تعريف عملية الهضم

يقصد بعملية هضم عينة النبات أكسدة أو تكسير المركبات الموجودة في العينة إلى عناصرها لإجراء التحاليل الكيميائية لها كتقدير تركيز العناصر مثلا بكل منها

جمع العينات

النقاط الهامة التي يجب مراعاتها عند جمع العينات النباتية لتحليلها:

- تحديد التحليلات المطلوبة
- مرحلة نمو النبات: فترة التزهير ومراحل عقد الثمار المبكرة من أفضل الفترات لجمع العينات النباتية حيث يكون احتياج النبات للعناصر الغذائية والاستفادة منها أعلى ما يمكن في هذه الفترة.
- أجزاء النبات: وفي حالة تحليل الأوراق يراعى اختيار الأوراق العلوية مكتملة النمو.
- عدد العينات المطلوب تحليلها
- وقت جمع العينات: يفضل بصفة عامة ان تجمع العينات النباتية ما بين الساعة الثامنة صباحاً إلى الساعة الخامسة مساءً
- حالة النبات: يراعى بصفة عامة تجنب جمع العينات من النباتات المصابة بمرض أو بالحشرات أو بعد سقوط المطر أو المعرضة لإجهاد بيئي معين.

تنتقل العينات إلى المختبر في أكياس ورقية مكتوب عليها البيانات خلال فترة لا تزيد عن 24 ساعة من وقت جمعها.

إعداد العينات

- تنظف العينات النباتية من الأتربة والغبار العالق بها باستخدام الماء النقي الجاري ثم بالماء المقطر
- عند الرغبة في تجفيف العينات تجفف العينات في فرن Oven على درجة حرارة 80˚م لمدة 48 ساعة ثم تنقل إلى المجفف الكيميائي Desiccator
- يتم طحن العينات في هاون من الخزف أو في المطحنة الكهربائية
- تحفظ العينات الجافة في أوعية داكنة من البلاستيك المحكمة الغلق ويسجل عليها بيانات العينة وتحفظ بعيداً عن المؤثرات الخارجية لحين إجراء التحليلات المختلفة عليها

فرن Oven

مجفف كيميائي Desiccator

طرق الهضم Digestion methods

- طريقة الهضم الرطب Wet or acid digestion
- طريقة الهضم الجاف Dry digestion

طريقة الهضم الرطب Wet or acid digestion

- إحدى الطرق المتبعة في هضم عينات النبات لتقدير التركيز الكلي للعناصر
- يستخدم لعملية الهضم في هذه الطريقة حمض الهيدروكلوريك 36 %
- تستخدم هذه الطريقة في تقدير عدد كبير من العناصر في عينات النبات مثل الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والماغنسيوم والحديد والنحاس والزنك والمنجنيز.

الهضم الرطب Wet or acid digestion

- **الأدوات:**
- ميزان حساس Analytical balance
- فرن Oven
- وحدة الهضم Block digester
- أنابيب هضم Digestion tubes
- كؤوس زجاجية Beakers
- دوارق معيارية سعة 50 مل Volumetric flasks
- ماصات Pipettes أتوماتيكية وعادية مقاسات مختلفة
- أقماع ترشيح Funnels
- أوراق ترشيح (Filter papers Whatman 42)

كؤوس زجاجية
Beakers

أنابيب هضم
Digestion tubes

وحدة الهضم
Block digester

فرن
Oven

ميزان حساس
Analytical balance

أوراق ترشيح
Filter papers Whatman

أقماع ترشيح
Funnels

ماصات
Pipettes

دوارق معيارية
Volumetric flasks

الهضم الرطب Wet or acid digestion

المواد:

- عينات نبات
- حمض الهيدروكلوريك Hydrochloric acid % 36
- ماء مقطر Distilled water

الهضم الرطب Wet or acid digestion

طريقة العمل:

- زن 0.5 جم من العينة النباتية وانقله إلى الأنبوب الخاص بالهضم وسجل على الأنبوب رقم العينة وبياناتها
- أضف بحذر 5 مل من حمض الهيدروكلوريك 36 % للعينة التي في الأنبوب باستخدام الماصة الأتوماتيكية
- ضع الأنابيب على السخان الكهربي الخاص بالهضم Block digester وأضبطه على درجة 90 درجة مئوية ثم شغله لمدة تسعين دقيقة
- اترك العينات حتى تبرد
- أضف 5 مل ماء مقطر
- مرر المحلول الموجود في أنبوب الهضم خلال ورق ترشيح Whatman 42 واستقبل الراشح في دورق معياري سعة 50 مل ثم أكمل الحجم إلى علامة الدورق بالماء القطر.

طريقة الهضم الجاف Dry digestion

- ويتم فيه حرق العينة في درجة حرارة مرتفعة وتحويلها إلى رماد
- ثم تحويلها إلى محلول باستخدام حمض النيتريك
- وهي مناسبة لتقدير عدد من العناصر في العينات النباتية مثل الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والمغنيسيوم والمنجنيز والنحاس والحديد والألومنيوم وغيرها

الهضم الجاف Dry digestion

الأدوات:

- ميزان حساس Analytical balance
- جفنات خزفية Porcelain crucible
- فرن الحرق Muffle furnace
- ماسك للجفنات Crucible catcher
- كؤوس زجاجية Beakers
- أوراق تشريح Whatman 42
- حمام رملي Sand bath
- دوارق معيارية Volumetric flasks سعة 50 مل

فرن الحرق
Muffle furnace

جفنات خزفية
Porcelain crucible

حمام رملي
Sand bath

الهضم الجاف Dry digestion

المواد:

