

آزمایشگاه

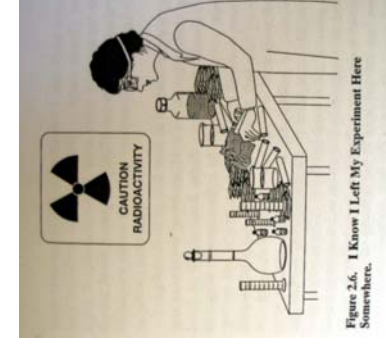
فیزیولوژی گیاهی ۱

دکتر محمد رضا واعظی

مقدمه ای بر اصول ایمنی در آزمایشگاه

Introduction to Lab Safety

- ✓ مسئول آزمایشگاه را سریعاً از موارد ذیل مطلع کنید: اگر کورنگ و یا حامله می باشید، حساسیت به حشره یا هر نوع مواد شیمیایی دارید، مجبور به مصرف هر گونه دارو هستید، یا داشتن هر گونه مرضی خاص که ممکن است مراقبتهای ویژه نیاز داشته باشد.
- ✓ همه کتابها، لباسهای دست و پا گیر که به منظور پوشیدن روپوش از تن درآورده اید، کیف و ... را در بدو ورود به آزمایشگاه در محل در نظر گرفته شده قرار دهید (نه روی میز آزمایشگاه).
- ✓ از محل دربهای خروج اضطراری، کیسولهای آتش نشانی و وسایل اطفای حریق، دوش آب برای ازاله مواد شیمیایی، بطری های چشم شوی و جعبه کمکهای اولیه مطلع شوید.



- ✓ در صورت آتش سوزی، آزمایشگاه و ساختمان را سریعاً تخلیه کنید و در خارج ساختمان تجمع نمایید.
- ✓ از خوردن، نوشیدن، سیگار کشیدن، و استعمال مواد آرایشی در محیط آزمایشگاه جداً خودداری فرمایید.
- ✓ از پوشیدن لباسهای تنگ و جواهر آلات آویزان و بلند، و محیط آستینهای بلند در محیط آزمایشگاه جداً خودداری فرمایید.
- ✓ در استفاده از وسایل، مرتب و منظم باشید.

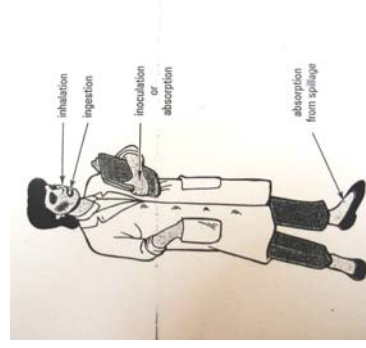


Fig. 21.1 Major routes of entry of harmful substances into the body.

- ✓ روپوش سفید خود را در بدو ورود به آزمایشگاه بپوشید.
- ✓ زخم بدن را با بانداژ استریل بپوشانید.
- ✓ هنگام کار کردن با مواد شیمیایی از عینک ایمنی استفاده نمایید.
- ✓ کفش های خود (نه دمپایی یا کفشهای رویاز) را همواره بپوشید.

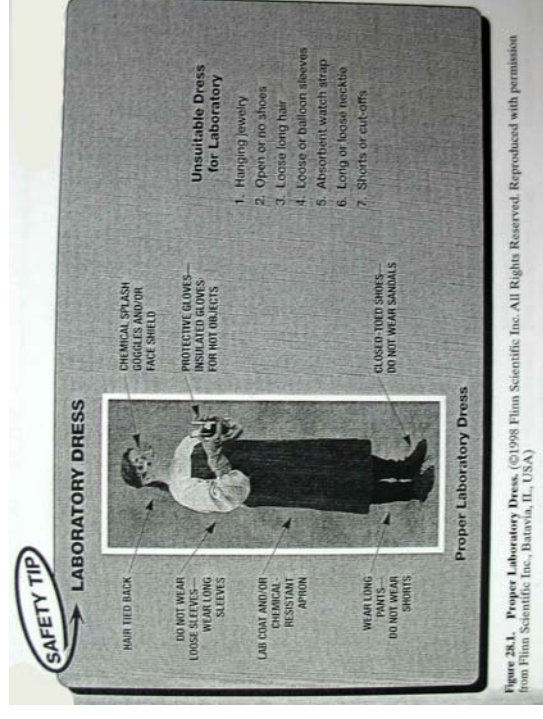


Figure 28.1. Proper Laboratory Dress. ©1998 Flinn Scientific, Inc. All Rights Reserved. Reproduced with permission from Flinn Scientific, Inc., Batavia, IL, USA

✓ با دهان از پیمپت استفاده نکنید. از وسایل مکانیکی پیمپت کردن استفاده نمایید.

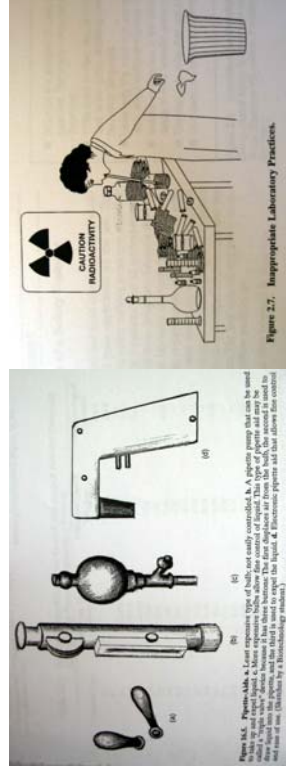


Figure 26.5. Lower exposure type of bulb are easily controlled. A pipette pump that can be used to transfer liquid from a beaker to a flask. This type of pipette and pump are used to transfer liquid from a beaker to a flask. This type of pipette and pump are used to transfer liquid from a beaker to a flask. This type of pipette and pump are used to transfer liquid from a beaker to a flask.

Figure 26.7. Inappropriate Laboratory Practices.

- ✓ اگر پوست شما آلوده به مواد شیمیایی یا میکروارگانیسمها شد آن را به طور کامل بشوئید.
- ✓ از انجام آزمایشاتی که با سرپرست آزمایشگاه هماهنگ نشده خودداری فرمایید.
- ✓ از استفاده دستگاهها بدون دفترچه راهنما و دستورکار خودداری نمایید.
- ✓ هر نوع حادثه و پخش شدن مواد را سریعاً گزارش دهید.
- ✓ هرگز شعله گاز را بدون یک ناظر رها نکنید.
- ✓ هنگام کار با هات پلیت متوجه باشید که ممکن است از قبل داغ باشد.
- ✓ از دستکش یا وسایل مخصوص برای برداشتن وسایل شیشه ای داغ استفاده نمایید.

✓ هنگام کارکردن با مواد شیمیایی خطرناک مثل اسیدهای غلیظ از عینک ایمنی و ماسک (زیر هود) استفاده نمایید.

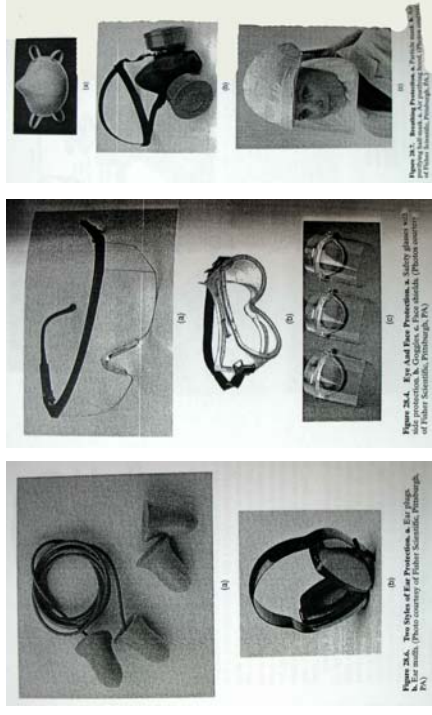


Figure 26.4. Eye and face protection. Safety glasses, goggles, and face shields. (Photo courtesy of Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)

Figure 26.5. Eye and face protection. Safety glasses, goggles, and face shields. (Photo courtesy of Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)

Figure 26.6. Eye and face protection. Safety glasses, goggles, and face shields. (Photo courtesy of Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)

- ✓ مواد شیمیایی را دور از دسترس نور و حرارت قرار دهید.
- ✓ ظروف حاوی الکل، استن، و سایر مایعات قابل اشتعال را دور از شعله آتش نگهدارید.
- ✓ مواظب باشید که سیمهای برق با هیچ مایعی تماس پیدا نکنند. با دست خیس به سیمهای برق دست نزنید و در صدد تعمیر آنها برنمایید.
- ✓ در پایان آزمایش تمام مواد و وسایل را در جای خود قرار داده و مواد مصرفی را در ظروف مخصوص دفع زباله های شیمیایی یا پزشکی قرار دهید.
- ✓ شیشه های شکسته را با دست بردارید و از جاروب و خاک انداز استفاده کنید. سپس آنها را در سطل زباله مخصوص ظروف شیشه ای بریزید.

