 2001. 52 с.
3. Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений / под ред. Вл. В. Кузнецова, В.В. Кузнецова, Г.А. Романова. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний. 2012. - 487с.
4. Чиркин А.А. Практикум по биохимии. Минск: Новое знание, 2002. - 512 с.
5. Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений. Л.: Агропромиздат, 1987. - 430 с.
6. Землянхун А.А. Большой практикум по физиологии и биохимии растений. Воронеж: Изд-во Воронежского ун-та, 1996. - 186 с.
7. Починок Х.И. Методы биохимического анализа растений. - Л.: Колос, 1976. – 234 с.

Допоміжна література

1. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1985. - 536с.
2. Пустовалова Л.М. Практикум по биохимии. Ростов-на-Дону: Феникс, 1999. - 541 с.
3. Воскресенская П.И. Техника лабораторных работ. М.: Химия, 1973. - 716 с.

10. Посилання на інформаційні ресурси в Інтернеті, відео-лекції, інше методичне забезпечення

1. Некомерційний науково-популярний проект - elementy.ru
2. Наукова електронна бібліотека - elibrary.ru
3. Методи індивідуального визначення білків - <https://www.youtube.com/watch?v=GL092Stgumk>
4. Підручники, презентації лекцій, експериментальні статті та огляди, електронні ресурси.

Приклад для підсумкового семестрового контролю.

1. Особливості цукрів та методи їх визначення.
2. Виділення цукрів із рослинного матеріалу, водна та спиртова витяжки.
3. Визначення розчинних та редукуючих цукрів.
4. Виділення та очистка крохмалю.
5. Об'ємний та калориметричний методи визначення кількості крохмалю.
6. Виділення, розчинення та кількісне визначення вмісту клітковини.
7. Визначення азоту по К'ельдалю.
8. Підготовка матеріалу, зпопільнення.
9. Визначення білкового і небілкового азоту за методом К'ельдалю.
10. Колориметричний метод визначення білка (по Лоурі).
11. Приготування екстракту.
12. Оптимізація екстракту.
13. Приготування буферних розчинів.
14. Фільтрація.
15. Центрифугування.
16. Принципи колонкової хроматографії.
17. Прийоми, використувані при роботі з білковими розчинами.
18. Концентрування.
19. Видалення солей, зміна буферів.
20. Стабілізуючі фактори для ферментів.
21. Методи очищення ферментів. Детергенти.
22. Осадження білків.
33. Висолювання.
24. Денатурація.
55. Вимірювання активності ферментів:
66. Амілаз.
27. Поліфенолоксидаз.
28. Уреаза.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

для перевірки знань за темами та підсумкового контролю

1. Особливості цукрів та методи їх визначення.
2. Виділення цукрів із рослинного матеріалу, водна та спиртова витяжки.
3. Визначення розчинних та редукуючих цукрів.
4. Виділення та очистка крохмалю.
5. Об'ємний та калориметричний методі визначення кількості крохмалю.
6. Виділення, розчинення та кількісне визначення вмісту клітковини.
7. Визначення азоту по К'ельдалю.
8. Підготовка матеріалу, зпопінлення.
9. Визначення білкового і небілкового азоту за методом К'ельдалю.
10. Колориметричний метод визначення білка (по Лоурі).
11. Приготування екстракту.
12. Оптимізація екстракту.
13. Приготування буферних розчинів.
14. Фільтрація.
15. Центрифугування.
16. Принципи колонкової хроматографії.
17. Прийоми, використувані при роботі з білковими розчинами.
18. Концентрування.
19. Видалення солей, зміна буферів.
20. Стабілізуючі фактори для ферментів.
21. Методи очищення ферментів. Детергенти.
22. Осадження білків.
33. Висолвання.
24. Денатурація.
55. Вимірювання активності ферментів.
66. Амілаз.
27. Поліфенолоксидаз.
28. Уреаза.