- عينات نباتية جافة ومطحونة
- حمض النيتريك Nitric Acid للمؤلف ويحضر بإذابة 64 مل من الحمض المركز (كثافة 1,41 ويحتوي 70% من الحمض) في حوالي 0,5 لتر ماء مقطر ثم تكمله الحجم إلى لتر بالماء المقطر
- ماء مقطر Distilled water

الهضم الجاف Dry digestion

طريقة العمل:

الهضم:

- زن 1 جرام من العينة النباتية الجافة والمطحونة
- ضع العينة في الجفنة الخزفية ثم ضعهم في فرن الحرق وشغله على درجة ˚300م لمدة ساعة ثم ارفع درجة حرارة الفرن تدريجيا حتى تصل إلى درجة حرارة ˚450م وأطفئه بعد مرور 6 ساعات
- أفتح الفرن عند التأكد من وصول درجة الحرارة بداخله إلى درجة حرارة المختبر وأخرج العينات منه ولاحظ أن العينات بداخلة تحولت إلى رماد (Ash) أبيض
- أضف 5 مل من حمض النيتريك 1ع ثم ضع الجفنة على حمام رملي على درجة ˚80م حتى يتم إذابة الرماد في حمض النيتريك ثم أضف ½ مل من حمض النيتريك المركز ثم اترك العينة على الحمام الرملي مرة أخرى ليتبخر الحمض.
- أضف 20 مل من حمض النيتريك 1ع إلى العينة ثم اتركها على الحمام الرملي حتى الذوبان الكامل

الهضم الجاف Dry digestion

2- النقل الكمي:

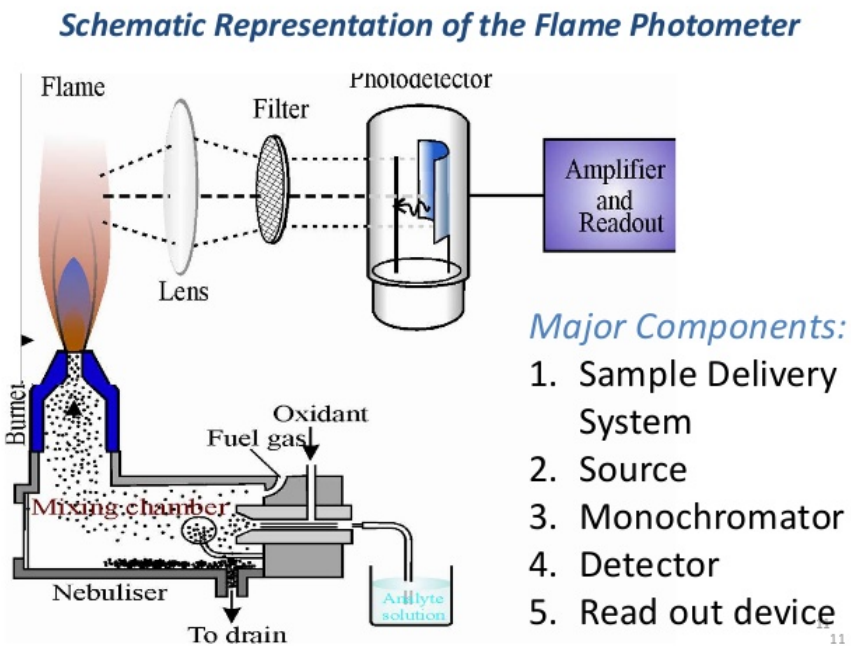
• خفف العينة بحوالي 20 مل من الماء المقطر ثم قم بترشيحها من خلال قمع به ورقة ترشيح Whatman 42 واستقبل الراشح في دورق معياري سعة 50 مل وأكمل الحجم في الدورق إلى العلامة بالماء المقطر.

جهاز التحليل الطيفي باللهب
Flame photometer

- يستخدم في تقدير عدد كبير من العناصر
  - مثل: الصوديوم ، البوتاسيوم ، الليثيوم ، الكالسيوم
- يختلف غاز الاحتراق والغاز المؤكسد حسب العنصر المقدر:
  - الصوديوم والبوتاسيوم: يستخدم البروبين غاز احتراق والهواء للأكسدة
  - الكالسيوم: الأسيتيلين غاز احتراق والأكسجين غاز مؤكسد

