

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

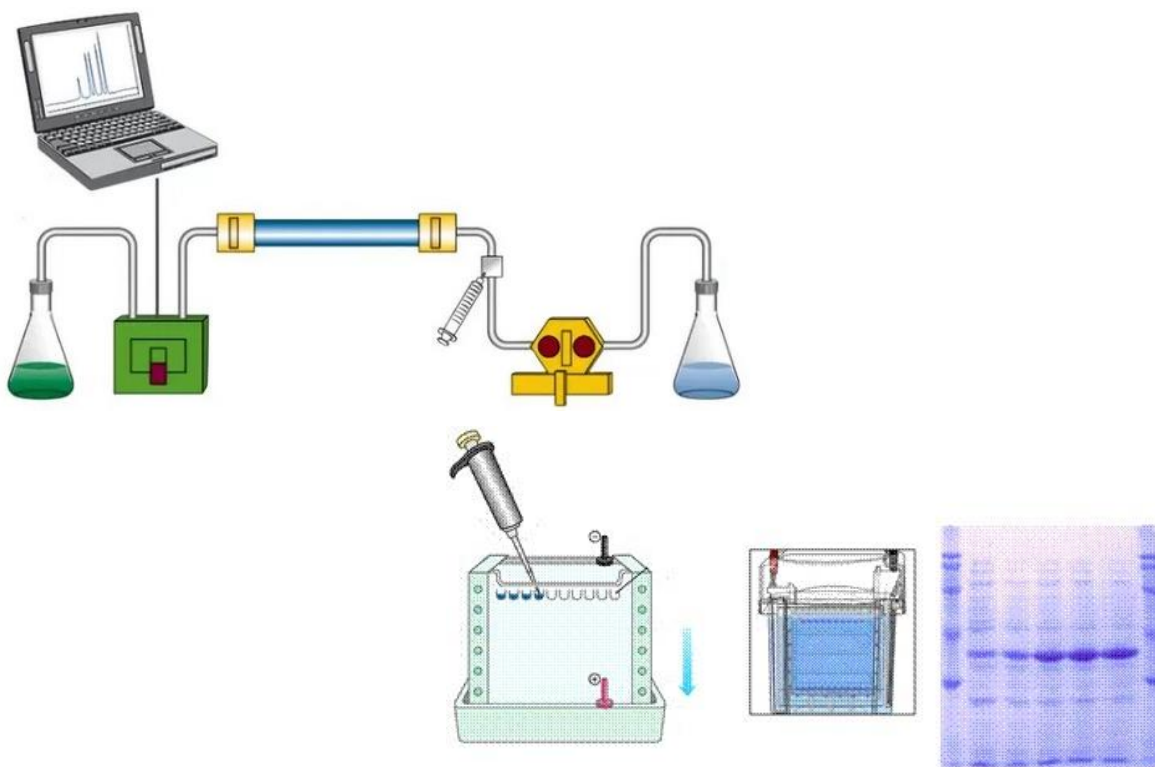
Факультет технології виробництва і переробки продукції тваринництва,
стандартизації та біотехнології

Кафедра біотехнології та біоінженерії

МЕТОДИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Методичні рекомендації

для виконання лабораторних робіт для здобувачів першого (бакалаврського)
рівня вищої освіти ОПП «Біотехнології та біоінженерія» спеціальності
162 «Біотехнології та біоінженерія» денної форми здобуття вищої освіти



МИКОЛАЇВ

2025

УДК 60-047.37
М54

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету технології виробництва і переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології Миколаївського національного аграрного університету від 15. 10. 2025 р., протокол № 2.

Укладач:

Є. В. Баркарь — канд. с.-г наук, доцент, доцент кафедри біотехнології та біоінженерії, Миколаївський національний аграрний університет.

Рецензенти:

Т. М. Манушкіна — канд. с.-г наук, доцент, доцент кафедри землеробства, геодезії та землеустрою, Миколаївський національний аграрний університет;

О. І. Юлевич — канд. техн. наук, доцент, доцент кафедри біотехнології та біоінженерії, Миколаївський національний аграрний університет.

ЗМІСТ

ВСТУП	4
Лабораторна робота №1	
Правила техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії	5
Лабораторна робота №2	
Огляд методів біотехнологічних досліджень	7
Лабораторна робота №3	
Хроматографічні методи аналізу	9
Лабораторна робота №4	
Рідинна хроматографія	15
Лабораторна робота №5	
Тонкошарова хроматографія	18
Лабораторна робота №6	
Фракціонування амінокислот і пептидів, ліпідів та вуглеводів методом тонкошарової хроматографії	21
Лабораторна робота №7	
Паперова хроматографія	23
Лабораторна робота №8	
Електрохроматографія	26
Лабораторна робота №9	
Використання в біотехнології різних видів електрофорезу	28
Лабораторна робота №10	
Електрохімічні методи досліджень	30
Лабораторна робота №11	
Спектроскопія	33
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	36

ВСТУП

Методичні рекомендації для виконання лабораторних робіт з дисципліни «Методи біотехнологічних досліджень» підготовлено для здобувачів вищої освіти СВО «Бакалавр» спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія».

На сучасному етапі науково-технічного прогресу суттєво зростають вимоги до професійної компетентності фахівців, зокрема – до розвитку їхнього інтелектуального й творчого потенціалу. Це потребує не лише досконалого володіння сучасними науковими методами, а й здатності критично осмислювати великі обсяги інформації, оперативно приймати ефективні технологічні, конструкторські й організаційні рішення на основі аналізу складних біотехнологічних процесів.

У галузі біотехнологічного виробництва ключовими чинниками, що визначають якість і конкурентоспроможність продукції, залишаються якісний склад сировини, ефективність виробничих процесів, дотримання вимог екологічної безпеки та санітарно-гігієнічних норм, а також відповідність кінцевого продукту встановленим нормативним критеріям. Розв'язання цих завдань неможливе без фундаментальних знань у сфері аналітичної хімії, біохімії, фізико-хімічного аналізу та методів контролю на різних етапах технологічного циклу.

Особливу роль у цьому контексті відіграє впровадження та практичне використання високочутливих і високоінформативних методів дослідження. Серед них провідне місце посідають хроматографічні методики (газова, рідинна, тонкошарова, іонообмінна хроматографія), які дозволяють здійснювати точне розділення й ідентифікацію компонентів складних сумішей. Не менш важливими є методи капілярного електрофорезу, спектроскопії (включаючи люмінесцентну, інфрачервону, УФ- та атомно-абсорбційну), а також електрохімічні методи аналізу – вольтамперометрія, кондуктометрія, кулонометрія, потенціометрія тощо.

Також активно розвиваються аналітичні підходи, засновані на вивченні кінетики хімічних реакцій (кінетичні методи), теплових ефектів (калориметрія, термометричне титрування), а також методи, що базуються на аналізі розподілу іонів у магнітному полі – зокрема, мас-спектрометрія, яка забезпечує точне визначення молекулярної маси та структури речовин.

Отже, опанування сучасної методології аналітичного контролю є однією з ключових складових підготовки інженерів-біотехнологів. Це дозволяє забезпечити високу якість і безпечність продукції, оптимізувати виробничі процеси, підвищити їх ефективність і сприяти впровадженню інноваційних технологій у біотехнологічну галузь.

Контроль знань та вмінь здобувачів вищої освіти проводиться шляхом захисту лабораторних та практичних робіт, тестування за програмою самостійної роботи, відпрацювання пропущених занять та складання іспиту.

Лабораторна робота № 1

Тема: Правила техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії.

Мета: Вивчити правила техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії.

Робота в біотехнологічній лабораторії характеризується постійним контактом з біологічно небезпечними матеріалами, зокрема культурами патогенних мікроорганізмів, біологічними рідинами (кров'ю, сечею, виділеннями), клітинними та тканинними структурами. У зв'язку з цим до лабораторного персоналу висуваються підвищені вимоги щодо дотримання правил біобезпеки, стерильності та охорони праці, які мають на меті запобігти як забрудненню зразків, так і зараженню самих працівників.

Біотехнологічна лабораторія повинна бути ізольованою від інших приміщень і відповідати вимогам санітарної безпеки. У її склад зазвичай входять:

- кімната для бактеріологічних досліджень;
- стерильний бокс з бактерицидною лампою;
- передбоксник з місцем для зберігання стерильних матеріалів;
- автоклавна для стерилізації та знезараження;
- приміщення для миття лабораторного посуду та приготування поживних середовищ.

Покриття підлоги і стін повинно бути вологостійким і легко митися (наприклад, плитка або лінолеум), що дозволяє регулярно проводити дезінфекцію приміщення.

Основне лабораторне обладнання:

- термостати, центрифуги, мікроскопи з освітлювачами;
- сушильні шафи, стерилізатори, автоклави;
- спиртівки або газові пальники;
- піпетки Пастера, шпателі, пінцети, ножиці, бактеріологічні петлі;
- лабораторний посуд (мензурки, колби, пробірки) та інші допоміжні інструменти.

Завдання 1. Законспекуйте та вивчіть основні правила техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії.

Основні вимоги до роботи в біотехнологічній лабораторії:

1. **Доступ** до роботи мають лише особи, які пройшли **медичний огляд, не мають протипоказань** за станом здоров'я та отримали відповідний **інструктаж з техніки безпеки та гігієни праці**.

2. **Дотримання заходів безпеки є обов'язковим**. Працівники мають бути обізнані щодо дії таких потенційно небезпечних чинників:

- інфекційних агентів (бактерії, віруси, грибки);
- вірулентних екзогенних ДНК;

- ультрафіолетового випромінювання та озону, що утворюється під його дією;
- токсичних, їдких, канцерогенних та мутагенних речовин;
- джерел іонізуючого випромінювання;
- електричного струму;
- вибухо- та пожежонебезпечних речовин.

3. Наявність щонайменше **двох осіб** під час виконання лабораторних робіт забезпечує додаткову безпеку в екстрених ситуаціях.

4. **Спецодяг** (халати, змінне взуття, головні убори) **обов'язковий** для всіх, хто перебуває у лабораторії. Залежно від характеру робіт, додатково застосовуються рукавички, маски, захисні окуляри, фартухи тощо.

5. **Заборонено** перебувати в лабораторії **без спеціального одягу**.

6. У лабораторії суворо заборонено:

- палити;
- зберігати або вживати їжу;
- використовувати косметичні засоби;
- зберігати особисті речі поза спеціально відведеними місцями.

7. **Організація робочого місця має бути раціональною**: дозволено зберігати тільки ті матеріали, які потрібні безпосередньо для виконання завдання. Усі реактиви повинні мати чітко марковані етикетки. Заборонено користуватися речовинами з пошкодженими або відсутніми позначками.

