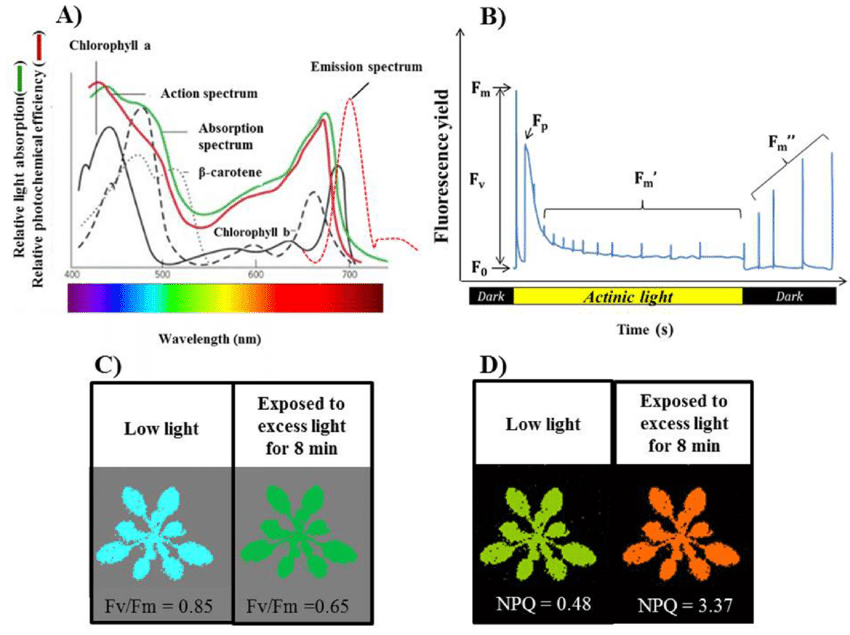
آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی 2

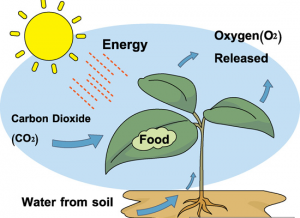
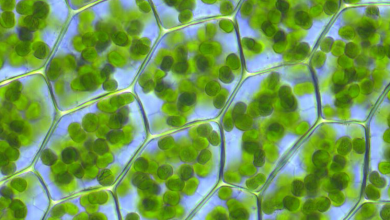
مرکز پیام نور پاکدشت

نام و نام خانوادگی : افسانه رحیمی

شماره دانشجویی : 963896998

نام خانوادگی استاد : آقای دکتر یزدان پناه





**فصل اول : فتوسنتز**

**فتوسنتز :**

**فتوسنتز** [فرایندی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%81%D8%B1%D8%A7%DB%8C%D9%86%D8%AF) [زیست‌شیمیایی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B2%DB%8C%D8%B3%D8%AA%E2%80%8C%D8%B4%DB%8C%D9%85%DB%8C) است که در آن، [انرژی نورانی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%86%D9%88%D8%B1) [خورشید](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%AE%D9%88%D8%B1%D8%B4%DB%8C%D8%AF) توسط [گیاهان](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%AF%DB%8C%D8%A7%D9%87%D8%A7%D9%86) و برخی از [باکتریها](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A8%D8%A7%DA%A9%D8%AA%D8%B1%DB%8C) به [انرژی شیمیایی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A7%D9%86%D8%B1%DA%98%DB%8C_%D8%B4%DB%8C%D9%85%DB%8C%D8%A7%DB%8C%DB%8C) ذخیره‌شده در [مواد غذایی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%AA%D8%BA%D8%B0%DB%8C%D9%87) آن‌ها تبدیل می‌شود. کمابیش همه [ارگانیسم‌های](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A7%D8%B1%DA%AF%D8%A7%D9%86%DB%8C%D8%B3%D9%85) روی [زمین](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B2%D9%85%DB%8C%D9%86) به آن وابسته‌اند. در عمل فتوسنتز، اندام‌هایی مانند [برگ](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A8%D8%B1%DA%AF) که دارای [سبزینه](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B3%D8%A8%D8%B2%DB%8C%D9%86%D9%87) هستند، [کربن دی‌اکسید](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%A9%D8%B1%D8%A8%D9%86_%D8%AF%DB%8C%E2%80%8C%D8%A7%DA%A9%D8%B3%DB%8C%D8%AF)، [آب](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A2%D8%A8) و [نور](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%86%D9%88%D8%B1) را جذب کرده و به [کلروپلاست](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%A9%D9%84%D8%B1%D9%88%D9%BE%D9%84%D8%A7%D8%B3%D8%AA) می‌رسانند. طی [واکنش‌هایی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%88%D8%A7%DA%A9%D9%86%D8%B4_%D8%B4%DB%8C%D9%85%DB%8C%D8%A7%DB%8C%DB%8C) که درون کلروپلاست انجام می‌گیرد، این مواد به [اکسیژن](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A7%DA%A9%D8%B3%DB%8C%DA%98%D9%86) و [کربوهیدراتها](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%A9%D8%B1%D8%A8%D9%88%D9%87%DB%8C%D8%AF%D8%B1%D8%A7%D8%AA) تبدیل می‌شوند. تمامی اکسیژن کنونی موجود بر روی زمین، فراورده فتوسنتز است. برخی از کربوهیدرات‌های مهم تولیدشده مانند [گلوکز](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%AF%D9%84%D9%88%DA%A9%D8%B2)، می‌توانند به سایر [مواد آلی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%AA%D8%B1%DA%A9%DB%8C%D8%A8_%D8%A2%D9%84%DB%8C)، [لیپیدها](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%84%DB%8C%D9%BE%DB%8C%D8%AF)، [نشاسته](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%86%D8%B4%D8%A7%D8%B3%D8%AA%D9%87)، [سلولز](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B3%D9%84%D9%88%D9%84%D8%B2) و [پروتئین](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%BE%D8%B1%D9%88%D8%AA%D8%A6%DB%8C%D9%86) تبدیل شوند که برای تبدیل‌شدن به پروتئین، نیاز به [نیتروژن](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%86%DB%8C%D8%AA%D8%B1%D9%88%DA%98%D9%86) دارند. [ژان باپتیست ون هلمونت](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%98%D8%A7%D9%86_%D8%A8%D8%A7%D9%BE%D8%AA%DB%8C%D8%B3%D8%AA_%D9%88%D9%86_%D9%87%D9%84%D9%85%D9%88%D9%86%D8%AA)، یکی از نخستین آزمایش‌های مربوط به فتوسنتز را انجام داد.

تمامی بخش‌های سبزرنگ گیاه، قادر به انجام عمل فتوسنتز هستند. ماده سبز موجود در گیاهان که [سبزینه](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B3%D8%A8%D8%B2%DB%8C%D9%86%D9%87) یا کلروفیل نام دارد، آغازکننده واکنش‌های فتوسنتز است. فتوسنتز در اندام‌هایی که فاقد سبزینه هستند، انجام نمی‌گیرد. [کلروپلاستها](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%A9%D9%84%D8%B1%D9%88%D9%BE%D9%84%D8%A7%D8%B3%D8%AA) که در [سلول‌های](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DB%8C%D8%A7%D8%AE%D8%AA%D9%87) سبزینه دار گیاهان وجود دارند، محل استقرار [مولکولهای](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%85%D9%88%D9%84%DA%A9%D9%88%D9%84) سبزینه می‌باشند. سلول‌های [برگ](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A8%D8%B1%DA%AF)، بیشترین مقدار کلروپلاست را دارند و به‌همین دلیل، اندام اصلی فتوسنتز در گیاهان به‌شمار می‌آیند.