✓ علائم خطر (caution symbol) روی وسایل و مواد شیمیایی را به دقت نگاه کرده و نکات ایمنی لازم برای استفاده از آنها را رعایت کنید.

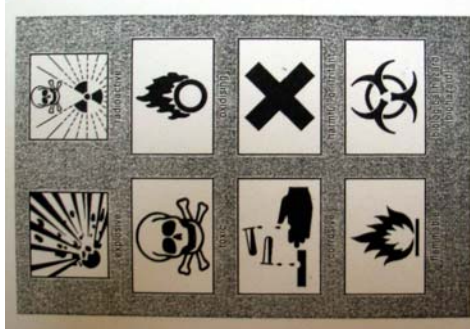


Fig. 21.2 Warning labels for specific chemical hazards. These appear on suppliers' containers and on tape used to label working vessels.

Explosive	منفجره
Radioactive	راديو اکتیو
Toxic	سمی
Oxidising	اکسید کننده
Corrosive	خورنده
Harmful or Irritant	مضر با محرک
Flammable	قابل اشتعال
Biohazard	خطر زیستی

✓ از وسایل شیشه ای به درستی و با احتیاط استفاده کنید.

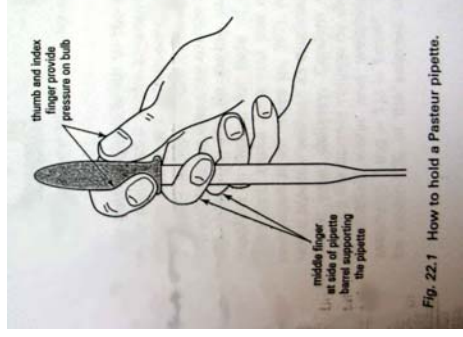


Fig. 22.1 How to hold a Pasteur pipette.

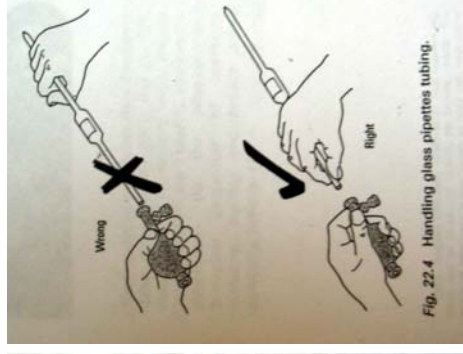


Fig. 22.4 Handling glass pipettes tubing.

✓ هنگام کار با خون، ومشتقات آن و عشاهاى مخاطى از دستکش استفاده نماييد و در پايان آنها را در سطل زباله مخصوص نخله هاى پزشکی انداخته، دست خود را سريعاً بشوييد.

✓ علايم مربوط به دفع هر نوع زباله بيانگر آن است که آنها به روشهاى خاص دفع می شوند و در مواد شیمیایی را نباید در درون ظرف شویی ریخت زیرا برای سلامتی انسان و محیط زیست حائز اهمیت است.

✓ آزمایشگاه را تمیز و مرتب ترک کنید تا برای دانشجویان گروه بعدی آماده باشد.

✓ دست خود را قبل از ترک آزمایشگاه بشوييد.







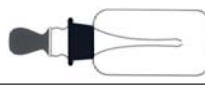



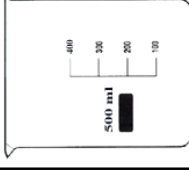
Figure 28.3. Paper Glove Removal Techniques. a. Hook 4 finger on the cuff of one glove, being careful not to contact the skin with the other hand. b. Pull the glove away from the body. c. Hold the wrist of the remaining glove with the other hand. d. Use an un-gloved finger to hook the inside of the glove, and pull the glove inside out and discard properly. (Acad. Press, Harcourt)

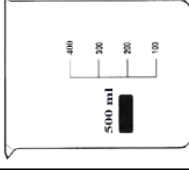
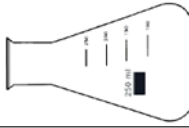

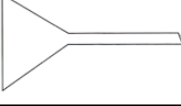


برگه های اطلاعات ایمنی مواد Material Safety Data Sheets (MSDS)

- آنها توسط کمپانی سازنده مواد تهیه شده و حاوی نکات مهم ایمنی است که باید توسط فرد آزمایشگر رعایت شوند و شامل موارد زیر است:
- نام ماده شیمیایی
- ترکیب (composition)
- خواص (properties)
- خطرات (hazards)
- فرایند پاکسازی ماده مورد نظر در صورتی که به طور اتفاقی در محیط کار ریخته شوند.
- سازنده ماده و ...

لوازم آزمایشگاهی شیشه ای Laboratory Glassware

<p>Pipettes Volumetric Transfer</p> <p>پیپت حجمی</p> 	<p>Pipettes Graduated for partial out flow</p> <p>پیپت مدرج</p> 	<p>Burettes</p> <p>بورت</p> 
--	---	---

<p>Mortar</p> <p>هاون</p> 	<p>Dropping</p> <p>قطره چکان</p> 	<p>Test Tube</p> <p>لوله آزمایش</p> 
<p>Volumetric Flask</p> <p>بالن ژوزه</p> 	<p>Measuring Cylinder</p> <p>استوانه مدرج (مزوز)</p> 	<p>Beakers</p> <p>بشر</p> 

<p>Beakers</p> <p>بشر</p> 	<p>Erlenmeyer Flasks</p> <p>ارلن مایر</p> 	<p>Round Bottom Flasks</p> <p>فلاسک ته گرد</p> 
<p>Funnel</p> <p>قیف</p> 	<p>Desiccator</p> <p>خشک کن</p> 	<p>Petri Dish</p> <p>پتری دیش</p> 

Balance

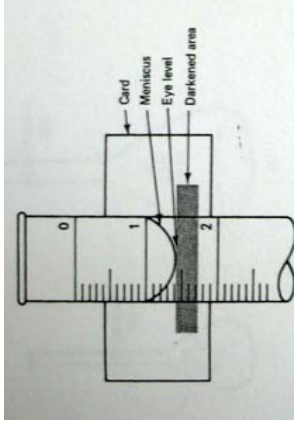


Figure 16.1. The Meniscus. A dark card may be placed behind the meniscus to make it more visible. When reading volume, the eye should be level with the bottom of the meniscus.

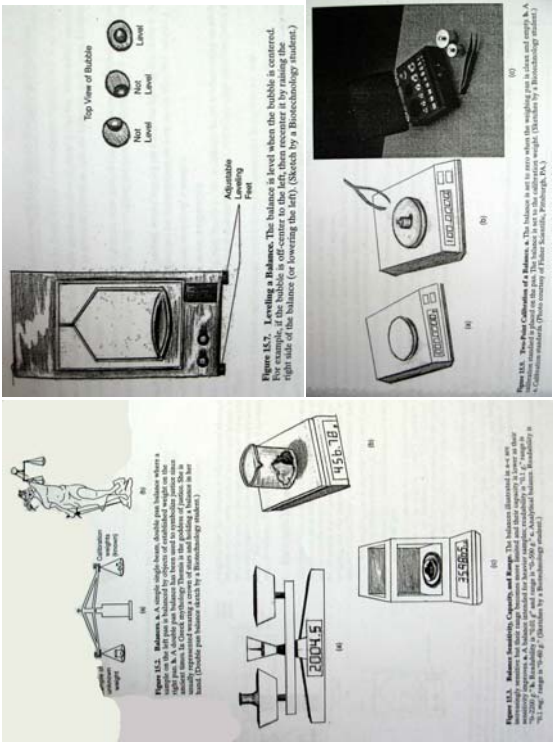


Figure 15.2. Balances: Accuracy and Range. The balance illustrated in the top photograph is accurate to the range shown in the lower photograph and that shown in the middle photograph is accurate to the range shown in the lower photograph. The balance in the bottom photograph is accurate to the range shown in the lower photograph. (The photograph in the middle is a photograph of a balance from a laboratory.)

Figure 15.3. The Post Calibration of a Balance. The balance is set to zero when the bubble is centered. For example, if the bubble is off-center to the left, then recenter it by raising the right side of the balance (or lowering the left). (Sketch by a Biotechnology student.)

Figure 15.4. Balancing a Balance. A sample weight here, double pan balance where a weight on the left pan is balanced by a series of standard weights on the right pan. (The photograph in the middle is a photograph of a balance from a laboratory.)

Figure 15.5. Leveling a Balance. The balance is level when the bubble is centered. For example, if the bubble is off-center to the left, then recenter it by raising the right side of the balance (or lowering the left). (Sketch by a Biotechnology student.)

