

Место для баллов:

Код:

**КАБИНЕТ № 3**  
**ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ**  
**(30 баллов)**

**Продолжительность выполнения задания – 1 час 30 минут (90 минут).**

**ЗАДАНИЕ 1**  
**Растворимость фотосинтетических пигментов (12 баллов)**

**Материалы и оборудование:** Спиртовая вытяжка пигментов из растительного материала; центрифужная пробирка с крышкой; штатив для пробирок; пипетки; петролейный эфир; вода дистиллированная; NaOH; перчатки медицинские.

**Ход работы:**

Растения являются уникальными организмами, во многом благодаря которым появились условия для существования самых разнообразных аэробных организмов, в том числе и человека. Их уникальность обусловлена таким процессом как фотосинтез. Благодаря фотосинтезу на нашей планете зародилась кислородная атмосфера, появился озоновый слой, а также происходит ежедневное запасание энергии солнца, которая сохраняется и после гибели растения. За улавливание энергии солнца в растении отвечают фотосинтетические пигменты, в связи с чем их изучение всегда являлось неотъемлемой частью в физиологии растений.

Для изучения фотосинтетических пигментов первостепенной задачей является их выделение из растительного организма, а также разделение для более детального исследования. Для этого важно знать их химическое строение и свойства.

Чтобы разделить пигменты можно воспользоваться знанием об их растворимости в веществах различной полярности. Для этого в центрифужную пробирку на 15 мл налейте 3 мл спиртовой вытяжки смеси пигментов и добавьте к ней 4 мл петролейного эфира. Для лучшего разделения фракций добавьте еще 5 капель воды.

*При добавлении реактивов пользуйтесь пипетками с соответствующими подписями. Все работы с реактивами рекомендуется выполнять в перчатках!*

Пробирку плотно закройте крышкой и несколько раз сильно встряхните до полного смешения растворов, после чего дайте отстояться 2–3 мин. Пронаблюдайте разделение слоев (фракций). На основе полученных

результатов заполните **таблицу 1**: охарактеризуйте пигментный состав, название присутствующего растворителя и окраску верхней и нижней фракций.

Для дальнейшего разделения пигментов в пробирку, где вы уже провели первое разделение прибавьте навеску в 0,2 г NaOH. Снова плотно закройте пробирку крышкой и тщательно перемешайте содержимое пробирки до полного растворения гидроксида, после чего дайте растворам отстояться. В результате прошедшей при этом реакции пигменты снова разделятся, запишите свои наблюдения в **таблицу 2**.

**Таблица 1. (3 балла, по 0,5 балла за ячейку).**

	Фракция	Растворитель	Цвет фракции	Название пигментов
	Верхняя	Петролейный эфир	Зеленый	Хлорофилл a Хлорофилл b Каротины
Нижняя	Спирт	Желтый	Ксантофилл	

**Таблица 2. (3 балла, по 0,5 балла за ячейку).**

	Фракция	Растворитель	Цвет фракции	Название пигментов
	Верхняя	Петролейный эфир	Желтый	Каротины
Нижняя	Спирт	Зеленый	Ксантофилл Продукты омыления Хлорофиллов a и b	

**Ответьте на поставленные вопросы:**

**1.1. Напишите продукты реакции, указанной ниже. Как называется данный тип реакций? (2 балла)**

Вытяжка хлорофилла + NaOH → Натриевая соль хлорофиллиновой кислоты  
+ фитол; Реакция омыления

---

**1.2. Как называется соединение, образующееся после отщепления фитольного хвоста от молекулы хлорофилла? Какой фермент участвует в данной реакции? (2 балла)**

Хлорофиллид

---

Хлорофиллаза

---

**1.3. Какое соединение образуется в ходе биосинтеза хлорофилла в отсутствии света? (1 балл)**

Протохлорофиллид

---

**1.4. Из какой аминокислоты происходит синтез молекул хлорофилла в растительных клетках? (1 балл)**

Глутаминовая кислота

---

**ЗАДАНИЕ 2**

**Качественный анализ фотосинтетических пигментов (7 баллов)**

**Материалы и оборудование:** Вытяжка пигментов в петролейном эфире; центрифужная пробирка на 50 мл (содержит элюент); стеклянная палочка; хроматографическая бумага 2×10 см; карандаш; линейка; клей-карандаш; перчатки медицинские.