جهاز التحليل الطيفي باللهب
Flame photometer

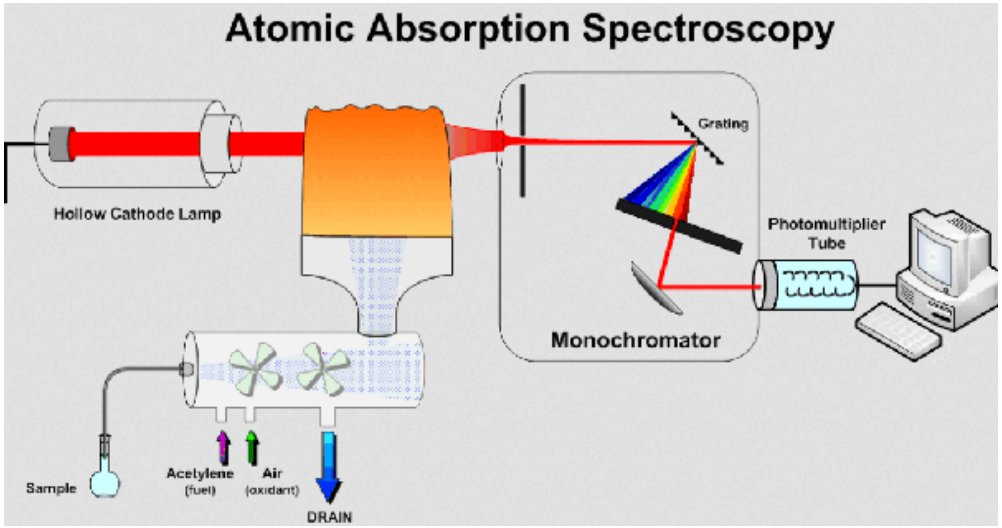
- فكرة عمل الجهاز



جهاز التحليل الطيفي للامتصاص الذري
Atomic Absorption Spectroscopy

- يستخدم في تقدير عدد كبير من العناصربتركيز
  - مثل: النحاس ، الزنك ، الرصاص ، المنجنيز ، المغنزيوم ، الكادميوم ، الحديد ، النيكل ، الباريوم

جهاز التحليل الطيفي للامتصاص الذري
Atomic Absorption Spectroscopy



- يختلف غاز الاحتراق والغاز المؤكسد حسب العنصر المقدر:
  - يستخدم الأسيتلين كغاز احتراق والهواء للأكسدةعند تقدير النحاس ، الزنك ، الكادميوم ، الحديد المغنزيوم ، المنجنيز، الرصاص ، الكالسيوم ، النيكل
  - يستخدم الأسيتيلين كغاز احتراق وغاز أكسيد النيتروز للأكسدة عند تقدي الألمنيوم ،البورون ، الباريوم ، الزئبق:

الأنزيمات

- **الإنزيمات:**
  - عبارة عن نوع من البروتينات
  - تعمل على تخفيض الطاقة اللازمة لحدوث التفاعل
  - تعمل على تسريع العمليات الكيميائية في الكائنات الحية دون أن تدخل بها
  - تحتاج للقيام بدورها الى بعض العوامل المساعدة مثل:
    - درجة الحرارة
    - الحموضة
    - بعض المواد غير البروتينية أيضًا كعوامل مساعدة

استخلاص انزيم الأميليز Extraction of Amylase Enzyme

الأدوات والمواد:

- بذور شعير
- هيبوكلوريت الصوديوم Sodium hypochlorite لتعقيم البذور
- طبق بتري
- هاون خزفي
- رمل نقي
- بيكر زجاجي حجم ٢٥٠ مل
- قمع ترشيح وورق ترشيح
- أنابيب اختبار
- ماء مقطر

أنابيب اختبار
Tubes

كؤوس زجاجية
Beakers

رمل نقي
Pure sand

جفنات خزفية
Porcelain crucible

بذور قمح
Wheat seeds

أوراق ترشيح
Filter papers Whatman

أقماع ترشيح
Funnels

هايبوكلوريت الصوديوم
Sodium hypochlorite

دوارق معيارية
Volumetric flasks

استخلاص انزيم الأميليز Extraction of Amylase Enzyme

طريقة العمل:

- خذ ٥٠ بذرة من حبوب القمح أو الشعير و انقعها في محلول هايبوكلوريت الصوديوم Sodium hypochlorite تركيز ٥ % لمدة ٢٠ دقيقة
- اغسل البذور بالماء المقطر لمدة ٣ دقائق ثلاث مرات لإزالة آثار التعقيم
- انقع البذور بالماء المقطر لمدة نصف ساعة
- ضع ورقة ترشيح في أسفل الطبق بتري وضع ٢٠ بذرة في كل طبق
- حضن الأطباق على درجة حرارة ٢٤ م لمدة ٤ أيام مع مراعاة ترطيب الحبوب بالقليل من الماء
- خذ ٥٠ بذرة حصل فيها انبات وضعها في هاون خزفي وضع معها قليلا من الرمل الرطب واسحقها جيدا بلطف ، ثم أضف لها أربعة أمثال حجمها ماء مقطر واتركها لمدة ساعتين ثم رشح
- الراشح يمثل انزيم أميليز نقي

السكريات - Carbohydrate

- السكريات اكثر الجزيئات العضوية وفرة في الطبيعة.
- هناك ثلاث انواع من السكريات $(CH_2O)_n$.
  - السكريات الاحادية
  - السكريات الثنائية
  - السكريات المتعددة

أنواع السكريات

السكريات الأحادية :

- **السكريات الاحادية هي ابسط أنواع السكريات وتتعذر تجزئتها الى عناصر أصغر، ويمكن تقسيم السكريات الاحادية الثلاثة التالية حسب درجة حلاوتها ومصادرها الى:**
  - **سكر العنب (الجلوكوز) : حلاوته ٧٥% ، تتواجد في الفواكه والعسل والدم.**
  - **سكر الفواكه (الفركتوز) : حلاوته ١٢٠% ، تتواجد في الفواكه والعسل**
  - **سكر الحليب (الجلاكتوز): حلاوته ٦٠% ، تتواجد في الحليب .**
- **والحلاوة هنا مقاسه نسبة الى سكر القصب (السكروز) الذي يعتبر ١٠٠%**

أنواع السكريات

السكريات الثنائية:

- **تتكون السكريات الثنائية من سكرين أحاديين**
- **وأنواعها:**
  - **سكر القصب أو البنجر(سكروز) : يتكون من سكري الجلوكوز و الفركتوز ، حلاوته ١٠٠% ويتواجد في قصب السكر والبنجر. ويعتبر السكروز السكر الثنائي الأساسي في النباتات الراقية**
  - **سكر الشعير (المالتوز): يتكون من جزئين من الجلوكوز، حلاوته ٣٥% ، ويتواجد في بذور الحبوب كالشعير ومن خلال تجزئة النشاء الى مكوناته الاصلية.**
  - **سكر الحليب (اللاكتوز) : يتكون من الجلاكتوز و الجلوكوز ، حلاوته ٢٥% ، ويتواجد في الحليب ومشتقاته .**

