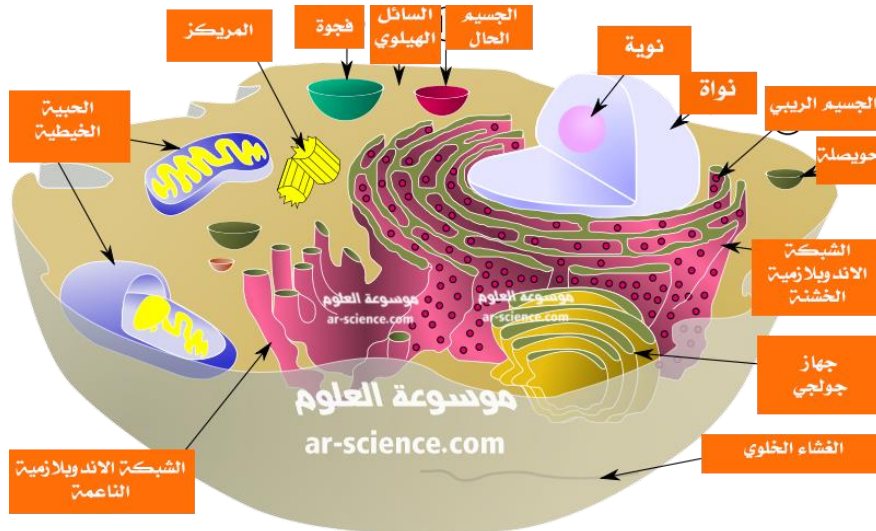




Plant Physiology Lap Experiments

2020

محاضرات فصلجه النبات
الجزء العملي
قسم البستنة وهندسة الحدائق
كلية الزراعة-جامعة البصرة



مدرس المادة
الاستاذ: جمال عبد الرضا عبد لسيد

انواع المحاليل الفسلجية وطرق تحضيراتها وتراكيزها

المحاليل والانظمة الغروية Solutions and Colloidal Systems

الوسط المائي: هو الوسط الذي تجري فيه مختلف الفعاليات فسيولوجية ام كيميائية. ان العمليات الفسيولوجية والكيميائية تعمل في محيط سائل مخفف لمحاليل حقيقية او معلقة او غروية ، لذا تخضع جميع الفعاليات في الجسم النباتي لقوانين الفيزياء والكيمياء التي تتحكم بالمحاليل.

طبيعة المحاليل The Nature of Solutions

وضع كمية قليلة من السكر (مادة ذائبة غير متأينة) او ملح الطعام (مادة ذائبة متأينة) في الماء نلاحظ توزع جزيئات السكر او الايونات الناتجة من الملح تدريجيا بصورة متساوية بين جزيئات الماء.

- المادة المذابة Solute هو السكر او الملح
- المادة المذيبة Solvent هو الماء
- المحلول المخفف Dilute solution ناتج الذوبان
- المحلول المشبع Saturated solution ناتج اضافة كمية اخرى من المادة المذابة في كمية محددة من الماء يصل حد لايمكن اذابة المزيد من المادة المذابة
- فوق التشبع Super saturated ناتج زيادة درجة حرارة المحلول المشبع حتى ذوبان البلورات المترسبة.

انواع المحاليل Types of Solutions

توجد تسع انواع من المحاليل يمكن الحصول عليها باستعمال حالات المادة الثلاث (السائلة-الصلبة-الغازية) هذه الحالات التسعة

- سائل في سائل او في صلب او في غاز
- غاز في غاز او في صلب او في سائل
- صلب في صلب او في سائل او في غاز

انواع المحاليل بالنسبة لتركيزها وطرق تحضيرها

تركيز المحلول: هو كمية مادة في وحدة الحجم او الوزن . لتحضير المحاليل بتركيز مختلفة يستعمل الوزن الجزيئي الغرامي Gram Molecular Weight وهو يحوي نفس العدد من الجزيئات المكونة لها ويطلق عليه عدد افوكادرو. تستعمل المختبرات قياسات مختلفة منها:

1- المحاليل الجزيئية الغرامية (المولارية) (Molar Solutions (M)

يعرف المحلول المولاري بأنه مقدار اذابة وزن جزيئي غرامي واحد لمادة قابلة للذوبان بالماء ويكمل الحجم الى لتر واحد من الماء ويرمز له (1M).
مثال: سكر القصب وزنه الجزيئي الغرامي 312.3 فعند اذابة 312.3 غرام في كمية ماء مقطر كافية ثم يكمل المحلول الى 1لتر فتركيز المحلول الناتج يكون 1M. قانون حساب لمولارية (M):

$$wt=(v/1000)\times M\times M.Wt$$

=wt وزن المذاب بالغرام ، v = حجم المحلول باللتر (اما اذا كان الحجم ب ml يقسم على 1000) ، M = المولارية ، M.Wt = الوزن الجزيئي للمذاب

مثال: حضر محلول 1M من NaOH بحجم 250ml علما ان الاوزان الذرية هي : (, H=1 O=16, Na=23

الجواب: الوزن الجزيئي = مجموع الاوزان الذرية = 40=23+1+16

$$wt=(v/1000)\times M\times M.Wt$$

$$wt=(250/1000)\times 1\times 40=10$$

ناخذ 10g من ال NaOH ويكمل الحجم الى النهائي بالماء المقطر لحد 250ml

ملاحظة : قسم على 1000 لان الحجم بالملي لتر ml

مثال: حضر محلول 0.5M من NaOH يحجم 5L علما ان الوزن الجزيئي =40

$$Wt =5\times 0.5\times 40=100g$$
 الجواب:

ناخذ 100g من ال NaOH ويكمل الحجم الى النهائي بالماء المقطر لحد 5L

ملاحظة : لم يقسم على 1000 لان الحجم باللتر L

2- محاليل المولال (المولالية) (m) Molal Solutions

لغرض الحفاظ على عدد ثابت من جزيئات المذيب تستعمل محاليل المولال فيحتوي المحلول المولال على غرام وزن جزيئي واحد مذاب بلتر واحد من الماء المقطر.

3- محاليل العيارية (N) Normal Solutions

هو ذلك المحلول الذي يحتوي على غرام واحد من الوزن المكافئ للمادة المذابة في لتر واحد من المحلول وتحسب:

$$wt=(v/1000)\times N\times EW$$

=wt وزن المذاب بالغرام ، =v حجم المحلول باللتر ، =N العيارية للمحلول ، =EW الوزن المكافئ للمادة بالغرام

4- محاليل الجزء بالمليون (ppm) Part Per Millions

وتسمى ايضا ملغم/لتر او ملغم.لتر⁻¹ هو اذابة 1 مغم (1mg) من المادة في الماء المقطر ويكمل الحجم الى (1 لتر) يعطي تركيز 1ppm.

اما في حالة اذا اذيب 1 غم (1g) او (1000 ملغم) من المادة في الماء المقطر ويكمل الحجم الى 1 لتر يعطي تركيز 1000 ppm .

الحجم المحلول (v) ويشمل (L, ml, µl) ، الوزن بالغرام (mg, g, Kg) ، المولارية (M)

$$1 \text{ ملغرام} = 1 \text{ ملغم} = 1 \text{ mg}$$

$$1 \text{ غرام} = 1000 \text{ ملغم} = 1 \text{ g} = 1000 \text{ mg}$$

$$1 \text{ كيلوغرام} = 1 \text{ كلغم} = 1 \text{ Kg} = 1000 \text{ g}$$

$$\text{غم} / \text{لتر} = \text{غم} . \text{لتر}^{-1} = \text{g/L} = \text{g.L}^{-1}$$

$$\text{ملغم} / \text{لتر} = \text{ملغم} . \text{لتر}^{-1} = \text{mg/L} = \text{mg.L}^{-1} = \text{ppm} = \text{جزء بالمليون}$$

$$1 \text{ مللتر} = 1 \text{ ملل} = 1 \text{ ml}$$

$$1 \text{ لتر} = 1 \text{ L} = 1000 \text{ مللتر} = 1000 \text{ ملل} = 1000 \text{ ml} = 1 \text{ Kg}$$

$$1000 \text{ µl (Microliters)} = 1 \text{ ml (Milliliters)}$$

5- محاليل النسبة المئوية Percent Solutions

• نسبة حجم الى وزن (w/v)

مثال: محلول تركيزه (1%) (w/v) هو اذابة 1g من المذاب في المذيب يكمل الى

.100ml

- نسبة وزن الى وزن (w/w) مثال: محلول تركيزه (1%) (w/w) هو اذابة 1g من المذاب في 99g من المذيب يكون الوزن النهائي 100g.
- نسبة حجم الى حجم (v/v) مثال: محلول تركيزه (1%) (v/v) هو اذابة 1ml من المذاب في المذيب 99ml حيث يكون الحجم النهائي 100ml.

تخفيف المحاليل Dilution of solutions

قانون التخفيف بالماء هو

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$M = \text{المولارية}$$

$$V = \text{الحجم}$$

$$\text{حجم المحلول} \times \text{تركيزه (قبل التخفيف)} = \text{حجم المحلول} \times \text{تركيزه (بعد التخفيف)}$$

التخفيف بمحلول من نفس النوع يطبق القانون التالي

$$\text{حجم المحلول الاول} \times \text{تركيزه} \div \text{حجم المحلول الثانى} \times \text{تركيزه} = \text{حجم المحلول النهائي} \times \text{تركيزه}$$

التخفيف بمحلول مختلف

لإيجاد التركيز للمحلول الاول فى المحلول الكلى يطبق القانون التالي

$$\text{حجم المحلول} \times \text{تركيزه (قبل)} = \text{حجم المحلول} \times \text{تركيزه (بعد)}$$

لإيجاد التركيز للمحلول الثانى فى المحلول الكلى يطبق القانون التالي

حجم المحلول × تركيزه (قبل) = حجم المحلول × تركيزه (بعد)

مثال : حضر محلول 0.25N من ال NaOH بحجم 200ml من المحلول الاصلي ال Stock تركيزه 2N.

