

ТЕМА 2. ФОТОСИНТЕЗ

Дата _____

Допуск _____

Робота 4. Кількісне визначення хлорофілу колориметричним методом. Оптичні властивості фотосинтетичних пігментів.

(див. Робота 1, ст. 18 та Робота 3, ст. 23 Малого практикуму).

Мета роботи: ознайомитися з оптичними та хімічними властивостями пігментів зеленого листка; визначити вміст хлорофілу в листках дослідної рослини.

Матеріали та обладнання: торсійні терези, 96 % етиловий спирт, CaCO_3 (або крейда), гексан, 20% розчин KOH , 10% розчин HCl , ацетат міді (або цинку), розчин Гетрі (еквівалентний розчину хлорофілу концентрацією 85 мг/л), фільтр Шота, порцелянова ступка, пісок, ножиці, мірний циліндр або пробірка (10-25 мл), ФЕК, кювети 0,5 см.

Об'єкти дослідження: зелені листки кімнатної рослини (хлорофітум).

Допуск

1. Дайте визначення наступним термінам:

ФАР - _____

Феофітин - _____

Флуоресценція - _____

Фосфоресценція - _____

Фотосинтез - _____

2. Розв'яжіть задачі:

А. Визначте масу в грамах KOH , яку необхідно взяти для приготування 50 см³ розчину з масовою часткою 20%.

Б. Який об'єм $\text{HCl}_{\text{конц}}$ ($W_1=38\%$, $\rho=1,19$ г/см³) в мл необхідно взяти, для приготування 100 см³ розчину кислоти з $W_2=10\%$. (W - масова частка, або процентна концентрація)

3. Як приготувати розчини Гетрі з наступними концентраціями, використовуючи маточний розчин Гетрі (85 мкг/мл) та дистильовану воду (заповнити таблицю)? Загальний об'єм у кожній пробірці повинен бути 5 мл:

Об'єм розчинів, мл	Номер пробірки, концентрація розчину Гетрі (мкг/мл)				
	№1 (42,50)	№2 (21,25)	№3 (10,63)	№4 (5,31)	№5 (2,65)
Маточний розчин Гетрі (85 мкг/мл)					
H_2O					

Хід роботи.

I. Накресліть схему досліду, заповнивши відповідні поля у таблиці («Схема»).

II. Протягом дослідів результати спостережень для кожного досліду внести до таблиці

Отримання витяжки пігментів (Роб.3)

Схема:

Кількісне визначення хлорофілу (Роб. 3)

Схема:

Результати:

1. H (мг) = V (мл) =

2. Оптична густина розчину хлорофілу у пробірці:
 E =

3. Знайти оптичну густину стандартних розчинів Гетрі. Побудувати калібрувальний графік залежності оптичної густини розчину від концентрації (мкг/мл).

Концентрація розчину (мкг/мл)	Оптична густина (E)
-------------------------------	---------------------

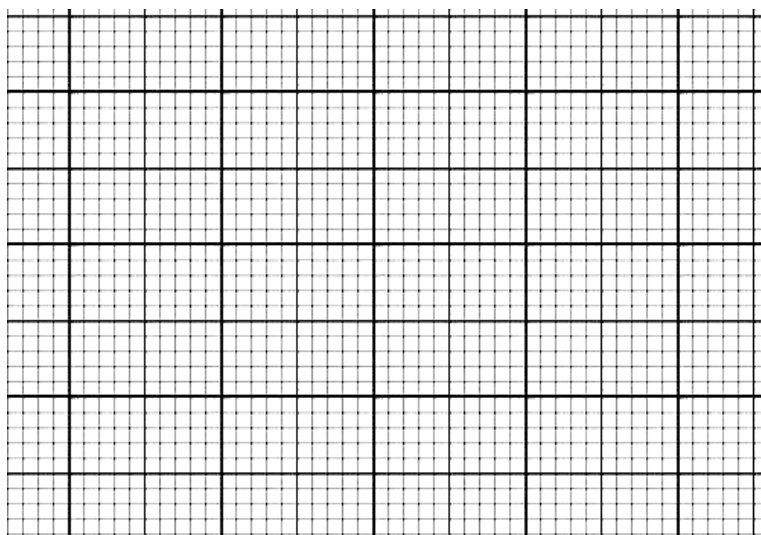
2,65

5,31

10,63

21,25

42,50



4. За калібрувальним графіком знайти значення концентрації хлорофілу у витяжці:
 C (мг/мл) =