8. Відбір рідин здійснюється виключно за допомогою спеціального обладнання (піпеток, сеплерів, дозаторів). Строго **заборонено всмоктувати рідину ротом** – допускається використання лише гумової груші або автоматичних пристроїв.

9. **При випадковому розлитті** небезпечної речовини (інфекційного збудника, токсичного або їдкого реагенту) слід **негайно нейтралізувати** його за допомогою дезінфікуючих засобів, обробити забруднені поверхні, а в разі контакту зі шкірою або слизовими – промити великою кількістю води та звернутися за медичною допомогою.

10. **Після завершення роботи необхідно**:

- прибрати робоче місце;
- дезінфікувати інструменти та забруднені матеріали (наприклад, за допомогою хлораміну);
- ретельно вимити та продезінфікувати руки.

Завдання 2. Надайте письмово характеристику біотехнологічній лабораторії в умовах якої ви проходили виробничу практику.

Питання для захисту лабораторної роботи

1. *Основні правила техніки безпеки при роботі у біотехнологічній лабораторії.*

2. *Загальні вимоги до біотехнологічної лабораторії.*

Лабораторна робота № 2

Тема: Огляд методів біотехнологічних досліджень.

Мета: Охарактеризувати та вивчити основні методи біотехнологічних досліджень.

У сучасній біотехнологічній промисловості використовуються різноманітні методи аналітичного контролю, які охоплюють як класичні, так і інструментальні техніки. Серед найбільш поширених і ефективних методів варто виділити газову та рідинну хроматографію, що дозволяють ідентифікувати й кількісно визначати органічні речовини в складних матрицях. Значного поширення набула також атомно-абсорбційна спектроскопія, яка є високочутливим методом визначення мікроелементного складу.

До важливих інструментів аналітики також належать методи фотометрії, люмінесцентного аналізу, капілярного електрофорезу, інфрачервоної спектроскопії та електрохімічні методи. Окрім того, не втрачають свого значення класичні аналітичні підходи – титриметрія, гравіметрія – які використовуються для рутинного контролю якості сировини та готової продукції.

Особливу роль у дослідженні структурно-функціональних властивостей продуктів біотехнології відіграють реологічні методи, що дозволяють оцінити в'язкість, еластичні та пластичні характеристики систем, важливі для технологічного прогнозування їх поведінки в процесі переробки та зберігання.

Таким чином, ефективне дослідження біотехнологічної продукції потребує інтегрованого підходу до вибору аналітичних методів, їх адаптації та комбінування з метою отримання комплексної й об'єктивної характеристики досліджуваних об'єктів.

Завдання 1. Охарактеризуйте письмово основні методи біотехнологічних досліджень, зазначте особливості фізико-хімічних методів аналізу.

Завдання 2. Дайте визначення та охарактеризуйте основні вимоги до методів аналізу.

Таблиця 1

Основні вимоги до методів аналізу

Вимога	Визначення та характеристика
1	2
Правильність	
Відтворюваність	

Продовж. табл. 1

1	2
Стандартні зразки	
Точність	
Межа виявлення	
Чутливість	
Вибірковість (селективність)	

Питання для захисту лабораторної роботи

- 1. Методи аналізу, які на сьогодні набули широкого застосування у біотехнологічній промисловості.*
- 2. Класифікація методів аналізу за способом виконання.*
- 3. Особливості фізико-хімічних методів аналізу.*
- 4. Основні вимоги до методів аналізу.*

Лабораторна робота № 3

Тема: Хроматографічні методи аналізу.

Мета: Вивчити основні хроматографічні методи аналізу в біотехнології.

Хроматографія (від грец. *chroma* – колір) – це фізико-хімічний метод розділення та аналізу складних сумішей, який базується на розподілі компонентів між двома фазами: рухомою та нерухомою.

Основні класифікації хроматографії:

◆ **за агрегатним станом фаз:**

- газова;
- газо-рідинна;
- газо-адсорбційна (твердофазна);
- рідинна;
- рідинно-рідинна;
- рідинно-твердофазна;
- рідинно-гелева;
- надкритична.

◆ **за механізмом взаємодії речовин з фазами:**

- розподільна;
- адсорбційна;
- іонообмінна;
- гель-фільтраційна (ексклюзивна, гель-хроматографія);
- осадова
- адсорбційно-комплексоутворююча.

◆ **спеціалізовані різновиди хроматографії:**

- високоефективна рідинна (ВЕРХ);
- тонкошарова;
- газова з програмуванням температури, витрати або тиску газу-носія;
- хромабарографія;
- хроматермографія;
- хроматофокусування;
- лігандообмінна;
- афінна.

◆ **за способом введення проби:**

- проявна або елюентна (проба вводиться в колонку порціями, і компоненти розділяються залежно від констант їх розподілення);
- фронтальна (суміш безперервно подається у колонку, і вивчається залежність концентрації компонентів у часі);
- витискувальна (для розділення застосовують речовину, що має вищу сорбційну здатність, яка витісняє компоненти один за одним).

◆ **за цільовим призначенням:**

- аналітична (використовується для якісного й кількісного аналізу складу сумішей);

- *неаналітична* (призначена для дослідження фізико-хімічних властивостей речовин за допомогою хроматографічної апаратури);
- *препаративна* (дозволяє виділяти малі кількості чистих речовин у лабораторних умовах);
- *промислова* (застосовується у виробництві для отримання великих обсягів очищених речовин).

◆ **за формою виконання процесу:**

- *площинна* (процес проходить на плоскій поверхні, наприклад паперова або тонкошарова);
- *колонкова* (здійснюється в спеціальних колонках, їх конструкція залежить від типу хроматографії: газової чи рідинної).

Завдання 1. Дайте визначення основним термінам та поняттям в хроматографії.

Таблиця 2

Основні терміни та поняття в хроматографії

Терміни та поняття	Визначення
1	2
Хроматографія	
Нерухома фаза	
Рухома фаза	
Газова хроматографія	
Газо-рідинна хроматографія	
Газо-твердофазна хроматографія	
Рідинна хроматографія	
Високоєфективна рідинна хроматографія	
Рідинно-рідинна хроматографія	
Рідинно-твердофазна хроматографія	
Адсорбційна хроматографія	
Розподільна хроматографія	
Іонообмінна хроматографія	

1	2
Гель-проникаюча хроматографія	
Афінна хроматографія	
Осадова хроматографія	
Колонкова хроматографія	
Площинна хроматографія	
Капілярна хроматографія	
Фронтальна хроматографія	
Елюентна хроматографія	
Витискувальна хроматографія	
Аналітична хроматографія	
Препаративна хроматографія	
Промислова хроматографія	
Хроматографія з програмуванням температури	
Елюент	
Газ-носій	
Елюат	
Елюювання	
Хроматограма	
Крива елюювання	
Хроматографування	
Хроматограф	

Завдання 2. Опишіть принцип хроматографічного розділення та поясніть ефективність і селективність хроматографічної колонки.

Завдання 3. Проведіть схематичне порівняння різних класифікацій методів хроматографічного аналізу.

Завдання 4. Заповніть таблицю із класифікацією методів хроматографічного аналізу за природою процесів, що відбуваються при розділенні речовин.

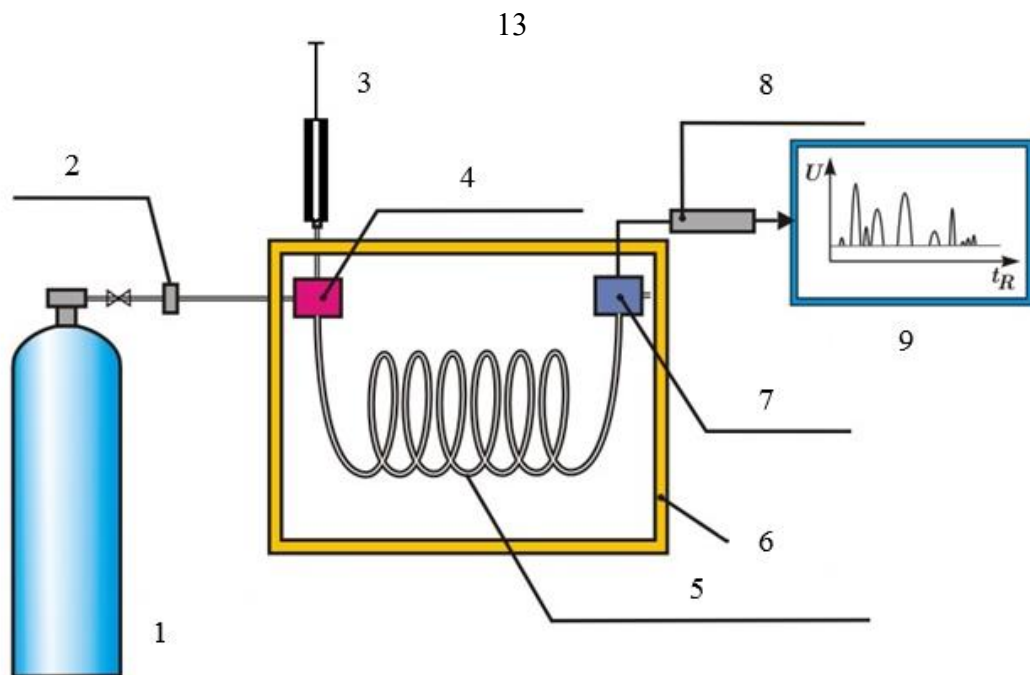
Таблиця 3

**Класифікація методів хроматографічного аналізу
за природою процесів, що відбуваються при розділенні речовин**

Тип хроматографії	Процес, що відбувається при розділенні речовин
Адсорбційна	
Розподільна	
Іоннообмінна	
Осадова	
Окисно-відновна	
Адсорбційно-комплексоутворювальна	
Гель-проникаюча	

Завдання 5. Дайте письмову характеристику елементам хроматографічної системи та представленню результатів хроматографії.