قدمت نخستین فتوسنتز به حدود 3.5 میلیارد سال پیش بازمی‌گردد که در آن [واکنش](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%88%D8%A7%DA%A9%D9%86%D8%B4_%D8%B4%DB%8C%D9%85%DB%8C%D8%A7%DB%8C%DB%8C)، از [هیدروژن](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%87%DB%8C%D8%AF%D8%B1%D9%88%DA%98%D9%86) و [سولفید هیدروژن](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B3%D9%88%D9%84%D9%81%DB%8C%D8%AF_%D9%87%DB%8C%D8%AF%D8%B1%D9%88%DA%98%D9%86) [الکترونی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A7%D9%84%DA%A9%D8%AA%D8%B1%D9%88%D9%86) به‌جای آب استفاده شده‌است. حدود یک میلیارد سال پیش، [آغازیان](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A2%D8%BA%D8%A7%D8%B2%DB%8C%D8%A7%D9%86) با [سیانوباکتری‌ها](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B3%DB%8C%D8%A7%D9%86%D9%88%D8%A8%D8%A7%DA%A9%D8%AA%D8%B1) [هم‌زیستی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%87%D9%85%E2%80%8C%D8%B2%DB%8C%D8%B3%D8%AA%DB%8C) کردند که حاصل آن، به‌ وجود آمدن کلروپلاست در گیاهان امروزی است.

نیاکان آب‌هایی که به‌عنوان منبع [الکترونها](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%A7%D9%84%DA%A9%D8%AA%D8%B1%D9%88%D9%86) در [فرایند](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D9%81%D8%B1%D8%A7%DB%8C%D9%86%D8%AF) فتوسنتز استفاده می‌شوند، [سیانوباکتری‌های](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B3%DB%8C%D8%A7%D9%86%D9%88%D8%A8%D8%A7%DA%A9%D8%AA%D8%B1) منقرض‌شده هستند. داده‌های [زمین‌شناسی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B2%D9%85%DB%8C%D9%86%E2%80%8C%D8%B4%D9%86%D8%A7%D8%B3%DB%8C) نشان می‌دهد که تاریخ این رویداد به دوره نخست [زمین‌شناسی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B2%D9%85%DB%8C%D9%86%E2%80%8C%D8%B4%D9%86%D8%A7%D8%B3%DB%8C)، میان 2.45 تا 2.32 میلیارد سال پیش و حتی بسیار بیشتر از آن بازمی‌گردد.

پژوهشگران [دانشگاه تل‌آویو](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%AF%D8%A7%D9%86%D8%B4%DA%AF%D8%A7%D9%87_%D8%AA%D9%84%E2%80%8C%D8%A2%D9%88%DB%8C%D9%88) در سال 2020 کشف کردند که [زنبور سرخ آسیایی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B2%D9%86%D8%A8%D9%88%D8%B1_%D8%B3%D8%B1%D8%AE_%D8%A2%D8%B3%DB%8C%D8%A7%DB%8C%DB%8C)، با استفاده از [رنگدانه‌های](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B1%D9%86%DA%AF%D8%AF%D8%A7%D9%86%D9%87) به‌نام [زانتوپترین](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B2%D8%A7%D9%86%D8%AA%D9%88%D9%BE%D8%AA%D8%B1%DB%8C%D9%86)، نور خورشید را به برق تبدیل می‌کند. این شواهد علمی نشان داد که [جانوران](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%AC%D8%A7%D9%86%D9%88%D8%B1%D8%A7%D9%86) نیز در فتوسنتز درگیرند.

واکنش فتوسنتز دو واکنش‌دهنده یعنی آب و دی‌اکسیدکربن دارد. این دو واکنش‌دهنده دو محصول بنام‌های اکسیژن و گلوکز تولید می‌کنند. بنابراین واکنش فتوسنتز بعنوان یک واکنش گرماگیر درنظر گرفته می‌شود. فرمول فتوسنتز در ادامه آمده است:

6CO2 + 6H2O —> C6H12O6 + 6O2

باکتری‌های خاصی، برخلاف گیاهان، اکسیژن را بعنوان محصول فرعی فتوسنتز تولید نمی‌کنند*.* چنین باکتری‌هایی را باکتری‌های فتوسنتزکننده‌ بی‌هوازی (Anoxygenic photosynthetic bacteria) می‌نامند*.* باکتری‌هایی که اکسیژن را بعنوان محصول فرعی فتوسنتز تولید می‌کنند، باکتری‌های فتوسنتزکننده هوازی

(Oxygenic photosynthetic bacteria) می‌نامند*.*

فتوسنتز علاوه بر گیاهان سبز درباره ارگانیسم‌های دیگر نیز بکار می‌رود. این ارگانیسم‌ها شامل چندین پروکاریوت ازجمله سیانوباکتری‌ها و باکتری‌های گوگردی سبز و ارغوانی هستند. فتوسنتز در این ارگانیسم‌ها درست مانند گیاهان سبز است.

سپس از گلوکزی که طی فتوسنتز تولید می‌شود بعنوان سوخت فعالیت‌های سلولی گوناگون استفاده می‌شود. محصول فرعی این فرآیند فیزیوشیمیایی، اکسیژن است.

* جلبک‌ها نیز با فتوسنتز انرژی خورشیدی را به انرژی شیمیایی تبدیل می‌کنند. اکسیژن بعنوان محصول فرعی آزاد شده و نور نیز بعنوان فاکتور اصلی برای تکمیل فرآیند فتوسنتز درنظر گرفته می‌شود.
* زمانی‌که گیاهان از انرژی نورانی استفاده می‌کنند تا دی‌اکسیدکربن و آب را به گلوکز و اکسیژن تبدیل کنند فتوسنتز رخ می‌دهد. برگ‌ها اندامک‌های سلولی میکروسکوپی بنام کلروپلاست دارند.
* هر کلروپلاست یک رنگدانه سبزرنگ بنام کلروفیل دارد. مولکول‌های کلروفیل انرژی نورانی را جذب می‌کنند درحالیکه دی‌اکسیدکربن و اکسیژن از طریق منافذ [روزنه هوایی](https://vatan.bio/blog/plant-stomata-function) موجود در اپیدرمیس برگ‌ها وارد می‌شوند.
* محصول فرعی دیگر فتوسنتز قندهایی نظیر گلوکز و فروکتوز هستند.
* سپس این قندها به ریشه‌ها، ساقه‌ها، برگ‌ها، میوه‌ها، گل‌ها و دانه‌ها فرستاده می‌شوند. به‌عبارت دیگر گیاهان از این قندها بعنوان منبع انرژی استفاده می‌کنند تا به رشد آن‌ها کمک ‌کند. سپس مولکول‌های این قندها با یکدیگر ترکیب شده و کربوهیدرات‌های پیچیده‌تر نظیر سلولز و نشاسته را می‌سازند. سلولز یک ماده ساختاری است که در دیواره‌های سلولی گیاهان استفاده می‌شود.

## **این فرآیند کجا اتفاق می‌افتد؟**

کلروپلاست‌ها محل انجام فتوسنتز در گیاهان و جلبک‌های سبز هستند. همه بخش‌های سبزرنگ گیاه ازجمله ساقه‌های سبز، برگ‌های سبز و بخش‌های گل و کاسبرگ کلروپلاست – پلاست‌های سبزرنگ – دارند. این اندامک‌های سلولی فقط در سلول‌های گیاه وجود دارند و درون سلول‌های مزوفیل (میانبرگ) واقع شده‌اند.