5. Обчислити вміст хлорофілу у листках рослини за формулою (напишіть формулу та позначення до неї):

$$X = \dots, \text{ де}$$

C (мг/мл) -

V (мл) -

H (мг) -

X =

6. Витяжку, що залишилась, використати для проведення наступних дослідів:

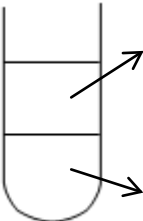
Дослід 1. Флуоресценція хлорофілу (Роб.1)

Схема:

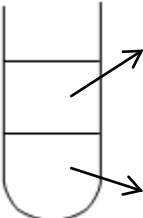
Результат:

Пояснення:

Дослід 2. Розділення пігментів за Краусом (Роб.1)


	Колір фаз (шарів)	Розчинник, пігменти	Пояснення про різну розчинність пігментів
Схема:			

Дослід 3. Омилення хлорофілу лугом (Роб.1)

	Колір фаз (шарів)	Розчинник, пігменти	Пояснення про різну розчинність пігментів
Схема:			

Запишіть рівняння реакції, за яким іде реакція омилення хлорофілу лугом.

Дослід 4. Одержання феофітину та зворотне відновлення металорганічного зв'язку (Роб.1)

Схема:	Відзначте зміну кольору розчину протягом досліду та підпишіть речовини, що знаходяться у кожній пробірці
	

Запишіть рівняння реакції, за яким відбувається реакція одержання феофітину:

Запишіть рівняння реакції, за яким відбувається реакція відновлення металорганічного зв'язку:

III. Зробіть наступні висновки:

1. Для яких пігментів характерна флуоресценція у розчині? Поясніть чому. Чому флуоресценція в живих листках майже непомітна?

2. Чому незалежно від довжини хвилі збуджуючого світла флуоресценція спостерігається тільки у червоній частині спектру?

3. Роздивіться рис. 1 та дайте відповіді на наступні питання:

А. При якому енергетичному переході молекула хлорофілу випромінює енергію у вигляді:

- флуоресценції?

- фосфоресценції?

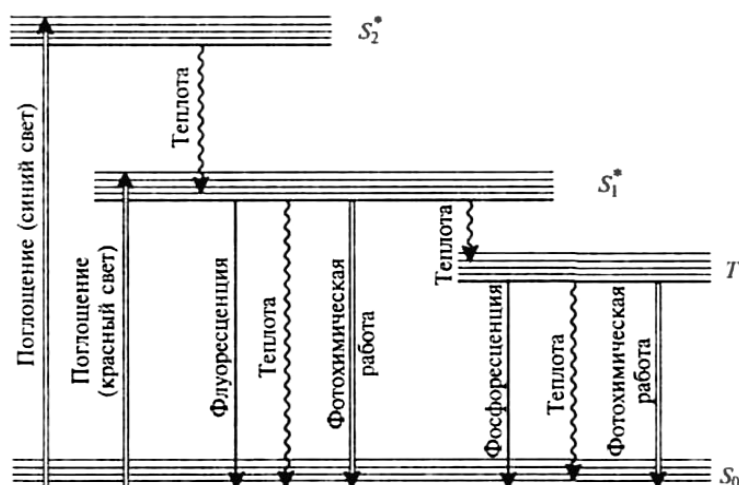


Рис. 1. Електронні переходи в молекулі хлорофілу

Б. Чому фотохімічна робота відбувається при переході молекули хлорофілу з триплетного стану (T) у основний синглетний (S_0)?

4. На чому ґрунтується розподіл пігментів за Краусом?

5. Які фактори та як впливають на вміст хлорофілу в рослинах?

Дата _____

Допуск _____

Робота 5. Розділення основних пігментів зеленого листка методом хроматографії на папері (за Д.І. Сапожниковим)

(див. Робота 4, ст. 24 Малого практикуму).

Мета роботи: розділити хроматографічним методом компоненти суміші пігментів зеленого листка.

Матеріали та обладнання: порцелянова ступка, CaCO_3 , Na_2SO_4 (безводний), суміш ацетону з 96% етиловим спиртом (3:1), лійка зі скляним фільтром, насос, хроматографічний папір, суміш бензолу та петролейного ефіру (2:1), хроматографічна камера.

Об'єкт дослідження: зелені листки дослідних рослин.

Допуск.