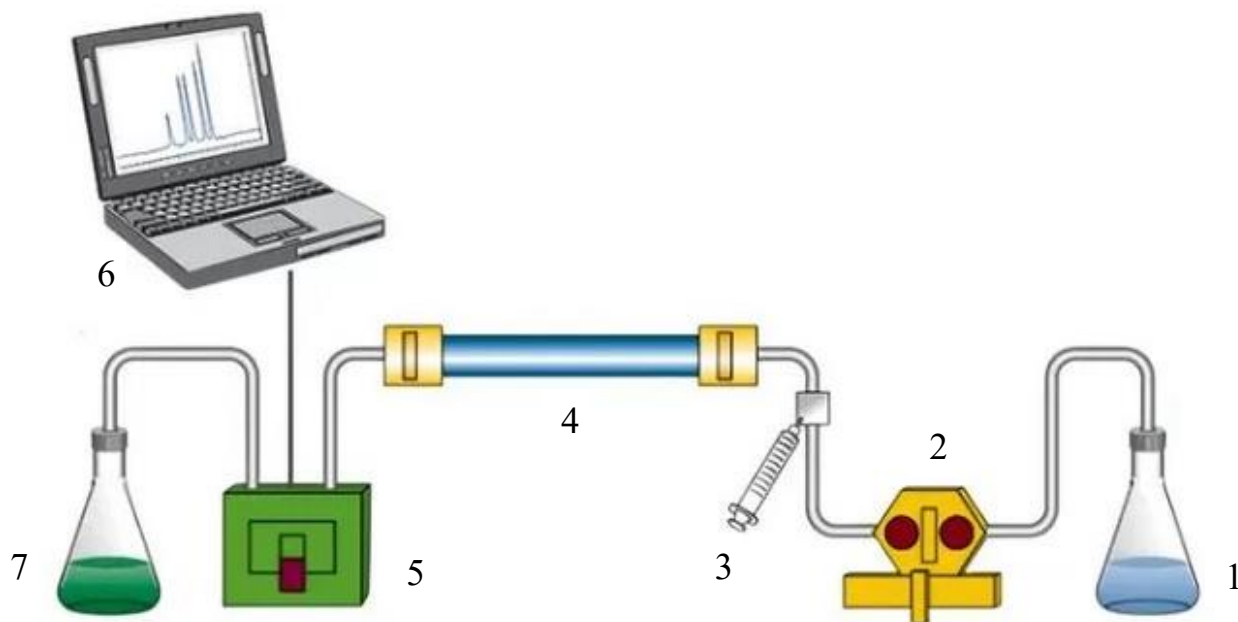
Завдання 6. Зобразіть схему, позначте елементи та опишіть принцип дії газового хроматографа.



1 – джерело газу-носія (рухома фаза); 2 – регулятор витрати газу-носія; 3 – пристрій для введення проби; 4 – інжектор; 5 – хроматографічна колонка; 6 – термостат; 7 – детектор; 8 – електронний підсилювач; 9 – хроматограма.

Рис. 1. Схема газового хроматографа

Завдання 7. Зобразіть схему, позначте елементи та опишіть принцип дії рідинного хроматографа.



1 – розчинник (елюент); 2 – насос; 3 – вузол для введення проби (інжектор); 4 – хроматографічна колонка; 5 – детектор; 6 – реєстратор (самописець або комп'ютер); 6 – ПК для аналізу даних; 7 – злив елюата або колектор фракцій.

Рис. 2. Схема рідинного хроматографа

Питання для захисту лабораторної роботи

1. *Історія відкриття та сутність хроматографічного методу.*
2. *Основні терміни та поняття.*
3. *Принцип хроматографічного розділення.*
4. *Ефективність і селективність хроматографічної колонки.*
5. *Класифікації методів хроматографічного аналізу.*
6. *Хроматографічна система та представлення результатів хроматографії.*
7. *Принцип дії газового хроматографа.*
8. *Принцип дії рідинного хроматографа.*

Лабораторна робота № 4

Тема: Рідинна хроматографія.

Мета: Вивчити особливості розділення сумішей в різних видах рідинної хроматографії.

Рідинна хроматографія – це метод фізико-хімічного аналізу, в якому в якості рухомої фази (елюенту) застосовується рідина. Найчастіше використовують воду, водно-сольові розчини або органічні розчинники. *Нерухомою фазою* може виступати твердий сорбент, твердий носій з нанесеним шаром рідини або гелю.

Принцип дії рідинної хроматографії ґрунтується на розділенні компонентів суміші внаслідок різниці в їх здатності розподілятися між двома фазами – рухомою та нерухомою, які не змішуються між собою. Кожна речовина має індивідуальну схильність до взаємодії з відповідною фазою, що зумовлено такими фізико-хімічними характеристиками, як полярність, молекулярна маса, розмір молекул та інші.

Залежно від механізму взаємодії компонентів суміші з нерухомою фазою, рідинну хроматографію поділяють на такі **основні види**:

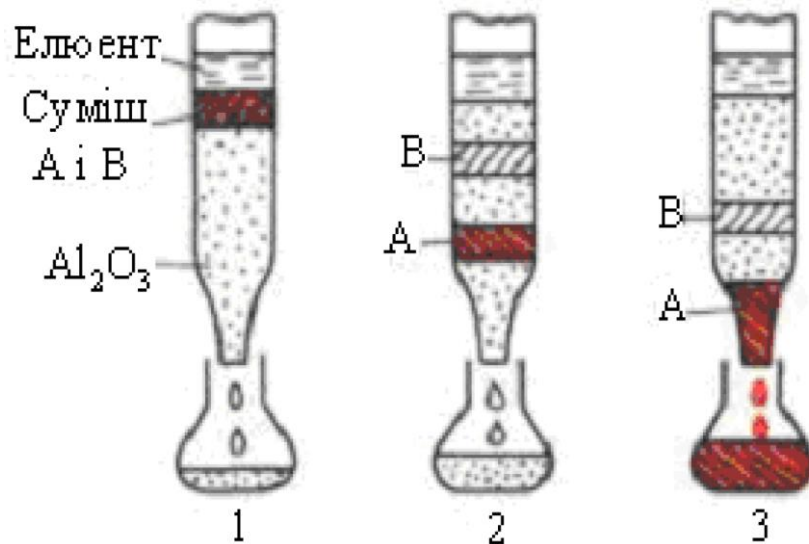
- рідинно-рідинна (обидві фази – рідкі);
- адсорбційна;
- осадова;
- іонообмінна;
- лігандообмінна;
- ексклюзійна (ситова);
- афінна,
- розподільна.

Якщо нерухомою фазою є рідина, основним процесом є абсорбція (розчинення) компонентів суміші в цій рідині з подальшим їх розподілом між рухомою та нерухомою фазами. Такий підхід лежить в основі розподільної хроматографії, де ефективність розділення визначається різницею коефіцієнтів розподілу речовин між двома фазами.

Сфера застосування рідинної хроматографії охоплює широкий спектр наукових і прикладних задач:

- аналіз складу складних розчинів;
- виділення окремих компонентів із сумішей;
- ідентифікація та фракціонування високомолекулярних сполук біологічного походження (наприклад, білків, нуклеїнових кислот),
- контроль якості у фармацевтичній, харчовій, біотехнологічній та екологічній галузях.

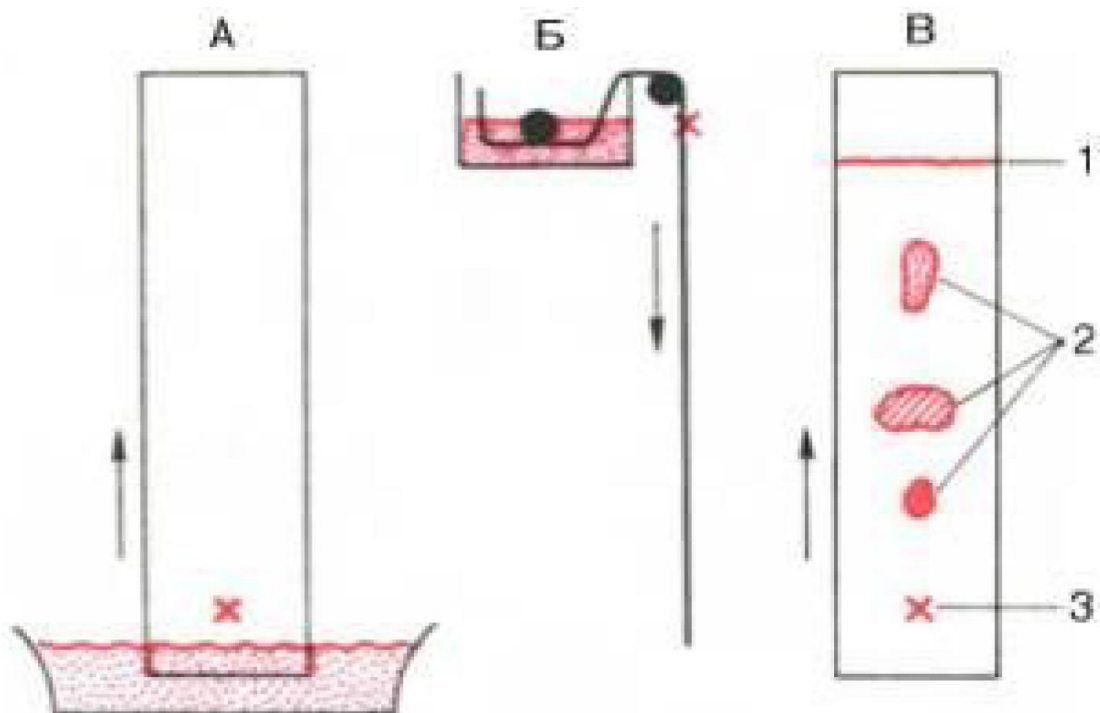
Завдання 1. Зобразіть схему, позначте елементи та опишіть принцип розділення в адсорбційній хроматографії.



1 – нанесення зразка на колонку; 2 – процес розподілу зразка; 3 – кінець розподілу зразка.

Рис. 3. Схема абсорбційної хроматографії (розділення двох різних речовин (А і В), що рухаються через колонку з різною швидкістю

Завдання 2. Зобразить схему, позначте елементи та опишіть принцип розділення в розподільчій хроматографії на папері.



А – висхідна хроматографія; Б – низхідна хроматографія (вид збоку); В – хроматограма з розділеними і зафарбованими речовинами: 1 – фронт розчинника, 2 – розділені речовини, 3 – місце нанесення зразка.

Рис. 4. Схема хроматографії на папері

Завдання 3. Зобразіть схему, позначте елементи та опишіть принцип ексклюзійної хроматографії.

