



Isfahan University

Faculty of science

Biology department

Lab:

Principles of plant physiology



اندازه گیری کلروفیل a,b و کلروفیل کل ترسیم طیف جذبی کلروفیل

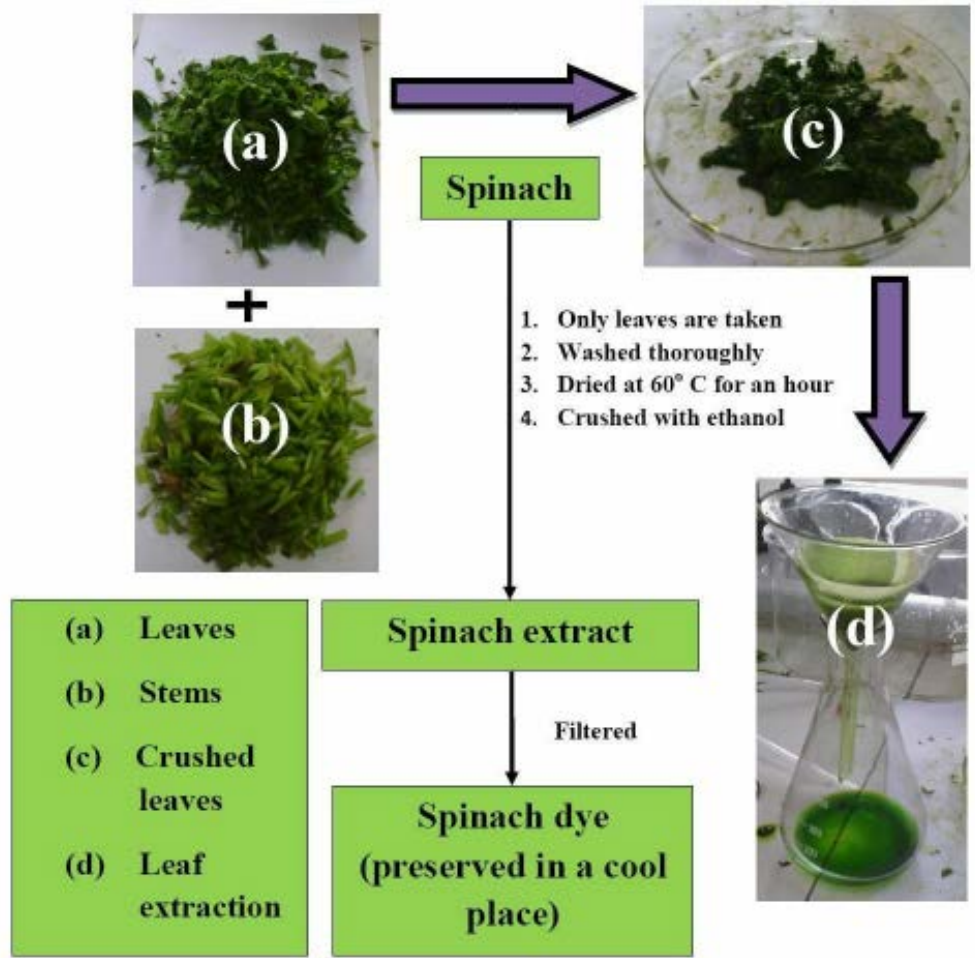
By:Farzaneh Zoei

- در کلیه موجودات زنده که فتوسنتز انجام می‌دهند کلروفیل a یافت می‌شود، در صورتی که کلروفیل b تنها در گیاهان عالی و جلبک‌های سبز دیده شده است.
- نسبت کلروفیل a به کلروفیل b متغیر بوده و بین ۲ تا ۳/۵ تغییر می‌کند. در گیاهان نواحی کوهستانی این نسبت به ۴ نیز می‌رسد.
- کلروفیل به صورت متبلور سبزمایل به آبی بوده و در آب غیر محلول است. در اثر، الکل، استون، کلروفرم و بنزن به خوبی حل می‌شود.
- قابلیت انحلال کلروفیل b کمتر از کلروفیل a است.
- محلول حقیقی کلروفیل a سبز متمایل به آبی و محلول حقیقی کلروفیل b سبز متمایل به زرد است.
- طیف جذبی کلروفیل دارای دو نقطه ماکزیمم در ناحیه آبی و قرمز و مینیمم جذبی در ناحیه سبز می‌باشد.