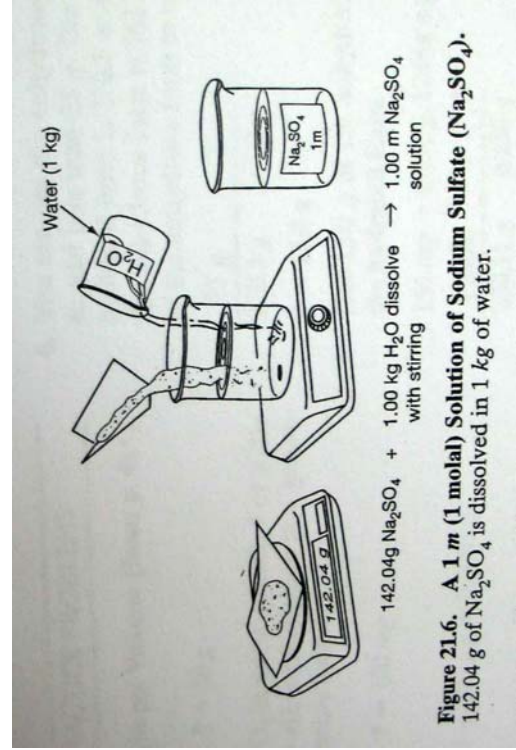


Figure 21.6. A 1 m (1 molar) Solution of Sodium Sulfate (Na_2SO_4). 142.04 g of Na_2SO_4 is dissolved in 1 kg of water.

Oven



Water Bath
حمام آب گرم



Hood / Fume Cupboard



Autoclave



Spectrophotometer



Incubator



Electrical
Oven



۱. تغذیه گیاه و کمبود مواد معدنی (دو جلسه)

عناصر معدنی مورد نیاز گیاهان را می توان در دو دسته قرار داد: یکی عناصر ماکرو (شامل: N ,

K, P, S, Ca و Mg) و دیگر عناصر میکرو (شامل: Fe, Cu, Zn, B, Co, Mo)

عناصر معدنی مختلف هر کدام نقش خاصی در گیاهان دارند و کمبود یا فقدان آنها باعث

اختلال هایی در اعمال فیزیولوژیکی و متابولیسی گیاهان می شود و عوارض کمبود آنها در گیاه به

صورت های مختلفی ظاهر می شوند.

مواد و وسایل:

۱- گلدان

۳- محلول های غذایی

۲- جوانه گندم

۴- اتاق مخصوص رویش گیاه (فیتوترون)

روش کار:

محلول های غذایی به این ترتیب تهیه خواهند شد که یکی به عنوان محلول غذایی کنترل باشد

(دارای تمام عناصر معدنی مورد نیاز گیاه) و محلول های دیگر هر یک فاقد یکی از عناصر مورد نیاز

گیاه باشند. لذا هفت نوع محلول غذایی بایستی تهیه شوند: (۱) محلول کامل غذایی (۲) محلول فاقد

ازت (۳) محلول فاقد فسفر (۴) محلول فاقد آهن (۵) محلول فاقد منیزیم (۶) محلول فاقد کلسیم (۷)

محلول فاقد پتاسیم.

برای کشت، ۳ عدد جوانه چهار روزه جو را اختیار کرده، ریشه آنها را وارد محلول مواد غذایی

درون گلدان بکنید. گیاهان بایستی یکنواخت انتخاب شوند. برای ثابت باقی ماندن جوانه ها در گلدان،

دور جوانه ها را با پنبه پر کرده و در منفذ گلدان قرار می دهیم. گیاهان باید در محلی قرار گیرند که از

نظر رطوبت و نور مناسب باشند و علاوه بر این با یک شلنگ و پمپ هواساز، هوادهی شوند. پس از

یک هفته، محلول غذایی را تعویض کنید و در هفته دوم مشاهدات خود را بنویسید.

توجه: گیاهان مذکور را از محلول غذایی خارج کرده، ریشه آنها را با آب مقطر شستشو دهید،

سپس گیاهان را (هر جداگانه) وزن کرده، به درون آون $80^{\circ}C$ منتقل کنید و برای خشک شدن آنها

۲۴ ساعت صبر کنید. نمونه‌های خشک شده را وزن کنید و برای آزمایش‌های تعیین عناصر معدنی در بافت گیاهی نگهداری کنید.

شکل ص ۱۱

طرز تهیه محلول غذایی: ابتدا 250 ml آب مقطر درون ارلن ریخته، سپس هریک از محلول‌های پایه ذکر شده در جدول زیر را به مقدار مشخص شده به آن بیفزایید. آن‌گاه حجم محلول را با آب مقطر به 500 ml برسانید.

بدون	بدون	بدون	بدون	بدون	بدون	محلول کامل (کنترل)	نوع محلول پایه
<i>Ca</i>	<i>Fe</i>	<i>Mg</i>	<i>K</i>	<i>P</i>	<i>N</i>		
-	۵	۵	۵	۵	-	۵	$Ca(NO_3)_2$ $1M$
۵	۵	۵	-	۵	-	۵	KNO_3 $1M$
۲	۲	-	۲	۲	۲	۲	$MgSO_4$ $1M$
۱	۱	۱	-	-	۱	۱	KH_2PO_4 $1M$
۱	-	۱	۱	۱	۱	۱	<i>Fe-EDTA</i> $19/116\text{ gr/lit}$
۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	<i>Micro Elements (Fe free)</i>
۲	-	-	۵	-	-	-	$NaNO_3$ $1M$
-	-	۲	-	-	-	-	$NaSO_4$ $1M$
-	-	-	۱	-	-	-	NaH_2PO_4 $1M$
-	-	-	-	-	۵	-	$CaCl_2$ $1M$
-	-	-	-	۱	۵	-	KCl $1M$

مقدار محلول‌ها برحسب ml است.

۲. پتانسیل اسمزی و پتانسیل آب

حیات گیاهان به حفظ تعادلی آب آنها مرتبط می‌شود و به همین دلیل گیاهان به روش‌های مختلف سعی در حفظ این تعادل دارند و به دنبال آن، آب موردنیاز خود را از محیط اطراف خود تأمین می‌کنند. سلول‌ها هنگامی آب را به درون خود جذب می‌کنند که پتانسیل آب آنها کمتر از محیط اطرافشان باشد.

به طور کلی داریم:

$$\psi_w = \psi_s + \psi_p + \psi_m$$

$$\psi_w = \text{پتانسیل آب (مثبت یا منفی)}$$

$$\psi_s = \text{پتانسیل اسمزی (همیشه منفی)}$$

$$\psi_m = \text{پتانسیل ماتریک (تقریباً صفر یا کمی منفی)}$$

$$\psi_p = \text{پتانسیل فشار (تورگر) (صفر، مثبت یا منفی)}$$

پتانسیل اسمزی نیز براساس قانون وانت هوف برابر است با:

$$\psi_s = -miRT$$

$$\psi_s = \text{پتانسیل اسمزی}$$

$$m = \text{مولاریته محلول (مولکول گرم در یک لیتر ماده حل شده)}$$

$$I = \text{درجه یونیزاسیون ماده حل شده}$$

$$R = \text{ثابت گازها (۰/۰۸۲)}$$

$$T = \text{دما (برحسب درجه کلوین)}$$

در آزمایش حاضر به بررسی پتانسیل اسمزی و پتانسیل آب سلول‌های گیاهی پرداخته، آنها را با روش‌های ساده‌ای اندازه‌گیری می‌کنیم.

مواد و وسایل:

۱- لوله آزمایش

۲- چوب‌پنبه سوراخ‌کن

۳- محلول ساکارز به غلظت‌های $0/2M$ ، $0/4M$ ، $0/6M$ ، $0/8M$ و $1M$

۴- خط‌کش

۵- تیغ

۶- شیشه ساعت

۷- سیب‌زمینی

۸- پیاز قرمز

۹- میکروسکوپ

۱۰- پتری‌دیش

۱۱- لولهٔ موئین همراه چوب‌پنبه سوراخ‌دار

روش کار:

۱- نشان دادن اسمز به وسیلهٔ اسمومتر سیب‌زمینی

پوست سیب‌زمینی را جدا کرده، یک قسمت آن را برش بزنید تا سطح آن صاف شود و در سطح پتری حاوی آب به خوبی بایستد. حفرهٔ عمیقی در سیب‌زمینی با کمک چوب‌پنبه سوراخ‌کن ایجاد کنید. این حفره را با محلول ساکارز $1M$ پر کنید. چوب‌پنبهٔ سوراخ‌دار دارای لولهٔ موئینه را در دهانهٔ حفره قرار داده و دهانه را خوب مسدود کنید. چند لحظه منتظر شوید و سپس سطح محلول درون لولهٔ موئینه را با ماژیک علامت بزنید. تغییرات مشاهده شده را در طول زمان بررسی کرده، دلیل آن را توضیح دهند.