الجواب: نطبق قانون التخفيف

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

$$2 \times V1 = 0.25 \times 200 / 1000$$

$$V1 = 0.25 \times 0.2 / 2 = 0.025L = 25ml$$

ناخذ 25ml من المحلول الاصلي ويكمل الحجم الى 200ml باستخدام الماء المقطر

ملاحظة: اذا كان حجم المحلول ب ml يقسم على 1000 اما اذا كان ب L فلا يقسم

انواع البفرات وقياس قيمة pH واهميتها الفسلجية

تعريف المحلول المنظم (البفري) Buffer Solution

هي المحاليل التي تقاوم التغير في الرقم الهيدروجيني pH عند إضافة كميات قليلة من الأحماض أو القواعد القوية أو عند تخفيفها، وهي عبارة عن محلول لحامض ضعيف وأحد أملاحه أو قاعدة ضعيفة وأحد أملاحها. ومن امثلتها:

1- Tris Buffer 2- محلول الكاربونات الملطف Carbonate Buffer 3- محلول

السترات الملطف Citrate Buffer 4- محلول الفوسفات الملطف Phosphate Buffer

5- محلول الخللات الملطف Acetate Buffer

ملاحظة: ماء البحر يقاوم التغير في قيمة الرقم الهيدروجيني وذلك لوجود أملاح ذائبة فيه

بينما الماء المقطر لا يصلح ان يكون محلولاً منظماً وذلك لانه لا يقاوم التغير في قيمة الرقم الهيدروجيني عند إضافة الحامض تتغير قيمة pH من 7: 4 وعند إضافة القاعدة تتغير قيمة pH من 11:7

تتكون المحاليل المنظمة (البفرات) من:

اولاً: قاعدة ضعيفة (قاعدة مقترنة) + ملح القاعدة الضعيفة (الحامض المرافق للقاعدة "الحامض المقترن")

حيث يحضر المحلول المنظم من مزيج من محلولي قاعدة ضعيف + ملح القاعدة الضعيفة ذات الشق الحمضي القوي، ال $pH < 7$ ويفضل استخدام هذه المحاليل المنظمة في الاوساط القاعدية مثلاً:

1. مزيج من محلول الأمونيا (هيدروكسيد الأمونيوم) + كلوريد الأمونيوم .
2. مزيج من محلول الأمونيا (هيدروكسيد الأمونيوم) + كبريتات الأمونيوم.
3. مزيج من محلول الأمونيا (هيدروكسيد الأمونيوم) + نترات الأمونيوم .

محاليل منظمة قاعدية		
ملح القاعدة الضعيفة	القاعدة الضعيفة	
NH_4Cl	NH_3	امونيا وكلوريد الامونيوم

ثانياً: حامض ضعيف (حامض مقترن) + ملح الحامض الضعيف (القاعدة المرافقة للحامض "القاعدة المقترنة")

حيث يحضّر المحلول المنظم من مزيج من محلولي حامض ضعيف + ملح الحامض الضعيف ذات الشق القاعدي القوي ، ال $pH > 7$ ويفضل استخدام هذه المحاليل المنظمة في الاوساط الحامضية مثلاً

- 1- مزيج من حامض الإيثانويك + إيثانوات الصوديوم أو البوتاسيوم.

2- مزيج من حامض الميثانويك + ميثانات الصوديوم أو البوتاسيوم.

3- مزيج من حامض الأكساليك + أكسالات الصوديوم أو البوتاسيوم.

4- مزيج من حامض البنزويك + بنزوات الصوديوم أو البوتاسيوم .

ملاحظة: المحلول الذي يحتوي على اي من هذين المادتين المترافقتين في اولا و ثانيا محلول منظم

محاليل منظمة حامضية		
ملح الحامض الضعيف	الحامض الضعيف	
KNO ₂	HNO ₂	حامض النيتروز
NaCN	HCN	حامض السيانيد
HCO ₃ ⁻	H ₂ CO ₃	حامض الكربونيك
CH ₃ COO ⁻	CH ₃ COOH	حامض الأسيتيك

كيف يعمل المحلول المنظم (البفري)

الحالة الاولى : دراسة أثر إضافة قاعدة NaOH إلى المحلول المنظم:

1- إضافة قاعدة NaOH يعني إضافة OH⁻ والتي تتفاعل مع H₃O⁺ في المحلول فيختل الاتزان.

2- وفقاً لمبدأ لوتشاتلييه سينزاح التفاعل (1) نحو اليمين بتفكك المزيد من CH₃COOH فيتم تعويض النقص في H₃O⁺ فيبقى تركيزها ثابتاً تقريباً ، وبالتالي تبقى قيمة pH للمحلول ثابتة تقريباً .

الحالة الثانية : دراسة أثر إضافة حامض HCl إلى المحلول المنظم:

1- إضافة HCl يعني إضافة H⁺ وبالتالي زيادة تركيز H₃O⁺ في المحلول فيختل الاتزان.

2- وفقاً لمبدأ لوتشاتلييه سينزاح التفاعل (1) نحو اليسار بتفاعل H₃O⁺ الزائدة مع



3- نتيجة انزياح التفاعل (1) نحو اليسار سيزول تقريباً أثر الزيادة في تركيز H₃O⁺ الناتجة من إضافة الحامض HCl وبالتالي تبقى قيمة pH للمحلول ثابتة تقريباً

تفسير عمل المحلول المنظم (البفري)

- مزيج من محلولي حامض الإيثانويك (الأسيتيك) و إيثانات الصوديوم يقاوم التغير في pH عند إضافة حامض أو قاعدة إليه .

عند إضافة حامض تتفاعل أنيونات الإيثانوات للملح مع كاتيونات الهيدروجين للحامض المضاف مكونة حامض الإيثانويك ضعيف التآين فيقل التأثير للحامض المضاف .

عند إضافة قاعدة : (OH⁻) يتفاعل حامض الإيثانويك مع أنيونات الهيدروكسيد (OH⁻) مكونا الماء ضعيف التآين وبالتالي يقل تأثير القاعدة المضافة .

● مزيج من محلول الأمونيا (هيدروكسيد الأمونيوم) و كلوريد الأمونيوم يقاوم التغير في pH عند إضافة حامض أو قاعدة إليه .

عند إضافة حامض (H⁺) : يتحد هيدروكسيد الأمونيوم مع كاتيونات الهيدروجين الحامض المضاف مكونا الماء ضعيف التآين فيقل تأثير الحامض المضاف.

عند إضافة قاعدة : (OH⁻) تتحد كاتيونات الأمونيوم مع أنيونات الهيدروكسيد مكونا جزيئات الأمونيا وماء ضعيف التآين فيقل تأثير القاعدة المضافة.

الاهميتها الكيميائية المنظمة (البفرات):

يتطلب الكثير من العمليات الكيميائية والحيوية أن لا تتغير قيمة pH لوسط التفاعل كثيراً بل تبقى قريبة من قيمة معينة. ومثال ذلك أن الدم في جسم الإنسان لا يمكن أن يقوم بوظيفة نقل الأكسجين إلى الخلايا إلا أن تكون قيمة pH=7.4 وللمحالييل المنظمة أهمية كبيرة في التجارب الكيميائية فمثلا

1- معالجة التربة لنمو المحاصيل المختلفة

2- ومعايرة جهاز قياس الأس الهيدروجيني ال pH.

3- هذه المحالييل تستخدم في التجارب الكيميائية الحيوية حيث ان بعض التفاعلات تتطلب ان يكون ال pH قيمة يتم التحكم بها بدقة

الاهميتها الفسلجية للمحالييل المنظمة (البفرات):

1. تلعب المحالييل البفريه دورا هاما في جسم النبات حيث تحافظ على قيمة ال pH اللازمة

للنشاطات الحيوية للخلايا الحية في حدود ثابتة ومعينه

2. ويوجد في جسم النبات عدد كبير من المحاليل البفريه كالمحاليل الحاويه على الكاربونات او الفوسفات اضافة الى البروتينات ذات التفاعل الامفوتيري والتي بفضلها لا تتغير قيم pH في هذه الخلايا الا في حدود ضيقه لا تؤثر على مجرى النشاط الحيوي للنبات.
3. أن الأنزيمات تحتاج لوسط تكون فيه قيمة pH ثابتة تقريباً لتعمل بنشاط. فان تغيرات ال pH للمحلول فان هذه الانزيمات ستفقد او سيتغير شكلها وربما تفقد وظيفتها الحيوية.
4. تحتوي السوائل الموجودة داخل وخارج الخلية في الكائنات الحية على ازواج الاحماض والقواعد المترادفة لها والتي تسلك سلوك المحاليل المنظمة.
5. معظم التفاعلات الفسيولوجيه الجاربه في الانسجه النباتيه تحدث في اوساط تتصف بأنها تشبه محلول البفر

مقياس درجة الحموضة الأس الهيدروجيني ال pH

يعرف رمز ال- pH باسم الأس الهيدروجيني، أو بدرجة الحموضة، أو بالقوة الهيدروجينية، وهو القياس الذي يحدد ما إذ كان السائل قاعدياً أو حمضياً أو متعادلاً، حيث تعتبر السوائل ذات درجة حموضة عالية في حال كانت أعلى من 7، بينما تعتبر ذات درجة حموضة منخفضة في حال كانت أقل من 7، ولا بدّ من الإشارة إلى إمكانية معرفة درجة حموضة أي محلول من خلال استخدام مؤشر الرقم الهيدروجيني.

فالرقم الهيدروجيني هو القيمة الرياضيّة التي يتمّ احتسابها من خلال معادلة لوغاريتميّة وهي المقياس والمؤشّر على حمضية المادّة أو قاعديتها. ويعرف سورنسون الرقم الهيدروجيني بانه اللوغارتم السالب لتركيز ايون الهيدروجين المولاري اي ان:

$$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$$

والمقاس هنا التركيز الفعال، ولكن للتسهيل يستخدم التركيز المولاري ، ويمكن اشتقاق قيمة ال pH للماء كما يلي:

من معادلة الحاصل الايوني للماء :

$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-]$$

$$\text{Log } K_w = \log [H^+] + \log [OH^-]$$

$$- \log K_w = - \log [H^+] + (- \log [OH^-])$$

ولكن $p = - \log$ - اذا :

$$PK_w = pH + pOH$$

$$pH = pOH = - \log 10^{-7}$$

$$pH = pOH = 7$$

ولهذا فان الماء متعادل واذا كان الوسط حامضيا فان الرقم الهيدروجيني سيقبل عن 7 ، اما اذا كان الوسط قاعديا فان الرقم الهيدروجيني سيزداد عن 7.