**Ход работы:**

Для быстрого разделения смеси пигментов на отдельные компоненты используется метод бумажной хроматографии. К настоящему времени предложено много вариантов бумажной хроматографии: восходящие и нисходящие, одномерные, двухмерные и круговые хроматограммы. Наиболее часто используют восходящую хроматографию. При восходящей хроматографии бумажную полоску погружают в растворитель вертикально,

таким образом, чтобы нижний конец хроматографической бумаги был погружен в растворитель, но при этом область нанесения вытяжки пигментов находилась выше уровня растворителя. По мере движения растворителя под действием капиллярных сил вертикально вверх происходит разделение смеси растворенных веществ.

Расстояние, пройденное нанесенным на бумагу пигментом в направлении движения растворителя, характеризуется **величиной Rf**, которая представляет собой отношение расстояния, пройденного растворенным веществом, к расстоянию, пройденному фронтом растворителя.

Для разделения пигментов на хроматографической бумаге все пигменты из спиртовой вытяжки были переведены в петролейный эфир, для того чтобы при нанесении вытяжки бумага не размокала, поскольку эфир быстро испаряется. В качестве элюента будет использоваться смесь, которая состоит из семи частей петролейного эфира и одной части ацетона. Элюент заранее был залит в хроматографическую камеру, в качестве которой будет выступать центрифужная пробирка на 50 мл, для предварительного насыщения ее внутреннего объема парами растворителей.

Для нанесения смеси пигментов на хроматографическую бумагу на расстоянии 1–1,5 см от нижнего края полоски простым карандашом проведите линию старта. Затем с помощью стеклянной палочки на отмеченную линию нанесите смесь пигментов в петролейном эфире. Бумагу подсушите и затем снова нанесите вытяжку пигментов. Эту операцию повторяют 15 раз до тех пор, пока на линии старта не образуется темно-зеленая полоса смеси пигментов.

После нанесения вытяжки бумагу поместите в хроматографическую камеру так, чтобы растворитель не касался зоны пигментов. Камеру плотно закройте и оставьте до тех пор, пока растворитель не поднимется до конца бумаги. Смесь пигментов при этом должна разделиться на отдельные компоненты в виде полос либо пятен. Далее достаньте бумагу из камеры и дайте ей высокнуть, после чего приступайте к анализу полученной хроматограммы.

Обведите каждое пятно (полосу) карандашом и определите величину Rf для идентифицированных пигментов. Для подсчета расстояния, пройденного пигментом, используйте центр обведенной области. Результаты, полученные на основе хроматографического разделения пигментов и ваших знаний о пигментном составе высших растений, занесите в **таблицу 3**. Хроматограмму также тщательно приклейте в отведенное для нее место в таблице.

**Таблица 3. (7 баллов, по 0,5 балла за ячейку + 1 балл за хроматограмму).**

Цвет зоны	Название пигмента	Величина Rf	Место прикрепления хроматограммы
Желто-зеленый	Хлорофилл b	Примерно 0,2–0,35	
Сине-зеленый	Хлорофилл a	Примерно 0,35–0,5 Главное $Rf_{Хл\ a} > Rf_{Хл\ b}$	
Желтый	Ксантофилл	Примерно 0,4–0,65 Главное $Rf_{Ксант} > Rf_{Хл\ a}$	
Желтый (желто-оранжевый)	Каротин	0,9–0,98	

### ЗАДАНИЕ 3

#### Фотосинтетические пигменты растений (11 баллов)

На **рисунке 1** представлены спектры поглощения различных фотосинтетических пигментов, каждому из которых присвоен номер от 1 до 5. **Таблица 5** демонстрирует химические формулы пигментов (от А до Е), спектры которых мы видим выше.

Заполните **таблицу 4** (буквенными обозначениями), сопоставив спектры поглощения с химическими формулами представленных пигментов (**таблица 5**) и видами организмов, из которых их можно выделить (**таблица 6**). Также напишите название данных пигментов в последнем столбце **таблицы 4**.