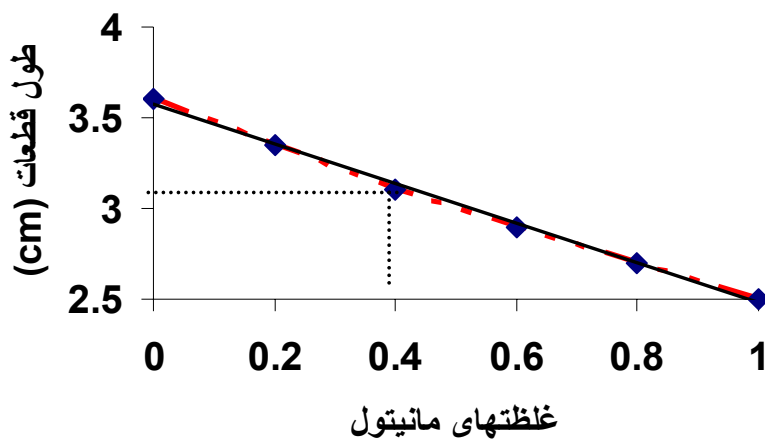
شکل ص ۷

۲- اندازه‌گیری پتانسیل آب سلول‌های سیب‌زمینی

قطعات هم‌شکل و هم‌اندازهٔ بافت‌های سیب‌زمینی را در یک‌سری از محلول‌های ساکارز (یا مانیتول) قرار می‌دهیم. هدف آن است که محلول یافت شود که در آن بافت، وزن و یا حجم آن تغییر نکند، یعنی اینکه بافت نه آب بگیرد و نه آب از دست بدهد: در چنین محلولی بافت و محلول در تعادل اسمزی هستند، یعنی پتانسیل آب بافت‌ها و محلول خارجی باهم برابرند؛ لذا اگر پتانسیل آب این محلول خارجی را محاسبه کنیم، پتانسیل آب سلول‌ها بدست خواهند آمد.

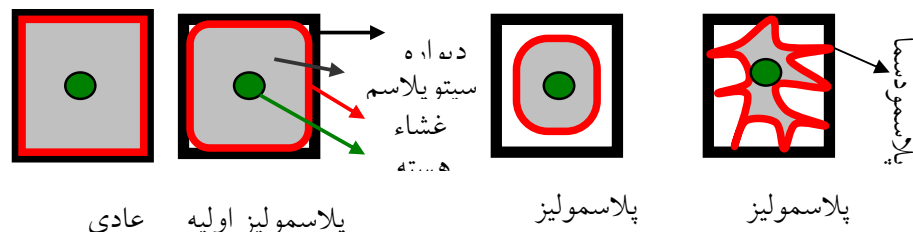
براساس توضیح فوق، ابتدا شش عدد لوله آزمایش را برداشته و مقدار ۲۰ میلی لیتر از محلول های ساکارز از قبل تهیه شده را به ترتیب در آن ها بریزید و غلظت آن ها را روی لوله آزمایش بنویسید. (غلظت های صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱M).

آن گاه ۱۸ قطعه سیب زمینی به طول ۳cm با کمک چوب پنبه سورخ کن تهیه کنید. در هر لوله آزمایش، ۳ قطعه سیب زمینی انداخته، مدت ۱/۵ ساعت به حال خود رها می کنیم. سپس آن ها را از محلول خارج کرده، طول قطعات را به طور دقیق اندازه گیری کنید. میانگین سه قطعه هر لوله آزمایش را محاسبه کرده، با کمک منحنی تغییرات طول قطعات برحسب غلظت ساکارز پتانسیل آب بافت ها را محاسبه کنید. این عمل را می توان براساس تغییرات وزن قطعات نیز انجام داد. نتایج حاصل را ذکر کرده، دلایل تغییر حجم یا وزن بافت ها را بیان نمایید.



۳- اندازه گیری پتانسیل آب سلول های بشره پیاز

هرگاه سلول ها در محلولی با پتانسیل اسمزی کمتر و یا پتانسیل آب کمتری قرار داده شوند، سلولها مقداری از آب خود را از دست داده و به محیط وارد خواهند کرد. اگر پتانسیل اسمزی محلول خارجی به حدی باشد که حدود نیمی از سلولها در مرحله پلاسمولیز اولیه باشند، پتانسیل فشار سلولها برابر صفر خواهد بود، لذا پتانسیل آب و پتانسیل اسمزی سلولها با یکدیگر برابر خواهند شد و با کمک قانون وانت هوف می توان پتانسیل آب و اسمز را بدست آورد.



بر اساس توضیحات داده شده، شش عدد شیشه ساعت اختیار کنید و در هر کدام ۱۰ میلی‌لیتر از محلول‌های ساکارز از قبل تهیه شده بریزید (با غلظت‌های صفر، ۰/۲، ۰/۴، ۰/۶، ۰/۸ و ۱M). سپس در هر شیشه ساعت یک قطعه از بشره پیاز قرار دهید و یک ربع ساعت به حال خود رها کنید. آن‌گاه یک لام میکروسکوپی تمیز برداشته، یک قطره از محلول موردنظر روی آن قرار دهید و روی آن نیز بشره موردنظر و سپس یک لامل قرار دهید.

هر شش قطعه بشره پیاز را با میکروسکوپ مطالعه کرده، نتایج خود را بنویسید و مقدار پتانسیل اسمزی و پتانسیل آب سلول‌های گیاهی را بدست آورید.

۳. تهیه خاکستر تر و خاکستر خشک گیاهی برای تعیین مقدار عناصر معدنی در آنها

برای تجزیه بافت‌های گیاهی و تعیین موادمعدنی در آن، ابتدا باید با حرارت یا اکسیداسیون با اسیدهای غلیظ، ترکیبات آلی کربن‌دار گیاه را اکسید و خاکستر گیاهی را تهیه کرد. باتوجه به روش اکسیداسیون کربن آلی در بافت گیاه، می‌توان به دو روش زیر عمل کرد:

الف - تهیه خاکستر تر گیاهی ب - تهیه خاکستر خشک گیاهی

الف: تهیه خاکستر تر گیاهی

در این روش می‌توان از یک اسید غلیظ و یا مخلوطی از چند اسید غلیظ معدنی استفاده کرد و بافت خشک شده گیاهی را درون محلولی اسیدی قرار داد و پس از مدت زمان معلوم با حرارت دادن محلول، مواد آلی کربن‌دار را به صورت گازکربنیک از محیط خارج کرد. تمام موادمعدنی گیاه به صورت محلول در درون اسید باقی می‌ماند که این عمل را *Digestion* و محلول حاصل را *Digest* می‌گویند.

محلول فوق را با آب مقطر رقیق کرده، به حجم معین می‌رسانند و برحسب این که چه عنصر معدنی مورد مطالعه باشد، آن را با دستگاه‌های مخصوص تجزیه می‌کنند. مثلاً برای تعیین فسفر از روش برای تعیین مقدار پتاسیم و سایر فلزات قلیایی نظیر کلسیم و سدیم از دستگاه فلم فتومتری، و برای تعیین غلظت فلزات سنگین نظیر آهن و منگنز از دستگاه جذب اتمی استفاده می‌شود.

مراحل تهیه خاکستر تر گیاهی به قرار زیر است:

۱- مقداری بافت تازه گیاهی را وزن کرده و در آن $80^{\circ}C$ برای مدت ۲۴ ساعت بگذارید تا خشک شود.

۲- مقدار ۰/۵ گرم از بافت خشک شده را وزن کرده، درون یک ارلن $100ml$ قرار دهید.

۳- مقدار 10ml اسیدنیتریک غلیظ درون همان ارلن بریزید و سر آن را گذاشته، به مدت ۲۴ ساعت به حال خود قرار دهید.

۴- مقدار 10ml اسیدنیتریک غلیظ درون ارلن شیشه‌ای ریخته و آن را به عنوان شاهد نگهدارید.

۵- پس از گذشت ۲۴ ساعت درب ارلن‌ها را برداشته و در زیر هود بگذارید تا بخارات اسیدی خارج شود.

۶- ارلن‌ها را روی اجاق برقی ترموستات‌دار بگذارید و به مدت ۲۴ ساعت با ملایمت حرارت دهید.

۷- پس از اینکه تمام بخاری‌های اسیدی از ارلن خارج شد، محلول بیرنگی بدست خواهد آمد. محلول را به دو بالن ژوژه 100ml منتقل کنید و با آب مقطر به حجم صد برسانید. محلول آزمایش (*Digest*) آماده را برای سنجش مواد معدنی موجود در آن به روش‌های مختلف مورد لزوم است درب بالن ژوژه را ببندید و آن‌ها را در جای مناسبی برای آزمایش‌های بعدی نگهدارید.

ب: تهیه خاکستر خشک گیاهی

۱- مقدار $0/5$ گرم بافت خشک گیاه را وزن کرده و درون یک بوتله چینی قرار دهید و سپس آن را به یک کوره الکتریکی منتقل کنید.

