كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : تركيب ضوئي

المحاضرة : السابعة/عملي/

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960

الجلسة السابعة

المادة: تركيب ضوئي	عنوان الجلسة: الطيف الامتصاصي وتركيز صبغات التركيب الضوئي	التاريخ:

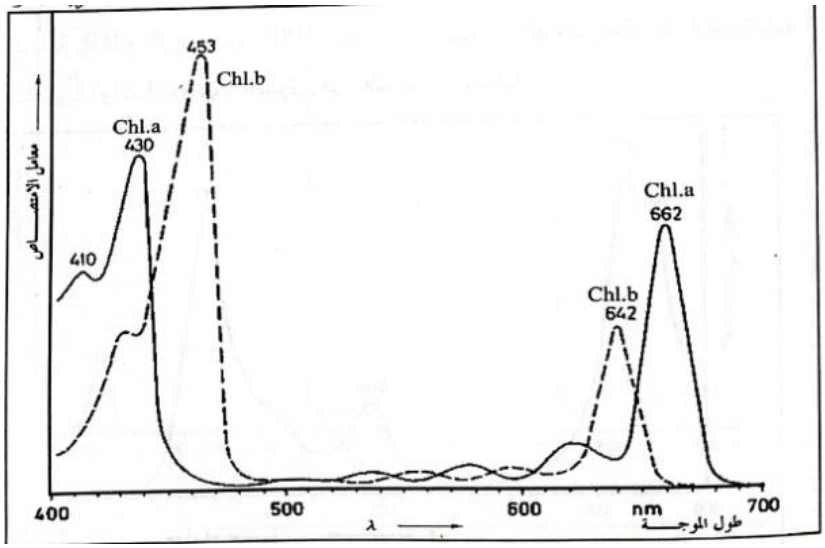
أسماء طلاب الفئة / س4 علم الحياة						
السلامة المهنية 3 درجات						
إنجاز التقرير 7 درجات						
الدرجة النهائية 10 درجة						

الطيف الامتصاصي وتركيز صبغات التركيب الضوئي

امتصاص الصبغات للضوء هو تفاعل بين فوتونات الضوء والكترونات هذه الصبغة، ولتحديد طيف الامتصاص لليخضور يجري عادة فصل الصبغات اليخضورية من النبات وحلها في مذيب عضوي مناسب وثم يجري تعريضها لحزم ضوئية ذات أطوال موجية محددة وثابتة، ومن ثم قياس مدى الامتصاص عند كل موجة. يتم قياس طيف الامتصاص بواسطة مقياس الطيف الضوئي spectrophotometer وتسجل النتائج بعد ذلك وترسم بيانيا.

تشكل الأشعة الممتصة مجالا امتصاصيا ذا قيم امتصاص أعظمية تقابل أطوال أمواج محددة. بينما يتضاءل هذا المجال أو ينعدم عند الأشعة المنعكسة أو النافذة عبر الصبغة.

يبين الشكل طيفي للامتصاص لليخضور (Chl.b, Chl.a) تبين لنا أن هذين النمطين من اليخضور يبديان امتصاصا شديدا للأشعة الزرقاء (λ= 430,470nm) وللأشعة الحمراء الفاتحة (λ= 640, 760nm) بينما يتناقص الامتصاص للأشعة الحمراء القاتمة وينعدم تقريبا عند الأشعة الخضراء.



الشكل1: طيفا الامتصاص لليخضور Chl.a Chl.b في محلول الإيتر.

إن القمم الامتصاصية لكلا نمطي اليخضور ليست ثابتة ومطلقة، بل تتعلق أيضا بنوع المذيب العضوي المستخدم لاستخلاص الصباغ. مثلا تقع القمة الامتصاصية لليخضور a عندما يذاب في الايتر عند الموجة 662 نانومتر، وعند الموجة 663نانومتر عندما يذاب في 80٪ أسيتون، وعند الموجة 683 نانومتر في الوسط المائي.

شدة امتصاص العينة للضوء تمثل اللوغاريتم العشري لعدد الفوتونات الساقطة على عدد الفوتونات النافذة.

$$E=\text{Log}\ \frac{I0}{I}$$

اللوغاريتم العشري بين الضوء الساقط والضوء النافذ هي عبارة عن الضوء الممتص الذي أدى إلى أن الكترونات ذرات هذا الصباغ انتقلت من مدارات قاعدية إلى مدارات أعلى ونسميها أيضا بالكثافة البصريةOD أو الضوئية وهي خاصية تكشف قدرة وسط ما على امتصاص الضوء الذي يمر عبره وهي تتعلق بسماكة العينة d وتركيزها c حيث كلما كانت عينة اليخضور مركزة كلما كان الامتصاص أشد، وكذلك تتعلق بمعامل الامتصاص ε ولكل مادة معامل امتصاص ثابت لايتغير.