مراحل آزمایش

- به علت ناپایداری کلروفیل درمجاوراستون بهتر است انجام آزمایش در شرایط نور بسیار کم و حتی منبع نوری سبز انجام گیرد.
- ۰/۵ گرم بافت پهنک برگ اسفناج را در هاون سائیده و سپس ۳-۵ میلی لیتر استون به آن اضافه کرده و سائیدن را با استون ادامه دهید.
- محلول حاصله را به کمک قیف و کاغذ صافی به بالن حجمی انتقال دهید.
- پس از انتقال محلول بایستی کاغذ صافی، هاون و دسته آن نیز با استون شسته شده و به محلول داخل بالن اضافه گردد.
- حجم محلول داخل بالن را با استون به ۵۰ میلی لیتر رسانیده و سپس با بهم زدن محتویات داخل بالن، محلول را همگن نمائید.
- از این محلول داخل کووت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته و به کمک محلول شاهد (بلانک) جذب نوری عصاره را در طول موجهای ۶۴۵ و ۶۵۲ و ۶۶۳ نانومتر بدست آورید. به کمک روابطی که در ادامه ذکر شده مقادیر کلروفیل a و b و کلروفیل کل را بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر برگ محاسبه نمائید.



روابط مورد استفاده در اندازه گیری مقادیر کلروفیل :

$$a \text{ (میلی گرم بر گرم وزن تر)} = [12.7 (D_{663}) - 2.69 (D_{645})] v / 1000 w$$

$$b \text{ (میلی گرم بر گرم وزن تر)} = [22.9 (D_{645}) - 4.68 (D_{663})] v / 1000 w$$

$$\text{کل کلروفیل (میلی گرم بر گرم وزن تر)} = [20.2 (D_{645}) + 8.02 (D_{663})] v / 1000 w$$

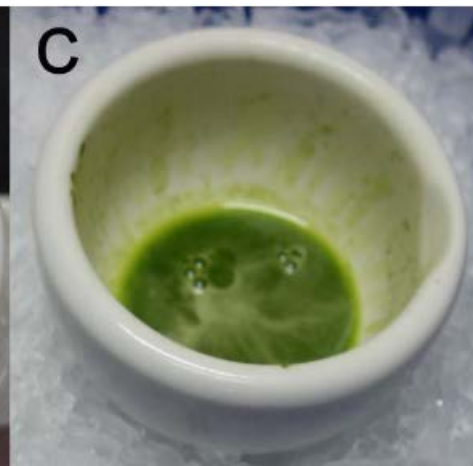
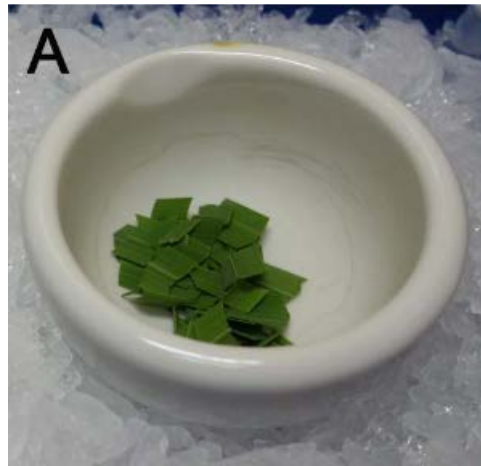
$$\text{کل کلروفیل (میلی گرم بر گرم وزن تر)} = [(D_{652} \times 1000) / 34.5] (v / 1000 w)$$

v = حجم عصاره (میلی لیتر)