۲- درجه کوره را روی 450°C برای مدت ۱۲ ساعت تنظیم کنید. ماده گیاهی در حرارت‌های 450°C و بیشتر می‌سوزد و بدین ترتیب، اکسیداسیون کربن آلی در بافت گیاهی انجام شده، حاصل عمل (CO_2) خارج می‌شود و خاکستر گیاهی که شامل تمام نمک‌های معدنی موجود در بافت گیاهی است بجا می‌ماند.

این خاکستر را نیز نگهداری کنید و در موقع لزوم آن را در 100ml اسید رقیق (HCl ۰/۱ نرمال) حل کنید و محلول را وارد مرحله تجزیه کنید تا غلظت یون‌های معدنی محلول، تعیین شود. این روش برای تجزیه عناصری که در درجه حرارت‌های زیاد تبخیر می‌شوند (مثل فسفر، ازت و آرسنیک) مناسب نیست.

۴. تعیین کیفی عناصر غذایی پرمصرف در خاکستر خشک گیاهی با روش‌های معمول شیمیایی

بعضی از عناصر غذایی را می‌توان با روش‌های رایج شیمیایی به سادگی در خاکستر خشک گیاهی تعیین کرد. مقدار عناصر را در این روش‌ها نمی‌توان مشخص کرد و لذا به عنوان روش‌های تعیین کیفی عناصر به حساب می‌آیند.

مواد و وسایل:

- | | |
|--|---------------------------|
| ۱- بافت گیاهی تازه | ۲- کوره الکتریکی |
| ۳- ترازوی حساس | ۴- آون (اتو) |
| ۵- بوتله چینی | ۶- شیشه‌های قطره‌چکان‌دار |
| ۷- میکروسکوپ | ۸- لام و لامل |
| ۹- معرف منیزیم | ۱۰- معرف مولبیدات آمونیوم |
| ۱۱- معرف دی‌فنیل آمین در اسیدسولفوریک غلیظ | |

روش کار:

مقدار ۱۵ گرم بافت تازه گیاهی را به طور دقیق وزن کنید و سپس درون ظرفی که قبلاً وزن کرده‌اید بریزید. نمونه‌ها را درون آون 100°C به مدت ۲۴ ساعت قرار دهید تا آب آن‌ها خشک شود. آن‌گاه وزن ماده خشک گیاهی را بدست آورید.

کلسیم: یک قطره محلول ۵ درصد CaCl_2 و یک قطره محلول ۵۰ درصد H_2SO_4 را باهم مخلوط کنید. تشکیل بلورهای CaSO_4 را مشاهده و ترسیم کنید. خاکستر محلول را نیز آزمایش کنید.

ازت: حدود پنج قطره خاکستر محلول را روی شیشه ساعت تمیزی قرار دهید. یک قطره معرف ۱ درصد اسید دی‌فنیل آمین - سولفوریک به آن اضافه کنید. ظهور رنگ حاصل را که بیانگر وجود نیترات است مشاهده کنید. شاهد، ۵ قطره محلول KNO_3 ۵ درصد است.

آهن: پنج قطره خاکستر محلول را روی یک شیشه ساعت قرار دهید و به آن سه قطره محلول ۵ درصد *KSCN* اضافه کنید. تشکیل رنگ قرمز، معرف وجود آهن است.

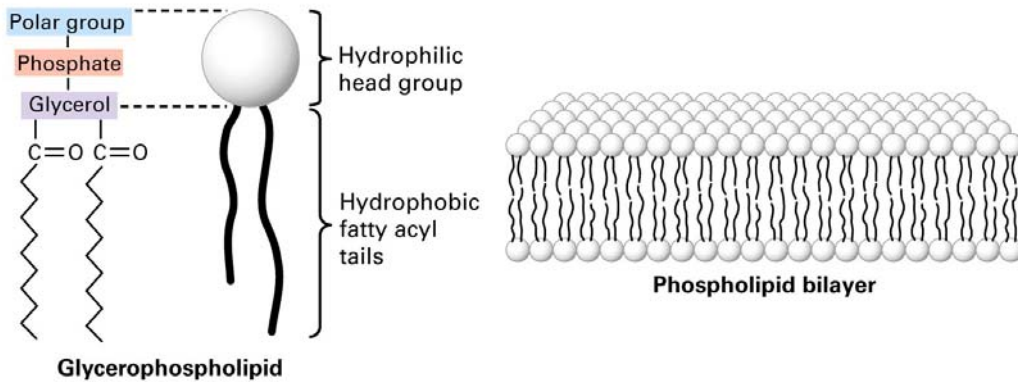
نتایج:

با کمک از نتیجه تجزیه خاکستر، جدولی شامل عناصر آزمایش شده، مواد گیاهی و روش مورد استفاده تهیه کنید. همچنین مثبت یا منفی بودن آزمایش را از لحاظ رنگ، رسوب یا تشکیل بلور نشان دهید.

برداشت‌هایتان باید براساس مشاهدات و پرسش‌های زیر باشد: فرایند خاکستر کردن موجب فرار شدن و در نتیجه ناپدید شدن چه عناصری می‌شود؟ آیا خاکستر کردن به روش خشک که در آزمایش به کار رفت برای تعیین کمی فسفر و گوگرد مناسب است؟ آیا وجود مقدار زیادی از یک عنصر خاص بیانگر نیاز غذایی گیاه است؟ مفهوم بالا بودن مقدار عناصر غذایی در دانه‌ها چیست؟

۵. غشاء و نفوذپذیری

بر اساس مدل موزائیک سیال، غشاء سلولی از دو لایه فسفولیپیدی تشکیل شده است که در لابه‌لای این مولکول‌های دوقطبی، پروتئین‌ها قرار می‌گیرند که این‌ها نیز انواع مختلفی دارند.



این غشاء ورود و خروج تمام ترکیبات را کنترل می‌کند که برای تمامی سلول ضروری است. تا زمانی که سلول زنده است، غشاء نیز اعمال خود را انجام می‌دهد و در صورت به مخاطره افتادن حیات سلول، غشاء نیز کار خود را از دست می‌دهد و بالعکس. مواد مختلف اثرات متفاوتی بر خاصیت نفوذپذیری غشاء دارند که در این آزمایش بررسی خواهند شد.

مواد و وسایل:

- ۱- چغندر قرمز
- ۲- پروپانول نرمال ۲۲ درصد
- ۳- اجاق برقی
- ۴- کلرورکسیم ($0/4 M$)
- ۵- اسید کلریدریک ($0/2 N$)
- ۶- اسپکتروفتومتر
- ۷- چوب‌پنبه سوراخ‌کن

روش کار:

با چوب پنبه سوراخ کن شماره ۸ (قطر داخلی $\frac{1}{4}$) قطعات استوانه‌ای از چغندر تهیه کرده، سپس با تیغ تیزی، دیسک‌هایی به ضخامت ۲mm تهیه کنید (۲۱ عدد). این قطعات باید با آب جاری خوب شسته شوند تا رنگ‌های قرمز موجود در سطح بافت‌های بریده شده کاملاً پاک شوند. سپس

الف - سه قطعه را در فریزر قرار دهید تا منجمد شود؛

ب - سه قطعه را به مدت دو دقیقه در آب گرم 70°C قرار دهید؛

ج - بقیه قطعات را در حالت عادی حفظ کنید.

محلول‌های زیر را تهیه کرده و هریک را در یک لوله آزمایش تمیز بریزید. آن‌گاه در هر لوله

آزمایش، سه قطعه از قطعات چغندر آماده شده بیندازید:

نوع قطعه چغندر قند	نوع محلول	شماره لوله آزمایش
معمولی	آب (۱۰ml)	۱
معمولی	آب (۵ml) + پروپانول ۳M (۵ml)	۲
معمولی	پروپانول ۳M (۵ml) + کلرید کلسیم ۰/۴M (۵ml)	۳
معمولی	آب (۵ml) + اسید کلریدریک ۰/۲N (۵ml)	۴
معمولی	اسید کلریدریک ۰/۲N (۵ml) + کلرید کلسیم ۰/۴M (۵ml)	۵
منجمد شده	آب (۱۰ml)	۶
گرم شده	آب (۱۰ml)	۷

سپس هر یک ربع ساعت جذب نوری محلول هر لوله آزمایش را با کمک اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری کرده، در جدولی بنویسید. این عمل را در طول موج 540nm انجام دهید و برای محلول شاهد از آب مقطر استفاده کنید. نتایج حاصل را با ارائه نمودارهای لازم و دلایل مربوط به هر نتیجه، بنویسید.