* جلسه اول : بررسی فتوسنتز در گیاه

آزمایش 1: اثر نور در فرایند فتوسنتز

**تئوری آزمایش**

در جریان [فتوسنتز](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D9%81%D8%AA%D9%88%D8%B3%D9%86%D8%AA%D8%B2) در گیاهان دو گروه واکنش اتفاق می‌افتد. واکنشهای نوری و واکنشهای تاریکی. هر دو گروه واکنش انرژی‌خواه هستند. منتها فرم انرژی قابل مصرف در واکنشهای یاد شده متفاوت است. در واکنشهای نوری فتوسنتز ، انرژی قابل مصرف ، انرژی نوری خورشید است و در واکنشهای تاریکی انرژی ذخیره شده در واکنشهای نوری یعنی ATP مورد مصرف قرار می‌گیرد. واکنشهایی که در تاریکی انجام می‌شوند منجر به احیای کامل CO2 در [کلروپلاستها](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%DA%A9%D9%84%D8%B1%D9%88%D9%BE%D9%84%D8%A7%D8%B3%D8%AA) و تبدیل آنها به قندها می‌شوند.

# هدف آزمایش

ثابت کردن تاثیر نور در ساخته شدن قندها در گیاهان

# مواد لازم

1. شمعدانی
2. ورقه آلومینیومی
3. [اتانول](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D8%A7%D8%AA%D8%A7%D9%86%D9%88%D9%84) یا [استون](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D8%A7%D8%B3%D8%AA%D9%88%D9%86)
4. [آب مقطر](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D8%A2%D8%A8+%D9%85%D9%82%D8%B7%D8%B1)
5. پتری دیش
6. لوگول

**روش کار**

دو گلدان شمعدانی را انتخاب کرده و یکی را به مدت 48 ساعت در تاریکی و دیگری را در نور قرار میدهیم. سپس از هر یک برگی را جدا نموده و به طریق زیر عمل میکنیم.

1. ﺑﺮگ را در ﺑﺸﺮ ﻣﺤﺘﻮي اﻟﻜﻞ اﺗﻴﻠﻴﻚ ﻗﺮار دﻫﻴﺪ و ﺑﻪ ﻣﺪت 10 تا 15 دقیقه ﺣـﺮارت دﻫﻴـﺪ ﺗـﺎ ﻛﻠﻴـﻪ رﻧﮕﺪاﻧﻪ ﻫﺎ ﺟﺪا ﺷﻮﻧﺪ.
2. قطعات برگ فاقد کلروفیل را به ﺷﻴﺸﻪ ﺳﺎﻋﺖ ﻣﻨﺘﻘﻞ ﻛﺮده و ﭼﻨﺪﻳﻦ ﻣﺮﺗﺒﻪ ﺑﺎ آب ﺷﺴﺘﺸﻮ دﻫﻴﺪ.
3. ﻗﻄﻌﺎت ﺑﺮگ ﺷﺴﺘﻪ ﺷﺪه، ﻣﺤﻠﻮل ﻟﻮﮔﻞ را اﺿﺎﻓﻪ ﻧﻤﺎﺋﻴﺪ.

**نتیجه آزمایش**

بعد از ریختن محلول لوگول بر روی برگ شمعدانی ، در محل پنجره شکلL، رنگ بنفش ظاهر می‌شود. محلول لوگول معرف نشاسته است. و این بنفش شدن برگ در جایی از برگ که نور خورشید را دریافت کرده است، نشان دهنده این است که در آن محل تحت تاثیر نور،

[نشاسته](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D9%86%D8%B4%D8%A7%D8%B3%D8%AA%D9%87) سنتز شده است. در جایی از برگ که زیر ورقه آلومینیومی قرار گرفته بود، هیچ نشاسته‌ای تولید نشده است. پس در [فتوسنتز](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D9%81%D8%AA%D9%88%D8%B3%D9%86%D8%AA%D8%B2) واکنشهای نوری و تاریکی لازم و ملزوم یکدیگر هستند.

**آزمایش2 : نقشﻛﻠﺮوﻓﻴﻞ در ﻓﺮاﻳﻨﺪ ﻓﺘﻮﺳﻨﺘز**

**تئوری آزمایش**

**کلروفیل**، [رنگیزه‌ای](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B1%D9%86%DA%AF%DB%8C%D8%B2%D9%87) سبزرنگ است که در اکثر [گیاهان](https://fa.wikipedia.org/wiki/%DA%AF%DB%8C%D8%A7%D9%87%D8%A7%D9%86)، [خزه‌ها](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%AE%D8%B2%D9%87) و[سیانوباکتری‌ها](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B3%DB%8C%D8%A7%D9%86%D9%88%D8%A8%D8%A7%DA%A9%D8%AA%D8%B1%DB%8C" \o "سیانوباکتری) و باکتری های [فتواتوتروف یا همان باکتری های فتوسنتز کننده که کلرو فیل دارند اما کلرو پلاست ندارند](https://fa.wikipedia.org/w/index.php?title=%D9%81%D8%AA%D9%88%D8%A7%D8%AA%D9%88%D8%AA%D8%B1%D9%88%D9%81_%DB%8C%D8%A7_%D9%87%D9%85%D8%A7%D9%86_%D8%A8%D8%A7%DA%A9%D8%AA%D8%B1%DB%8C_%D9%87%D8%A7%DB%8C_%D9%81%D8%AA%D9%88%D8%B3%D9%86%D8%AA%D8%B2_%DA%A9%D9%86%D9%86%D8%AF%D9%87_%DA%A9%D9%87_%DA%A9%D9%84%D8%B1%D9%88_%D9%81%DB%8C%D9%84_%D8%AF%D8%A7%D8%B1%D9%86%D8%AF_%D8%A7%D9%85%D8%A7_%DA%A9%D9%84%D8%B1%D9%88_%D9%BE%D9%84%D8%A7%D8%B3_%D9%86%D8%AF%D8%A7%D8%B1%D9%86%D8%AF&action=edit&redlink=1) یافت می‌شود. سبزینه بخش اعظم نور آبی و قرمز را جذب و نور سبز و زرد را از بین [طیف‌های الکترومغناطیسی](https://fa.wikipedia.org/wiki/%D8%B7%DB%8C%D9%81_%D8%A7%D9%84%DA%A9%D8%AA%D8%B1%D9%88%D9%85%D8%BA%D9%86%D8%A7%D8%B7%DB%8C%D8%B3%DB%8C) منعکس می‌کند. رنگ سبز گیاهان به دلیل انعکاس نور سبز از کلروفیل‌هاست.

وظیفه سبزینه، [نورساختن](https://fa.wikipedia.org/w/index.php?title=%D9%86%D9%88%D8%B1%D8%B3%D8%A7%D8%AE%D8%AA%D9%86&action=edit&redlink=1) [فتوسنتز](https://fa.wikipedia.org/w/index.php?title=(%D9%81%D8%AA%D9%88%D8%B3%D9%86%D8%AA%D8%B2)&action=edit&redlink=1) است که یعنی دی اکسید کربن را با آب به دست آمده ترکیب و قند و اکسیژن میسازد یا به طور ساده تر گیاه را قادر می‌سازد از نور خورشید انرژی کسب کند. ماده‌ای شیمیایی است که تقریباً در برگ و ساقه تمام گیاهان و جود دارد و رنگ آن‌ها را سبز می‌کند. عملیات فتوسنتز باعث سبز ماندن گیاهان می‌شود. گیاهان، برای ساختن غذایشان به کلروفیل نیاز دارند. دی‌اکسید کربن موجود در هوا و آب مکش شده به وسیله ریشه گیاه از زمین در حضور نور با کمک کلروفیل واکنش می‌دهند و اکسیژن و کربوهیدرات تولید می‌شود.