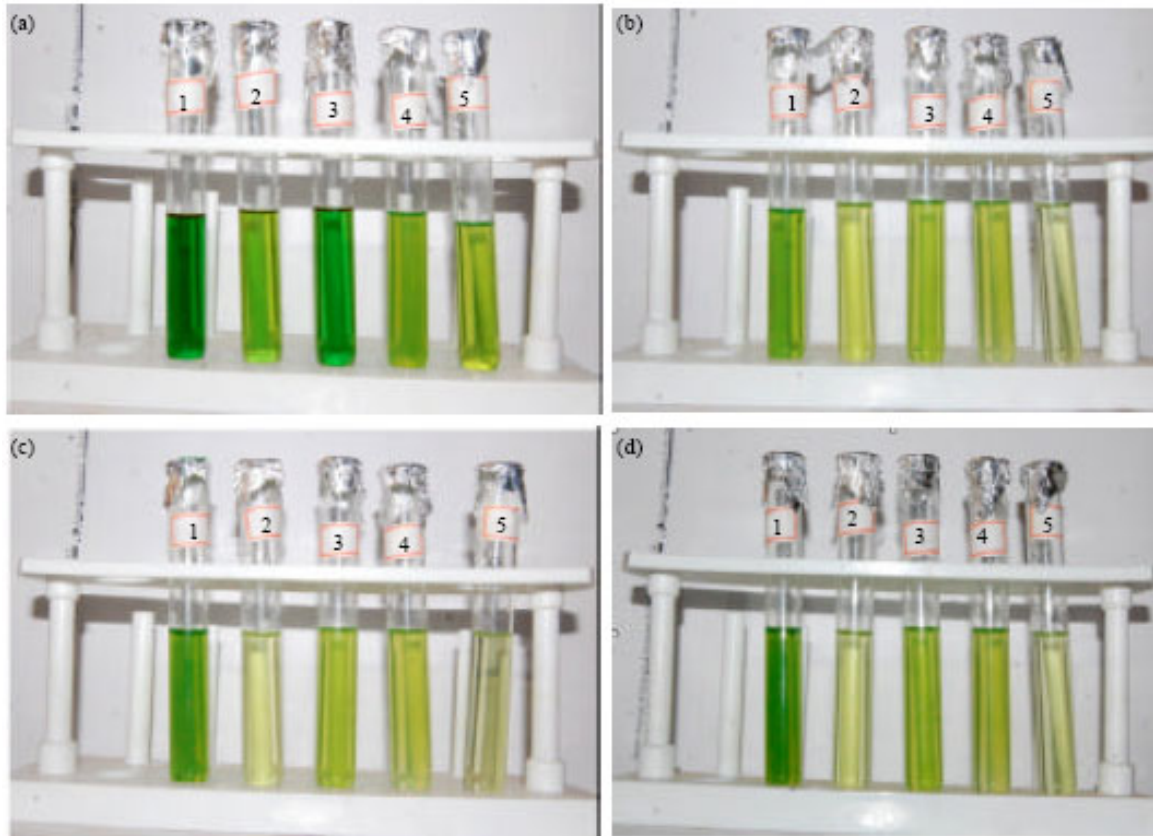
w = وزن تر نمونه (گرم)

منبع اصلی استخراج کلروفیل (اسفناج)



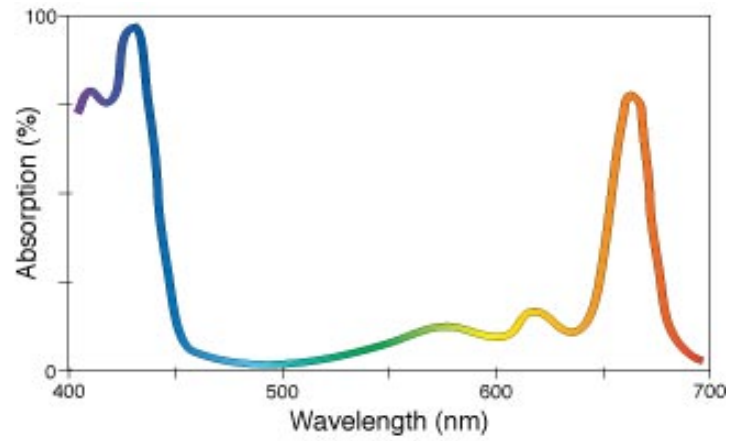
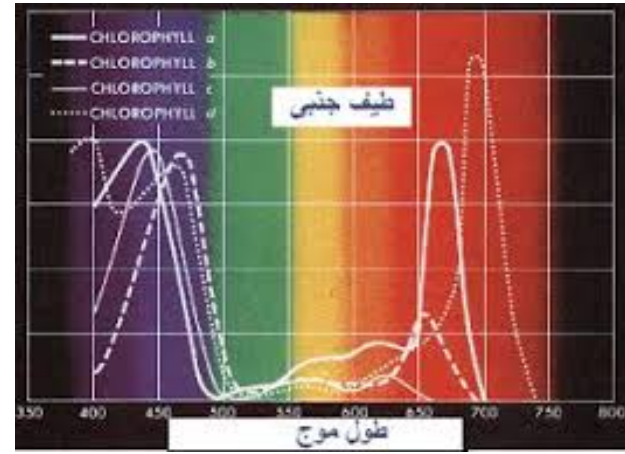
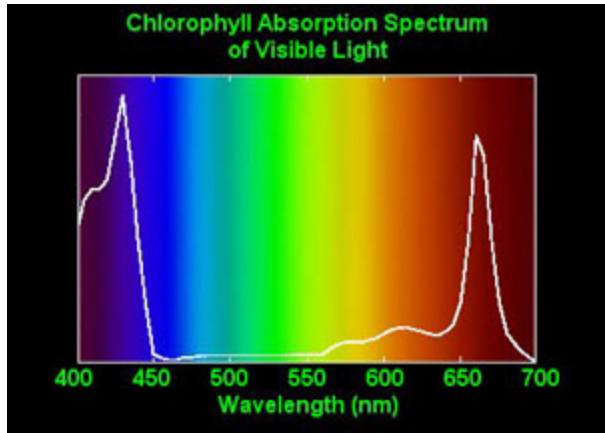