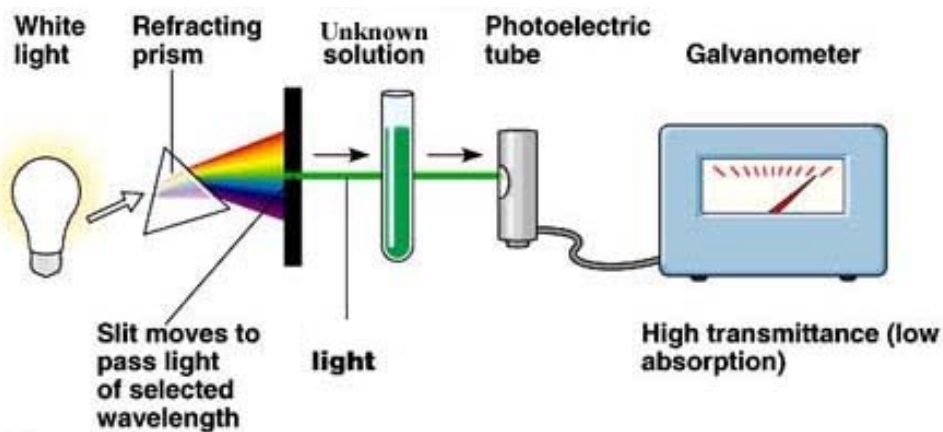
تئوری اسپکتروفوتومتری (الکتروفوتومتری): Spectrophotometer

یکی از جدیدترین مطالعاتی که اخیراً صورت گرفته است، مطالعه و شناسایی رنگ مواد و در نتیجه پی بردن به ماهیت شیمیایی آنها است، زیرا هر محلول با هر رنگ مشخص، بعضی از طیف‌های نور سفید را جذب می‌کند. مقدار این جذب می‌تواند اطلاعاتی در مورد نوع ماده به ما بدهد.

پس از تاباندن یک شعاع نورانی تک‌رنگ (منوکروماتیک) به یک محلول رنگی به طوری که از آن عبور کند، مقداری از آن نور جذب محلول رنگی می‌شود که به آن مقدار جذب ($A = \text{Absorbance}$) گویند. مقدار جذب با غلظت محلول رنگی نسبت مستقیم دارد. این کار توسط اسپکتروفوتومتر (الکتروفوتومتر) انجام می‌شود. شکل زیر، قسمت‌های مختلف این دستگاه را نشان می‌دهد:

SPECTROPHOTOMETER, SPECTRONIC 20





در دستگاه اسپکتروفتومتر معمولاً از نورهایی با طول موج $200-800\text{nm}$ استفاده می‌شود که $200-400\text{nm}$ ماوراءبنفش است و $400-800\text{nm}$ مرئی و $800-1000\text{nm}$ مادون قرمز است.

برای اندازه‌گیری غلظت یک محلول به دو روش می‌توان عمل کرد:

(۱) اندازه‌گیری مقدار نوری که جذب محلول رنگی می‌شود ($Absorbance=Optical\ density=A=OD$)

(۲) اندازه‌گیری مقدار نوری که از محلول رنگی خارج می‌شود. ($Transmittance=T$)

- مقدار جذب (A): نوری که از یک محلول رنگی عبور می‌کند، مقداری از آن جذب محلول

رنگی می‌شود. اگر I_0 شدت نور اولیه و I شدت نور خارج شده از محلول باشد، لذا I_a شدت نور

جذب شده به محلول رنگی می‌باشد و داریم:

$$A = OD = \frac{\log I_0}{\log I} \Rightarrow A = \log \frac{I_0}{I}$$

طبق قانون بیر و لامبرت (*Beer & Lambert*)، مقدار نور جذب شده به محلول، به غلظت

محلول رنگی و قطر لوله آزمایش (لوله نمونه) بستگی دارد لذا:

$$\log \frac{I_0}{I} = K.C.l$$

l = قطر لوله نمونه (غالباً 1 cm)

C = غلظت محلول

K = ضریب جذب ماده موردنظر

- مقدار عبور نور (T): ترانسیتانس مقدار نوری است که از محلول رنگی خارج می شود.

$$T = \frac{I}{I_0} \Rightarrow \log \frac{I_0}{I} = \log \frac{1}{T} = A \Rightarrow A = -\log T$$

حال اگر شدت نور اصلی را ۱۰۰ فرض کنیم و شدت نور عبور کرده از محلول را برحسب

درصد نور اصلی درنظر بگیریم و با $T\%$ نمایش دهیم، رابطه زیر بدست می آید.

$$A = \log \frac{100}{T\%} = \log 100 - \log T\% \Rightarrow A = 2 - \log T\%$$

از آنجایی که در عمل نمی توان نور جذب شده (A) را مستقیماً اندازه گرفت، آن را به طور

غیرمستقیم از روی مقدار نور عبور کرده (T) اندازه می گیرند.

طرزکار با اسپکتروفتومتر مدل **Spectronic 20**:

(۱) دستگاه را با پیچ شماره یک روشن کرده، حدود ده دقیقه به حال خود بگذارید تا گرم

شود.

(۲) طول موج موردنظر را (در محدوده $325-975\text{ nm}$) با پیچ شماره سه مشخص و تنظیم

کنید.

۳) در حالی که محل مخصوص لوله نمونه (شماره چهار) خالی است. در پیچه مخصوصی مسیر نور را می بندد، و لذا هیچ نوری به فتوسل نمی رسد. در این حالت $T\%$ برابر صفر خواهد بود. اگر عقربه روی صفر $T\%$ نباشد، با پیچ یک، عقربه را روی صفر $T\%$ قرار دهید. (در این حالت $A = \infty$)

۴) محلول شاهد (*Blank*) را در لوله نمونه ریخته و درون دستگاه قرار دهید. در این حالت بایستی مقدار جذب (A) صفر باشد ($T = 100\%$) زیرا حلال مورد آزمایش مقداری از نور را جذب می کند و بنابراین برای آن که بر مقدار جذب افزوده نشود باید آن را روی صفر تنظیم کنیم. این عمل با پیچ شماره دو انجام می شود.

۵) محلول رنگی مورد نظر را در جای مخصوص خود در دستگاه قرار دهید و بدون دست زدن به پیچ های تنظیم، مقدار $T\%$ و A را یادداشت کنید.

شکل ص ۵

* توجه * هنگام خواندن A و $T\%$ حتماً درب جای لوله نمونه بسته باشد.

۶. تعرق و تعریق

خروج آب از گیاه را به صورت بخار، تعرق گویند. شدت تعرق در گیاهان مختلف و در حالات مختلف فرق می‌کند و حدود ۹۶-۹۰ درصد تعرق از طریق روزنه‌ها انجام می‌شوند. خروج آب از گیاه را به صورت مایع، تعریق می‌گویند که از راه روزنه‌های آبی که در نوک برگ‌ها قرار گرفته‌اند انجام می‌شود. تعریق در اثر فشار ریشه‌ای و غالباً در شب و یا در هوای اشباع از بخار آب صورت می‌پذیرد.

مواد و وسایل:

- | | |
|---|-------------------|
| ۱- ارلن با لوله جانبی | ۶- لامپ |
| ۲- چوب‌پنبه سوراخ‌دار | ۷- پنکه |
| ۳- پیپت یک میلی‌لیتری | ۸- پلاستیک |
| ۴- گیاه شمعدانی (یا هر گیاه مناسب دیگر) | ۹- میکروسکوپ |
| ۵- شلنگ رابط | ۱۰- پایه گیره‌دار |

روش کار:

۱- تعیین شدت تعرق:

مطابق شکل، ابتدا ارلن را پر از آب کرده، پیپت را با یک قطعه لوله لاستیکی به شاخه جانبی ارلن وصل کنید. شاخه برگداری از گیاه را جدا کرده، مجدداً زیر شیرآب قسمت پایین آن را قطع کنید تا هوا وارد آوندها نشوند در غیر این صورت در تعرق اختلال حاصل خواهد شد. گیاه را روی ارلن مذکور نصب کنید و دقت کنید در ارلن نیز حباب هوا وجود نداشته باشد. برای جلوگیری از ورود هوا از چوب‌پنبه ارلن، مقداری وازلین به اطراف ساقه و چوب‌پنبه بمالید. سطح آب را در پیپت با علامت مشخص کنید و سیستم را یک ساعت به حال خود بگذارید و در پایان یک ساعت مقدار آب دفع شده از طریق تعرق را از روی درجات پیپت خوانده، یادداشت کنید و این عمل را در سه حالت زیر انجام دهید و در هر حالت نتایج را بنویسید و تفسیر کنید.

- (۱) در حالت عادی (۲) در مقابل باد (با کمک پنکه) (۳) در مقابل نور شدید.

شکل ص ۱۳

در پایان، مقدار آب دفع شده از 1cm^2 سطح برگ را در یک ساعت برای هرکی از حالت‌های مختلف محاسبه کنید. به این منظور، شکل برگ‌ها را روی کاغذ رسم کرده، و سپس آن را ببرید و وزن کنید. وزن یک سانتی‌مترمربع از کاغذ را نیز تعیین کنید و وزن کل را بر وزن یک سانتی‌مترمربع از کاغذ تقسیم کرده، سطح برگ را بدست آورید.

$$\text{سطح برگ} = \frac{\text{وزن کل کاغذ}}{\text{وزن } 1\text{cm}^2 \text{ کاغذ}}$$

۲- تعیین تعداد روزنه‌ها:

بشره فوقانی و تحتانی برگ شمعدانی را جدا کرده، تعداد روزنه‌ها را در هر نمونه در میدان دید میکروسکوپ بشمارید. برای هر بشره، در سه مرحله این عمل را انجام داده و میانگین حاصل را یادداشت کنید.