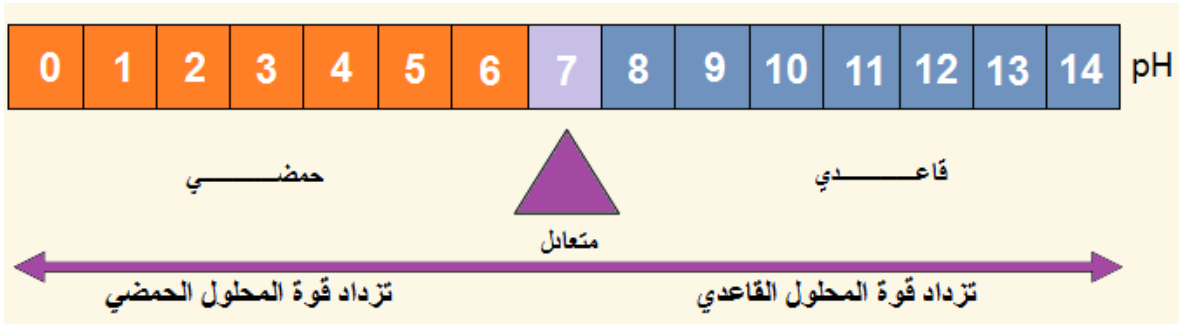
وهناك ثلاث حالات بالنسبة لقيمة الرقم الهيدروجيني ال pH وتشمل

1- الماء المقطر فتبلغ قيمة pH لها (7)، أي أنه يُعتبر متعادلاً وفق هذا المقياس لأن تركيز

أيونات OH^- مساوٍ لتركيز أيونات H^+

2- المحاليل القاعدية تمتلك قيمة pH أكبر من (7)، وكلما زادت قيمة pH للقاعدة زادت قوتها.

3- فالمحاليل الحمضية تمتلك قيمة pH أقل من (7)، وكلما قلت قيمة pH للحمض زادت قوتها



درجة الحموضة مقياس مدرج من 0 إلى 14 ويُعبّر عن تركيز أيونات H^+ وأيونات OH^- في المحلول

تعتمد قيمة pH للمحلول على تركيز كل من أيون الهيدروجين الموجب H^+ وأيون الهيدروكسيد السالب OH^-		
المحلول القاعدي	المحلول المتعادل	المحلول الحامضي
يكون تركيز الـ $OH^- > H^+$ وقيمة الـ pH اكبر من 7	يكون تركيز الـ $H^+ = OH^-$ وقيمة الـ pH يساوي 7	يكون تركيز الـ $H^+ > OH^-$ وقيمة الـ pH اقل من 7

قياس درجة الحموضة

تقاس درجة الحموضة الـ pH لجميع المحاليل بواسطة:

1. الكاشف العام : كاشف يتغير لونه تدريجياً، بتغير قيمة الرقم الهيدروجيني للمحلول
2. الـ pH meter : وهو جهاز قياس الرقم الهيدروجيني وهو أكثر دقة من الكاشف العام.



pH meter



الكاشف العام

معايرة الاحماض والقواعد (ضبط تركيز الـ pH لمادة كيميائية) باستخدام الـ pH meter

1. في حالة وجود محلول يحتوي حموضة pH معينة وارادنا ان نزيد تركيز الـ pH نقوم باضافة قاعدة ضعيفة مثلا اضافة قطرات من قاعدة ضعيفة مثل 0.1 N من NaOH ثم يقاس المحلول بواسطة الـ pH meter لحين الحصول على قيمة الـ pH المطلوبة
2. اما اذا اردنا تقليل الـ pH لهذا المحلول فأننا نضيف قطرات من حامض ضعيف مثل 0.1 N من HCl ثم يقاس المحلول بواسطة الـ pH meter لحين الحصول على قيمة الـ pH المطلوبة

معايرة الاحماض والقواعد (ضبط تركيز ال pH لمادة كيميائية) باستخدام الزجاج او قطب الأنتيمون

معايرة الاحماض والقواعد ، باستخدام قطب الزجاج او قطب الأنتيمون وتسمى ايضا معايرات ال pH ففي هذا النوع يتم تتبع التغير في تركيز ايونات الهيدروجين. والتغير في درجة الحموضة pH يمكن تتبعه باستخدام قطب الهيدروجين الزجاجي مدمج معه القطب المرجع مثل قطب الكالوميل حيث يمكن معايرة الاحماض القوية والضعيفة بمحلول قاعدي قياسي في المحاليل المائية ، وكذلك يمكن معايرة القواعد بمحاليل احماض قياسية حيث يمكن قياس ال pH بعد كل اضافة من السحاحة ثم يتم رسم ال pH كمحور صادي مع الحجم المضاق من السحاحة كمحور سيني ويرسم المنحني ومن النقطة التي يغير فيها المنحني اتجاهه وتقع في منتصف الجزء الحاد نستطيع تعيين نقطة النهاية ومن ثم تعيين تركيز المحلول المراد تحليله.

تجارب في الأسموزية والانتشار

الأسموزية Osmosis

هي نوع خاص من الإنتشار ذو علاقة بحركة الماء خلال غشاء شبه نفاذ .

ان الخلية محاطة بجدار سيلوزي منفذ لاغلب انواع المحاليل الغروية في الخلية النباتية فجوة عصارية او اكثر بمحاليل نشطة اسموزيا (املاح وسكريات) ويحاط بروتوبلازم الخلية بغشائين بلازميين احدهما مبطن للفجوة العصارية يسمى غشاء الفجوة Vacuolar membrane والآخر مبطن لجدار الخلية يسمى Plasma membrane وهي اغشية ذات نفاذية انتخائية مشابهة في سلوكها الى اغشية نصف ناضجة الصناعية. لذلك ممكن اعتبار الخلية النباتية كنظام اسموزي Osmotic system ففي النظام الاسموزي ينتقل الماء من المحاليل ذات التركيز المنخفض للمذاب الى المحلول الاكثر تركيز فاذا كان تركيز العصير الخلوي اقل من تركيز المحلول خارج الخلية فان الاسموزية تنعكس في هذه الحالة أي ان

الماء ينتقل من فجوة العصارية الى الخارج خلال الاغشية البلازمية ونتيجة لذلك فان الخلايا تنكمش عن حجمها الاصلي وايضا ينكمش الساييتوبلازم عن صورته الاصلية وتسمى هذه الظاهرة بالبلزمة Plasmolysis وان البلزمة نوعان: بلزمة الدائمة Permanent plasmolysis وبلزمة مؤقتة Temporary plasmolysis (وقد ذكرت بالجزء النظري)

مثال 1/ لتجربة ظاهرة الاسموزية المواد اللازمة للتجربة وهي : ماء مقطر ، ملح الطعام ،درنات البطاطا ، ملح الطعام ، طبق بتري Petri dish او بيكر او اي صحن يتوفر في المختبر

طريقة العمل:

تقشر احد درنات البطاطا ثم اعمل منها ثلاثة مكعبات متساوية الحجم وعمل حفرة صغيره عل السطح العلوي منه حيث نترك المكعب الاول فارغ ونضع في المكعب الثاني كميته قليله من ملح الطعام وضع في المكعب الثالث كميته اكبر من ملح الطعام. تنقل المكعبات الثلاثة الى ثلاث اطباق بتري حيث

- 1- يوضع المكعب الاول في طبق بتري حاوي على ماء مقطر
- 2- يوضع المكعب الثاني في طبق بتري فارغ
- 3- يوضع المكعب الثالث في طبق بتري يحتوي نصف ارتفاع المكعب تقريبا كميته من الماء المقطر.

ستلاحظ هناك اختلاف في كمية الماء الموجود داخل الحفرة الخاليه والحفرة التي بها قليل ثم كثير (المكعبات الثلاثة على التوالي). ستلاحظ المكعب الفارغ الاول الموضوع في الماء المقطر منتفخا. بينما المكعب الثاني الحاوي على كميته قليله من ملح الطعام ذابلاً. والمكعب الثالث الحاوي على كمية اكبر من ملح الطعام اكثر ذبولاً. وتعليل هذه الظاهرة هي انتقال الماء من المحلول الاقل تركيز الى المحلول الاعلى تركيز وبالتالي حدوث ظاهرة الذبول في البطاطا

مثال 2/ لتجربة ظاهرة الاسموزية المواد اللازمة للتجربة هي : اوراق الحرشفية للبصل ، ماء مقطر ، NaCl

طريقة العمل :

1. انزع الاوراق الحرشفية للبصل وقطعها الى ثلاث اجزاء.
2. ضع جزء في محلول (20% NaCl) والجزء الثاني في محلول (10% NaCl) والجزء الثالث في ماء مقطر لمدة عشر دقائق.
3. افحص تحت المجهر ولاحظ التغيرات في الغشاء البلازمي.

في حالة وضع هذه الخلية في محلول مخفف او ماء فان الماء ينتقل الى داخل الخلية عبر الاغشية العصارية ويعود السايوتوبلازم و الخلية الى شكلها الاصلي وتسمى هذه الحالة الشفاء من البلزمة healing يسمى هذا النوع من المحاليل بمحلول منخفض السموزية Hypotonic Solution اما اذا كان المحلول الخارجي الذي يحيط بالخلية ذات تركيز مساوي لتركيز العصير الخلوي فان هذا المحلول يسمى سوي التركيز Isotonic Solution اما اذا كان تركيز المحلول الخارجي أعلى من تركيز العصير الخلوي فان هذا المحلول يسمى محلول فوق التركيز Hypertonic Solution. وهو المحلول الذي يسبب الاسموزية.