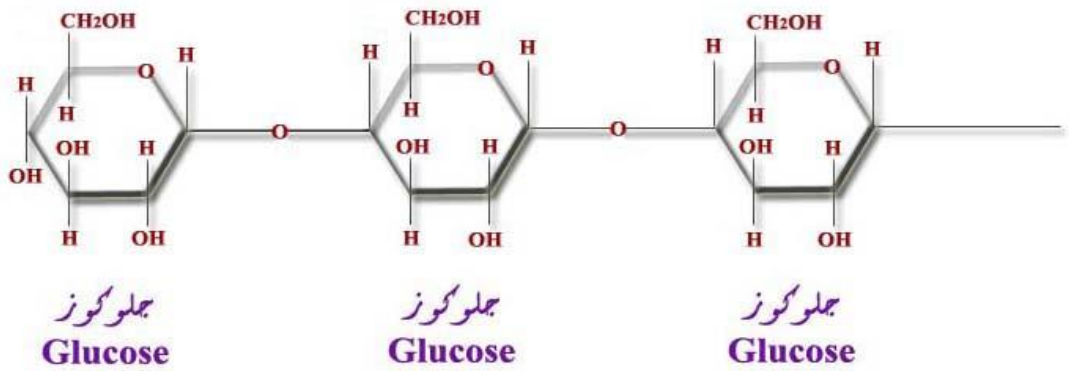
أنواع السكريات

السكريات المتعددة او المركبة:

- **إن أهم ما يميز السكريات المتعددة عن الثنائية هو طعمها غير الحلو إلا ان النوعين يشتركان بخاصية تعذر الامتصاص من قبل الجسم الا بعد تجزئتهما الى سكريات أحادية .**
- **انواع السكريات المركبة :**
  - **النشاء : ويتواجد في البطاطا ، الحبوب والبقول .**
  - **الديكسترين : ويتواجد في قشرة الخبز والخبز المحمص .**
  - **السيليلوز : ويتواجد في النباتات**
  - **البكتين : يتواجد في الفواكه ذات النوى والحبوب**
  - **الجلايكوجين : في الكبد والعضلات**