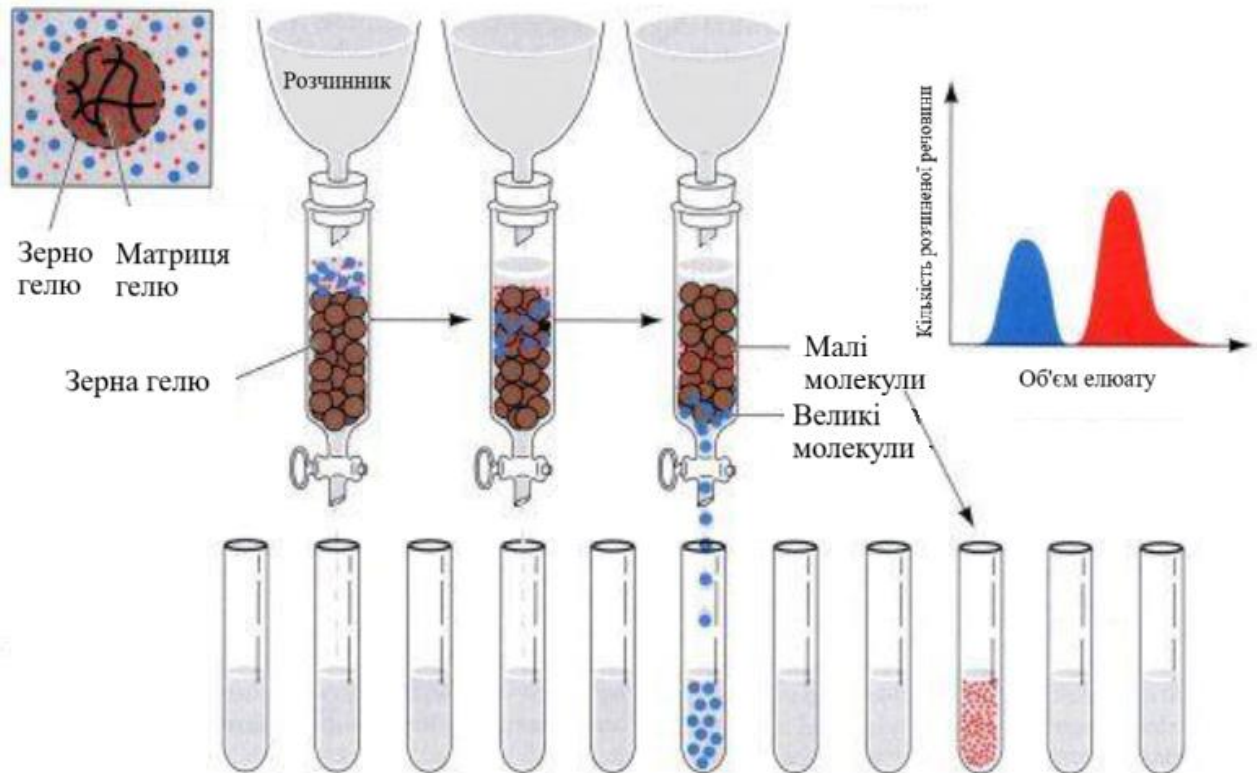


Рис. 5. Розподіл досліджуваної суміші на компоненти в ексклюзійній хроматографії

Питання для захисту лабораторної роботи

1. Сутність методу рідинної хроматографії.
2. Рідинна колонкова хроматографія.
3. Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ).
4. Гель-хроматографія.
5. Площинні варіанти рідинної хроматографії.

Лабораторна робота № 5

Тема: Тонкошарова хроматографія.

Мета: Вивчити принципи та особливості розділення методом тонкошарової хроматографії.

Тонкошарова хроматографія (ТШХ) – це різновид рідинно-твердофазної адсорбційної хроматографії, в якій сорбент нанесено тонким шаром на тверду основу, зазвичай пластинку. Фактично, ТШХ є вдосконаленою формою рідинно-твердофазної хроматографії.

Залежно від поставлених аналітичних завдань, розділення в ТШХ може відбуватися не лише за механізмом адсорбції, а також на основі розподілу (нормально-фазового або обернено-фазового), іонного обміну чи ексклюзії.

Механізм розділення в площинних варіантах хроматографії аналогічний колоночній: компоненти суміші переміщуються вздовж шару нерухомої фази з різною швидкістю згідно зі значеннями їхніх коефіцієнтів розподілу.

У ТШХ сорбент наноситься шаром товщиною 100-300 мкм на пластини зі скла, полімерів або металевої фольги. Існують кілька варіантів проведення хроматографії: висхідна, низхідна та горизонтальна. У висхідному методі рухома фаза просочується вгору по пластинці за рахунок капілярних сил. У низхідному – розчинник рухається вниз під дією сили тяжіння. Горизонтальний метод забезпечує постійне надходження свіжого елюенту, завдяки чому досягається краще розділення речовин.

Однією з ключових переваг ТШХ є простота апаратури. Основним елементом є герметична камера для розділення (рис. 6), що включає елюент, пластинку з сорбентом і пристрій для нанесення проби.

У висхідному варіанті елюент розміщується на дні камери, а пробу наносять на пластинку мікропіпеткою, на відстані щонайменше 25 мм від нижнього краю (лінія старту). Діаметр плями має становити не більше 2-3 мм. Вище лінії старту, приблизно на 10 см, олівцем креслять лінію-бар'єр, щоб запобігти досягненню розчинником краю пластинки. Нижній край пластинки занурюють у розчинник на глибину до 5 мм.

Як адсорбенти в ТШХ застосовують ті ж матеріали, що й у рідинній колонковій хроматографії. Найпоширеніші – силікагель (універсальний), оксид алюмінію (для неполярних речовин) та поліамідні смоли (ефективні для фенолів та інших сполук з гідроксигрупами, пов'язаними з ароматичним кільцем).

У якості рухомої фази використовують різноманітні органічні та неорганічні розчинники, а також їх суміші.

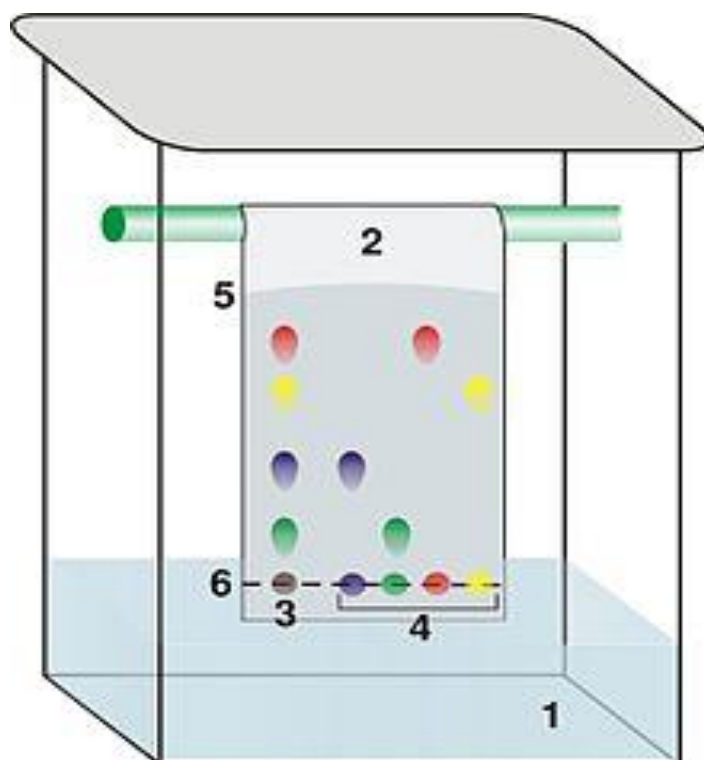
Процес хроматографування триває доти, доки фронт розчинника не пройде приблизно 10 см від стартової лінії. Потім пластинку виймають, висушують і, у разі потреби, обробляють спеціальними реагентами для виявлення зон, невидимих неозброєним оком. За кольором і розташуванням плям визначають якісний склад аналізованої проби.

Кількісне визначення в ТШХ може проводитися безпосередньо на

пластинці або після вилучення розділеної речовини. Найчастіше користуються методом вимірювання площі плям за допомогою міліметрової кальки або спектрофотометрії (денситометрія), де визначають оптичну густину у центрі плями та порівнюють з градувальним графіком. Існує також метод відбиття, флуориметричний, рентгенофлуоресцентний та радіометричний способи детектування.

Після хроматографічного розділення компоненти можуть бути екстраговані з пластинки та проаналізовані іншими методами.

Завдання 1. Зобразіть схему, позначте елементи та опишіть принцип хроматографічного аналізу речовин у тонкому шарі сорбенту.



1 – розчинник; 2 – пластинка з шаром сорбенту; 3 – точка нанесення розчину суміші амінокислот; 4 – точки нанесення розчинів амінокислот; 5 – лінія фронту; 6 – лінія старту.

Рис. 6. Типова камера для проведення хроматографічного розділення

Завдання 2. Використовуючи рекомендовану літературу, занотуйте та вивчіть матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для приготування пластин для тонкошарової хроматографії, порядок виконання роботи при приготуванні силікагель-гіпсових та алюмінієво-гіпсових пластинок для тонкошарової хроматографії.

Завдання 3. Використовуючи рекомендовану літературу, письмово опрацюйте та вивчіть хроматографічний метод розділення амінокислот з використанням розподільної хроматографії на силуфолових пластинках.

Питання для захисту лабораторної роботи

- 1. Характеристика тонкошарової хроматографії.*
- 2. Матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для приготування пластин для тонкошарової хроматографії.*
- 3. Порядок виконання роботи при приготуванні силікагель-гіпсових та алюмінієво-гіпсових пластинок для тонкошарової хроматографії.*
- 4. Матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для визначення вмісту вуглеводів методом тонкошарової хроматографії.*
- 5. Порядок виконання роботи при визначенні вмісту вуглеводів методом тонкошарової хроматографії.*

Лабораторна робота № 6

Тема: Фракціонування амінокислот і пептидів, ліпідів та вуглеводів методом тонкошарової хроматографії.

Мета: Вивчити особливості фракціонування амінокислот і пептидів, ліпідів та вуглеводів методом тонкошарової хроматографії.

Визначення амінокислотного складу білків та пептидних фрагментів можливе лише після їх попереднього кислотного гідролізу. Цей процес здійснюють у герметично запаяних ампулах із вакуумом, що дозволяє запобігти окисленню чутливих компонентів.

Фракціонування амінокислот базується на *різній здатності до розчинення* у двох взаємно незмішуваних рідинах. Як правило, однією з фаз є вода, а другою – органічний розчинник, насичений водою (наприклад, фенол, бутанол або інші спирти). Нерухома водна фаза утримується у структурі твердої основи – спеціального хроматографічного паперу або тонкошарових пластинок типу «Sorbfil», які здатні адсорбувати до 20-22% вологи.

Роль рухомої фази виконує органічний розчинник, насичений водою, зокрема фенол, ізопропіловий, ізобутиловий чи бутиловий спирт. Амінокислоти розподіляються між цими двома фазами залежно від своєї полярності: чим краще вони розчиняються у водній фазі і гірше – в органічній, тим повільніше мігрують під час хроматографування.

Виявлення амінокислот на хроматограмі здійснюється за допомогою нінгідрину – універсального реагенту, який вступає в реакцію з аміногрупами, утворюючи зони характерного забарвлення (синього, фіолетового, жовтого тощо), залежно від хімічної структури конкретної амінокислоти. Для ідентифікації амінокислот застосовують порівняння з хроматограмами стандартних зразків.

Ліпіди – це складні біомолекули, які відіграють ключову роль у структурі клітинних мембран. Вони визначають не лише фізико-хімічні властивості мембран, а й функціональні особливості клітин різних штамів бактерій та дріжджів. Основною характеристикою ліпідів є їхня гідрофобність.