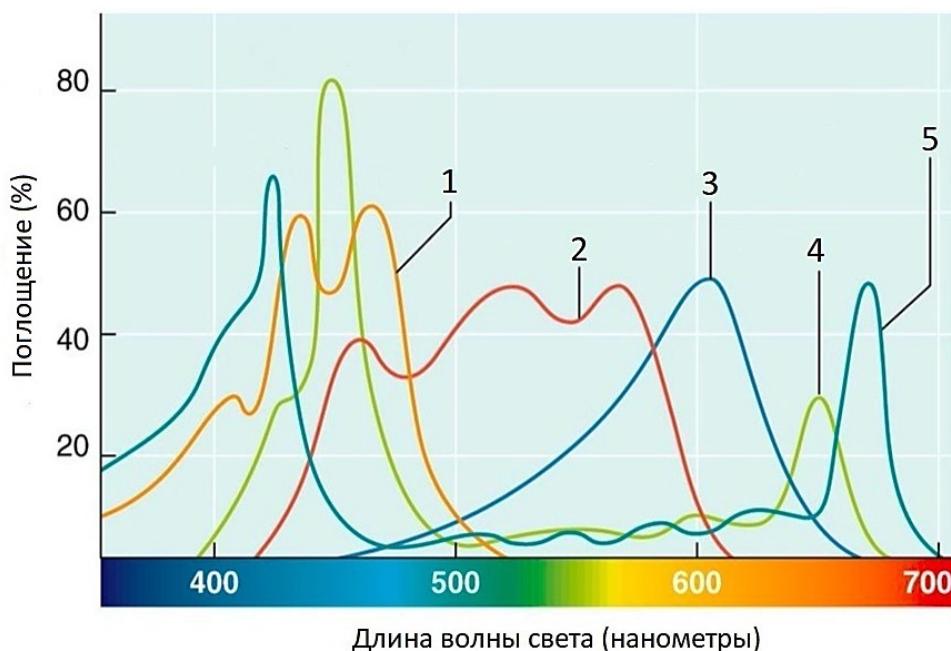


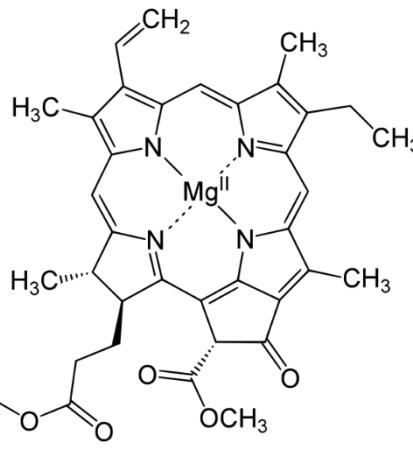
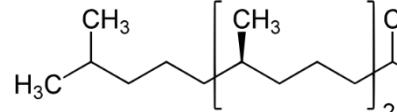
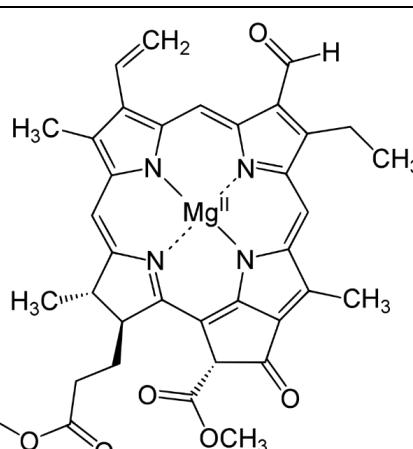
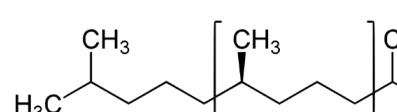
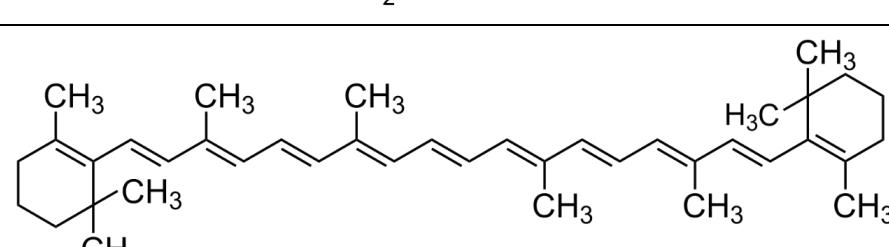
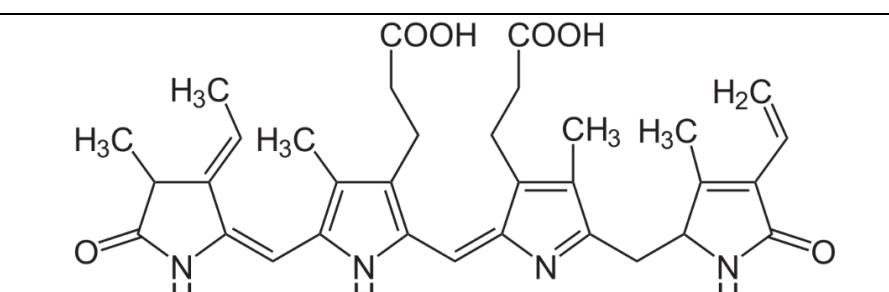
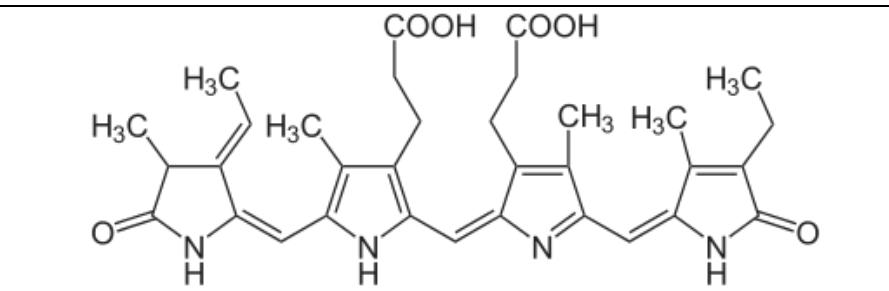
Рисунок 1 – Кривые спектров поглощения фотосинтетических пигментов