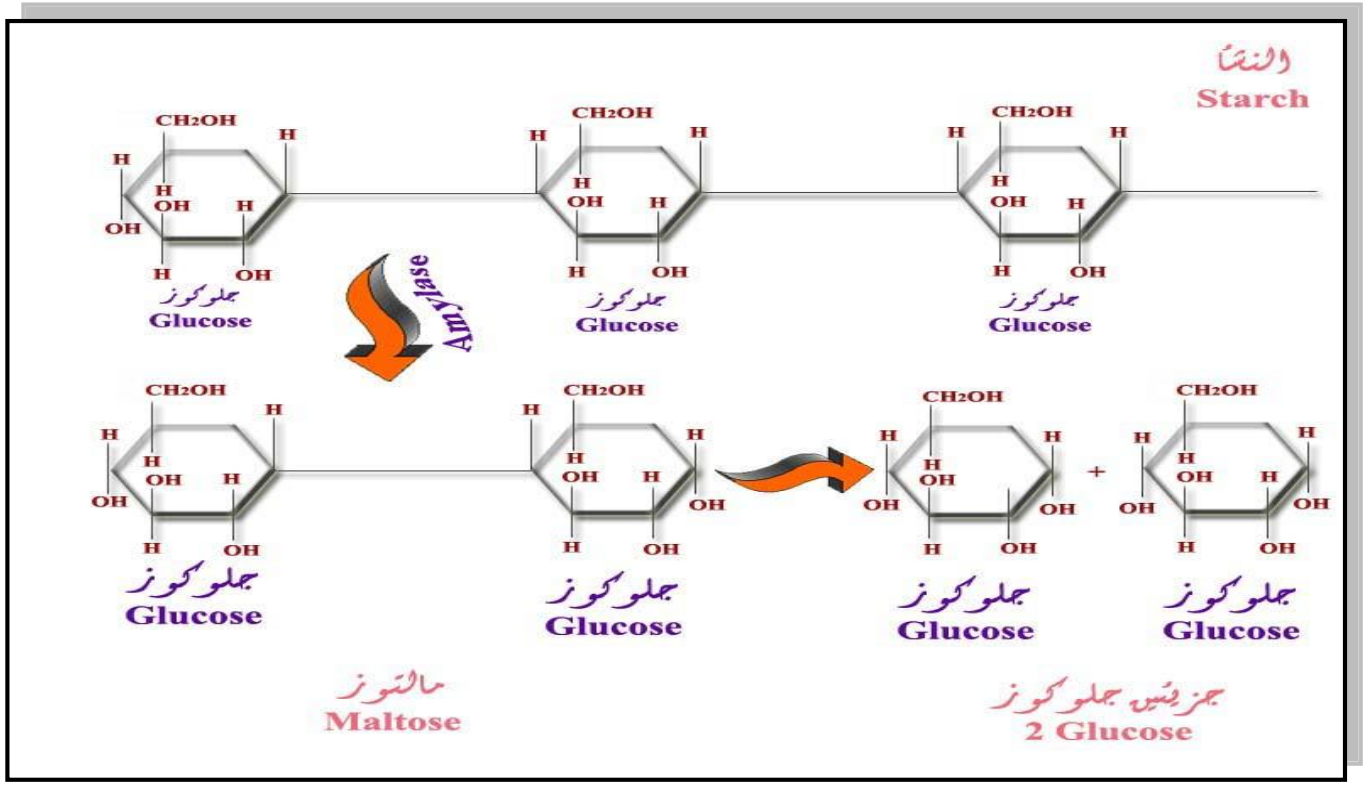
النشاء Starch

- **يتكون من تكاثف أكثر من ٣٠٠ وحدة من الألفا جلوكوز**
- **يوجد في حبيبات ذات غلاف سليلوزي لا يتمزق إلا بالغليان، وعندما تتواجد حبة نشا في الماء بإذابتها تتعكر المياه ولكن بعد فترة تترسب النشا وذلك لوجود طبقة عازلة بين النشا والماء تتمثل في الحويصلات السليلوزية المحيطة بجزيئات النشا عند غلي الماء تتمزق الحويصلات السليلوزية ومن ثم ينتشر النشا في المحلول وعندما تكون كمية النشا كبيرة يكون المحلول هلاميا**



تركيب النشا
Starch Structure

الرابطة الجليكوسيدية بين جزيئات
سكر الجلوكوز في النشا



- تحلل النشاء Starch degradation
- يتحلل النشاء الى سكر المالتوز ولكن سكر المالتوز ليس ميسورا بسهولة للنبات وحلت هذه المشكلة بانزيم المالتيز maltase الذي له انتشار عام في النباتات ويوجد المالتيز عادة ملازما لانزيمات الاميليز ويقوم بتحفيز تحليل الرابطة الجليكوسيدية لسكر المالتوز منتجا جزيئين من سكر الجلوكوز.

طريقة الكشف عن تحلل النشاء

- **نستخدم في التجربة الفا-اميليز الذي يعمل على الرابطة الجلايكوسيدية ٤ – ١ α وهي الرابطة بين مكونات النشأ ليعطي سكر المالتوز الثنائي ثم يتحول المالتوز إلى جزيئين سكر جلوكوز.**
- **يعطي النشا لون أزرق مع اليود.**
- **يتحلل النشا بواسطة انزيم الأميليز إلى ديكسترينات عالية تعطي لونا أزرقا برونزياً أو بنياً مع اليود**
- **يتحلل النشا بواسطة انزيم الأميليز إلى ديكسترينات عالية تعطي لونا أزرقا برونزياً أو بنياً مع اليود**
- **تليها مرحلة ارثرو ديكسترينات الذي يعطي لونا أحمرا أو برتقاليا أحمرا مع اليود**
- **وتليها مرحلة الأكرو ديكسترينات الذي يعطي لون برتقالي فاتح مع اليود ثم المرحلة الأخيرة وهي المالتوز.**

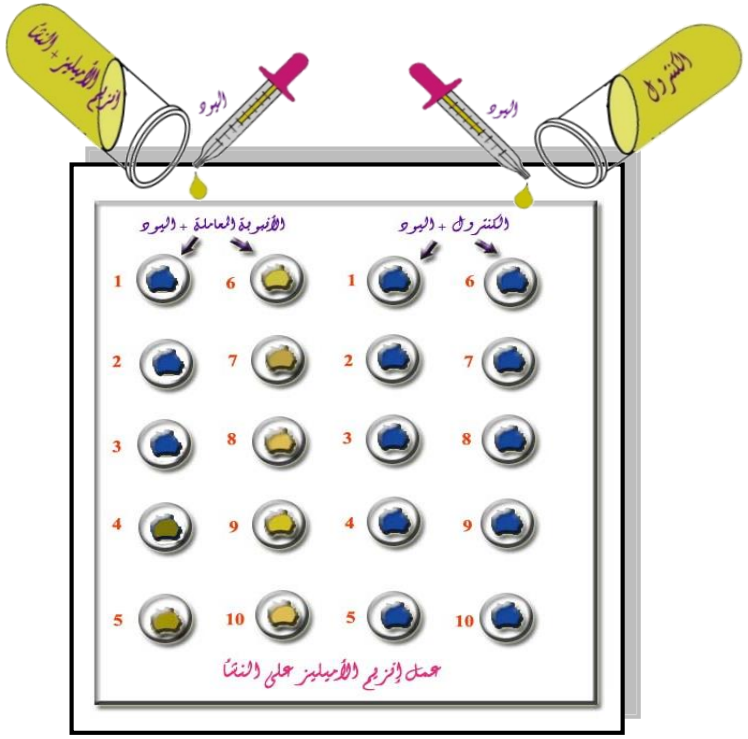
الأدوات:

- **أنبوبتا اختبار**
- **إنزيم الأميليز**
- **نشأ**
- **حمام مائي**
- **بليت (صحن خزفي مقسم)**