У практичній біотехнології важливо забезпечити чистоту та автентичність штамів, зокрема дріжджів, що мають різну функціональну спеціалізацію (спиртові, хлібопекарські тощо). Для цього доцільно використовувати метод тонкошарової хроматографії (ТШХ), який забезпечує швидке й ефективне розділення та ідентифікацію ліпідних компонентів. Ліпідний профіль є унікальним для кожного штаму і може змінюватися залежно від умов культивування, що дозволяє використовувати ТШХ для контролю посівного матеріалу.

Суть фракціонування ліпідів методом ТШХ полягає в переміщенні рідкої рухомої фази вздовж шару адсорбенту (як правило, силікагелю) за рахунок капілярних сил. Компоненти ліпідного складу мігрують з різною швидкістю залежно від своєї молекулярної структури, полярності та взаємодії з

адсорбентом, що забезпечує їх розділення у вигляді характерних плям на хроматограмі.

Для тонкошарового хроматографічного аналізу вуглеводів застосовують готові хроматографічні пластини, такі як *Sorbfil-UV* або *Silufol*, а також пластини, виготовлені власноруч із нанесеним тонким шаром адсорбенту. Розчини вуглеводів готують у відповідних розчинниках і наносять у вигляді крапель на стартову лінію пластини.

Рух розчинника відбувається завдяки капілярним силам, що спричиняє міграцію розчинених вуглеводів по адсорбенту. Швидкість та характер переміщення кожного компонента залежать від його молекулярної структури та взаємодії з рухомою і нерухомою фазами.

Після завершення хроматографування пластини обробляють специфічними проявниками, які дозволяють візуалізувати зони розташування окремих вуглеводів. *За результатами аналізу можна визначити відносну молекулярну масу вуглеводів, а також оцінити їхній вміст у досліджуваному зразку.*

Завдання 1. Використовуючи рекомендовану літературу, зазначте необхідні матеріали, реактиви та обладнання і порядок виконання роботи при фракціонуванні амінокислот та пептидів методом тонкошарової хроматографії.

Завдання 2. Використовуючи рекомендовану літературу, зазначте необхідні матеріали, реактиви та обладнання і порядок виконання роботи при фракціонуванні ліпідів бактерій і дріжджів методом тонкошарової хроматографії.

Завдання 3. Використовуючи рекомендовану літературу, зазначте необхідні матеріали, реактиви та обладнання і порядок виконання роботи при визначенні вмісту вуглеводів методом тонкошарової хроматографії.

Питання для захисту лабораторної роботи

1. Матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для фракціонування амінокислот та пептидів методом тонкошарової хроматографії.

2. Порядок виконання роботи при фракціонуванні амінокислот та пептидів методом тонкошарової хроматографії.

3. Матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для фракціонування ліпідів бактерій і дріжджів методом тонкошарової хроматографії.

4. Порядок виконання роботи при фракціонуванні ліпідів бактерій і дріжджів методом тонкошарової хроматографії.

5. Матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні при визначенні вмісту вуглеводів методом тонкошарової хроматографії.

6. Порядок виконання роботи при визначенні вмісту вуглеводів методом тонкошарової хроматографії.

Лабораторна робота № 7

Тема: Паперова хроматографія.

Мета: Вивчити принципи та особливості розділення методом розподільної хроматографії на папері.

У паперовій хроматографії як носій нерухомої фази застосовують спеціальні смужки фільтрувального паперу, який не містить мінеральних домішок і має назву *хроматографічний папір*. Розділення речовин здійснюється завдяки їх розподілу між водною фазою, адсорбованою целюлозними волокнами паперу, і рухомою фазою – зазвичай органічним розчинником. Утримання речовин у нерухомій фазі може відбуватися як внаслідок розчинення у воді, так і завдяки адсорбції на целюлозі. Таким чином, механізм поділу може бути не лише розподільним, а й адсорбційним. У разі імпрегнування паперу іонообмінними речовинами процес поділу може відбуватись через іонний обмін. Також можливе застосування осадового механізму.

З експериментальної точки зору методика паперової хроматографії схожа на тонкошарову хроматографію. На смужку паперу наносять краплю водного розчину з речовинами, що підлягають аналізу, після чого смужку підвішують у закритій камері таким чином, щоб її край торкався розчинника – наприклад, бутанолу. Через певний час після завершення розділення папір висушують і обробляють відповідним проявником, що дозволяє виявити забарвлені зони речовин.

Хроматографічний папір виготовляють з високоякісної бавовни, що складається з чистих целюлозних волокон, з'єднаних між собою водневими зв'язками. В середині волокон утримується невелика кількість зв'язаної води, а між волокнами – значно більше. Целюлоза містить функціональні групи, такі як гідроксильні, карбоксильні, альдегідні та кетонні, що необхідно враховувати при виборі реагентів для проявлення. Промисловістю виготовляється папір № 1, 2, 3, 4, які відрізняються за щільністю. Найбільш широко застосовується папір № 1. Зі зростанням номера щільність зростає, а швидкість хроматографування знижується. Для коректної орієнтації смужок під час аналізу важливо нарізати їх вздовж волокон, адже напрямок руху елюенту повинен співпадати з напрямком волокна.

Для поділу гідрофобних речовин папір попередньо обробляють (імпрегнують) гідрофобними речовинами: нафталеном, парафіном, каучуком тощо. Такий папір стає носієм неполярної фази. У таких випадках як рухому фазу використовують суміші кислот із нижчими спиртами. Цей варіант отримав назву хроматографії на обернених фазах і підходить як для органічних, так і неорганічних сумішей.

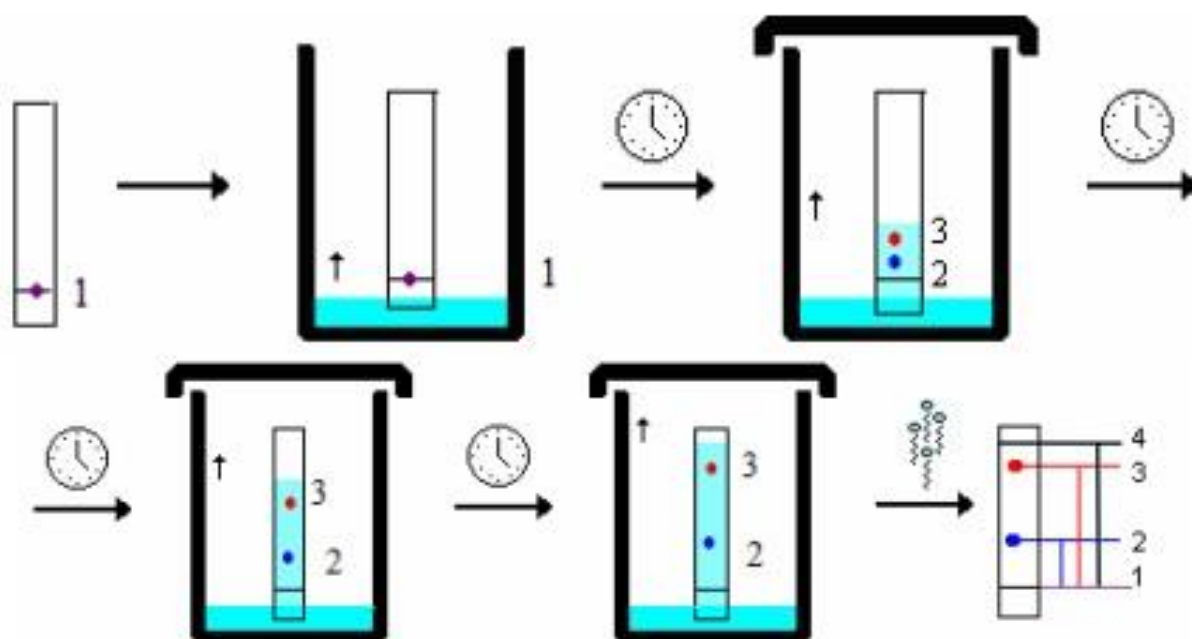
Вибір елюенту залежить від типу нерухомої фази та механізму поділу. Для неімпрегнованого паперу застосовують розчинники, здатні просочувати папір і розчиняти суміш, що аналізується. Найчастіше використовують воду з органічними розчинниками: спиртами (етанол, метанол, бутанол тощо),

естерами, кетонами, ефірами, піридином, хлороформом. Розчинники насичують водою та кислотами для запобігання гідролізу, комплексоутворення, зміни рН. Аніон кислоти має відповідати аніону солей у суміші. Найпоширенішим універсальним елюентом вважається верхній шар суміші оцтова кислота – н-бутанол – вода у співвідношенні 1:4:5.

У разі, коли одним елюентом неможливо досягти повного розділення суміші, застосовують двовимірну хроматографію. Для цього спочатку здійснюють розділення в одному напрямку, після чого папір висушують, повертають на 90° і проводять повторний аналіз з іншим розчинником. Це дозволяє ефективно розділяти складні суміші речовин зі схожими властивостями. Подібний підхід застосовується також у ТШХ.

Якісна і кількісна ідентифікація речовин у паперовій хроматографії здійснюється аналогічно методам, які використовують у тонкошаровій хроматографії. При виборі проявників важливо враховувати наявність функціональних груп у целюлозі та можливі домішки (лігнін, іони металів), що можуть впливати на результат аналізу.

Завдання 1. Зобразіть схему, позначте елементи та опишіть принцип розділення методом висхідної паперової хроматографії.



1 – місце нанесення компонентів, що піддаються розділенню; 2 – зона компоненту В; 3 – зона компоненту А; 4 – висота, на яку піднявся розчинник.

Рис. 7. Розділення методом висхідної паперової хроматографії

Завдання 2. Використовуючи рекомендовану літературу, письмово охарактеризуйте хроматографічний метод кількісного визначення амінокислот з використанням розподільної хроматографії на папері.

Питання для захисту лабораторної роботи

- 1. Характеристика паперової хроматографії.*
- 2. Нерухома фаза в розподільній хроматографії на папері.*
- 3. Різновиди хроматографічного паперу.*
- 4. Вибір елюенту в паперовій хроматографії.*
- 5. Якісний аналіз методом розподільної рідинної хроматографії на папері.*
- 6. Кількісний аналіз методом розподільної рідинної хроматографії на папері.*
- 7. Хроматографічний метод кількісного визначення амінокислот з використанням розподільної хроматографії на папері.*

Лабораторна робота № 8

Тема: Електрохроматографія.

Мета: Вивчити технології приготування пластин поліакриламідного гелю та електрофоретичного аналізу біомолекул.