**هدف آزمایش**

اثبات اثر کلروفیل در فرایند فتوسنتز

# مواد لازم

1. [اتانول](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D8%A7%D8%AA%D8%A7%D9%86%D9%88%D9%84) یا [استون](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D8%A7%D8%B3%D8%AA%D9%88%D9%86)
2. [آب مقطر](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D8%A2%D8%A8+%D9%85%D9%82%D8%B7%D8%B1)
3. پتری دیش
4. لوگول
5. گیاه حسن‌یوسف
6. شیشه ساعت، بشر و ..

**روش کار**

ﺟﻬﺖ اﻳﻦ آزﻣﺎﻳﺶ از ﮔﻴﺎه ﺣﺴﻦ ﻳﻮﺳﻒ اﺳﺘﻔﺎده ﻧﻤﺎﺋﻴﺪ. ﻳﻜﻲ از ﺑﺮگﻫﺎي ﮔﻴﺎه را ﺟﺪا ﻧﻤﻮده و ﺑﻪ ﻃﺮﻳـﻖ زﻳـﺮ ﻋﻤﻞ ﻧﻤﺎﻳﻴﺪ :

ﺑﺮگ را در ﺑﺸﺮ ﻣﺤﺘﻮي اﻟﻜﻞ اﺗﻴﻠﻴﻚ ﻗﺮار دﻫﻴﺪ و ﺑﻪ ﻣﺪت 10-15 دﻗﻴﻘـﻪ ﺣـﺮارت دﻫﻴـﺪ ﺗـﺎ ﻛﻠﻴـﻪ رنگدانه ها جدا شود.

1. ﺷﻴﺸﻪ ﺳﺎﻋﺖ ﻣﻨﺘﻘﻞ ﻛﺮده و ﭼﻨﺪﻳﻦ ﻣﺮﺗﺒﻪ ﺑﺎ آب ﺷﺴﺘﺸﻮ دﻫﻴﺪ
2. بر روی قطعات برگ شسته ﺷﺪه، ﻣﺤﻠﻮل ﻟﻮﮔﻞ را اﺿﺎﻓﻪ ﻧﻤﺎﺋﻴﺪ
3. بر روی قطعات برگ شسته شده محلول لوگل اضافه کنید.

**نتیجه آزمایش**

پس از جذب نور، الکترون‌های برانگیخته شده کلروفیل، در زنجیره انتقال الکترون بین اجزای مختلف جابجا می‌شوند و به تولید انرژی می‌انجامند. بنابراین در این زنجیره، دهنده الکترون، کلروفیل است. در یک فتوسیستم، انرژی بین رنگدانه‌ها از طریق فرایندی به نام رزونانس انتقال انرژی (نوعی از واکنش‌های الکترومگنتیک) انجام می‌شود.

در نتیجه کمبود کلروفیل منجر به کاهش فتوسنتز خواهد شد.

**آزمایش3: نقش دی‌اکسیدکربن در فتوسنتز**

**تئوری آزمایش**

به‌طور کلی افزایش سطح کربن‌دی‌اکسید سبب می‌شود تا میزان [فتوسنتز](https://www.zoomit.ir/tag/photosynthesis/)گیاهان افزایش یافته و همچنین نیاز [گیاهان](https://www.zoomit.ir/tag/%DA%AF%DB%8C%D8%A7%D9%87/)به آب کمتر شود. بنابراین با اولین نگاه این‌گونه به نظر می‌رسد که افزایش کربن‌دی‌اکسید فواید فراوانی برای گیاهان دارد و هیچ‌گونه اثر منفی روی گیاهان نمی‌گذارد.

ما داستان بسیار پیچیده‌تر از آن است که فکرش را می‌کنیم. چرا که افزایش فتوسنتز الزاماً بدان معنا نیست که گیاه در چنین شرایطی به تولید هرچه بیشتر اندام‌های زیستی خود می‌پردازد، از طرفی با افزایش میزان فتوسنتز الزاماً جذب کربن‌دی‌اکسید از جو افزایش پیدا نمی‌کند.

گیاهان نیز همچون سایر موجودات، شب هنگام کربن‌دی‌اکسید تولید کرده و در هوا منتشر می‌کنند. بنابراین با افزایش مصرف کربن‌دی‌اکسید میزان تنفس گیاهان نیز افزایش پیدا می‌کند و در این صورت، میزان جذب و دفع  کربن‌دی‌اکسید به تعادل می‌رسد و با هم برابری می‌کند. به‌عنوان مثال، فردی را در نظر بگیرید که درآمدش افزایش پیدا می‌کند و آن را به حساب بانکی خود واریز می‌کند. اما از طرفی مخارج این فرد نیز افزایش پیدا کرده است؛ در این صورت پولی که وی به حساب خود واریز کرده، با پولی که از حساب خود برداشت می‌کند برابر است و در نتیجه، موجودی شخص افزایش پیدا نمی‌کند.

[برخی از مطالعات](https://science.sciencemag.org/content/355/6321/130.summary) نشان می‌دهند که حتی اگر گیاهان با سرعت بیشتری رشد کنند و اندام‌های زیستی خود را تولید کنند، طول عمر این گیاهان کاهش می‌یابد. از طرفی کاهش طول عمر گیاهان سبب می‌شود تا میزان کربنی که در خاک و در بدنه‌ی عظیم گیاهان ذخیره شده است آزاد شود. در واقع جنگل‌هایی که دارای درختان و گیاهانی هستند که با سرعت بیشتری رشد می‌کنند و همچنین مزارعی که برای رشد گیاهان زیر کشت می‌روند، [مقدار کمتری از کربن](https://www.nature.com/articles/ngeo2782) را در خود ذخیره می‌کنند. در حالی که جنگل‌هایی با درختانی کهن و پوشش گیاهی که برای مدت‌های طولانی دست‌نخورده باقی مانده و رشد چندانی هم نداشته‌اند، مقادیر فراوانی از [کربن](https://www.zoomit.ir/tag/carbon/)را از جو زمین به دور نگه داشته‌اند.

مطالعه‌ای دیگر نشان می‌دهد که افزایش میزان کربن‌دی‌اکسید برای گیاهان سایه‌دوست یا به‌عبارتی گیاهانی که در نور بسیار کم رشد می‌کنند، احتمالاً مفید بوده و این گیاهان، [از جمله درخت مو](https://www.pik-potsdam.de/avec/peyresq2003/talks/0918/koerner/background_literature/GCB2002.pdf)، در چنین شرایطی با سرعت بیشتری رشد می‌کنند و نیز اندام های زیستی خود را با سرعت بیشتری بازسازی و جایگزین می‌کنند. اما باز هم میزان کربن ذخیره ‌شده در این گیاهان کمتر است. با افزایش میزان کربن‌دی‌اکسید، گیاهان روزنه‌ی برگ‌های خود را می‌بندند و این امر سبب می‌شود که از تبخیر آب جلوگیری شده و در مصرف آن صرفه‌جویی شود.

در این صورت، در مناطق خاصی از جمله مناطق خشک، رشد گیاهان عملا افزایش پیدا می‌کند. اما باز هم باید گفت که این مسئله کمی پیچیده تر از آن است که فکر می‌کنیم و ممکن است همواره تأثیرات منفی از افزایش میزان کربن‌دی‌اکسید وجود داشته باشد.