الإدمصاص و التثرب Adsorption & Imbibition

أن جزءاً قليلاً من الماء في أنسجة النبات غير الجاف يكون مُدمصاً لسطوح جدران الخلية وأجزاء الخلية والجزيئات والأيونات. مادة النبات الجافة أيضاً تدمص جزيئات الماء من الأشياء المحيطة بها وهذه عملية بايولوجية مهمة ، كما هي الحال في البذور الموضوعة في التربة ، حيث تدمص الماء بسرعة من الوسط المحيط بها فتخترق جزيئات الماء المساحات الخلوية الداخلية لجدار الخلية وأجزاء الخلية الأخرى وهذا يعود إلى قوى الأدمصاص حيث تؤدي هذه القوى إلى إنتفاخ البذور. إن هذا النوع من الإمتصاص للماء يجهز البذور بالماء الذي تحتاجه بعملياتها الكيميائية الحيوية والتي بدورها تسبب الإنبات Germination .

يمكن إعتبار التشرب نوعاً خاصاً من الأنتشار، حيث إن حركة الماء هي في اتجاه التدرج الأنتشاري ويمكن بواسطتها دخول الماء إلى النبات. فإذا وضعنا مادة نباتية جافة في الماء يحدث إنتفاخ ملحوظ يؤدي في بعض الأحيان إلى زيادة كبيرة في الحجم.

مثال : يتكون ضغط هائل عند وضع عُصي خشبية جافة في شق صغير في صخرة ثم غُمرت بالماء ، يتكون ضغط كافي لتحطيم الصخرة.

الشروط الضرورية للتشرب:

1 -وجود فرق في الجهد المائي بين المادة الشاربة للماء و السائل المتشرب.

2 -وجود ألفة بين مكونات المادة الشاربة للماء والماء المتشرب.

*ليس من الضروري للمادة الشاربة للماء أن تتشرب كل أنواع السوائل. فمثلاً المادة النباتية الجافة المغمورة في الإيثر لا تنتفخ بقدر كبير، إلا أن المطاط شارب جيد للإيثر و ينتفخ بمقدار كبير.

الانتشار Diffusion

يعرف الأنتشار على انه محاولة توزيع دقائق المادة في أحيز الموجودة فيه توزيعاً منتظماً بفعل طاقتها الحركية حيث يصبح عدد الجزيئات في وحدة الحجم ثابت في جميع أنحاء الحيز وتعرف هذه الحالة بحالة الاتزان بالنسبة للمادة المنتشرة فالانتشار يعبر عن حركة الدقائق في اتجاه معين بحيث يحصل ازدياد في عدد الدقائق في ذلك الاتجاه وتكون محصلة الانتشار في منطقة ذات الطاقة الحركية عالية(تركيز عالي) إلى منطقة ذات طاقة الحركية واطئة (تركيز المادة واطئ) ويطلق على القوة المسببة للانتشار kinetic energy فالانتشار صفة من صفات المادة ناشئ عن الطاقة الحركية لدقائقها وهو ينطبق على المادة المذابة في المحلول وعلى المذيب في إن واحد حيث تنتشر المواد بصورة مستقلة عن بعضها البعض بفعل الطاقة الحركية لكل منها.

أهمية الانتشار للنبات

أن النبات يحتاج خلال مراحل نموه المختلفة الى مواد تتمثل بالجزيئات أو العناصر الكيميائية الموجودة في التربة أو الهواء حيث تدخل العناصر إلى النبات على شكل ايونات موجبة اوسالبة او جزيئات بعضها يدخل عن ريق الاجزاء الخضرية وبعضها عن طريق الجذور فمثلا يدخل CO_2 عن طريق الثغور اما الماء والايونات الموجبة والسالبة للمعادن فتنقل من التربة الى النبات عن طريق الجذور ثم تنتقل الى باقي أجزاء النبات حيث تشترك في الفعاليات المختلفة، كذلك فإن النبات يفقد بعض من هذه المواد الى المحيط الخارجي عن طريق بعض العمليات الفسلجية التي تعتمد على مبدأ الانتشار ،مثل فقد الماء من الجزء الخضري على شكل سائل او بخار مائي وطرح ثاني اوكسيد الكربون والاكسجين وكذلك المواد المتطايرة.

طبيعة حركة المواد Kinetic nature of matter

عند درجات الحرارة الأعلى من الصفر المطلق كل مكونات المادة تكون في حركة وهذا يعني أن هذه المواد تحمل مقداراً معيناً من الطاقة وظيفتها الحركة. kinetic energy هذه الحركة هي عشوائية حيث تتحرك الجزيئات أو الذرات في كل الإتجاهات مصطدمة ببعضها في كثير من الأحيان . لو إعتبرنا الهواء الذي نستنشقه وهو بصفة رئيسية خليط من جزيئات النيتروجين ، الأوكسجين و ثاني أوكسيد الكربون ، هذه الجزيئات ذات حركة عشوائية مستمرة وتصطدم ببعضها من حين لآخر. جزيئات النيتروجين أكثر وفرة من جزيئات الأوكسجين، جزيئات CO_2 نادرة للغاية حيث لا يتجاوز تركيزها في هذا الخليط أكثر من 0.03% هذه الأنواع الثلاثة من الجزيئات مختلفة بتجانس في الجو . تنتشر جزيئات العطر بين جزيئات الهواء وتختلط في النهاية بتجانس. عند انتهاء تبخر العطر تنتشت جزيئاته بالكامل بين جزيئات الهواء وتتكون منظومة ديناميكية جديدة. تشمل جزيئات النيتروجين، الأوكسجين، CO_2 والعطر متحركة عشوائياً.

انتشار الغازات Diffusion of gases

مثال : إذا كُسرت قنينة من البرومين تحت ناقوس زجاجي مُفرغ جزئياً من الهواء تملأ جزيئات البرومين في الحال الفضاء الذي تحت الناقوس ، وهذا من السهل مُشاهدته نظراً للون البني المحمر المميز لغاز البرومين ، يختلف الأمر إذا لم يكن الفضاء مفرغاً من الهواء. حيث تؤدي جزيئات الهواء إلى تباطؤ سرعة إنتشار غاز البرومين.

الضغط الانتشاري Diffusion Pressure

أن وزن الغاز (الهواء) فوق سطح الزئبق الموضوع في طبق كافٍ لدفع عمود من الزئبق في انبوبة زجاجية إلى اعلى ليصل إلى ارتفاع 760 ملم.

الانتشار المستقل Independent Diffusion

أن اتجاه انتشار مادة ما يحدده كلية الفروقات في الضغط الانتشاري لتلك المادة ومستقل كلياً عن الضغوط الانتشارية للمواد المحيطة .

مثال : عند نفخ منطاد بغاز النيتروجين ، حيث أن جدران المنطاد المطاطية هي نسبياً غير منفذة للنيتروجين ، النيتروجين المحصور في المنطاد سيكون له ضغط انتشاري أعلى نسبياً. أما CO_2 فعلى النقيض من النيتروجين حيث يمكن أن يمر بسهولة من خلال جدار مطاطي، إذا سُمح للبالون المملوء بالنيتروجين أن يستقر في الهواء ، فإن CO_2 الموجود في الهواء سينتشر في البالون حتى يحدث التعادل. ينتشر CO_2 في المنطاد لأن ضغطه الانتشاري في الهواء أكثر من ضغطه الانتشاري في المنطاد و الذي كان صغيراً. أن انتشار CO_2 إلى الداخل يحدث بالرغم من أن الضغط الانتشاري لغاز النيتروجين المحصور في البالون هو أعلى بكثير من الضغط الانتشاري ل CO_2 في الهواء.

مثال لتجربة الانتشار خلال الاغشية الحية في هذه التجربة نحتاج الى : ماء مقطر ، قطاره ، محلول أحمر متعادل Neutral red أو اي صبغة اخرى متوفره في المختبر ، قطعة من ثمارة البصل ، مجهر ، سلايدات ، ورق نشاف ، طبق بتري Petri dish او بيكر او اي صحن يتوفر في المختبر

طريقة العمل:

ناخذ جزء صغير من البشرة الداخلية لحراشف البصل ثم توضع في الطبق البتري حاوي على محلول احمر متعادل ويترك لمدة عشر دقائق ثم يغسل الجزء الصغير جيدا بواسطة الماء المقطر، وعند فحص هذا الجزء بواسطة المجهر نلاحظ اصطباج الخلايا ثم مقارنة مع قطعة اخرى غير معاملة بالصبغة.

انتشار السوائل

أن معدل انتشار المواد العضوية السائلة مثل الايثر والزايلول والكلوروفورم يعتمد بصفة اساسية على قابليتها للذوبان في الغشاء المائي (وسط الانتشار) التي يفصل بينها ، فكلما كان معدل ذوبان المادة العضوية وأمتزاجها بالماء عالي كلما كان معدل انتشارها كبير والعكس صحيح.

طريقة العمل لتجربة انتشار المواد العضوية

- 1- خذ أنبوتي اختبار نظيفتين وضع في كل منها 5ml من مادة الكلوروفورم.
- 2- اسكب بحذر وهدوء بواسطة ماصة على الجدار الداخلية لكل من الانبوتتين 5ml ماء ملون بصبغة الايوسين تركيز 0.5%.
- 3- اصف بحذر وهدوء الى الانبوبة 5ml من مادة الايثر والى الثاني 5ml من مادة الزايلول. أشر بقلم على موضع الطبقة المائية الملونة من سطحها العلوي والسفلي.