Метод електрофоретичного аналізу ґрунтується на здатності біомолекул рухатися в електричному полі через рідинне або гелеподібне середовище. Переміщення молекул відбувається завдяки діям електричних сил, спрямованих уздовж твердого носія – гелю. Усі біологічні макромолекули, що мають власний електричний заряд, мігрують у напрямку відповідного електрода: позитивно заряджені – до катода (негативного електрода), а негативно заряджені – до анода (позитивного електрода). Швидкість переміщення кожної молекули залежить від її електричного заряду, просторової конфігурації, розміру та взаємодії з гелевою матрицею. Менші за розміром або більш заряджені молекули рухаються швидше, ніж великі або слабкозаряджені. Саме це явище лежить в основі розділення складних сумішей біополімерів.

Для проведення електрофорезу використовують різні типи гелів, які утворюють пористу структуру, що виконує роль молекулярного сита. Найпоширенішими носіями є **поліакриламідний гель (ПААГ)** – для розділення білків і пептидів, **агарозний гель** – для аналізу нуклеїнових кислот (ДНК, РНК), а також **гідролізований картопляний крохмаль**, який застосовують для розділення макромолекул із великою різницею в молекулярній масі.

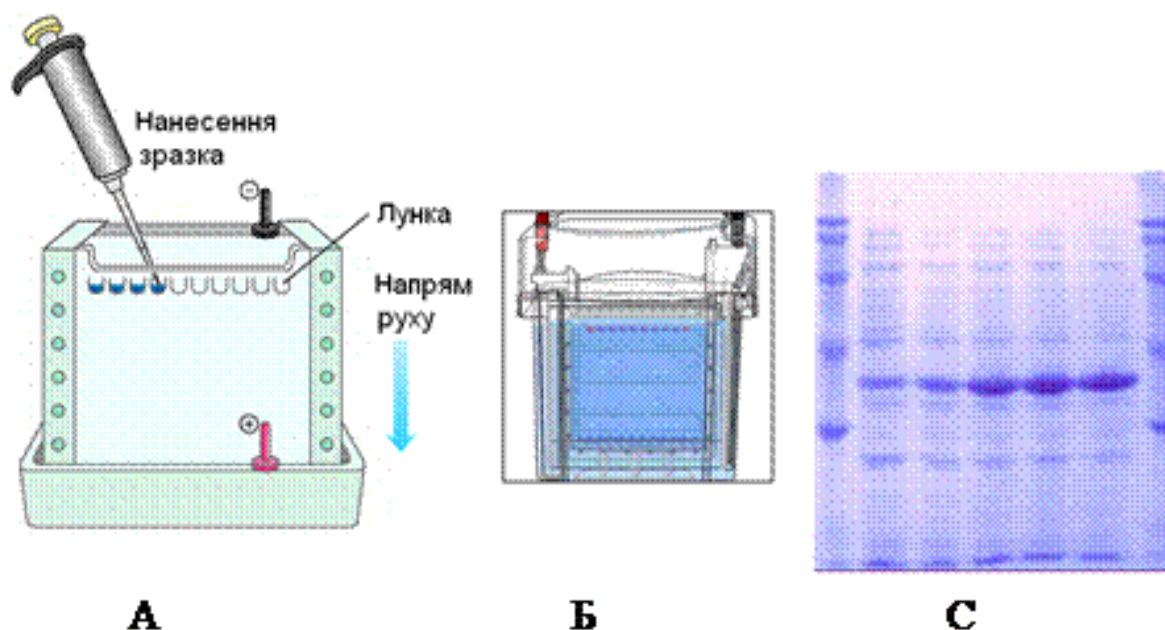
Метод електрофоретичного аналізу має широке застосування в біохімії, молекулярній біології та біотехнології. За його допомогою визначають якісний та кількісний склад білкових, ензимних і пептидних компонентів клітин як прокаріотів, так і еукаріотів. Електрофорез також активно використовують для контролю чистоти препаратів, моніторингу стану культур у ферментерах та біореакторах, а також для оцінки ефективності процесів біоконверсії. Крім того, поєднання електрофорезу з іншими методами (наприклад, із ізоелектричним фокусуванням чи імуноблотингом) дозволяє досягти високої роздільної здатності та точності при ідентифікації навіть незначних кількостей біомолекул.

Завдання 1. Зобразіть схему, позначте елементи та опишіть принцип розділення білків методом гель-електрофорезу.

Завдання 2. Використовуючи рекомендовану літературу, зазначте матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для приготування пластин поліакриламідного гелю для електрофоретичного аналізу білків та поліпептидів.

Завдання 3. Використовуючи рекомендовану літературу, занотуйте та вивчіть технологію приготування пластин поліакриламідного гелю для

електрофоретичного аналізу білків та поліпептидів.



А – нанесення зразків у гель; Б – камера для електрофорезу; В – електрофореграма білків.

Рис. 8. Схема розділення білків методом гелі-електрофорезу

Завдання 4. Використовуючи рекомендовану літературу, зазначте матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для електрофоретичного аналізу біомолекул у пластині поліакриламідного гелю.

Завдання 5. Використовуючи рекомендовану літературу, занотуйте та вивчіть порядок роботи при електрофоретичному аналізі біомолекул у пластині поліакриламідного гелю.

Питання для захисту лабораторної роботи

1. Характеристика електрохроматографії.
2. Принцип розділення білків методом гелі-електрофорезу.
3. Матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для приготування пластин поліакриламідного гелю для електрофоретичного аналізу білків та поліпептидів.
4. Технологія приготування пластин поліакриламідного гелю для електрофоретичного аналізу білків та поліпептидів.
5. Матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для електрофоретичного аналізу біомолекул у пластині поліакриламідного гелю.
6. Порядок роботи при електрофоретичному аналізі біомолекул у пластині поліакриламідного гелю.

Лабораторна робота № 9

Тема: Використання в біотехнології різних видів електрофорезу.

Мета: Вивчити технології ізоелектрофокусування (ІЕФ) біополімерів у пластині поліакриламідного гелю, пульс-електрофорезу та кометного електрофорезу.

Метод ізоелектричного фокусування (ІЕФ), як метод аналізу біологічних макромолекул, ґрунтується на принципі розділення біомолекул за їхнім ізоелектричним станом у поліакриламідному гелі, в якому попередньо створено стабільний градієнт рН. На відміну від класичного електрофорезу, де розділення здійснюється за розміром або загальним електричним зарядом молекул, у методі ІЕФ ключовим критерієм є різниця ізоелектричних точок (pI).

Кожна білкова або пептидна молекула в процесі електрофорезу мігрує доти, доки не досягне зони гелю, де рН середовища дорівнює її власному рН. У цій точці чистий заряд молекули дорівнює нулю, і вона зупиняється, утворюючи чітку фракцію. Такий підхід забезпечує надзвичайно високу роздільну здатність, що дозволяє розрізняти білки з відмінністю в ізоелектричних точках лише на 0,01 одиниці рН. Це суттєво розширює аналітичні можливості електрофоретичних методів у біотехнологічних дослідженнях.

Ізоелектричне фокусування широко застосовується для:

- аналізу гетерогенності біополімерів;
- визначення ізоелектричних точок білків та ферментів;
- очищення та виділення окремих білкових компонентів;
- побудови кислотно-лужних титраційних кривих і розрахунку констант дисоціації (pK) функціональних груп.

Практичне значення методу ІЕФ полягає у можливості використання його для контролю якості та функціональної активності ферментів, одержаних у промислових масштабах, а також для оцінки структурної стабільності білків під час біоконверсійних процесів.

Для аналізу макромолекул ДНК великого розміру (від 10 тис. до 1 млн пар основ) застосовують **електрофорез у пульсуючому полі (пульс-електрофорез)**. На відміну від звичайного електрофорезу, розділення тут відбувається у змінному електричному полі, де періодично змінюється напрямок або сила струму. Під час імпульсу молекули ДНК витягуються уздовж силових ліній, а між імпульсами частково релаксують, що створює різницю у швидкості міграції залежно від довжини полінуклеотидних ланцюгів.

Окремим варіантом методу є **електрофорез ДНК ізольованих клітин**, або так званий «**кометний**» електрофорез. У цьому випадку досліджують не фрагменти ДНК, а тотальну ДНК ядер еукаріотичних клітин. Метод дозволяє візуалізувати ступінь ушкодження генетичного матеріалу у вигляді характерних структур, подібних до комет, і широко застосовується у генотоксикології, клітинній біології та біомедичних дослідженнях.

Завдання 1. Використовуючи рекомендовану літературу, зазначте матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для проведення ізоелектрофокусування (ІЕФ) біополімерів у пластині поліакриламідного гелю.

Завдання 2. Використовуючи рекомендовану літературу, занотуйте та вивчіть технологію ізоелектрофокусування (ІЕФ) біополімерів у пластині поліакриламідного гелю.

Завдання 3. Зобразіть схему, позначте елементи та опишіть принцип розділення фрагментів ДНК за допомогою пульс-електрофорезу.

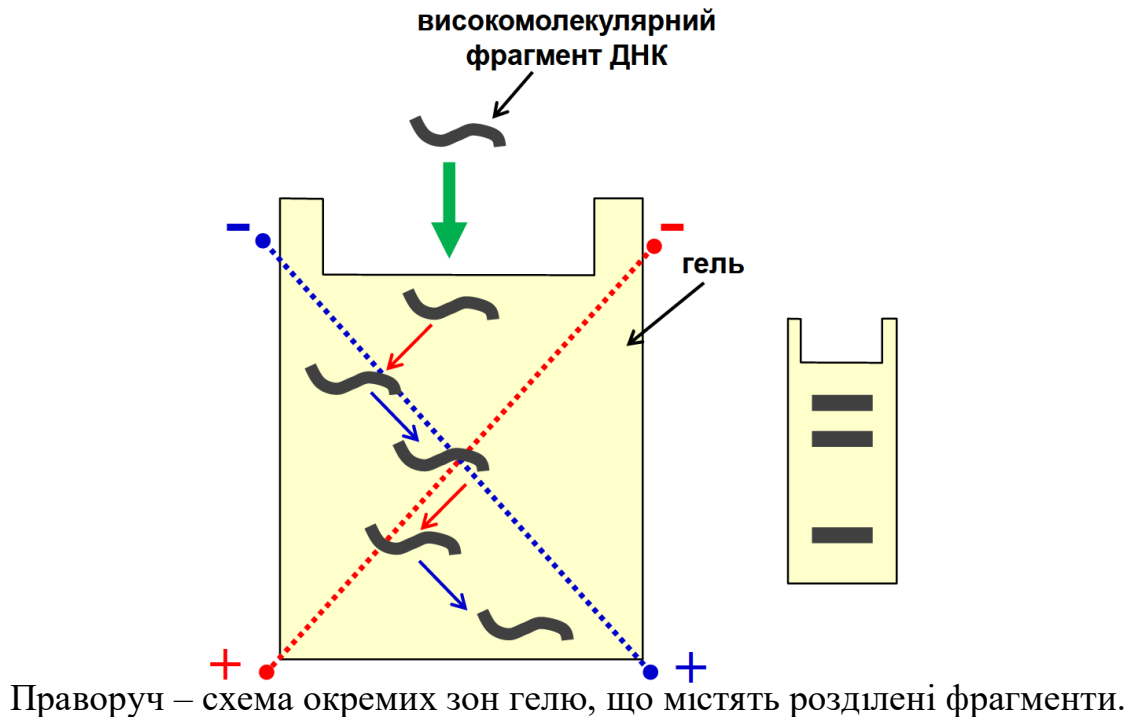


Рис. 9. Розділення фрагментів ДНК за допомогою пульс-електрофорезу із зміною кута подачі поля

Завдання 4. Використовуючи рекомендовану літературу, занотуйте та вивчіть особливості використання електрофорезу ДНК ізольованих клітин (кометного електрофорезу).

