

РАБОТА 1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ХЛОРОФИЛЛА В ЛИСТЬЯХ

Материалы и оборудование: свежие листья различных светолюбивых (гороха, кукурузы, огурцов) и теневыносливых (примулы, плюща, гибиска, аспидистры) растений; 80%-ный ацетон); CaCO_3 ; кварцевый песок или толченное стекло; весы; ножницы; ступка малого размера; колба Бунзена с пробкой, в которую вставлен стеклянный фильтр №2 или №3; насос Камовского; стеклянная палочка мерная колба на 50 мл с пробкой; воронка; фотоэлектрический колориметр или спектрофотометр; калька; вазелин, салфетка:

ХОД РАБОТЫ

Во избежание потерь хлорофилла все операции необходимо проводить быстро, в затемненном помещении, желательно на холоде.

Приготовьте высечки (5-7 сверлом №2), отбросив черешки и крупные жилки. Поместить высечки в ступку, добавить кварцевого песка или толченого стекла и немного CaCO_3 , прилить 4-5 мл 96 % спирта и тщательно растереть. Смазать снизу носик ступки вазелином и слить вытяжку по палочке в воронку со стеклянным фильтром, вставленную в колбу Бунзена, не теряя ни одной капли. Отсосать жидкость при помощи насоса. Прилить в ступку еще немного спирта, растереть, снова слить на фильтр и отсосать. Повторить эту операцию 2-3 раза, затем перенести растертую массу на фильтр. Сполоснуть ступку 3 раза спиртом, слить на материал в воронку, дать постоять несколько минут и отсосать. Промыть материал спиртом до полного извлечения пигментов (растворитель, стекающий с фильтра, должен стать бесцветным).

Объем полученного фильтрата доведите до указанного преподавателем объема (10 мл). Если ваш объем отличается, то зафиксируйте полученный вами результат, до снятия показаний поместить фильтрат в темноту.

Данные операции проведите в трехкратной повторности.

Снимите показания на спектрофотометре (для определения каротиноидов часто используются дополнительное разбавление, зафиксируйте полученные при этом объемы).

Полученные данные занесите в таблицу:

№	Объем фильтрата	D_{665}	D_{649}	D_{440}	Объем для определения каротиноидов, мл

Рассчитайте количественное содержание пигментов:

1. Определите площадь высечки: $S = n\pi r^2$, где $\pi = 3,14$; r — радиус сверла; n — количество высечек. Полученные данные переведите в дм^2 ($1\text{см}^2 = 0,1\text{ дм}^2$)

2. Для каждой повторности определите содержание хлорофилла а:

$$C_a = 13,7 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649} \text{ (мг/л)}$$

1.

2.

3.

Данные занесите в таблицу.

3. Рассчитайте содержание хлорофилла b для каждой повторности:

$$C_b = 25,8 \cdot D_{649} - 7,6 \cdot D_{665} \text{ (мг/л)}$$

1.

2.

3.

Данные занесите в таблицу.

4. Рассчитайте содержание каротиноидов для каждой повторности:

$$C_{\text{кар}} = 4.695 \cdot V_{\text{ф}} \cdot D_{440} / V_{\text{фкар}} - 0.268 \cdot (C_{\text{а}} + C_{\text{в}}) \text{ (мг/л)}$$

1.

2.

3.

Данные занесите в таблицу.

5. Рассчитайте содержание пигментов для вашего объема фильтрата:

$$C_{\text{ф}} = C \cdot V_{\text{ф}} / 1000 \text{ (мг/л)}$$

Хлорофилл а

1.

2.

3.

Хлорофилл b

1.

2.

3.

Каротиноиды

1.

2.

3.

6. Определите величину содержания пигментов в мг/дм²: $C = C_{\text{ф}} / S$

Хлорофилл а

1.

2.

3.

Среднее арифметическое:

Погрешность:

Хлорофилл b

1.

2.

3.

Среднее арифметическое

Погрешность:

Каротиноиды

1.

2.

3.

Среднее арифметическое

Погрешность:

Полученные данные занесите в таблицу.

Вычисление погрешности осуществляется по формуле:

(максимальная величина - минимальная величина) • К, где К — коэффициент, равный 0.42 при трехкратной повторности измерений или 0,88 при двукратной повторности измерений.

7. Вычислите оставшиеся показатели, оперируя средними величинами (Среднее арифметическое) и занесите данные в таблицу.

Сводная таблица количественного содержания пигментов в листьях различных видов растений

Вид	Хлорофилл а		Хлорофилл b		Сумма хлорофиллов	Каротиноиды		Отношение хлорофилла а к b	Отношение суммы хлорофиллов к каротиноидам
	мг/л	мг/дм ²	мг/л	мг/дм ²		мг/л	мг/дм ²		
1	1								
	2								
	3								
	ср.								
2	1								
	2								
	3								
	ср.								
3	1								
	2								
	3								
	ср.								
4	1								
	2								
	3								
	ср.								
5	1								
	2								
	3								
	ср.								
6	1								
	2								
	3								
	ср.								