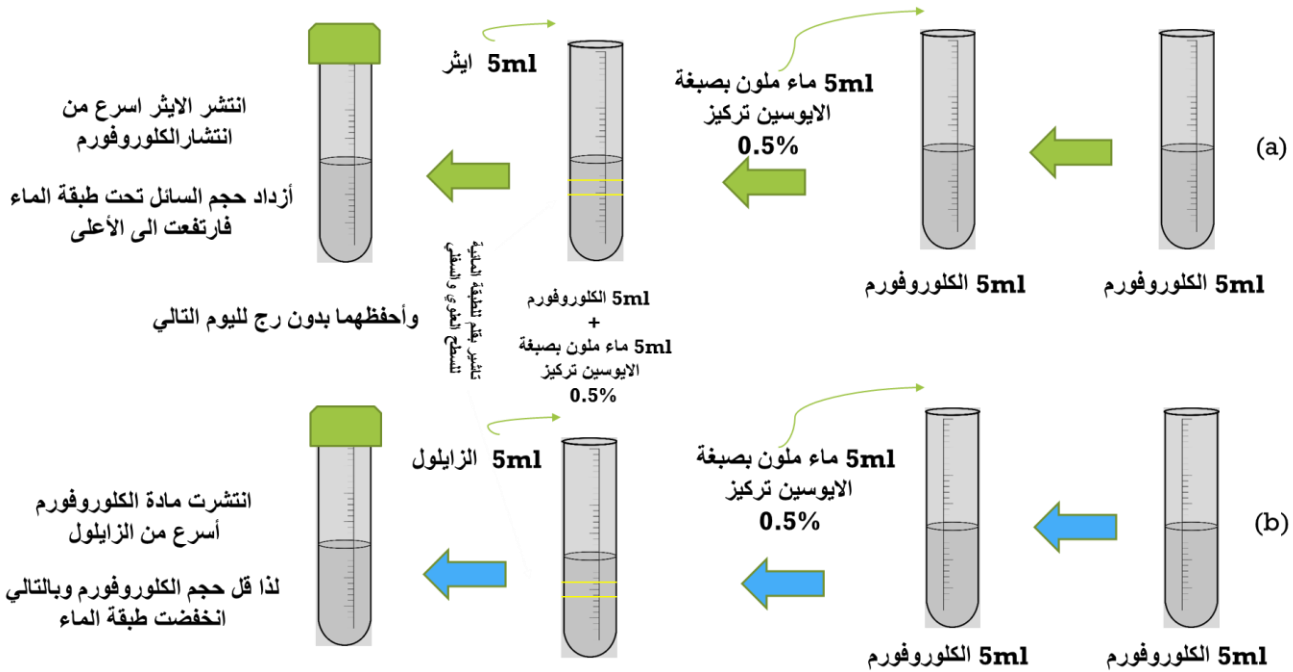
4- سد فوهتي الأنبوبتين بأحكام بسداد من الفلين لمنع تبخر المواد العضوية ، وأحفظهما على حامل بدون رج أليوم التالي.

في اليوم التالي ستلاحظ إن طبقة الماء الملونة في الانبوبة الاولى ارتفعت بينما أنخفضت في الانبوبة الثانية.

ففي الأنبوبة الأولى انتشر الايثر اسرع من انتشار الكلوروفورم لنفس الأنبوبة ، لذا أزداد حجم السائل تحت طبقة الماء فارتفعت الى الأعلى.

في الأنبوبة الثانية فقد انتشرت مادة الكلوروفورم أسرع من الزايول ، لذا قل حجم الكلوروفورم وبالتالي انخفضت طبقة الماء.

يستنتج من هذه التجربة إن الايثر أكثر المواد الثلاثة انتشارا في الماء يليه الكلوروفورم ومن ثم الزايول.



يستنتج من هذه التجربة إن الايثر أكثر المواد الثلاثة انتشارا في الماء يليه الكلوروفورم ومن ثم الزايول.

انتشار المواد الصلبة

يعتمد معدل انتشار المواد الصلبة على قابلية ذوبانها في الوسط الموجودة فيه، فكلما كانت قابلية الذوبان كبيرة كلما كان معدل الانتشار أسرع، كذلك يعتمد على حجم وكتلة الدقائق فكلما كانت الدقائق صغيرة كلما كان معدل انتشارها أسرع.

مثل انتشار بلورات السكر في الماء أو انتشار بلورات برمنكنات البوتاسيوم في الماء.

تجارب في الضغط الاسموزي

تمتلك جميع المحاليل جهد اسموزي يمكن ان يعبر عنه بوحدات الضغط السالبة وتكون قيمة الجهد الاسموزي للماء النقي الذي يساوي صفر.

ويمكن حساب الجهد الاسموزي للخلية تحت ظروف يكون فيها الضغط الانتفاخي يساوي صفر وهذا يتفق في حالة البلزمة. ويمكن اعتماد الحالة التي يكون فيها ما يقارب 50% من الخلايا في حالة بلزمة ابتدائية حيث في هذه الحالة يكون الجهد الاسموزي للخلية مساويا للجهد الاسموزي للمحلول المغمر فيه.

الدور الذي يلعبه الضغط الاسموزي والخاصية الاسموزية في حياة النبات

- 1- امتصاص الماء من التربة بواسطة الشعيرات الجذرية وانتقاله الى باقي اجزاء النبات يتن بالخاصية الاسموزية.
- 2- تعمل الاسموزية على ابقاء الخلايا النباتية في حالة امتلاء والخلية الممتلئة تكسب النبات صلابة وخاصة في الانسجة التي لم يتكون فيها أجهزة دعامية كمناطق النمو في الساق والجذر، تساعد هذه الصلابة الجذر على اختراق التربة وتساعد الساق على الاحتفاظ بقوام، كما ان الخلايا الممتلئة هي وحدها التي لها القدرة على النمو والانقسام والقيام بسائر عمليات التحول الغذائي.
- 3- تعمل الاسموزية على توزيع الماء في جسم النبات، فاذا قل الماء في نسيج نباتي فإنه نظرا لارتفاع ضغطه الاسموزي يسحب الماء من نسيج اخر مجاور له يكون ضغطه الاسموزي منخفض.
- 4- تزيد التراكيز الاسموزية العالية مقاومة النبات لدرجات الحرارة العالية والجفاف بمعنى ان زيادة تراكيز العصير الخلوي من شأنه ان يخفف درجة الحرارة ويقلل من فقد النبات للماء.
- 5- ترتبط عملية فتح وغلق الثغور بالضغط الاسموزي للخلايا الحارسة، فارتفاع الضغط الاسموزي يصاحبه انفتاح الثغور بينما انخفاضه يسبب انغلاقها.

الضغط الأسموزي (O.P.) Osmotic Pressure

يُعرّف بأنه الضغط الأساسي الذي يُسلّط على الخلية من الجهة الخارجية لجدار الخلية.

وبتعريفٍ أدق "هو الضغط اللازم لمنع مرور الماء النقي إلى داخل الخلية (محلول مائي) خلال غشاء شبه نفّاذ (Semipermeable membrane) مانعاً بذلك الزيادة في حجم المحلول. وحديثاً يُستعمل إصطلاح الجهد الاسموزي Osmotic Potential بدلاً من الضغط الأسموزي Osmotic Pressure. بالرغم من أنهما متساويان عددياً فهما يختلفان في الإشارة .

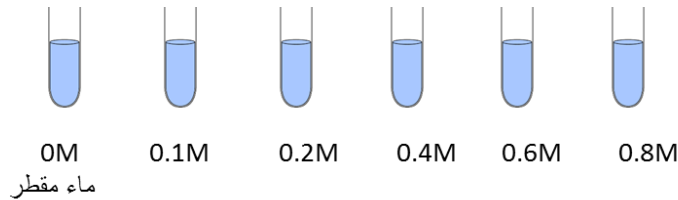
تجربة الضغط الاسموزي باستخدام طريقة العالم Chard-Kov

المواد المطلوبة للتجربة وهي: بيكرات عدد 12 ذات حجم 100 ml ، صبغة الازرق المثلي بتركيز 0.2% ، ثمرة بصل ، سكروز.

طريقة العمل :

1- تحضر محاليل السكروز بالتراكيز التاليه لكل مجموعه وهي (0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 M) حيث يستعمل القوانين في المحاضرة الاولى لتحضير هذه التراكيز المولارية علما ان الوزن الجزيئي للسكروز = 342

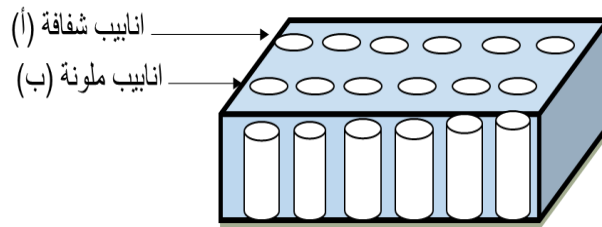
2- استخدام group-2 من الأنابيب لكل مجموعه (كل مجموعه 6 انابيب اختبار) وتشمل :
أ) مجموعة انابيب (أ) 6 تسمى Test الشفافه – ضع 5 ml من المحاليل السكريه المحضره بالطريقه رقم 1 اعلاه في هذه الانابيب. ضع 1 او 2 قطع من البصل متساويه الحجم في كل انبوبة وأتركها لمدة ساعة .



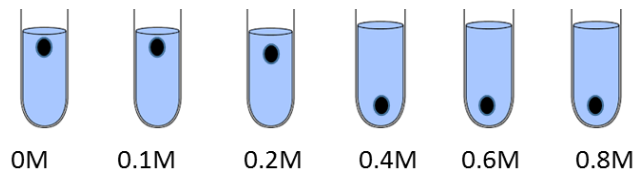
ب) مجموعة الانابيب (ب) 6 تسمى Control ملونه – ضع 5ml من المحاليل السكريه اعلاه في هذه الانابيب وتلون عادة من خلال وضع قطرة واحده من صبغه الازرق

المثيل في كل انبويه وأتركها لمدة ساعه لأستخدامها لاحقا. اذاً كل انبويه فيها 5ml محلول سكري بتركيز معين + قطرة من الصبغة .

3- استخرج قطع البصل من الانابيب (أ) ثم اجري التجربه : خذ من كل انبوية من الانابيب (ب) الملونه قطرة واحده وضعها في الانبويه من الانابيب (أ) الشفافه المساويه لها في التركيز بواسطة ماصه شعريه .