Питання для захисту лабораторної роботи

1. Матеріали, реактиви та обладнання, які необхідні для проведення ізоелектрофокусування (ІЕФ) біополімерів у пластині поліакриламідного гелю.
2. Технологія ізоелектрофокусування (ІЕФ) біополімерів у пластині поліакриламідного гелю.
3. Принцип розділення фрагментів ДНК за допомогою пульс-електрофорезу.
4. Особливості використання електрофорезу ДНК ізольованих клітин (кометного електрофорезу).

Лабораторна робота № 10

Тема: Електрохімічні методи досліджень.

Мета: Вивчити основні електрохімічні методи досліджень в біотехнології.

Електрохімічні методи аналізу ґрунтуються на використанні електрохімічних властивостей досліджуваних речовин і процесів, що відбуваються у електролітичних системах. До основних методів цього типу належать **електрогравіметрія, вольтамперометрія, кулонометрія, потенціометрія, кондуктометрія та полярографія.**

Принцип дії електрохімічних методів полягає у вивченні процесів, які проходять у **електролітичній комірці** – системі, що складається з електродів, занурених у розчин електроліту. Залежно від типу процесів, які в ній протікають, така комірка може функціонувати як **електрохімічна ванна** або як **гальванічний елемент.**

Електрохімічна ванна – це система, у якій під дією зовнішнього електричного струму на електродах відбуваються хімічні реакції. У таких системах здійснюється **електроліз**, тобто перетворення речовин під впливом електричної енергії.

Гальванічний елемент, навпаки, є системою, де хімічні реакції, що відбуваються на електродах, самостійно генерують електричний струм у зовнішньому колі.

Електрохімічні параметри – такі як сила струму, напруга або електричний опір – можуть виступати **аналітичними сигналами** за умови точного їх вимірювання. Залежність цих параметрів від концентрації, природи або структури речовин дозволяє визначати їх склад, чистоту та реакційну здатність. Саме тому електрохімічні методи широко застосовують у **аналітичній хімії, біотехнології, фармацевтиці та харчовій промисловості.**

У сучасній біотехнологічній практиці електрохімічні методи використовують для:

- визначення активності ферментів і контролю перебігу біокаталітичних реакцій;
- аналізу складу культуральних рідин і метаболітів під час ферментаційних процесів;
- контролю концентрації іонів металів, глюкози, лактату, амінокислот тощо у біосередовищах;
- створення біосенсорів, зокрема глюкозних, лактозних, глутаматних, які поєднують електрохімічний детектор з ферментними системами;
- моніторингу якості харчових продуктів, зокрема визначення ступеня окиснення жирів, наявності антиоксидантів або залишків пестицидів.

Завдяки високій чутливості, точності та можливості автоматизації, електрохімічні методи аналізу стали невід'ємним інструментом у контролі біотехнологічних процесів, оцінці біологічної активності зразків і забезпеченні стандартизації харчових продуктів.

Завдання 1. Зобразіть схеми, позначте елементи та опишіть процеси, що відбуваються всередині електрохімічної системи, яка може бути або електрохімічною ванною або гальванічним елементом.

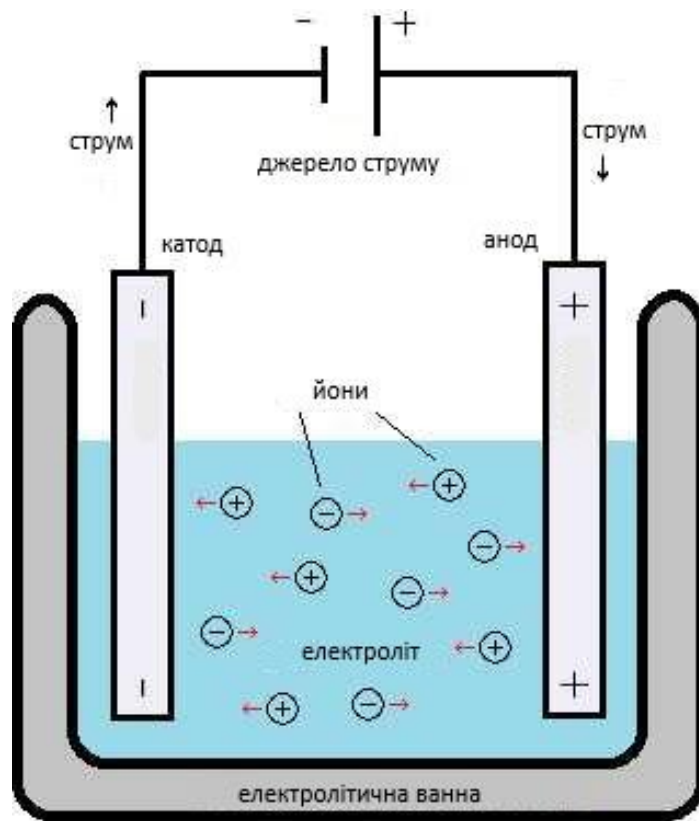


Рис. 10. Схема електрохімічної ванни

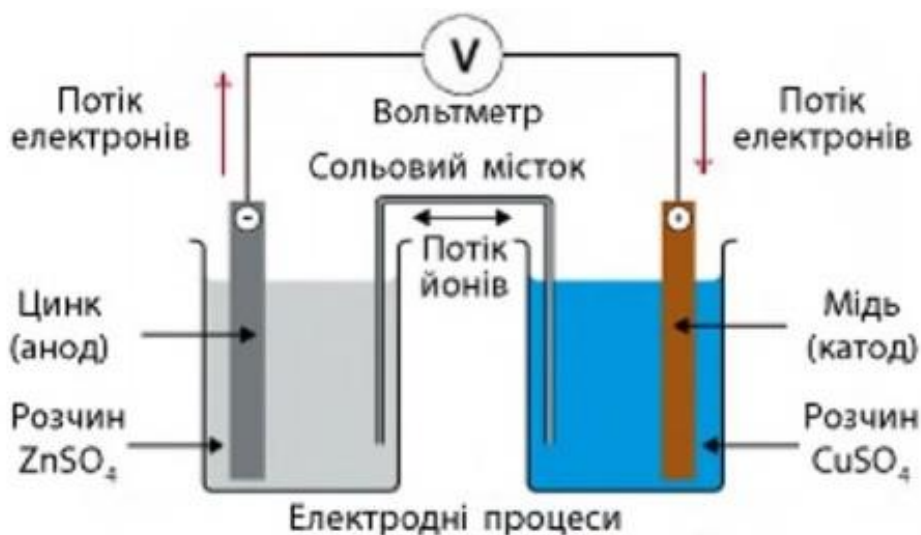


Рис. 11. Схема гальванічного елемента

Завдання 2. Дайте визначення та охарактеризуйте основні електрохімічні методи досліджень.

Основні вимоги до методів аналізу

Електрохімічні методи досліджень	Визначення та характеристика
1	2
Електрогравіметрія	
Вольтамперометрія	
Кулонометрія	
Потенціометрія	
Кондуктометрія	
Полярографія	

Завдання 3. Занотуйте та вивчіть особливості вольтамперометрії.

Завдання 4. Занотуйте та вивчіть особливості потенціометрії.

Питання для захисту лабораторної роботи

1. Електрохімічні методи аналізу.
2. Електрогравіметрія та вольтамперометрія.
3. Кулонометрія та потенціометрія.
4. Кондуктометрія та полярографія.

Лабораторна робота № 11

Тема: Спектроскопія.

Мета: Вивчити основні спектроскопічні методи досліджень в біотехнології.

Спектральний аналіз – це сукупність методів, що ґрунтуються на вивченні спектрів для визначення елементного та молекулярного складу, а також будови речовин. Цей метод дозволяє встановити як основні компоненти, що становлять 50-60% складу зразка, так і домішки, присутні у незначних кількостях. Завдяки високій чутливості й універсальності, спектральний аналіз є одним із найпоширеніших інструментів контролю в сучасній промисловості, наукових дослідженнях і біотехнології.

За метою дослідження та типом спектрів спектральний аналіз поділяють на атомний і молекулярний.

- **Атомний спектральний аналіз (АСА)** застосовується для визначення елементного складу речовини за спектрами випромінювання чи поглинання атомів та іонів.
- **Молекулярний спектральний аналіз (МСА)** використовується для ідентифікації молекулярного складу та будови речовин за спектрами поглинання, випромінювання, відбиття, люмінесценції та комбінаційного розсіювання світла.

Розрізняють два основні різновиди атомного спектрального аналізу – **атомно-емісійний (АЕСА)** і **атомно-абсорбційний (ААА)**.

- У **АЕСА** вимірюють інтенсивність спектральних ліній випромінювання, яка прямо залежить від концентрації відповідного елемента у зразку.
- **ААА**, навпаки, ґрунтується на визначенні зменшення інтенсивності світлового потоку внаслідок його поглинання атомами досліджуваної речовини.

Абсорбційний спектральний аналіз проводять у різних діапазонах електромагнітного спектра – ультрафіолетовій, видимій та інфрачервоній областях. До його основних методів належать **спектрофотометрія** та **колориметрія**.

Молекулярний спектральний аналіз дозволяє виконувати як якісне визначення (ідентифікацію сполук), так і кількісний аналіз компонентів сумішей. Молекулярний спектр є своєрідним «відбитком» молекули, який відображає її внутрішню структуру, тип хімічних зв'язків і властивості атомів, що входять до її складу.

У межах МСА розрізняють такі типи спектрів:

- **електронні спектри** – поглинання у видимому та ультрафіолетовому діапазонах, спектри люмінесценції;
- **коливальні спектри** – інфрачервоні (ІЧ) спектри поглинання і випромінювання;
- **спектри резонансів** – ядерного магнітного (ЯМР) та електронного парамагнітного (ЕПР) резонансів, рентгенівські спектри та інші.

Люмінесцентний спектральний аналіз базується на реєстрації власного світіння об'єкта або люмінофорів, якими оброблено досліджуваний матеріал.