وتحسب الامتصاصية وفقا لقانون : Beer–lamberd low :

الامتصاص E= ε* c*d

c: التركيز – d : مسافة اختراق الضوء وهو عرض الـCUVETTE

السبيكتروفوتوميتر: سبيكترو يعني طيف وفوتو يعني ضوء وميتر ويعني مقياس أي يصبح اسمه مقياس الطيف الضوء المرئي ، ومبدأ عمله أن ضوء بطول موجة معين يمر عبر محلول أو عينة sample موضوع ضمن cuvette أنبوب زجاجي مخصص للجهاز، ويتم امتصاص جزء منه عبر العينة ونفاذ جزء آخر، والنوع الشائع استخدامه في المخابر جهاز يقيس من 400–700 نانوميتر أي ضمن مجال الطيف المرئي.

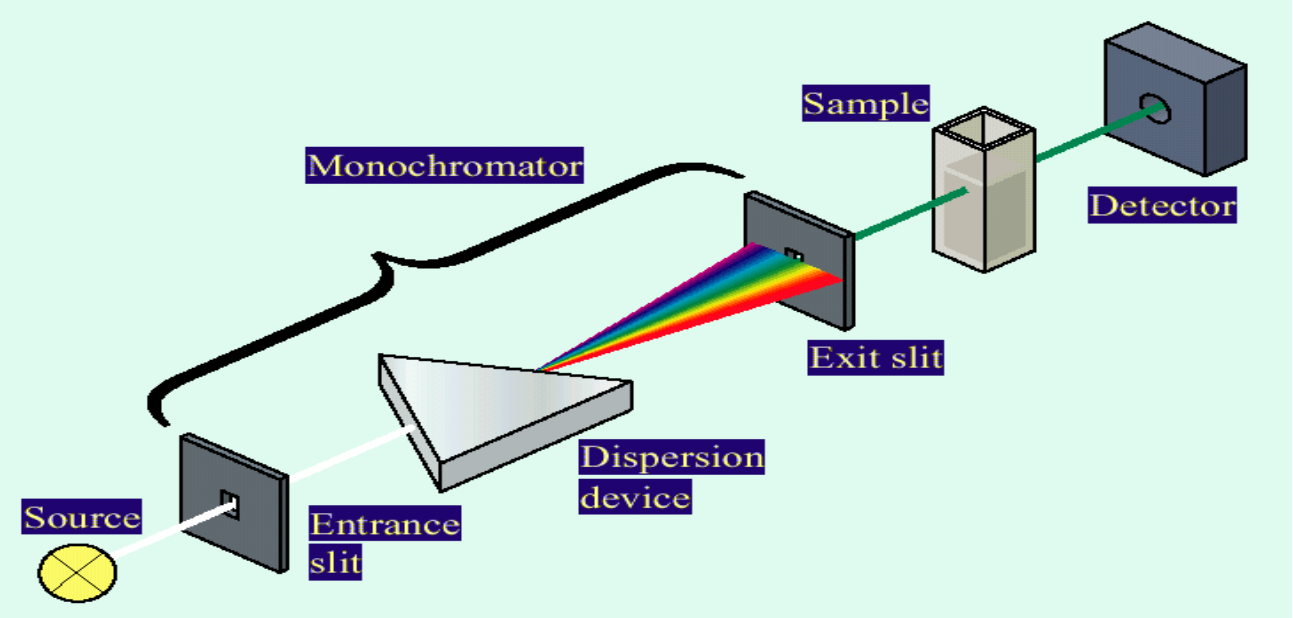
مبدأ العمل: عند طول موجة محدد توضع العينة في الـ cuvette أي حامل العينة ويمرر الضوء من قبل الجهاز داخل العين ويمتص السائل الموضوع في الحامل قسم من الضوء ويسمح بنفاذ الجزء الآخر وكلما كان امتصاص

السائل للضوء أعلى كلما كان تركيز المادة أعلى والجهاز يقيس كمية الامتصاص ويحولها إلى تركيز بناء على معادلات معينة ويعطي قراءة أو يعطي كمية الامتصاص absorbent result وثم نقوم بحساب التركيز من معادلة.

القديم يقرأ الامتصاص ومن ثم نقوم نحن بعملية الحساب أما الحديث نوع ديجيتال ونقوم ببرمجته على الستاندر وبناءا عليها يقوم بحساب التركيز ويعطي قراءة نهائية بالنتيجة. ويوجد لدينا موضعين مخصصين للعينات في الجهاز موقع لعينة البلانك أو المحلول صفر وعادة يكون ماء مقطر اي لا امتصاصية وموقع للمحلول المجهول الامتصاصية وهو العينة المطلوب قياس امتصاصيتها أو تركيزها. ويوضعان بشكل متقابل في حجرة العينات.