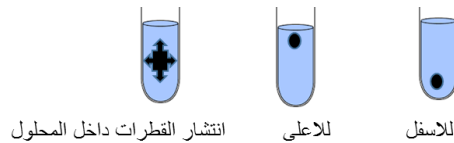


بحيث يكون طرف الماصة الشعريه تحت سطح المحلول بمقدار cm^3 لاحظ تنزل القطره في الانبويه الشفافه Test عموديا



4- لاحظ سلوك القطره وكون جدول

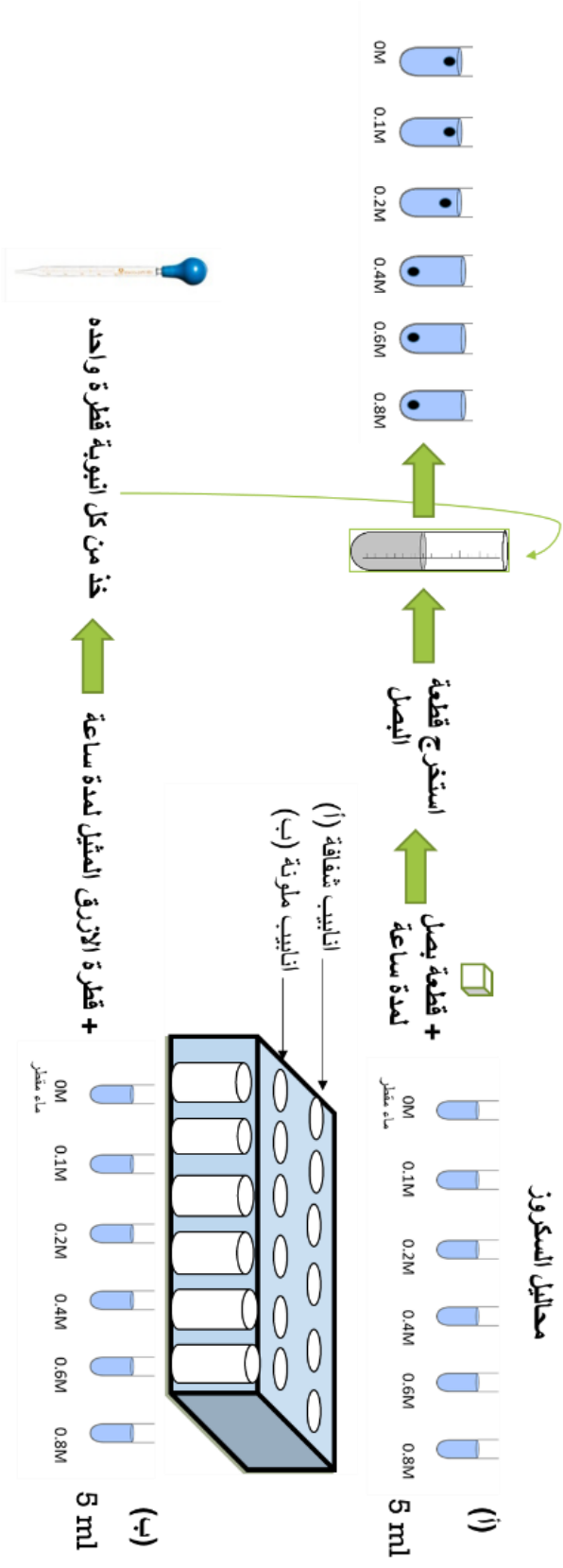
0.8M	0.6M	0.4M	0.2M	0.1M	0M	تركيز المحلول
اسفل	اسفل	اسفل	اعلى	اعلى	انتشار	سلوك القطرة



ولتفسير النتائج

(a) اذا نتشرت القطرة داخل المحلول بهدوء دل ذلك ان كثافة المحلول لم تتغير وان جهد الماء للمحلول = جهد الماء للعصير الخلوي.

- (b) اذا كان اتجاه القطرة الى الاعلى "طافت" على سطح المحلول دل ذلك على ان كثافة المحلول اصبحت اكثر من السابق لان الماء تحرك منه الى داخل الخلايا النباتية.
- (c) اما اذا كان اتجاه القطرة الى الاسفل "غطست" في المحلول دل ذلك ان كثافة الحلول قلت لان الماء قد خرج من الخلايا الى المحلول.



اختبار قدرة الاغشية الحية على التنافذ

النفاذية Permeability

تتميز الخلايا النباتية الحية بأن لها القدرة على التحكم في دخول وخروج المواد المختلفة, والنفاذية الاختيارية selective Permeability للبروتوبلازم تعتبر من مميزات الأغشية البلازمية وليس من خصائص المواد التي تنفذ من خلالها لذلك فإن النفاذية صفة من صفات الأغشية البلازمية وهي تعبر عن قابلية الغشاء على امرار المواد من خلاله وتقسم الأغشية حسب نفاذيتها إلى:

اغشية غير منفذة (غير ناضحة) impermeability membrane

ان هذا النوع من الاغشية لا ينفذ أي من جزيئات الماء (المذيب) او المواد المذابة خلاله مثل اغشية الفلين.

اغشية شبه منفذة (نصف ناضحة) Semi permeability membrane

ان هذا النوع من الاغشية ينفذ الماء (المذيب) بسهولة بينما يتحكم في نفاذ المواد المذابة خلاله مثل غشاء السيلوفين.

أغشية منفذة (ناضحة) Permeability membrane

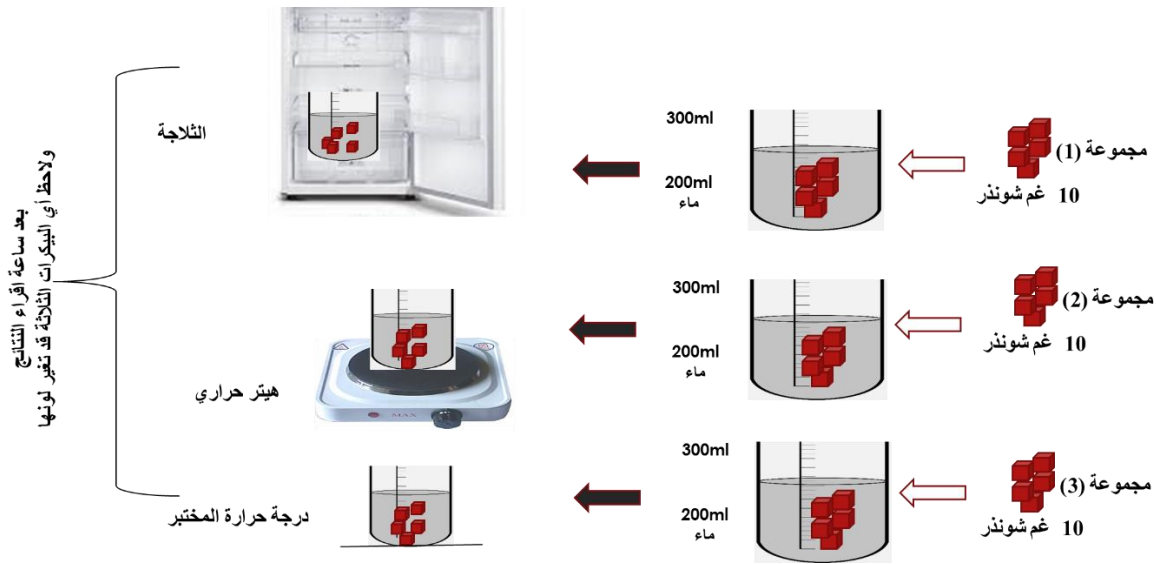
ان هذا النوع من الأغشية يسمح بمرور الماء والمواد المذابة بدون تحكم مثل جدار الخلية. إن نفاذية الجزيئات والدقائق يعتمد بصورة أساسية على حجمها وعلى طاقتها الحركية والتي تعتمد على صفة هامة وهي ذوبان هذه الجزيئات والدقائق في الأغشية نفسها. ان أغشية الخلايا البلازمية تتكون من مواد دهنية ومواد بروتينية وعلى هذا الأساس فالمواد الأكثر نفاذية هي المواد التي تذوب بالدهون.

تأثير درجة الحرارة نفاذية الأغشية البروتوبلازمية

تسبب درجة الحرارة العالية (أكثر من 60 م) تأثير ضار على الغشاء البروتوبلازمي حيث تؤدي إلى تخثر Coagulation للبروتين الداخل في تركيب الغشاء البروتوبلازمي مما يجعله يفقد خاصيته أفسلجية ويفقد وظيفته السيطرة على خروج ودخول المواد من وإلى الخلية، أي تصبح نفاذيته مطلقة في حين أن درجات الحرارة من 70-100 م سوف تعمل على حدوث تمسخ للبروتين Denaturation (أي عملية فقدان التركيب الهيكلي الثنائي والثلاثي للبروتين). إما في درجة الحرارة المنخفضة (صفر مئوي) فإن هذه تؤدي إلى تجمد قطرات الماء الموجودة في الأغشية، الأمر الذي يؤدي إلى زيادة حجم الماء حيث يسبب في تمزق الأغشية، وكنتيجة لذلك تنهار نفاذية هذه الأغشية وتصبح مطلقة. بينما في الدرجات الحرارية الاعتيادية لا تتأثر الأغشية البلازمية وتبقى محتفظة بوظيفتها الفسلجية.

طريقة العمل

- 1- خذ ثلاث مجاميع من قطع الشوندر وأغسلها بماء الحنفية ونظفها كل مجموعة تزن 10 غم.
- 2- ضع كل مجموعة في بيكر سعة 300 مل.
- 3- أضف إلى البيكرات الثلاثة 200 مل من الماء المقطر.
- 4- ضع البيكر الأول في الثلجة، والثاني على هيتز حراري، إما البيكر الثالث فيوضع في درجة حرارة المختبر.
- 5- بعد ساعة من الزمن أقرأ النتائج، ولاحظ أي البيكرات الثلاثة قد تغير لونها، ولماذا.