**هدف آزمایش**

**اثبات اثر کربن‌دی‌اکسید در فتوسنتز**

مواد لازم

1. **بشر**
2. **پیپت**
3. **چراغ**
4. **محلول قرمز متیل**
5. **جلبک**

روش کار

1. ﻫﻨﮕﺎﻣﻲ ﻛﻪ دي اﻛﺴﻴﺪ ﻛﺮﺑﻦ در آب ﺣﻞ ﻣﻲ‌شود، قسمتی از آن با آب ترکیب شده، و کربنیک اسید H2CO3)) تولید میکند که اسیدی ضعیف است و به H+ و HCO3 تجزیه میشود. PH این اسید حدود 4 است.
2. دو بشر کوچک انتخاب کنید و در هر کدام مقدار مساوی (حدود 15 میلی‌لیتر است) محلول قرمز متیل 0.06% بریزید (اﮔﺮ رﻧﮓ ﻣﺤﻠﻮل ﺗﻐﻴﻴﺮ ﻛﺮد ﺑﻪ وﺳﻴﻠﺔ ﭘﻴﭙﺖ آﻧﻘﺪر در ﻣﺤﻠﻮل ﺑﺪﻣﻴﺪ ﺗﺎ دوﺑﺎره رﻧﮓ اوﻟﻴﻪاش را ﺑﻪ دﺳﺖ آورد).

محلول قرمز متیل معرف خوبی برای تعیین PH است، چون در PH 5 به پایین قرمز رنگ است و PH 5 به بالا زرد رنگ میشود.

1. مقداری از یک گیاه سبزآبی (جلبک) در یک بشر قرار دهید و در بشر دیگر از همان گیاه که مدتی در دمای بالا (آب جوش) قرار گرفته و در نتیجه تمام آنزیم‌هایش از بین رفته است، قرار دهید (دقت کنید که بشرهای محتوی گیاه سبز زنده و مرده را در مقابل نور خورشید قرار دهید.)
2. بعد از حدود یک ساعت، رنگ محلول داخل بشرها را با یکدیگر مقایسه کنید.

نتیجه آزمایش

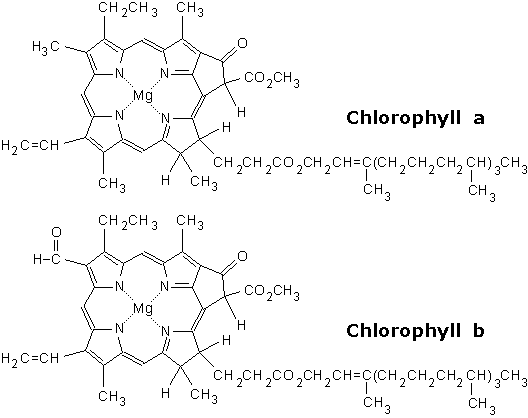
در بشر که گیاه سبز زنده موجود است به دلیل تولید اسید ضعیف HCO3 و کم شدن میزان PH رنگ داخل بشر به قرمز تبدیل میشود که نشانه ی وجود کربن دی اکسید و جذب آن مباشد. اما در بشری که گیاه مرده وجود دارد به دلیل از بین رفتن تمام آنزیم ها رنگ داخل بشر تغییری نمیکند.

* فصل دوم : رنگدانه‌های فتوسنتزی

رنگدانه‌های فتوسنتزی

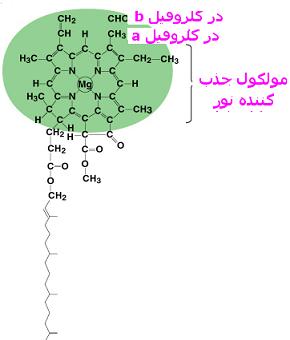
# کلروفیلها

کلروفیلها رنگیزه‌های سبز و فعال فتوسنتزی موجود در کلروپلاست‌اند که به انواع متنوع c , b , a , e , d شناخته شده‌اند. تمام گیاهان فتوسنتز کننده دارای کلروفیل a هستند ولی وجود کلروفیل کمکی مثل d , c ,b بستگی به نوع گیاه دارد. در بعضی جلبکها کلروفیل b وجود ندارد و به عوض آن کلروفیل c یا d دیده می‌شود. کلروفیل a به رنگ آبی مایل به سبز و محلول خالص کلروفیل b به رنگ سبز متمایل به زرد است. طیف جذبی کلروفیل a با b تفاوت دارد و بر حسب نوع پروتئینی که با آنها ترکیب شده فرق می‌کند.



## ساختار شیمیایی کلروفیل

ساختمان کلروفیل با بخش آهن‌دار [هموگلوبین](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D9%87%D9%85%D9%88%DA%AF%D9%84%D9%88%D8%A8%DB%8C%D9%86) خون جانوران شباهت دارد. ساختار شیمیایی کلروفیل به این ترتیب است که در مرکز مولکول کلروفیل یک [اتم منیزیم](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D9%85%D9%86%DB%8C%D8%B2%DB%8C%D9%85) قرار دارد که به چهار شبکه کربنی موسوم به چهار حلقه پیرولی متصل است و قسمت حلقوی (پورفیرین) سر مولکول آن را تشکیل می‌دهد. در محل کربن شماره 7 این هسته پورفیرینی یک زنجیره بلند کربنی بنام زنجیر فیتولی اتصال دارد که قسمت دوم مولکول را می‌سازد. هسته چهار پیرولی یا سر مولکول کلروفیل قطب آب‌دوست و زنجیر فیتولی یا دم کلروفیل قطب آب گریز (یا چربی دوست) آن را تشکیل می‌دهد و به همین جهت کلروفیل و مولکولهای نظیر آن را ترکیبات دوپسند می‌نامند.



# کاروتنوئیدها

کاروتنوئیدها [ترکیباتی لیپیدی](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%DA%86%D8%B1%D8%A8%DB%8C) هستند که به مقدار زیاد در جانوران و گیاهان به رنگ نارنجی تا ارغوانی یافت می‌شوند.

## کاروتن

نخستین ترکیبات کاروتنوئیدی که توسط واکنرود در سال 1831 شناخته شد و از ریشه هویچ استخراج گردید، بتا β کاروتن است β. کاروتن وقتی به دو نیمه مساوی تقسیم شود دو مولکول [ویتامین A](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D9%88%DB%8C%D8%AA%D8%A7%D9%85%DB%8C%D9%86+A)  می‌سازد که ویتامین A پس از اکسایش به رتینال یا رنگیزه گیرنده نور در چشم انسان تبدیل می‌گردد. الکترونهای رتینال موجود در یاخته‌های گیرنده شبکیه چشم با جذب فوتونهای نور برانگیخته شده تغییراتی را در [غشای یاخته‌ها](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D8%BA%D8%B4%D8%A7%DB%8C+%D8%B3%D9%84%D9%88%D9%84%DB%8C) بوجود می‌آورد و منجر به تحریک گیرنده‌های عصبی می‌شود. رتینال فوتونهایی را که انرژی متوسطی دارند و طول موج آنها بین 400 تا 700 نانومتر یعنی همان طیف نور مرئی است جذب می‌کنند.

## گزانتوفیلها

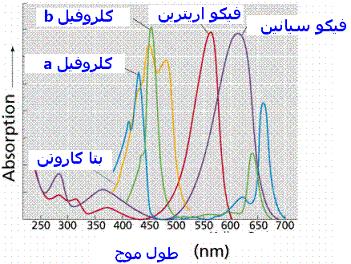
کاروتنوئیدها از [کربن](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%DA%A9%D8%B1%D8%A8%D9%86) و [هیدروژن](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D9%87%DB%8C%D8%AF%D8%B1%D9%88%DA%98%D9%86) تشکیل شده‌اند. کاروتنوئیدها علاوه بر کربن و هیدروژن ، [اکسیژن](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D8%A7%DA%A9%D8%B3%DB%8C%DA%98%D9%86) نیز دارند (فرم اکسید شده کاروتنوئیها) گزانتوفیل خوانده می‌شوند که خیلی بیش از کاروتنها و به میزان 2 برابر آنها در گیاهان یافت می‌شوند.