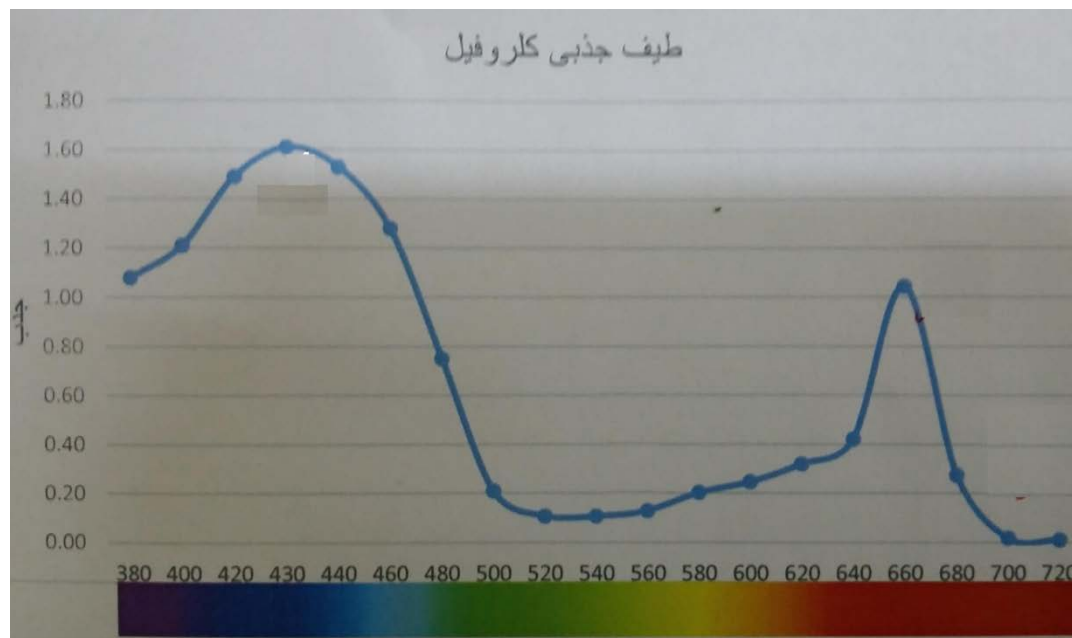
مراحل ساییدن تا صاف کردن نمونه



محلول های استخراج شده از نمونه های مختلف

- جهت ترسیم طیف جذبی کلروفیل، جذب نوری محلول را در منطقه نور سفید (nm) ۷۲۰ - ۳۶۰ بدست آورده و به کمک جذب نوری‌های بدست آمده و طول موج‌های گوناگون (در فواصل هر ۲۰ نانومتر) منحنی طیف جذبی را ترسیم نمائید.
- توجه: بعد از هر تغییر طول موج، دستگاه بایستی با استون صفر گردد





طیف ترسیم شده در آزمایشگاه