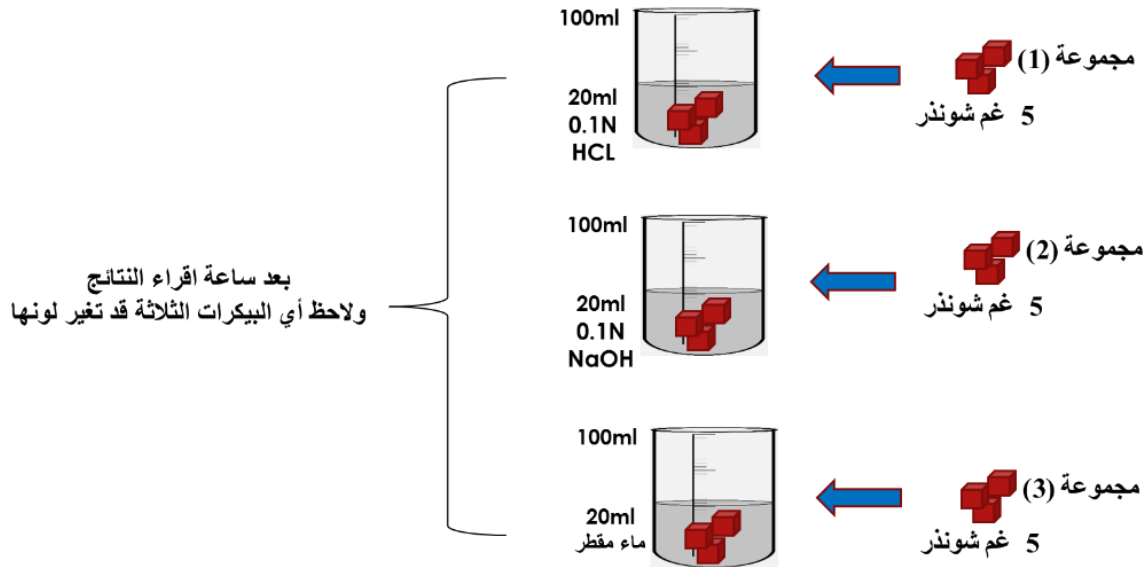
تأثير قيمة الأس الهيدروجيني على نفاذية الأغشية البروتوبلازمية

تحمل دقائق أطوار المادة المعلقة في السايوتوبلازم والمكونة للأغشية الحية شحنات كهربائية تجعلها متنافرة وبذلك تبقى معلقة في الوسط السائل المنتشرة فيه , لذلك تتأثر نفاذية الأغشية البروتوبلازمية تأثير واضح بتغير تركيز الأس الهيدروجيني في المحلول المبلل لجدار الخلية, لأن هذا التغير يؤثر في الحالة الطبيعية لأطوار لمكونات الغشاء مثل البروتينات, أو أنها تعمل على تعادل الشحنات الكهربائية مما يؤدي إلى جعل تلك الدقائق في حالة تكتل أو تجمع وتزداد تبعا لذلك نفاذية الأغشية.

طريقة العمل

- 1- خذ ثلاث مجاميع من قطع الشونذر أو أوراق نبات اليهودي ، أغسلها بماء الحنفية ونظفها كل مجموعة تزن 5 غم.
- 2- ضع كل مجموعة في بيكر سعة 100 مل.
- 3- أضف إلى البيكر الأول 20 مل من حامض HCl تركيز (0.1 N) ، وأضف إلى البيكر الثاني 20 مل من هيدروكسيد الصوديوم (0.1 N) NaOH إما البيكر الثالث فيضاف له 20 مل ماء مقطر.

4- ضع البيكرات على حامل أو ثبتها بدون حركة، ولاحظ بعد 5 ، 10 ، 15 ، 20 ، 30 دقيقة لون السائل في كل بيكر. ثم فسر النتائج.



فصل الصبغات الضوئية بواسطة الكروماتوغرافيا

كروماتوغرافيا (Chromatography): هي كلمة مكونة من مقطعين: كرومو وتعني لون ، وجرافيا وتعني كتابة. وقد سميت بهذا الاسم لاسباب تاريخية حيث كانت تستعمل في البداية لفصل المواد الملون.

نشأت فكرة التحليل الكروماتوغرافي على يد العالم الروسي تسويت سنة 1901م عندما حاول فصل الصبغات النباتية الملونة ، ولهذا أعطاها اسم الكروماتوغرافيا (كلمة chroma باللغة اللاتينية معناها لون) إلا أن هذه الطريقة تتبع الآن هذه الطريقة تتبع بنجاح في فصل جميع المواد غير الملونة من مخاليطها سواء الصلبة أو السائلة أو الغازية.

الكروماتوغرافيا أو الكروماتوغرافيا أو الاستشراب أو التفريق اللوني طريقة لفصل وتنقية المواد الكيميائية المختلفة. تعتمد الطريقة على أن مكونات المخلوط توزع نفسها بنسب مختلفة بين مكوني نظام ثنائي أحدهما متحرك والآخر ثابت. يمكن تصنيف طرق الاستشراب (الكروماتوغرافيا) المختلفة على أساس مكونات النظام الثنائي.

تعتمد الطريقة على أن مكونات المخلوط توزع نفسها بنسب مختلفة بين مكوني نظام ثنائي أحدهما متحرك والآخر ثابت. يمكن تصنيف طرق الكروماتوغرافيا المختلفة على أساس مكونات النظام الثنائي ، فمثلا كروماتوغرافيا الصلب-سائل تستخدم مكونا صلبا كالسيليكا أو الألومينا وأوراق الترشيح ومكونا سائلا متحركا كأبي مذيب كالماء أو المذيبات العضوية. وكروماتوغرافيا الصلب-غاز تستخدم سائلا مدمصا على صلب كمكون ثابت وأحد الغازات كمكون متحرك .

وطرق الفصل التقليدية مثل الترشيح والتقطير والترسيب غالبا ما تستخدم فيها التسخين والأحماض والقلويات، وهذه الطريقة تستغرق كثيرا من الوقت وكثيرا من الكواشف كما أن جزءا كبيرا من المادة يفقد في أثناء هذه. لذا الكروماتوغرافيا طريقة ضرورية جدا لفصل المواد النقية عن المخاليط المعقدة و تستخدم على نطاق واسع في تحليل الأطعمة والأدوية و الدم و المنتجات النفطية و غيرها . حيث ان نظرية الكروماتوغرافيا: نظرية الاحتفاظ

$$R_f = \frac{\text{distance moved by compound}}{\text{distance moved by solvent}}$$

نظرية الأطباق

$$K = \frac{\text{Concentration of solute in stationary phase}}{\text{Concentration of solute in mobile phase}}$$

K is assumed to be independent of concentration, and can change if experimental conditions are changed, for example temperature is increased or decreased. As K increases, it takes longer for solutes to separate. For a column of fixed length and flow, the retention time (t_R) and retention volume (V_R) can be measured and used to calculate K

ومن المعروف اليوم أن هناك تقنيات متعددة تتفرع من تلك التقنيات الأساسية ، إلا أنه يمكن القول بأن تلك التقنيات وتسمياتها تقوم على استخدام الوسط المتحرك كأساس للتسمية ، وذلك كما يلي :

1. كروماتوغرافيا السائل (وفيها يكون الوسط المتحرك سائلاً)
 2. كروماتوغرافيا الغاز (وفيها يكون الوسط المتحرك غازياً)
 3. كروماتوغرافيا السوائل الحرجة (وفيها يكون الوسط المتحرك سائلاً تحت الظروف الحرجة من الضغط ودرجة الحرارة)
- ومن الجدير بالذكر أن هناك تصنيفات أخرى ، مثل كروماتوغرافيا العمود (Column chromatography) ، إذا كانت عملية الفصل تتم داخل عمود يحتوي على الوسط الثابت ، أو الكروماتوغرافيا المسطحة التي يكون فيها الوسط الثابت مثبتاً على سطح مستو من الورق أو الزجاج أو الألمنيوم أو غيره.

الفصل باستخدام الكروماتوغرافي

تكون مكونات العينة المراد فصلها ذائبة بداية في الوسط المتحرك ، الذي يمر من خلال المسامات والأسطح الصلبة للوسط الثابت) كما هو الحال في ال-liquid-solid and gas-solid chromatography) ، أو بالتلامس مع الوسط الثابت المرتبط بالحبيبات الصلبة (solid support)، وفي أثناء ذلك – وحسب طبيعة ال- solutes يحدث نوع من التفاعل الفيزيائي (interaction) ، حيث من الممكن أن يكون التفاعل الفيزيائي بين ال- solutes والوسط الثابت ، يمكن تقسيم الكروماتوغرافي حسب نوع القوى المسؤولة عن الفصل :

1. كروماتوغرافيا الامتزاز (الإدمصاص) Adsorption Chromatography ويقصد به التحليل الكروماتوغرافي عن طريق الإدمصاص على السطح او(الاستشراب الامتزازي) ، والطور الساكن هنا مادة صلبة. وفي هذا النوع تكون القوى المسؤولة عن فصل مكونات الخليط هي قوى الامتزاز . ويحدث بشكل أساسي في حالتها ال- Liquid-solid chromatography (LSC) و ال- Gas-solid chromatography (GSC) حيث تمتز

مكونات الخليط المختلفة بدرجات متفاوتة باستخدام صنف ثابت له خاصية الامتزاز مثل كربونات الكالسيوم أو السيليكاجل silica gel . ففي الاستشراب بالطبقة الرقيقة تنقط عينة من الخليط على مادة السيليكاجل التي تغطي صفيحة زجاجية على شكل طبقة رقيقة، ثم يتصاعد المذيب من المستودع إلى أعلى هذه الطبقة وبعد مروره بموضع العينة فإن مكونات الخليط المختلفة تتحرك خلال طبقة السيليكاجل بمعدلات مختلفة بحيث المكونات الأكثر امتزازا تكون حركتها أبطأ والنتيجة هي فصل النقطة الأصلية إلى مجموعة نقاط كل منها يحتوي على أحد المكونات.

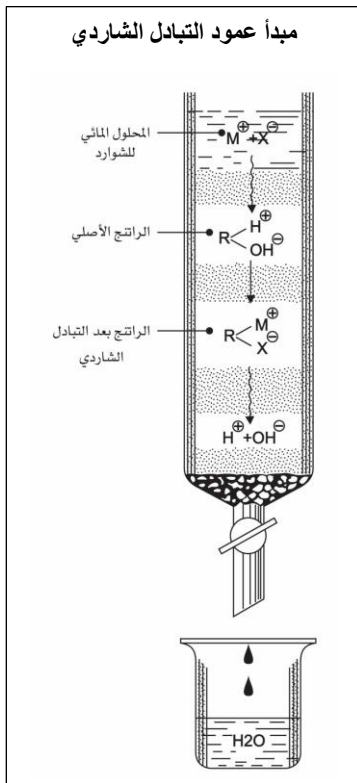
2. كروماتوغرافيا التوزيع Partition Chromatography

ويقصد به التحليل الكروماتوغرافي عن طريق الاختلاف في انحلالية المادة المراد فصلها ما بين الطورين الساكن والمتحرك، ويشترط في الطور الساكن أن يكون سائل مشرب أو مطعم على مادة صلبة. وتحدث في الكروماتوغرافيا التي يكون الوسط الثابت فيها سائلاً (مرتبطاً بالحبيبات الصلبة).