برای اندازه‌گیری سطح میدان دید می‌توانید از خط‌کش میکرومتری استفاده کنید. نتایج حاصل را یادداشت کرده، تفسیر نمایید.

تعداد روزنه در 1cm^2	تعداد روزنه در میدان دید	
		بشره فوقانی
		بشره تحتانی

۳- مشاهده تعریق:

یک گلدان حاوی گیاه را خوب آبیاری کنید و سپس با یک پلاستیک آن را بپوشانید. قطرات آب ناشی از تعریق در نوک برگ‌ها مشاهده خواهند شد.

۷. تعیین غلظت فسفر به روش رنگ‌سنجی

فسفات موجود در محلول مورد آزمایش را می‌توان با استفاده از روش رنگ‌سنجی (*colourometry*) تعیین کرد. اساس تجزیه برای این استوار است که از ترکیب اسیدمولیبدیک با فسفات موجود در محلول، کمپلکس اسیدفسفومولیبدیک بدست می‌آید که احیای این کمپلکس باعث ایجاد رنگ آبی در محلول می‌شود. شدت رنگ تشکیل شده متناسب با غلظت فسفر موجود در محلول است و با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 730nm اندازه‌گیری می‌شود. با کمک منحنی استاندارد، می‌توان غلظت فسفر محلول را محاسبه کرد. رنگ ایجاد شده نسبت به *PH* و غلظت‌های زیاد فسفات در محلول حساس است و بنابراین دو عامل باید در محیط آزمایش کنترل شود.

مواد و وسایل:

۱- محلول فسفر با غلظت 1 gr/lit ۲- معرف فنل فتالین

۳- محلول سود ۵ درصد ۴- محلول اسیدکلریدریک ۵ درصد نرمال

۵- اسید آسکوربیک ۶- محلول اسیدی مولبیدات

۷- بشر ۸- پیپت

۹- اسپکتروفتومتر ۱۰- اجاق برقی

روش کار:

۰/۵ میلی‌لیتر از محلول (*Digest*) را که در آزمایش قبل تهیه کرده‌اید داخل بشر شیشه‌ای بریزید و دو قطره محلول فنل فتالین به آن اضافه کنید. با کمک محلول‌های سود و اسیدکلریدریک، محلول را خنثی کنید.

با افزودن آب مقطر محلول را به 30ml برسانید و سپس 4ml محلول اسیدی مولبیدات به آن اضافه کنید و هم بزنید. پس از اضافه کردن $0/1$ گرم اسیدآسکوربیک، محلول را به مدت یک دقیقه بجوشانید و سپس آن را سرد کرده، به یک بالن ژوژه 100ml منتقل کرده و سپس به حجم برسانید. پس از هم‌زدن، محلول را درون لوله شیشه‌ای مخصوص ریخته و شدت جذب را با کمک

اسپکتروفتومتر در طول موج 730nm اندازه‌گیری کنید. محلول شاهد شامل مخلوط همه ترکیبات بالا با همان حجم‌ها می‌باشد. با این تفاوت که به جای $0/5\text{ml}$ محلول *Digest* اولیه از آب مقطر استفاده می‌شود.

رسم منحنی استاندارد:

محلولی بسازید که غلظت فسفر در آن 100gr/lit باشد. آن‌گاه با استفاده از آب مقطر و رقیق کردن محلول، به مقادیر معین پنج محلول استاندارد تهیه کنید که غلظت فسفر در هریک از آن‌ها به ترتیب ۱۰، ۲۰، ۵۰، ۸۰ و ۱۰۰ باشد. هریک از محلول‌های اخیر را وارد تمام مراحل آزمایش کنید و شدت رنگ هر محلول را با اسپکتروفتومتر اندازه بگیرید و با در دست داشتن دو متغیر غلظت فسفر و جذب (شدت رنگ) یک منحنی استاندارد رسم کنید. با کمک این منحنی و جواب بدست آمده برای جذب فسفر در محلول *Digest*، غلظت فسفر را در محلول مورد آزمایش و مقدار درصد فسفر در بافت خشک گیاه را تعیین کنید.

۸. اندازه‌گیری مقدار پتاسیم و سدیم به روش فلم فتومتری

مقدمه

الکترون‌های عناصر در حالت معمولی در حالت پایه انرژی (*ground state*) هستند. هرگاه مقدار زیادی انرژی (با حرارت) به عناصر برسد، الکترون‌ها به مدار بالاتر انرژی یعنی سطح برانگیخته، (*excited state*) می‌روند. حال این انرژی دریافت شده توسط الکترون‌ها باعث می‌شود که حالت ناپایدار در اتم‌ها ایجاد شود، لذا سریعاً الکترون‌ها به سطح پایه برمی‌گردند و انرژی نهفته شده در خود را به صورت انرژی نورانی با طول موج‌های خاص هر عنصر منعکس می‌کنند مثلاً کلرورسدیم مجموعاً رنگ زرد ایجاد می‌کند که برای تفکیک نورها و اینکه کدام نور مربوط به سدیم و کدام یک مربوط به کلر است بایستی از فیلترهای مخصوص استفاده شود. هر فیلتر مخصوص یک عنصر است و تمام نورها به جز نور مربوط به همان عنصر را جذب می‌کند و نور عنصر موردنظر از آن عبور می‌کند. این نور عبور کرده به یک فتوسل رسیده و به انرژی الکتریکی تبدیل می‌شود و مقدار الکتریسیته با گالوانومتر اندازه‌گیری می‌شود. با این روش عناصر مختلفی همچون سدیم، پتاسیم، کلسیم، لیتیم، باریم قابل اندازه‌گیری هستند.

دستگاه فلم فتومتر برای این اندازه‌گیری‌ها می‌باشد. در این دستگاه پمپ هوا، هم‌گاز و هم‌هوای لازم برای سوختن را به درون دستگاه پمپ می‌کند. قبل از هر سنجشی از آب‌مقطر برای تمیز شدن بخش‌های داخلی دستگاه استفاده کنید. به این منظور بشر آب‌مقطر را زیر لوله موثینه مکنده قرار دهید.

گیاه خشک شده را آسیاب کرده، به یک بوته چینی که قبلاً دقیق وزن شده است منتقل کنید. بوته را درون کوره الکتریکی قرار داده و دمای آن را روی 500°C تنظیم کنید. اجازه دهید تا گیاه خشک‌شده، ظرف مدت ۲/۵ ساعت، خاکستر شود. آن‌گاه بوته چینی را به همراه خاکستر درون آن وزن کرده، وزن خاکستر را محاسبه کنید.

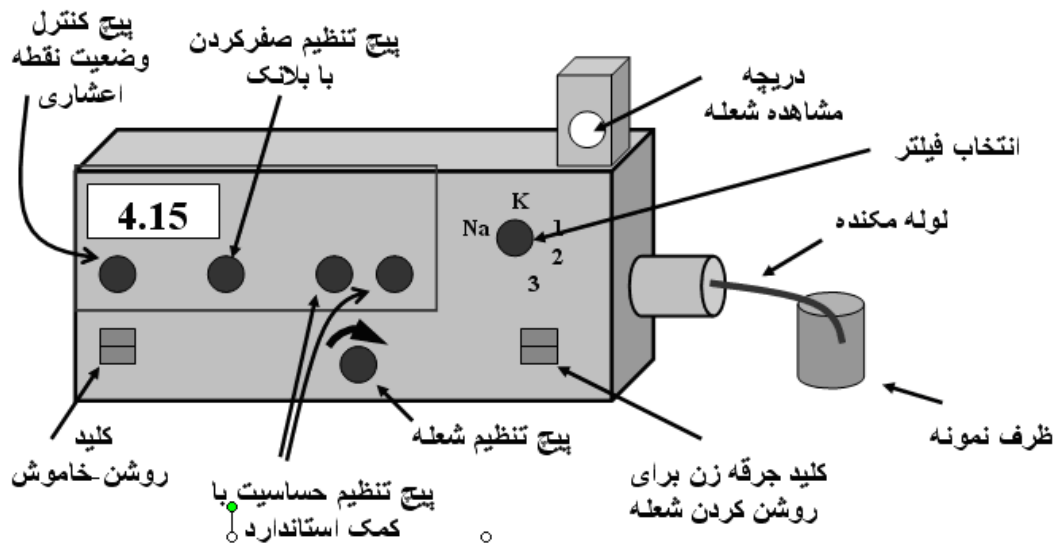
باتوجه به اطلاعاتی که بدست آورده‌اید، درصد آب، درصد وزن خشک نمونه تازه، درصد خاکستر وزن خشک و درصد خاکستر وزن تر گیاه را محاسبه کنید.