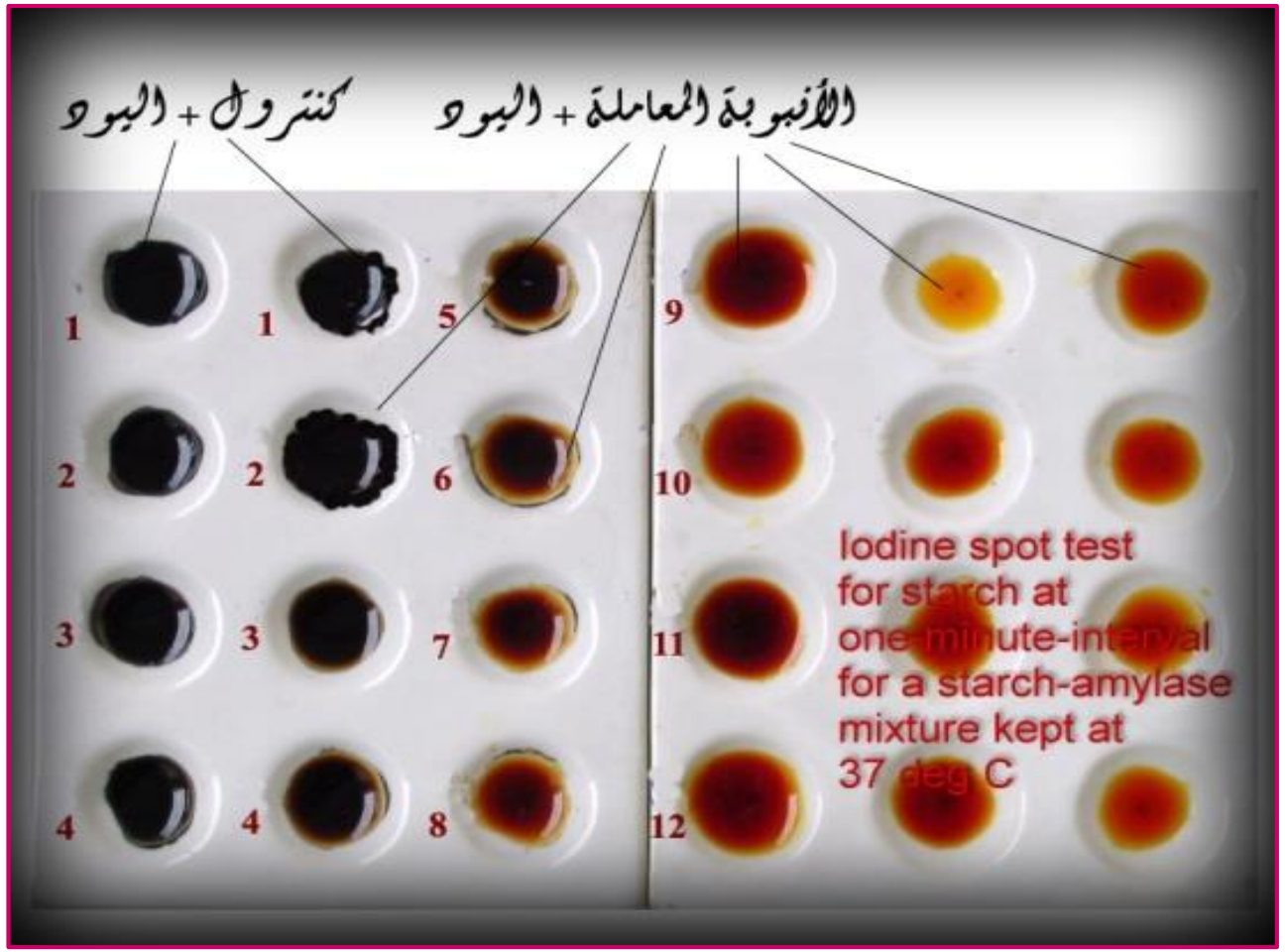
طريقة العمل

- نضع في الأنبوبة الأولى المعاملة ٤ مل من إنزيم الأميليز + ٢ مل من مادة الأساس (النشأ) ثم نرجها
- نضع في الأنبوبة الثانية (الكنترول) مادة الأساس فقط
- نحضر البليت ونقسمه إلى عمودين العمود الأول خاص بالكنترول والعمود الثاني خاص بالأنبوب المعامل
- نضع نقطة من النشأ بدون أنزيم + اليود في الخانة الأولى الخاصة بالكنترول أما في الخانة الخاصة بالأنبوبة المعاملة فنضع نقطة من النشأ مع الإنزيم + اليود ليظهر اللون الأزرق في كلا الخانتين (وذلك قبل التحضين)
- نضع الأنابيب في حمام مائي عند درجة 37 م وهي درجة التحضين لمدة ٥ – ١٠ دقائق
- نبدأ بوضع خليط الإنزيم من الأنبوبة المعاملة + نقطة يود في الخانة الثانية من العمود الخاص بالأنبوب المعامل في البليت بعد دقيقة من التحضين
- نضع الخليط السابق في الخانة الثالثة لكن بعد ٥ دقائق من التحضين ثم بعد ١٠ دقائق ثم ١٥ دقيقة ، نقوم بنفس العملية مع انبوبة الكنترول في الخانة الخاصة به

الزمن	المعاملة	الكنترول
قبل التحضين	نقطة من الانبوبة + اليود	نقطة من الانبوبة + اليود
بعد دقيقة	نقطة من الانبوبة + اليود	نقطة من الانبوبة + اليود
بعد ٥ دقائق	نقطة من الانبوبة + اليود	نقطة من الانبوبة + اليود
بعد ١٠ دقائق	نقطة من الانبوبة + اليود	نقطة من الانبوبة + اليود
بعد ١٥ دقيقة	نقطة من الانبوبة + اليود	نقطة من الانبوبة + اليود



ألوان اليود مع النشاء تدل على عمل الانزيم



يمكن تمييز النباتات العطرية الى المجموعات الآتية:

- نباتات تُستعمل كاملة: وهي النباتات التي فيها المواد الكيمياوية العطرية في جميع أجزاء النبات من دون أن تتركز في جزء معين، مثل شجرة الصنوبر الأسود أو نبات الشيح.
- نباتات تُستعمل أوراقها: وتتركز موادها العطرية في أوراقها أساساً، مثل: الريحان، النعناع، العطر، الشاي والحناء، وغيرها.
- نباتات تُستعمل نُوراتها أو أزهارها: وتتركز موادها العطرية، إما في النورات كما في البابونج والأقحوان، أو في بتلات الزهرة، كما في الورد والفل والياسمين، أو في الوريقات الكأسية الزهرية كما في الكركديه، أو في المياسم كما في الزعفران، وغيرها.