Флуоресцентний аналіз ґрунтується на порівнянні спектрів світіння досліджуваного розчину із спектрами стандартних еталонів. Цей метод відзначається високою чутливістю і дозволяє визначати навіть слідові концентрації біомолекул.

Флуоресцентна спектроскопія – це комплекс методів, що досліджують спектральні характеристики світлового випромінювання молекул після їхнього збудження фотонами. Молекули, здатні випромінювати світло після збудження, називають **флуорофорами**, а їхні оптичні властивості визначаються хімічною структурою.

Спектрофотометрія – це фізико-хімічний метод, що досліджує властивості речовин на основі спектрів поглинання у видимій та ультрафіолетовій областях. Вона широко застосовується у **біохімії, молекулярній біології, біофізиці, генетиці** для точного визначення концентрацій речовин, аналізу структурних переходів у біополімерах, вивчення кінетики реакцій і визначення фізико-хімічних характеристик органічних сполук.

Молекули або їх частини, які ефективно поглинають світло у видимому чи ультрафіолетовому діапазоні, називаються хромофорами. У білках основними хромофорами є пептидні групи та ароматичні амінокислоти – триптофан, тирозин і фенілаланін. У нуклеїнових кислотах роль хромофорів виконують азотисті основи.

Завдання 1. Зобразіть загальну схему будови, позначте елементи і опишіть принцип роботи спектрофотометра та занотуйте і вивчіть використання спектрофотометрії в біотехнології.

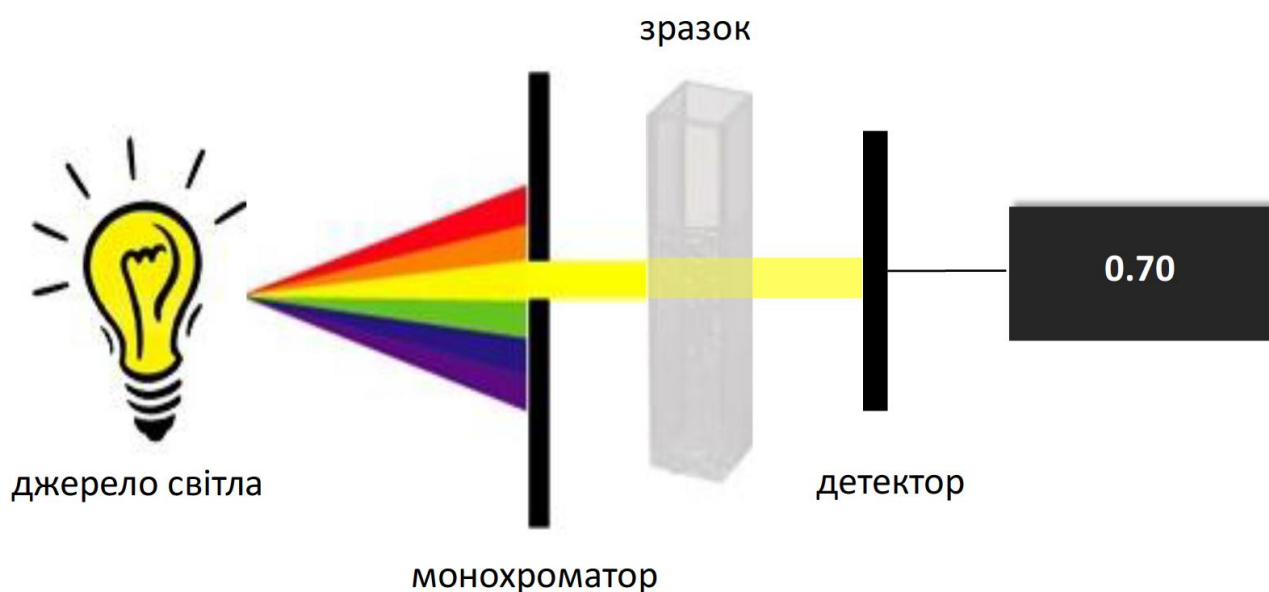
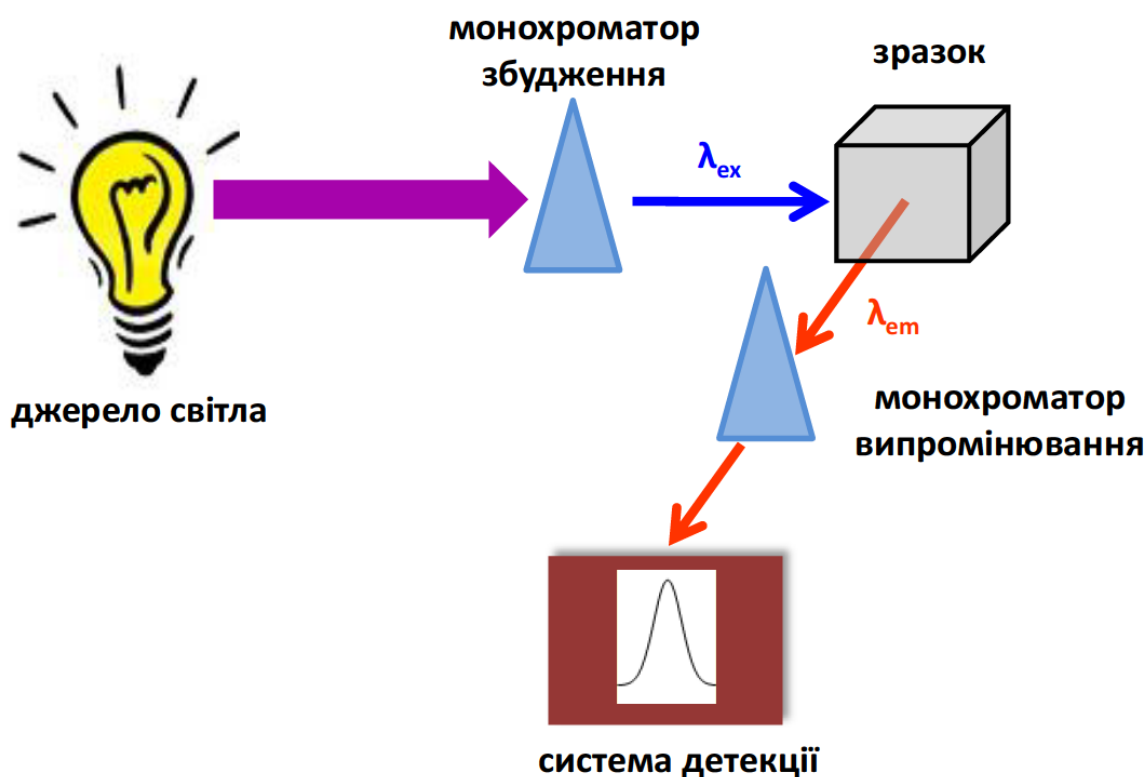


Рис. 12. Загальна схема будови спектрофотометра

Завдання 2. Зобразіть загальну схему будови, позначте елементи і опишіть принцип роботи спектрофлуориметра та занотуйте і вивчіть використання флуоресцентних методів в біотехнології.



λ_{ex} — довжина хвилі збуджуючого світла, λ_{em} — довжина хвилі світла, яке випромінюється.

Рис. 13. Загальна схема будови спектрофлуориметра

Питання для захисту лабораторної роботи

1. Спектральний аналіз, характеристика та класифікація.
2. Спектрофотометрія та її використання в біотехнології.
3. Флуоресцентні методи в біотехнології.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

Основна література:

1. Генетичні дослідження в біотехнології : конспект лекцій / уклад. І. Р. Ключак та ін. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2025. 66 с. URL: <https://ela.kpi.ua/server/api/core/bitstreams/f01dba8b-3ac2-45cb-b5ba-131c50f60dc8/content>
2. Каратєєва О. І., Юлевич О. І. Загальна біотехнологія : курс лекцій. Миколаїв : МНАУ, 2022. 107 с. URL: <https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/handle/123456789/12054>
3. Методи біотехнологічних досліджень : курс лекцій / уклад. Є. В. Баркаръ. Миколаїв : МНАУ, 2019. 44 с. URL: <https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/handle/123456789/5161>
4. Методи біотехнологічних досліджень. Ч. 2 : курс лекцій / уклад. Є. В. Баркаръ. Миколаїв : МНАУ, 2023. 50 с. URL: <https://dspace.mnau.edu.ua/jspui/handle/123456789/16707>
5. Приходько Р. В., Родіонов В. М., Клімко Ю. Є. Хроматографічний аналіз органічних сполук : навчально-методичний посібник. Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2023. 181 с. URL: <https://ela.kpi.ua/server/api/core/bitstreams/e196eed1-2547-4ef0-b390-e62cdbf8ca04/content>

Додаткова література:

1. Афанасьєва К. С. Фізичні методи в молекулярній генетиці : навч. посіб. Київ : Київ. ун-т, 2016. 127 с.
2. Мартиненко О. І. Методи молекулярної біотехнології : лаборатор. практикум. Київ : Академперіодика, 2010. 232 с.
3. Методи досліджень в біотехнології : конспект лекцій / уклад.: О. С. Волошина, М. М. Антонюк. Київ : НУХТ, 2012. 157 с.
4. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв : конспект лекцій / уклад. О. С. Волошина. Київ : НУХТ, 2015. 206 с.
5. Методи контролю біотехнологічних, фармацевтичних і харчових виробництв : лаб. практикум / уклад. О. С. Волошина. Київ : НУХТ, 2014. 89 с.
6. Мінаєва В. О. Хроматографічний аналіз : підручник. Черкаси : Вид. від. Черкас. нац. ун-ту ім. Богд. Хмельн., 2013. 284 с.
7. Федорченко С. В., Курта С. А. Хроматографічні методи аналізу : навч. посіб. Івано-Франківськ : Прикарпат. нац. ун-т ім. Василя Стефаника, 2012. 146 с.
8. Фізико-хімічні методи дослідження органічний сполук : метод. посіб. до лаб. практикуму для студентів хім. спец. вищ. навч. закл. / М. В. Сливка, М. Ю. Онисько, А. О. Кривов'яз, В. Г. Лендел. Ужгород : ВАТ «Патент», 2010. 36 с.

9. Хроматографічні та електрофоретичні методи аналізу біологічних макромолекул : метод. вказівки / уклад.: В. Ю. Черненко, Ж. М. Івахненко. Київ : Інформ.-вид. центр "Вид-во "Політехніка" Нац. техн. ун-ту України "Київ. політехн. ін-т", 2005. 48 с.

Навчальне видання

МЕТОДИ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Методичні рекомендації

Укладач: **Баркар** Євген Володимирович

Формат 60x84 1/16. Ум. друк. арк. 3,0.

Тираж 15 прим. Зам. № ____

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.