1. Дайте визначення наступним термінам:

Адсорбція - _____

Коефіцієнт рухомості (R_f) - _____

Полярність молекули - _____

Розподільна хроматографія - _____

Хроматографія - _____

2. Назвіть основні класифікації хроматографічних методів та принципи, на яких вони базуються (див. Малий практикум):

1. _____

2. _____

3. _____

3. Назвіть фази та їх властивості між якими розподіляються речовини при використанні хроматографії на папері.

Хід роботи.

I. Накресліть схему досліду:

Дослід 1.

Приготування витяжки пігментів

Дослід 2.

Розподіл пігментів на одномірній хроматограмі

II. Результати.

1. Отриману хроматограму вклеїти у відповідне поле («Хроматограма») та підписати які пігменти відповідають окремим плямам на хроматограмі.

2. Результати розрахунків для кожного з пігментів внести у таблицю результатів:

Пігмент	l , см	L , см	Rf
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			

3. Обчислити для кожного пігменту коефіцієнт рухомості (Rf) за формулою (випишіть формулу та позначення до неї):

$$Rf = \quad , \text{ де:}$$

l (см) -

L (см) -

Rf_1

Rf_2

Rf_3

Хроматограма пігментів

2. Результати занести до таблиці:

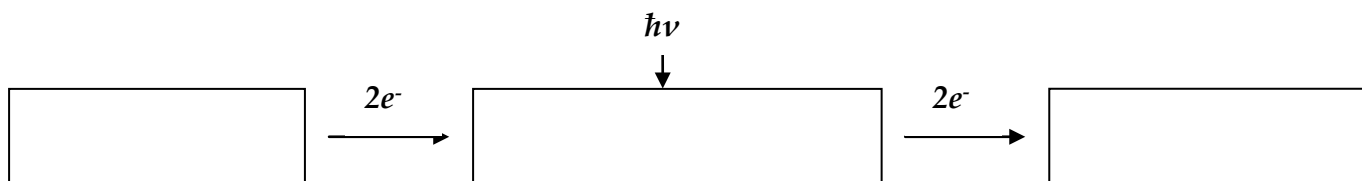
Варіант	Витяжка, мл	Спирт, мл	Аскорбінова кислота, мг	Метилловий червоний, мл	Умови досліду	Час знебарвлення розчину, хв.
1.	2	-	20	0,5	світло 5 см	
2.	2	-	20	0,5	світло 10 см	
3. Темновий контроль	2	-	20	0,5	темрява	
4. Світловий контроль	-	2	20	0,5	світло	

III. Зробіть наступні висновки:

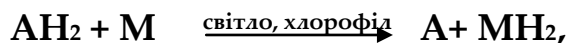
1. Як інтенсивність освітлення у проведеному досліді впливає на фотосенсибілізуючу дію хлорофілу?

2. Чому не змінюється забарвлення розчинів в контрольних пробірках?

3. У прямокутники внесіть назви компонентів проведеної окислювально-відновної реакції.



4. Поясніть, чому у наведеній реакції відбувається знебарвлення метилового червоного.



де: А – дегідроаскорбінова кислота, АН₂ – аскорбінова кислота відновлена, М – метилловий червоний, МН₂ - лейкоформа метилового червоного.

5. Які сполуки є донорами і акцепторами електронів у процесі світлової фази фотосинтезу?



Контрольні запитання до теми «Фотосинтез»:

1. Крім пластид пігменти також знаходяться у вакуолі. Які це пігменти та чи здатні вони впливати на фотосинтез?
2. Чому в зонах з помірним кліматом концентрація CO_2 в атмосфері взимку приблизно на 1,5 % вища, ніж влітку?
3. Чим можна пояснити гасіння флуоресценції на світлі під час перенесення зеленого листка в середовище з CO_2 ?
4. Яку функцію має фермент рибулозобіфосфаткарбоксілаза-оксигеназа?
5. Чому у рослин C_4 -типу фотосинтезу дуже низька інтенсивність фотодихання?
6. Чим САМ-фотосинтез відрізняється від фотосинтезу C_3 - і C_4 -типу?
7. Назвіть первинні продукти фотосинтезу (асиміляти). Як синтезується крохмаль і які ферменти беруть у цьому участь?
8. Як залежить інтенсивність фотосинтезу від температури?
9. Якими факторами навколишнього середовища лімітується фотосинтез?
10. Які процеси відбуваються у світлову та темнову фазу фотосинтезу?