**Таблица 4. (11 баллов, по 0,5 балла за формулу и название + 1 – 1,5 балла за корректную комбинацию видов\*).**

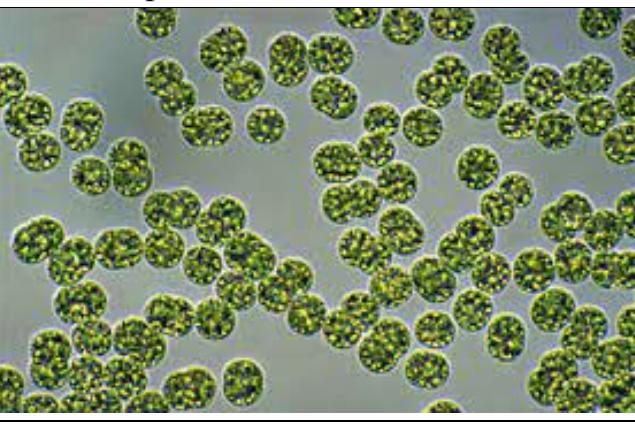
Кривая спектра поглощения	Формула пигмента (2,5 б.)	Встречаемость (6 б.)	Название пигмента (2,5 б.)
1	<i>B</i> (0,5 б)	<i>K, Л, М, Н, О, П</i> (1,5 б)	<i>β-каротин</i> (0,5 б)
2	<i>Г</i> (0,5 б)	<i>K, Н, О</i> (1 б)	<i>Фикоэритрин</i> (0,5 б)
3	<i>Д</i> (0,5 б)	<i>K, Н, О</i> (1 б)	<i>Фикоцианин</i> (0,5 б)
4	<i>Б</i> (0,5 б)	<i>Л, М, П</i> (1 б)	<i>Хлорофилл b</i> (0,5 б)
5	<i>А</i> (0,5 б)	<i>K, Л, М, Н, О, П</i> (1,5 б)	<i>Хлорофилл a</i> (0,5 б)

\* – в случае приведения участником неполного списка видов следует начислять по 0,25 б. за каждый корректно указанный пункт в пределах ячейки «Встречаемость»

**Таблица 5. Химические формулы пигментов**

<b>А</b>	 
<b>Б</b>	 
<b>В</b>	
<b>Г</b>	
<b>Д</b>	

**Таблица 6. Фотосинтезирующие организмы с различным пигментным составом**

 <p><i>Palmaria palmata</i> <i>Ptilota gunneri</i></p>	 <p><i>Pelargonium zonale</i></p>
 <p><i>Acer platanoides</i></p>	 <p><i>Spirulina platensis</i></p>
 <p><i>Microcystis aeruginosa</i></p>	 <p><i>Daucus carota subsp. sativus</i></p>