## ساختار شیمیایی کاروتنوئیدها

هر مولکول کاروتنوئید یک زنجیره بلند هیدروکربنی اشباع نشده شامل دو نیمه یا دو قسمت است که توسط یک پیوند مضاعف بهم متصلند. هر نیمه مولکول از چهار واحد ایزوپرین تشکیل شده است. β کاروتن دو حلقه آنیونی β یکسان در دوانتهای زنجیره هیدروکربنی دارد. در حالی که α کاروتن یک حلقه آنیونی α و یک حلقه آنیونی β دارد.

## اهمیت کاروتنوئیدها

علاوه بر نقش فیزیولوژی کاروتنوئیدها در ارتباط با ویتامین A وتاثیر آن در قوه بینایی جانوران ، امروزه اهمیت آنها در گیاهان روشن شده است. این رنگیزه‌ها در خارج از ماده زنده دارای فلوئورسانس نیستند ولی باعث ایجاد این پدیده در کلروفیل a می‌شوند. از این رو طول موجهایی از نور را که کلروفیل a قادر به جذب آنها نیست جذب نموده و به آن منتقل می‌سازند. از طرف دیگر بعضی از پژوهشگران معتقدند که کاروتنوئیدها طول موجهایی از نور را که باعث اکسایش نوری کلروفیل می‌شوند جذب می‌کنند و بدین ترتیب کلروفیل را محافظت می‌نمایند.

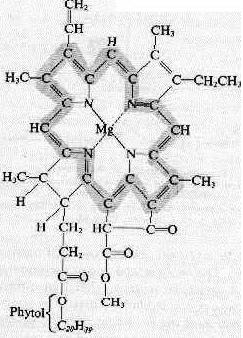


# فیکواریترینها و فیکوسیانینها

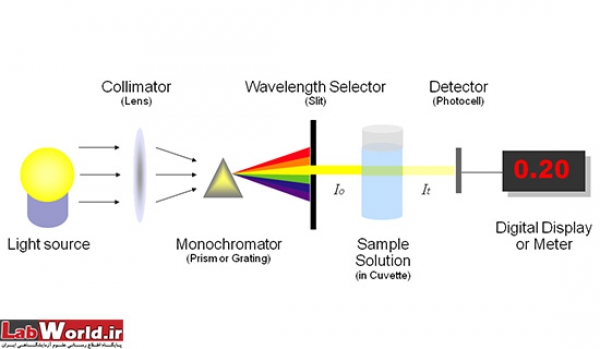
فیکواریترینها و فیکوسیانینها از دیگر رنگیزه‌های کمکی هستند که به دسته‌ای از پروتئینهای مرکب به نام بیلی‌پروتئینها تعلق دارند.گروه پروستتیک این بیلی پروتئینها، فیکوبیلین خوانده می‌شود که قویاً به قسمت پروتئینی متصل است. این بخش در حلالهای آلی ، نظیر کلروفرم حل می‌شود. از این رو مطالعه آن بطور مجزا و خالص دشوار است. فیکواریترینها به رنگ سرخ در [جلبکهای سرخ](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%D8%AC%D9%84%D8%A8%DA%A9+%D9%82%D8%B1%D9%85%D8%B2) و فیکوسیانینها به رنگ آبی در جلبکهای آبی همراه با رنگیزه‌های کلروفیل و کاروتنوئید به انتقال انرژی به کلروفیل α کمک می‌کنند.

## ساختار شیمیایی

این رنگیزه‌ها نیز مثل [کلروفیل‌ها](http://daneshnameh.roshd.ir/mavara/mavara-index.php?page=%DA%A9%D9%84%D8%B1%D9%88%D9%81%DB%8C%D9%84%D9%87%D8%A7%DB%8C+%DA%AF%DB%8C%D8%A7%D9%87%D8%A7%D9%86) از چهار حلقه پیرولی تشکیل شده‌اند. اما چهار حلقه پیرول بطور زنجیره‌ای بهم متصل‌اند. از این گذشته فیتول و منیزیم ندارند. این رنگیزه‌ها در یاخته‌ها به پروتئین متصل‌اند. هر دو نوع فیکوبیلین فوق در جذب نور و فتوسنتز موثرند. فیکواریترین بویژه نور سبز را در جهت انجام فتوسنتز جذب می‌کند و بهمین علت نیز جلبکهای سرخ می‌توانند در ژرفای آبها زندگی کنند. زیرا نور سبز کمتر جذب مولکولهای آب می‌شوند و در نتیجه بیشتر نفوذ می‌کند.



جلسه دوم : اندازه‌گیری میزان کلروفیل a و b و کلروفیل کل

اسپکتوفتومتری

روش های جذب سنجی یکی از قدرتمندترین و رایج ترین روش های اندازه گیری طیف وسیعی از آنالیت ها محسوب می شوند. بسیاری از دستگاه های مورد استفاده در آزمایشگاههای تشخیصی بر پایه اندازه گیری میزان جذب یا عبور انرژی تشعشعی ساخته شده اند.

اسپکتروفتومتر یا فتومتر ابزاری است که برای اندازه گیری انرژی جذبی یا عبوری نور مورد استفاده قرار می گیرد.

تشعشع الکترومغناطیسی (EMR) جریانی از انرژی است که با سرعت نور در جهان انتشار می یابد. و به صورت امواج ماکسول و جریانی از ذرات تحت عنوان فوتون وجود دارد.

طیف فرکانس های EMR از مقادیر بسیار پایین در مورد امواج رادیویی تا مقادیر بالاتر از جمله امواج فرابنفش، اشعه ایکس و اشعه گاما متفاوت است.

## جنس و خواص نور:

نور در واقع نوعی انرژی با خاصیت دو گانه موج و ذره است.

یک موج الکترومغناطیسی از دو جزء الکتریکی و مغناطیسی با مولفه های عمود بر هم در راستای جهت انتشار تشکیل شده است.

نوری که معمولا در درجه حرارت های بالاتر از مواد ساطع می شود علاوه بر خاصیت الکتریکی دارای خاصیت مغناطیسی نیز می باشد.

قانون بیر

در یک محلول نسبتاً رقیق هر مولکول رنگیزه حل شده، بخشی مساوی از تشعشع تابیده شده را جذب می کند (به این معنی که میزان جذب تشعشع به غلظت رنگیزه ها بستگی دارد و هر چه غلظت رنگیزه بیشتر باشد جذب تشعشع هم بیشتر است).

قانون لامبرت

اگر در یک محیط لایه لایه شدت تابش اولیه Ioباشد، هر لایه با ضخامت مساوی بخشی مساوی از این انرژی تابشی را جذب می کند (هر لایه ای وقتی مقداری از تشعشع را جذب کرد، مقدار تشعشع کمتری برای لایه بعدی باقی می ماند و در حقیقت با یک حالت استهلاک یا انقراض نوری  مواجه هستیم که نور دریافتی توسط لایه بعدی به طور مرتب با یک ضریب کم و کمتر می شود).

با تلفیق این دو قانون قانون بیر- لامبرت خلق می شود. خلاصه این قانون می گوید:

مقدار جذب تشعشع برابر است با تعداد مولکول رنگیزه ای که در یک طول مسیر معین وجود دارد. از آنجا که این مقدار تشعشع متباً کاهش می یابد لذا آن را در یک ضریب (ضریب خاموشی یا ضریب استهلاک نوری که با حرف ابسیلون یا K نشان داده می شود) ضرب می نماییم.

Ln Ii/Io = -K.LAI

در فرمول فوق:

Ii = شدت نور در لایه I ام جامعه گیاهی.

Io = شدت نور در بالای جامعه گیاهی.

K= زاویه برگ ها.

LAI = شاخص سطح برگ.

این فرمول به ما می گوید مقدار  نوری که به لایه I ام می رسد با LAI نسبت عکس دارد و ضمناً به زاویه برگ ها نیز بستگی دارد.