يمكن تمييز النباتات العطرية الى المجموعات الآتية:

- نباتات تُستعمل ثمارها: وتتركز موادها العطرية في الثمار مثل الكراوية، والشمر والفانيليا، وفي عصير الثمار غير الناضجة مثل الخشخاش، وغيرها.
- نباتات تُستعمل بذورها: وتتركز موادها العطرية في بذورها مثل حبة البركة والخردل، وغيرها.
- نباتات تستعمل أجزاؤها الأرضية : تتركز موادها العطرية في سوقها الأرضية المتحورة، أو في جذورها المتدرنة مثل: ريزومات عرق السوس، وكورمات اللحلاح، ودرنات السحلب، وغيرها.
- نباتات يستعمل قلفها: وتتركز موادها العطرية في قلفها مثل: قلف القرفة وقلف اليوكاليبتوس، وغيرها

طريقة استخلاص الزيوت العطرية

- لعب العرب منذ القدم دورا هاما في تطوير طرق الاستخلاص والتحضير العطرية بواسطة التبخير والتكثيف والتقطير على أيدي علماء كبار أمثال ابن سينا استخرجها بطريقة نقية ومركزة، وكذلك جابر ابن حيان وهو أول من فصل مادة الكحول عن طريق التقطير، ثم تطور الأمر لاحقا لتعدد طرق استخلاص الزيت العطري
- من أهم طرق استخلاص الزيوت العطرية:
  - الاستخلاص بالتقطير
  - الاستخلاص بالمذيبات العضوية
  - الاستخلاص بالعصر الهيدروليكي
  - الاستخلاص بالتحلل الانزيمي

طريقة تحضير الزيوت العطرية

- للأسف إن كثيرا من هذه الزيوت مرتفع الثمن وغير متوافر في الأسواق، لكن لحسن الحظ يمكن تحضيرها بطريقة سهلة غير مكلفة في المنزل وذلك على النحو التالي:
  - تقطع الزهور أو الأوراق للنبات العطري إلى أجزاء صغيرة.
  - توضع في زيت نباتي مثل زيت دوار الشمس وفائدة هذا الزيت أنه يمتص الزيت العطري من النبات.
  - يسخن الخليط على نار هادئة.
  - ولزيادة تشبع الزيت النباتي بالزيت العطري، تصفى أجزاء الزهور أو الأوراق في الوعاء، ويعاد وضع زهور أو أوراق جديدة مع استمرار التسخين الهادئ.

أهم النباتات العطرية Aromatic Plants

- البنفسج *Viola odorata* :
- **و يستخرج من أزهاره بالتقطير زيت البنفسج الذي يدخل في صناعة أفخر أنواع الروائح أما منقوع الأزهار فسيتعمل كمدر للبول و العرق و يفيد شربه في التهاب الحلق .**

- الياسمين Jasmine grandiflorum
- **وهو الياسمين الأبيض الذي يزرع من أجل أزهاره العطرية الرائحة وهو من أحسن النباتات العطرية و يستخلص زيت الياسمين بطريقة الاستخلاص الدهني أو بالاستخلاص بالمذيبات العضوية تدخل صناعة الياسمين (الزيت و الدهن) في كثير من المركبات العطرية و الروائح الفاخرة**