ويستخدم جهاز سبيكتروفوتوميتر لقياس شدة الامتصاص في عينة ما ويتكون من:

- مصدر ضوئي (تنغستين – هالوجين –بخار الزئبق)
- عدسة مجمعة للضوء في حزمة واحدة يمر الضوء بعدها عبر ثقب ويصل إلى موشور محلل للأشعة
- حجرة القياس توضع فيها أنابيب زجاجة ذات حواف مسطحة
- خلية كهروضوئية
- مقياس غلفاني
- راسم الإشارة



مخطط توضيحي لآلية عمل جهاز spectrophotometer

يسقط على الموشور ضوء أبيض يحلله إلى أطوال موجية مختلفة بحيث يتم تحديد طول الموجة المطلوب بتدوير الموشور حتى يمر عبر الثقب طول الموجة المطلوب، وتقوم الخلية الكهروضوئية بتحويل الضوء النافذ إلى إشارة كهربائية تصل إلى مقياس غلفاني ومن ثم تسجل على لوحة الكترونية شدة الامتصاص عند طول الموجة المطلوب.

التجربة: تحديد الطيف الامتصاصي وتركيز صبغات التركيب الضوئي باستخدام جهاز السبكتروفوتومتر

1- خذ 10 غ من الأوراق الخضراء لنبات السبانخ او السلق بدون العروق واطحنها في هاون مع40 مل كحول ايتلي 95% أو اسيتون 80% ونستمر بالسحق حتى تصبح الأوراق النباتية بيضاء (يزول اللون منها) ويثفل المزيج بمثفلة مبردة، ويجري صب المحلول بهدوء إلى أسطوانة مدرجة (100مل).
2- يضاف 20 مل من الاسيتون أو الايتانول المبرد على الراسب المتبقي مع التحريك ومن ثم تعاد عملية التثفيل ويصب الطافي إلى الأسطوانة المدرجة ويتم إتمام حجم السائل في الأسطوانة إلى 100 مل وتغطى وتحفظ في مكان مظلم وبارد.
3- يؤخذ 3 مل من السائل الذي حفظ بالاسطوانة (خلاصة الصبغات) ويوضع في حجرة قياس كوارتزية وتسمى محلول الصبغات.

4- يوضع 3مل من الاسيتون 80% أو الايتانول 95% (محلول الاستخلاص) إلى حجرة كوارتزية أخرى وتسمى المحلول الشاهد.

5- يتم قياس تركيز الصبغات في جهاز السبيكترو وفق مايلي:

a) تشغيل الجهاز ويترك لمدة 15 دقيقة من أجل تسخين الدارات الالكترونية فيه.

b) يتم اختيار برنامج Absorbance mode

c) يتم اختيار طول موجة بالنقر على الزر F2 في لوحة مفاتيح الجهاز وتحديد طول موجة مثلا 663نانومتر ومن ثم النقر على الزر ENTER.

d) توضع عينة الشاهد في حجرة القياس الالكترونية الكوارتزية.

e) يتم إخراج الحجرة الكوارتزية واستبدالها بحجرة كوارتزية أخرى تحوي عينة الصبغات المحضرة بنفس المحلول الشاهد .

f) تكرر الخطوات من a إلى e مع تصفير الجهاز في كل مرة قبل اختيار طول موجة جديدة.

6- تؤخذ قراءات الكثافة الضوئية على المقياس لكل طول موجة ضوئية.

7- يرسم منحني بياني يوضح طيف الامتصاص على أن يكون محور y للامتصاصية ومحور x لطول الموجات.

8- يحسب تركيز الصبغات في غ من الوزن الطري للأوراق النباتية.

<u>قانون حساب تركيز الصبغات: تقرأ نتائج الامتصاص عند أطوال موجة مختلفة وهي (440-645-630 -647-664 268 nm)</u>

يحسب تركيز الصبغات من القوانين:

$$Chl.a = 11.78 O.D_{664} - 2.290 O.D_{647} \times V/W * 1000 (mg\ Chl./g\ tissue)$$

$$Chl.b = 20.05 O.D_{647} - 4.77 O.D_{664} \times V/W * 1000 (mg\ Chl./g\ tissue)$$

$$Chl.a + Chl.b = 20.2 O.D_{645} + 8.0\ O.D_{663} \times V/W * 1000 (mg\ Chl./g\ tissue)$$

$$C_{car} = 4.69\ O.D_{440} - 0.268\ \{Chl.a + Chl.b\} \times V/W * 1000 (mg\ car/g\ tissue)$$

V: الحجم النهائي لمستخلص الأصبغة في الكحول ml

W: الوزن الطري للنسيج النباتي gr