نحوه محاسبه ضریب استهلاک نوری یا K:

K= Ln Io/Ii / LAI

توسط دستگاه نور سنج یکبار شدت نور را در بالای جامعه گیاهی (Io) و یک بار بر روی زمین (زیر کانوپی گیاهی Ii) اندازه می گیریم. با محاسبه LAI می توان فرمول فوق را محاسبه نمود. (توضیح اینکه می توان در لایه های مختلف Ii را اندازه گرفت د ر این صورت لایه بالایی می شود Io و لایه پایین تر می شود Ii).

طبق نظر لامبرت هرگاه یک دسته شعاع نور تکفام (I) از محلولی به ضخامت L عبور کند کم شدن شدت نور متناسب با ضخامت محلول خواهد بود dI ~L

طبق نظر بیر هرگاه یک دسته شعاع تکفام از محلولی به غلظت C عبور کند کم شدن شدت نور متناسب با غلظت آنالیت در محلول می باشد.

دستگاههایی که برای جذب سنجی به کار می روند عبارتند از: فتومترها و اسپکتروفتومترها. در فتومترها از فیلتر به عنوان تکفام ساز (Monochoromator)استفاده می شود لذا بخش محدودی از طول موج قابل دسترسی می باشد اما در اسپکتروفتومترها منشور و سیستمهای (Grating) به عنوان تکفام ساز عمل می کنند.

برای درک بهتر این قانون مثال زیر را می آورم:

در دو جامعه گیاهی A و B ، جامعه A دارای شاخص سطح برگ 3/6 بوده و 12% از تشعشع به زمین برخورد می کند (Ii) در حالی که در جامعه B شاخص سطح برگ 2/9 بوده و 4% از تشعشع به زمین برخورد می نماید. ضریب استهلاک نوری (K) را برای این دو جامعه گیاهی محاسبه کنید؟

در جامعه A:

Io = 88% و Ii = 12%

در نتیجه:

K= 1.99/6.3 = 0.32

در جامعه B:

Io = 96% و Ii = 4%

در نتیجه:

K= 3.18/9.2 = 0.35

تفسیر: جامعه B دارای برگ های با زاویه افقی تر و جامعه A دارای برگ های با زاویه عمودی تر بوده و در نتیجه با افزایش LAI توانسته درصد بیشتری از تشعشع را جذب کرده و با ضریب استهلاک نوری کمتر، تشعشع بیشتری  به لایه I ام جامعه گیاهی برساند. در نتیجه در جامعه A می توان با افزایش تراکم عملکرد محصول بیشتری به دست آورد.

## فتومترها و اسپکتروفتومترها:

اسپكتروفتومترها، تجهيزاتي است كه جذب يا عبور طول موج‌هاي مشخصي از انرژي تابشي (نور) از يك آناليت را در يك محلول تعيين مي‌كنند. به دليل تفاوت در تعداد و آرايش گروه‌ها، پيوندهاي دوگانه اتم‌هاي كربن در هر مولكول نور را در طول موج‌هاي خاص با الگوي طيف مشخص، جذب مي‌كند. بر اساس قانون بير- لامبرت، مقدار نوري كه در اين طول موج مشخص جذب مي‌شود مستقيما با غلظت آن نمونه شيميايي متناسب است. اسپكتروفتومترهاي مرئي و فرابنفش، رايج‌ترين دستگاه‌هاي جذب سنجي در مراكز تشخيصي و آزمايشگاهي است.‏

## اسپكتروفتومتر نور مرئي

در آزمايشگاه‌ها، بخش گسترده اي از اندازه گيري‌ها بر اساس واكنش‌هاي جذب سنجي صورت مي‌پذيرد. فعاليت اكثر آنزيم‌ها، تري گليسيريد، كلسترول، ليپو پروتئين‌ها، قند، كراتينين، اوره و...  طيف وسيعي از آناليت‌ها با كاربردهاي باليني و تحقيقاتي، طيف وسيعي از داروها و بخش گسترده‌اي از متابوليت‌ها با اسپكتروفتومتري قابل سنجش است. بررسي ساختمان مولكولي، شناسائي تركيبات، مقايسه ساختمان‌ها، يافتن طول موج ماكزيمم جذب و... از ديگر كاربردهاي اسپكتروفتومتري در مسائل تحقيقاتي است.‏

# روش کار با دستگاه اسپکتروفتومتر

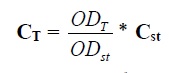
لازمه روش کار با دستگاه اسپکتروفتومتر ابتدا جداکردن عوامل مزاحم از محلول می باشد. براي تعیین مقدار یک ماده باید سعی کنیم حتی المقدور مواد مزاحم را از محیط آزمایش دور کنیم. تا از پیدایش رنگهاي بیگانه و مزاحم جلوگیري گردد. براي این منظور در اغلب اندازه گیري ها به کمک ترکیبات مختلف، پروتئین هاي خون یا پلاسما را رسوب داده و واکنش را بر روي محلول صاف شده انجام می دهند. یا اینکه بعضاً به کمک حلالهاي مناسب، ماده مورد اندازه گیري را از سرم جدا می کنند.

طول موجهاي مختلف، تولید رنگهاي مختلفی را می نمایند و در اسپکتروفتومتري انتخاب طول موج براساس رنگ محلول رنگی صورت می گیرد. یعنی باید طول موجی را انتخاب نمود که رنگ آن مکمل رنگ محلول باشد. به عنوان مثال اگر یک محلول رنگی داشته باشیم و نوري از آن عبور دهیم مقداري از این نور جذب می شود که این نور جذب شده داراي رنگ مکمل رنگ محلول می باشد. که این مقدار بستگی به غلظت محلول رنگی دارد. لذا روش کار با دستگاه اسپکتروفتومتر بوسیله فیلتر و یا منشور و … نور تکرنگ ایجاد می نمایند. تا بتوان غلظت یک محلول رنگی (خاصی) را محاسبه کرد. محلولهاي رنگی در رنگ مکمل خود حداکثر جذب نور را دارند و بر حسب همین خاصیت مربوط به خود مورد مطالعه قرار می دهند. و شدت و ضعف این رنگ بستگی به مقدار ماده موجود در محلول مواد را در طول موجهاي دارد.

## محلولهاي مورد استفاده در روش کار با دستگاه اسپکتروفتومتر

محلولهاي استاندارد (standard)

در جذب ابتدا باید واکنش رنگی را با محلولهاي داراي غلظت معین (محلول st )داده و منحنی تغییرات دانسیته اپتیک را نسبت به غلظت هاي مختلف رسم نمود. در صورتیکه منحنی تغییرات خطی باشد (یعنی جذبنوري محلول رنگی از قوانین جذب نوري تبعیت نماید) می توان هنگام اندازه گیري یک ماده در مایع بیولوژیک با روش رنگ سنجی فقط از یک دو محلول استاندارد (استاندارد رقیق و غلیظ) استفاده نموده و مقدار ماده را در مایع بیولوژیک با استفاده از رابطه زیر محاسبه نمود:



محلولهاي شاهد (Blank)

محلولی است محتوي تمام مواد بکار برده شده در آزمایش، به جز ماده مورد اندازه گیري. در تعیین مقدار یک ماده در مایعات بیولوژیک، با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر باید ابتدا با محلول شاهد، عقربه گالوانومتر را روي عدد صفر تنظیم کرد.