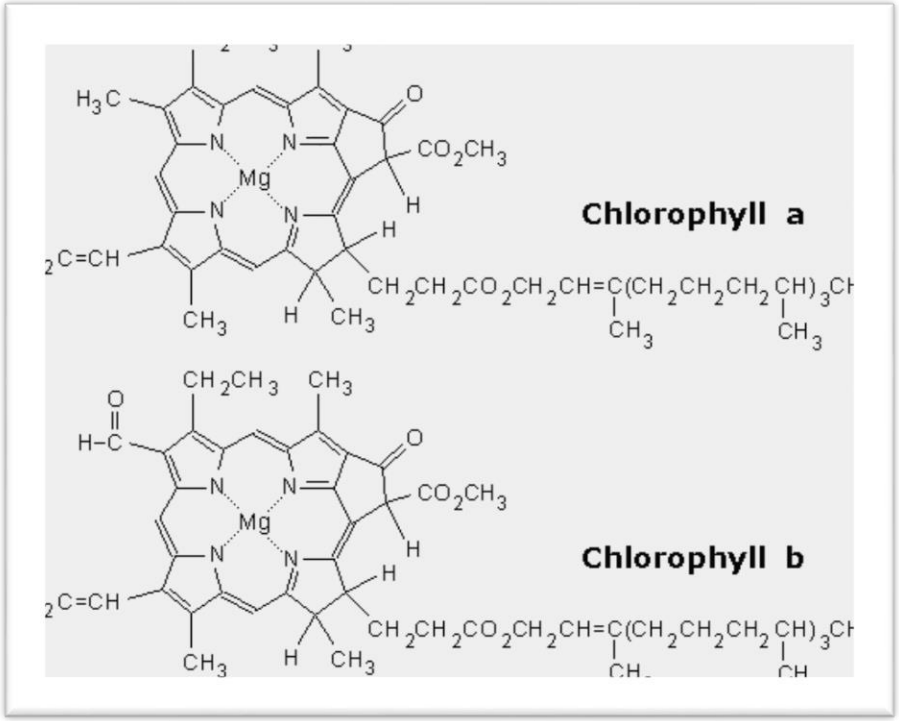
الورد البلدي Rosa sp

- **يزرع الورد من أجل أزهاره المستعملة في عمل المربى و كذلك لإنتاج زيت الورد و ماء الورد و تحسين رائحة الكثير من الأدوية و المأكولات و مهدئ للأعصاب و يضاف للعطور و الحلوى وقد تقطف البراعم قبل تفتحها و تسمي زر الورد و تستعمل لإضافتها أثناء تحسين نكهة الحلوى و بعض الأدوية وقد أمكن تحضير نوع من الشراب غني بالفيتامينات من ثمار الورد و له تأثير مدر للبول ودهن الورد من أغلى العطور.**

الريحان *Ocimum basilicum*

- **نبات يزرع لجمال أوراقه ذات الأريج العاطر و يستحصل منه وقت الإزهار على ٢,٥- ٤ % زيت طيار يستعمل في صناعة الروائح و الصابون و منه أنواع يستعمل زيتها كدهان في نزلات البرد و إزالة الكدمات.**

- الكلوروفيـــــــــل :
  - المركب الذي يعطي أوراق النبات لونها الأخضر
  - يمتص اللونين البنفسجي والأحمر ، مما يعطي الضوء المنعكس منه اللون الأخضر، ولهذا تظهر جميع النباتات باللون الأخضر
  - تستعمل الطاقة الممتصة من الضوء في عمليات التمثيل الضوئي .
  - يتكـون الكلوروفيـــــــــل من عنـاصر الكـربون ، الهيـدروجين والأكسجيـــن والنيتروجيـــــــن والمغنيسيوم .
  - يمتص الكلوروفيل أشعة الشمس بقوة شديدة ، ولهذا يستطيع إخفاء أغلب الألوان الأخرى، لكن بعض الألوان الأخرى تظهر في الخريف عندما تحلل جزيئات الكلوروفيل
  - تستبدل ذرة المغنيسيوم بأيون هيدروجين عند طهي الخضروات ، ويؤدي هذا التغير في تركيب جزيء كلوروفيل الى اختلاف في لون الأوراق ، وعلى الأغلب يتحول لونها إلى الأخضر الباهت .



- **تركيب الكلوروفيل :**
- جزئ الكلوروفيل معقد التركيب و القانون الجزئى لكلوروفيل أ $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$. يعتقد ان قدرة الكلوروفيل على امتصاص الضوء يعتمد على وجود ذرة الماغنسيوم فى مركز جزئ كلوروفيل أ .

اهميه الكلوروفيل : امتصاص الطاقه الضوئيه اللازمه لعمليه البناء الضوئى

الصبغه	اللون	النسبه	ملاحظات
كلوروفيل أ	اخضر مزرق	٧٠ %	لارتفاع نسبه صبغه الكلوروفيل فان اللون الاخضر يغلب على باقى الاصباغ .
كلوروفيل ب	اخضر مصفر		
زانثوفيل	اصفر ليمونى	٢٥ %	
كاروتين	اصفر برتقالى	٥ %	

الهدف من التجربة

- تقدير كمية الكلورفيل الموجود في ١ جرام من النسيج من خلاله يمكننا معرفة الاختلافات التي تحدث للنباتات عند تعرضها للعوامل البيئية المختلفة

الأدوات

- اوراق نباتية طازجة
- أسيتون ٨٠%
- اهوان
- اقماع
- اوراق ترشيح
- دوارق زجاجية سعة ٢٥٠ مل
- جهاز سبيكترو فوتموميتر Spectrophotometer
- مخابير مدرجة سعة ١٠ مل
- بياكر

طريقة العمل

- تقطع اوراق طازجة (١ جرام) وتوضع في الهاون.
- يضاف ١٠ مل أسيتون ٨٠% (٨٠مل أسيتون +٢٠ مل ماء مقطر) ويطحن النسيج تماما بالهاون.
- ينقل المحلول الاخضر الى قمع لعملية الترشيح ويجمع في دورق.
- يعاد طحن النسيج باستخدام ٧,٥ مل من الأسيتون ٨٠% ورشح بنفس الطريقة ويجمع بنفس الدورق.
- أكمل الحجم الى ٢٥ مل للمستخلص النهائي بايتخدام الأسيتون ٨٠% .
- سجل قراءات الكثافة الضوئية Optical density (O.D) بعد وضعها في الخلايا الزجاجية الخاصة على موجات ٦٤٥ ، ٤٤٠ ، ٦٦٣ نانوميتر
- يتم تصفير الجهاز بأستخدام ٨٠% أسيتون. ومن هذه القراءات يمكن حساب كمية الكلورفيل أ و ب والكلورفيل الكلي الموجوده في النسيج النباتي المعبر عنه على أساس ملليجرام كلورفيل/جم من النسيج المستخلص

- نطبق المعادلات

- Mg chl a/g=[12.7(O.D 663) – 2.69 (O.D 645)] x V/1000 x w
- Mg chl b/g = [22.9 (O.D 645) – 4.68(OD663)] x V/1000 x w
- Chl / g =[4.695 (O.D440) -0.268 x (chla + chlb)]xv/1000 x w

حيث ان:

O.D: الكثافة الضوئية عند طول الموجه الموضحة بجانب كل منهم.

V:الحجم النهائي لمستخلص الكلورفيل في الاسيتون ٨٠% .

W: الورز الطازج بالجرام للنسيج النباتي.