در مرحله بعدی، خاکستر حاصل را در ۵ml آب مقطر حل کنید و ۲-۳ قطره HCl غلیظ به آن اضافه کنید. محلول بدست آمده را در آزمایش‌های زیر به کار ببرید.

فسفر: روی یک لام تمیز یک قطره محلول ۵ درصد KH_2PO_4 و در کنار آن قطره‌ای معرف مولیبدات آمونیوم قرار دهید. دو قطره را با گوشه لام دیگری مخلوط کنید و چند دقیقه صبر کنید رنگ و شکل بلورها را با کمک میکروسکوپ مشاهده و ترسیم کنید. آزمایش را با خاکستر محلول نیز انجام دهید.

پتاسیم: یک قطره محلول ۵ درصد K_2HPO_4 روی لام گذاشته و در کنار آن قطره‌ای از محلول ۱۵ درصد $HClO_4$ (با احتیاط) قرار دهید. قطره‌ها را باهم مخلوط کرده، به تشکیل بلورهای $KClO_4$ توجه کنید. رنگ و شکل بلورها را مشاهده و ترسیم کنید. آزمایش را با یک قطره از خاکستر محلول انجام دهید.

منیزیم: یک قطره از محلول ۵ درصد $MgSO_4$ را با قطره‌ای معرف منیزیم مخلوط کنید و بلورهای فسفات آمونیوم - منیزیم را مشاهده و ترسیم کنید. خاکستر محلول را نیز آزمایش کنید.
گوگرد: یک قطره محلول ۵ درصد K_2SO_4 و یک قطره محلول ۱۰ درصد $BaCl_2$ را در سطح لامی قرار دهید. پس از مخلوط کردن قطره‌ها، تشکیل بلورهای $BaSO_4$ را که بیانگر وجود گوگرد است ملاحظه کنید. این آزمایش را با خاکستر محلول تکرار کنید.



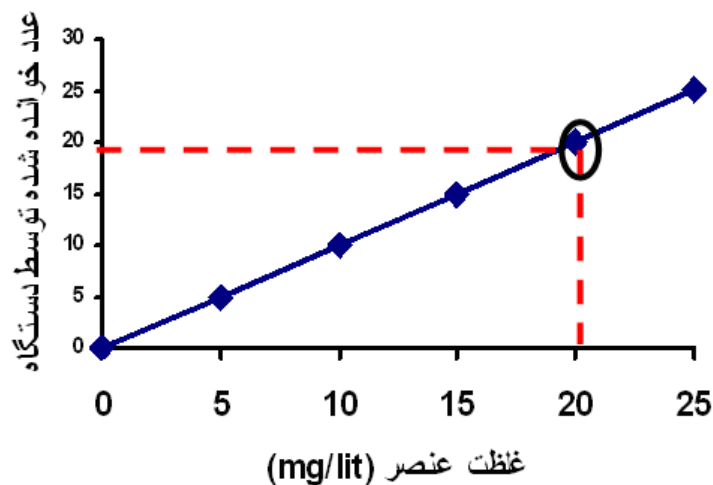
مشاهده بلانک را برای صفر کردن دستگاه استفاده کنید. برای بدست آوردن غلظت محلول‌های مورد آزمایش، ابتدا از محلول‌های استاندارد استفاده می‌کنیم تا منحنی استاندارد بدست آید و آن‌گاه براساس منحنی، غلظت نمونه مجهول را بدست می‌آوریم.

لازم به ذکر است که دستگاه براساس غلظت ماده موردنظر و کاربرد فیلتر اختصاصی، عددی را نمایش می‌دهد که متناسب با غلظت ماده است. هر چه غلظت بیشتر باشد عدد نشان داده شده بیشتر خواهد بود. لذا برای منحنی استاندارد، محور X مربوط به غلظت صفر و محور Y مربوط به عدد نشان داده شده توسط دستگاه می‌باشد.

نکته: حساسیت دستگاه در غلظت‌های کم عنصر بیشتر است و بهتر است از غلظت‌های کم برای تهیه استانداردها و نیز مجهول استفاده شود. اگر مجهول در خارج محدوده عدد مربوط به استانداردها باشد آن را با نسبت معین رقیق کنید و سپس با دستگاه عدد مربوط به آن را بخوانید و سپس نسبت رقیق کردن را در محاسبات تعیین غلظت عنصر دخالت دهید.

الف - تهیه منحنی استاندارد سدیم و سنجش سدیم:

محلولی از سدیم با غلظت 100 mg/lit بسازید و با رقیق کردن آن محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰ و 30 mg/lit را هریک به مقدار 20 ml تهیه کنید. آن‌گاه با کمک دستگاه فلم فتومتر، عدد مربوط به هر غلظت را خوانده و منحنی استاندارد را مطابق شکل بالا ترسیم کنید. قابل ذکر است بعد از هر سنجش، با آب مقطر دستگاه را شستشو دهید تا دستگاه صفر شود.



وزن مولکولی $NaCl$ = ۵۸/۴۶ وزن اتمی سدیم = ۲۳/۰

وزن مولکولی KCl = ۷۴/۵۶ وزن اتمی پتاسیم = ۳۹/۱

Sodium Na $lppm = 0.0435 \text{ mmol/l}$ $lmmol/l = 23 \text{ ppm}$

Potassium K $lppm = 0.0256 \text{ mmol/l}$ $lmmol/l = 39 \text{ ppm}$

Lithium Li $lppm = 0.1441 \text{ mmol/l}$

Calcium Ca $lppm = 0.0250 \text{ mmol/l}$

پس از ترسیم منحنی استاندارد، عدد محلول مجهول (دایجست) را خوانده و غلظت سدیم را

تعیین کنید. پس از تعیین غلظت در محلول دایجست، درصد گرم سدیم در بافت خشک و تازه

گیاهی را بدست آورید.

ب - تهیه منحنی استاندارد پتاسیم و سنجش پتاسیم:

محلولی از پتاسیم با غلظت 100 mg/lit بسازید و غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۳۰ و 40 mg/lit از آن

تهیه کنید و مطابق روش قبل، پتاسیم را اندازه‌گیری نمایید.

۹. اندازه‌گیری کلسیم و منیزیم به روش کمپلکسومتری:

الف - اندازه‌گیری مقدار کلسیم:

روش کار:

۱۰ گرم ماده گیاهی مورد آزمایش را به وسیله کوره خاکستر و یا آن را در مجاورت اسیدنیتریک و اسید پرکلریک هضم کنید. خاکستر را وزن کرده در مقدار کمی اسیداستیک حل و به حجم 100^{cc} برسانید.

20^{cc} از این محلول را در ارلن کوچکی ریخته و به وسیله سود محیط را خنثی کنید. سپس 3^{cc} سود $2/5$ نرمال و مقدار کمی ($0/1 g$) منوکسید به آن بیفزایید. بلافاصله با $EDTA$ (محلول کمپلکسون) آن را تیترو کنید. خاتمه عمل را از تغییر رنگ محلول به دقت تشخیص داده و حجم محلول $EDTA$ مصرفی را از روی بورت یادداشت کنید. با توجه به این حجم و رابطه زیر مقدار کلسیم در صد گرم ماده را حساب نمایید.

$$V_1 \times 0/4 \times \frac{a}{b} \times \frac{100}{c} = mg\ ca/100g$$

V_1 = حجم کمپلکسون مصرفی

a = حجم نهایی محلول خاکستر یا ماده گیاهی هضم شده

b = مقدار مصرف شده از نمونه‌های محلول خاکستر یا ماده گیاهی هضم شده

c = مقدار ماده هضم شده یا خاکستر شده

100 = صد گرم ماده

$0/4$ = هر میلی‌لیتر محلول کمپلکسون هم‌ارز $0/4$ میلی‌گرم کلسیم می‌باشد.

ب - اندازه‌گیری مقدار کلسیم و منیزیم:

روش کار

20^{cc} از محلول خاکستر یا محلول هضم شده را در یک ارلن کوچک ریخته و آن را با سود خنثی کنید. سپس 2^{cc} تامپون و مقدار کمی () معرف اریوکروم به آن اضافه و بلافاصله با محلول

کمپلکسون آن را تیتره نمایید. حجم محلول *EDTA* مصرفی برای سنجش کلسیم و منیزیم را به دقت یادداشت و از روی فرمول زیر مقدار منیزیم را در صد گرم وزن ماده محاسبه کنید.

$$V_2 - V_1 \times 0.24 \times \frac{a}{b} \times \frac{100}{c} = mg \text{ Mg} / 100gr$$

V_2 = حجم مصرفی کمپلکسون در سنجش کلسیم و منیزیم

V_1 = حجم مصرفی کمپلکسون در سنجش کلسیم.