## اجزا دستگاه:

### شش قسمت اصلی در ساختمان اسپکتروفتومترها وجود دارد که عبارتند از:

1. منبع نور
2. مونوکروماتور
3. متمرکز کننده پرتو
4. محل نمونه
5. آشکارساز
6. دستگاه نمایش خروجی

1. منبع نور:

منبع نور در اثر افزایش حرارت به کمک الکتریسیته در یک لامپ تامین می شود شرایط اصلی این منبع شدت کافی، پایداری و پیوستگی اجزاء آن است. برای تامین نور مرئی از لامپ های تنگستن  (با طول موج توليدي بين ‏nm‏ 900-330) استفاده می شود. برای تولید پرتوهای فرابنفش از لامپهای هیدروژنی یا دوتریومی (با طول موج nm 450 -200) بهره گرفته می شود.

## 2. تکفام ساز (‏‎(Monochromator:

این قسمت دستگاه پرتو چند فام را به پرتو تکفام تبدیل می کند این عمل ممکن است توسط منشور یا سیستم گریتینگ انجام شود. فیلترها شیشه های رنگی هستند که بخش اعظم پرتوها را جذب کرده و فقط طول موج های محدودی را عبور می دهند. فیلترها باید پرتویی را که آنالیت جذب می کند از خود عبور دهند. منشورها و سیستم گریتینگ بر اساس اختلاف ضریب شکست می توانند طول موجهایی حتی با پهنای 1/0 نانومتر تولید کنند. سیستم گریتینگ در اصل یک صفحه صیقلی است که تعداد زیادی خطوط نازک و موازی بر روی آن حک شده و کار منشور را به نحو بهتری انجام می دهد.

## 3. متمرکز کننده پرتو (Focusing device):

با ترکیبی از عدسی ها شکاف بین دو تیغه باریک فلزی و آیینه ها در مسیر پرتو تابش پرتوها مواز ی می شوند و با تنظیم عرض شکاف می توان عرض پرتو را تنظیم کرد. هر قدر عرض شکاف نور بکار رفته کمتر باشد کیفیت پرتوها بهتر خواهد بود.

## محل نمونه:

کووتها (Cuvet) قسمتی از دستگاه هستند که نمونه مورد نظر یا بلانک در آن قرار می گیرد این بخش معمولا به صورت استوانه ای یا مستطیلی بوده از شیشه کوارتز یا پلاستیک ساخته شده است.

کووتهای پلاستیکی و شیشه ای برای محدوده مرئی بکار می روند. به دلیل جذب پرتوهای با طول موج کمتر از 350 نانومتر توسط کووتهای شیشه ای برای محدوده فرابنفش از کووتهای گران قیمت کوارتزی یا سیلیسی استفاده می شود.

## آشکارسازها (Detectors):

آشکارسازها دستگاههایی هستند که یک نوع از انرژی را به نوع دیگری تبدیل می کنند و معمولا به سه گروه اصلی تقسیم می شوند: 1- فتوالکتریکی 2- فتوشیمیایی 3- حرارتی. در دستگاههای اسپکتروفتومتر از آشکارسازهای فتوالکتریکی استفاده می شود. فتوسل و فتوتیوب از ساده ترین آشکارسازها می باشند.

فتوترانزیستورها و فتودیودها نیز برای این منظور استفاده می شوند. برای اندازه گیری نورهای ضعیف از (Photomultiplier Tubes) PMT بهره گرفته می شود. PMTها سریعتر جواب می دهند وعلاوه بر حساسیت بالا با دوام تر از سایر آشکارسازها می باشند.

## دستگاه نمایش خروجی

این قسمت می تواند یک گالوانومتر صفحه ثبات اسیلوسکوپ یا صفحه نمایشگر کامپیوتر با نرم افزارهای متنوع باشد.

## ‏اسپكتروفتومتر فرابنفش (‏‎(Ultraviolet

ساختماني همانند اسپكتروفتومتر نور مرئي داشته و به طول موج‌هاي نور فرابنفش حساس است.‏

## اسپكتروفتومتر نشر شعله )‏‎(Flame

ساختمان اين دستگاه شبيه اسپكتروفتومتر يا فتومتر ساده است با اين تفاوت كه در فتومتر، لامپ الكتريكي و در اين دستگاه نور حاصل از سوختن ماده مورد آزمايش در درون شعله به عنوان منبع نوري در نظر گرفته مي‌شود. در طيف سنجي نشر شعله، نور حاصل مستقيما اندازه‌گيري مي‌شود.

## اسپكتروفتومتر جذب اتمي ) ‏(‎Atomic Absorption

اسپكتروفتومترهاي جذب اتمي ‏‎(AAS)‎‏ غلظت عناصر فلزي كه از نظر پزشكي براي حفظ سلامتي مهم است را اندازه گيري مي‌كند. در خصوص اين عناصر مي‌توان به كلسيم، منيزيم، مس، روي و آهن اشاره نمود. اسپكتروفتومترهاي جذب اتمي همچنين براي تعيين اينكه آيا سطح درماني داروهايي نظير ليتيم در خون، تامين شده است يا خير و همچنين براي آشكارسازي و تعيين كميت سموم فلزي مورد استفاده قرار مي‌گيرد.‏

## تعیین طول موج ماکزیمم (maxλ)

محلول 10 میلی گرم در لیتر برومو فنول بلو را تهیه کنید. ابتدا صفر عبور را در حالی که دستگاه خالی است تنظیم کنید. در مرحله بعد به وسیله بلانک ( محلولی که تمام مواد موجود در محلول آزمایش را دارد به جز ماده مورد آزمایش) در دستگاه قرار دهید و دستگاه را روی عدد صد در صد عبور تنظیم نمائید. در این قسمت محلول مورد آزمایش را در طول موج های متفاوت بررسی نمائید و مقدار جذب نور را در آن طول موج ها به دست آورید. در نهایت منحنی مربوط به طول موج های خوانده شده را رسم کنید و حداکثر جذب خوانده شده مربوط به طول موج ها را مشخص نمائید. توجه داشته باشید که برای هر طول موج می بایست دستگاه را با بلانک صفر نمائید.

## تایید قانون بیر- لامبرت

در این آزمایش منحنی دانسیته نوری را بر حسب غلظت های مختلف به دست خواهید آورد و قانون بیر- لامبرت را تائید خواهید نمود. با  انتخاب 6 لوله آزمایش طبق جدول زیر عمل نمائید.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 6 | 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | شماره لوله ها محلول ها |
| 5 | 4 | 3 | 2 | 1 | - | برمو فنول بلو(ml) |
| - | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | آب مقطر(ml) |

اندازه‌گیری میزان a و b وکاروتنوئید به روش آرنون

1 **-** مقدار نیم گرم از ماده تر گیاهی را در هاون چینی ریخته، سپس با استفاده از نیتروژن مایع آن را خرد کرده و به خوبی له  نمایید.

2- ۲۰ ميلي لیتر استن 80٪ به نمونه اضافه، سپس در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت6000 دور در دقیقه به ­مدت 10 دقیقه قرار دهید. عصاره جدا شده فوقانی حاصل از سانتریفیوژ را به بالن شیشه­ای منتقل کنید.

3- مقداری از نمونه داخل بالن را در کووت اسپکتروفتومتر ریخته و سپس به طور جداگانه در طول موج های 663 نانومتر برای کلروفیل a ، و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و 470 برای کارتنوئیدها توسط اسپکتروفتومتر مقدار جذب را قرائت نمایید.

4- در نهایت با استفاده از فرمول­های زیر میزان کلروفیل a ، b و کاروتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه به­  دست می آید.

Chlorophyll a = (19.3 \* A663 - 0.86 \*A645) V/100W

Chlorophyll b = (19.3 \* A645 - 3.6 \* A663) V/100W

Carotenoides = 100(A470) - 3.27(mg chl. a) - 104(mg chl. b)/227

V حجم محلول صاف شده (محلول فوقانی حاصل از سانتریفیوژ)

A جذب نور در طول موج­های 663، 645 و 470 نانومتر

W وزن تر نمونه بر حسب گرم

