Лабораторне заняття №3

Тема: Хроматографічний розподіл пігментів хлоропластів і вивчення їх оптичних властивостей. Визначення чистої продуктивності фотосинтезу.

① Добування витяжки пігментів, вивч. оптич-х властив-й.

Щоб детально вивчити хімічні і фіз. влас-ті хлоропластів, їх вилучають із зелених р-н, пігменти зел. лист-в добре розчиняються в підхідних розчинниках.
Вибираючи розч-ни потрібно врахов-ти розч-ть самих пігментів.
Залежно від хім. стану розр-ть.

полярні	неполярні
спирт	бензин
ацетон	ефір, гексан

Метод:

0,5-1 г. висічок з зел. лист-в без центр. жил. подрібнюють ножицями і кладуть у фарф. ступку, охолодж. льодом, додають $CaCO_3$ для нейтраліз. кислот і 1 г безводного $NaSO_4$
Потім доливають 3-4мл охолодженої суміші ацетону з етиловим спиртом у співід. 3:1 і розтирають з невел. кіл-тю кварц. піску. Розтерту масу по скляній палочці переносять на сил. фільтр №3 і

насосом Комовського відсмокт. в суху чисту колбу.
Після цього екстракт переносять у мірний циліндр або колбу і доводять сумішшю розчинів до риски, збовтують і визначають пігменти.

В основу методу покладено розподільну хроматографію, яка грунтується на різному розподілі компон-в суміші між двома фазами, що не змішуються, при цьому одна з фаз є нухомою, інша - нерухомою.

Твердий носій (хроматограф. папір) утримує на своїй повер-ні нерухому фазу розчинника (воду)
Інший орг. розч-к, що частково або зовсім не змішується водою, є нухомим.

Розділення пігментів у даній роботі грунт-ся на різній швидк-ті їх проду-вання на папері з розчин-м, що обумовлено різною адсорбцією їх хроматограф-м папіром і частково різною розчинністю в бензині.

На листок хр-паперу 16×16 см відстані гся від нижнього краю наносять пігментною 1 мл витяжки у вигляді стрічки завдовжки.
Витяжку наносять у декільк прийомів після кожної порції просушують.

Пігменти розподіляються завдяки руху висхідного потоку розчин-в.
Коли фронт розч-ка підніметься на 14 см на хроматограмі буде чітко видно розділені плями пігментів.

Оптичні властивості:

Спектри поглинання пігментів вивчають за доп. спектроскопа.



Спочатку крізь призму спект-та пропускають промінь від природного або штучного джерела світла. Він розпадається на 7 видимих кольорів: червоний, помаранч-й, жовтий, зелений, блакитний, синій, фіолет-й.

Потім між джерелом світла і спект-м ставлять пробірку з витяжкою хлорофілу і розгл. добутий спектр.
На місці червоних і синьо-фіол-х променів видно чорні смужки, оскільки ці промені поглинув хлорофіл.
Ширина смужок поглинання залежить від концентрації хлорофілу, чим вона менше, тим слабше поглинання.

Основними показниками фотосинтезує.

- інтенсивність
- чиста продуктивність

Кількість загальної сухої речовини біомаси, яка утвор-ся рослиною протягом доби.

Суть методу – визначення приросту сухої речовини за добу з розрахунку на 1 м² листк. поверхні

Метод:

У посівах зрізають 10 середніх рослин, збирають листя і зважують їх.

Обчислити площу краще вагови м-д, після цього всі рослини разом з листк. розрізають і висушують до повітр. стану

Потім визначають масу абсолютно сухої біомаси 10 рослин і повторюють

Чим більше дослідів, тим точніше визнач. роботу фотосинт. апарату.

Чисту продукт-ть фотосинтезу визн. за формулою:

$Ф_{ч.прод.}$ – чиста продукт-ть фотосинтезу, г/м² за добу

P_1 – маса абсол. сухої біомаси 10 рослин у 1 строк визнач, г

P_2 – т. а. с. б. у 2 строк визнач., г

S_1 і S_2 – площі листкової поверхні 10 рослин, м²

q – кількість днів між 1 і 2 визнач-м

Ном. визн	Маса всіх рослин	Маса всіх листків	Площа всіх лист-	Маса абсолютн. сух. біомаси	Чиста продукц-ть фотосинт.
1	21,2	13,7	0,35	2,8	—
2	32,8	22,5	0,41	3,2	0,105 г/м² за добу

$$Ф_{чист.прод.} = \frac{P_2 - P_1}{\frac{S_1 + S_2}{2} \cdot q}$$

$$Ф.чист.прод. = \frac{3,2 - 2,8}{\frac{0,35 + 0,41}{2} \times 10} = 0,105 \text{ г/м}^2 \text{ за добу}$$

(*) Питання для самоконтролю

1. Адсорбційний метод – на різній здатності речовин поглинати поверхнею хроматогр. паперу.
2. Чиста прод-ть ф-зу – на визначенні приросту сухої біомаси на одиницю площі листків за певний час
3. Фотосинтез забезпечує киснем, органіч. реч-ми та є основою харчових ланцюгів.
4. У процесі фотосин. беруть участь наст. пігменти: хлорофіли, каротиноїди
5. Хлорофіли – червоні та синьо-фіолет. кольорів

каротиноїди – синьо-фіолетові;

(6) Хлорофіл поглинає світло й забезпечує його перетворення на хім. енергію, каротиноїди поглинають світло та захищають хлорофіл.

(7) Світлова фаза

утвор. АТФ і НАДФН

фотоліз води (розщепл. світлом)

фотосинтетичне фосфорилювання (утв. АТФ за рахун. енергії світла)

(8) Темнова фаза

фіксація CO_2 та синтез орган. речовин за рах-к АТФ і НАДФН

(9) С3 шлях – перший стабіл. продукт має 3 атоми С

С4 шлях – 4 атоми С

(10) Фотодих. посилюється за високої t, яскравого світла та нестачі CO_2

(11) Зі збільшенням освітленості фотосинтез зростає до точки насичення, далі майже не змінюється

(12) Світлолюбні потребують багато світла, тіньовитривалі – краще ростуть за слабш. освітл.

(13) Вранці частка короткохвильов. променів більша, вдень – відносно більше довгохвильових, увечері – переважають довгохвильові.

(14) Вдень фотосинтез зростає до максимуму, потім поволі знижується, вночі майже відсутній.

(15) Фотосинтез зростає з t до оптимуму, після чого знижується

(16) Оптимізація освітлен., води, мінер. живл-ня, CO_2, t, та густоти посівів.