3. كروماتوغرافيا التبادل الأيوني Ion-exchange Chromatography (IEC)

وهو التحليل الكروماتوغرافي عن طريق تبادل الأيونات بين المادة المراد فصلها وبين أيونات السطح الذي يحدث عملية التبادل وهي مادة كيميائية راتنجية ويمثل الطور الساكن . ويحدث في ال IEC.

يرتبط باستشراب التمزز استعمال مبادلات الشوارد (الأيونات) ion - exchangers، وهي مركبات شاردية ضخمة macro-ionic معدنية أحياناً كالألومينات السيلييسومية silico-aluminates (الزيوليت)، وعضوية في الغالب، أي راتنجات حاصلة بتفاعلات التبلمر polymerization أو التكاثف المتعدد polycondensation، ويكون بعضها هابطياً cationic مؤلفاً من نهايات كثيرة COO⁻ أو SO₃⁻ مرتبطة بشوارد H⁺، ويكون بعضها الآخر صاعدياً anionic مؤلفاً من زمرة N⁺R₃ مرتبطة بشوارد OH⁻ فإذا وضعت هذه الراتنجات بتماس



محلول شاردي كانت قادرة على أن تبادله بشواردها H^+ أو OH^- شوارد من الإشارة نفسها (+ أو -) تأتي من المحلول. ويؤدي هذا التبادل.

كما في التمرز، إلى توازن مع المحلول، لذلك يمكن فصل أنواع شاردية عدة وفق تقنية مماثلة لتقنية استشراب الامتزاز كما في الشكل ادناه. وهكذا تفصل الحموض الأمينية الناشئة عن تحلل البروتينات الطبيعية بالماء hydrolysis على راتج مبادل للهوابط cations كما تُفصل مشتقات الحموض النووية على راتج مبادل للصواعد anions وتُنزع الشوارد من المياه الطبيعية باستعمال مبادلات الشوارد التي يمكن تنشيطها من جديد عندما تشبع.

كروماتوغرافيا الغاز Gas Chromatography

تعرف ايضا باسم كروماتوغرافيا السائل الغاز (GLC)، وهو نوع من انواع الكروماتوغرافيا يكون فيه الطور المتحرك غاز ناقل وهذا الغاز عادة ما يكون غاز حامل مثل الهليوم أو النيتروجين أما الطور الثابت فهو طبقة رقيقة من سائل مدعمة على مادة صلبة خاملة. و يكون الطور الثابت داخل انبوب طويل و ضيق يعرف باسم العمود.

كروماتوغراف الغاز هو جهاز تحليلي كيميائي لفصل وتمييز المواد الكيميائية في العينة. يستعمل كروماتوغراف الغاز أنبوب طويل و ضيق يعرف باسم العمود، حيث تحقن العينة بداخله و من ثم تفصل المواد الكيميائية المكونة للعينة بداخله و تنتقل خلاله بسرعات متفاوتة و ذلك اعتمادا على المواد الكيميائية المختلفة و الخصائص الفيزيائية لكل مادة. وأثناء خروج المواد الكيميائية من طرف العمود، فإنها يتم الكشف عنها و تمييزها إلكترونيا. إن وظيفة العمود هي فصل و تركيز مكونات العينة المختلفة من أجل تضخيم الإشارة التي يكشف عنها و تمييزها.

في تحليل كروماتوغرافيا الغاز، فإن حجم معلوم من المادة المحللة الغازية او السائلة يتم حقنه في مدخل العمود باستخدام حاقتة ميكروسكوبية. وعلى الرغم من ان الغاز الحامل ينقل جزيئات المادة المحللة خلال العمود ألا أن هذه الحركة يتم اعاققتها من خلال امتزاز جزيئات

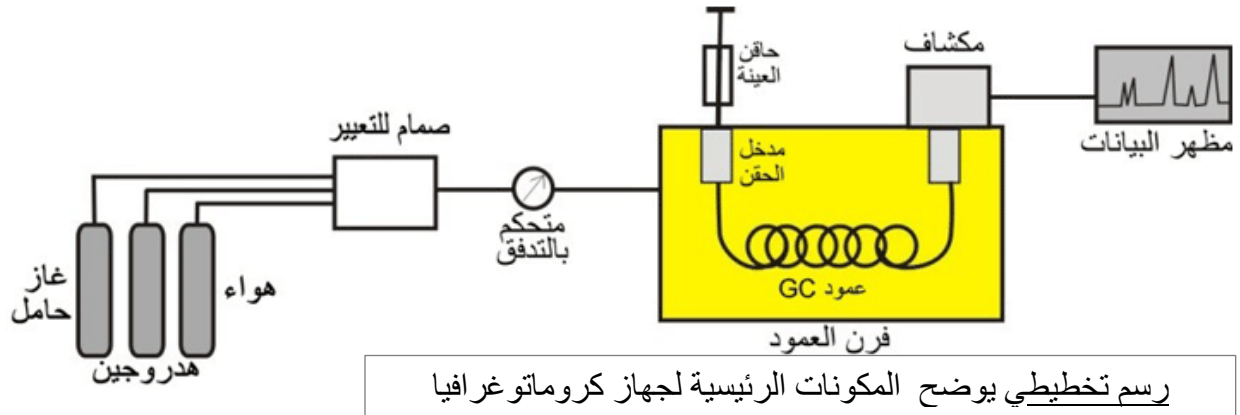
المادة المحللة إما على جدران العمود أو على مواد المعبأة للعمود . ويعتمد معدل انتقال الجزيئات في العمود على مدى قوة الامتزاز و الذي بدرة يعتمد على نوع الجزيء و على نوع المواد المعبأة للعمود . حيث أن لكل مادة معدل انتقال خاص بها فإنه يمكن فصل مكونات العينة كل حسب سرعة انتقاله خلال العمود و بالتالي التفاوت في سرعة وصولها إلى طرف العمود. و يستخدم مكشاف للكشف عن المكونات التي تخرج من العمود فور خروجها و يتم الكشف عنها كل على حدة حسب زمن خروجها من العمود.

يوجد نوعان من الأعمدة تستخدم في كروماتوغرافيا الغاز:

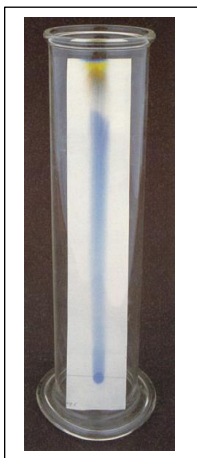
- 1 – الأعمدة المعبأة و هي تحتوي على الطور الساكن أو على الطور الساكن مستندا إلى مادة صلبة داعمة و يبلغ طولها عادة من 1.5 – 10 متر و القطر الداخلي للعمود من 2-4 ملم.
- 2 – الأعمدة الشعرية و يبلغ قطرها الداخلي بضعة اعشار من المليمتر و يبلغ طولها عشرات الامتار و لها كفاءة عالية في فصل المزائج المعقدة . و بما ان زمن الاستبقاء أي الزمن بين حقن العينة و خروجها من العمود و اكتشافها بواسطة المكشاف يعتمد على درجة الحرارة و يتغير بتغيره توجب وضع عمود الفصل في فرن خاص يمكن ضبط درجة حرارته بشكل دقيق . و في كروماتوغرافيا الغاز يستخدم عدد من المكشافات و يمثل المكشاف العين الآلية التي تبصر مكونات العينة أثناء خروجها من عمود الفصل . فمن اشهر المكشافات استخداما هو مكشاف الموصلية الحرارية TCD و الذي يعين التغيرات في الموصلية الحرارية للمادة المتدفقة و الميزة الهامة لهذا المكشاف هو قدرته الفائقة للكشف عن أي مادة ما عدا الغاز الحامل . توجد انواع أخرى من المكشافات و هي مكشاف التأين اللهبى FID و يستخدم للكشف عن أغلب المركبات العضوية و مكشاف الإنلقاط الإلكتروني ECD للكشف عن الهاليدات و النترات و النيترات و البيروكسيدات و الأنهيدريدات و عضويات الفلزات . و يوجد مكشاف آخر يعرف باسم المكشاف الفوتومتري اللهبى FPD و يستخدم للكشف عن الكبريت ، الفوسفور ، القصدير ، البورون ، الزرنيخ ، الجرمانيوم ، السيلينيوم و الكروم . و هناك كمشاف آخر يعرف باسم مكشاف التأين الضوئي PID و يستخدم للكشف عن الهيدروكربونات الأليفاتية

و الأروماتية و الكيتونات ، الأسترات ، الأمينات ، الحلقيات غير المتجانسة ، مركبات الكبريت العضوية و بعض عضويات الفلزات.

تستخدم تقنية كروماتوغرافيا الغاز للكشف عن بقايا المبيدات الحشرية و الهيدروكربونات العطرية عديدة الحلقات و غير ذلك من التطبيقات في المختبرات الجنائية و غيرها .



صورة جهاز متقدم لكروماتوغرافيا الغازات وهو يسجل درجات تركيز acrylonitrile في الهواء ع نقاط في أرجاء المعمل الكيميائي



كروماتوغرافيا الورق Paper chromatography

طريقة لفصل المواد الكيميائية المذابة اعتمادا على خاصيتها للانتشار بسرعات مختلفة خلال قطعة من الورق تستعمل كطور ثابت. و تميز هذه الطريقة برخصها و بدقتها و بموادها البسيطة.

تتطلب هذه الطريقة و ضع نقطة من العينة على ارتفاع تقريبا 1-2 سم من حافة الورقة السفلية و من ثم يتم غمس طرف الورقة في وعاء يحتوي على مذيب مناسب يعمل كطور متحرك . و اثناء حركة المذيب خلال الورقة و انتقاله من أعلى لأسفل فإنه يمر على العينة ، فيحمل مكونات العينة اثناء مسيره في الورقة ، و سرعة تحرك مكونات العينة يعتمد على مدى ذائبيتها في الطورين المتحرك و الثابت . و اعتكادا علة الفرق في الذوبانية بين الطورين فإن العينة تنفصل (أو تتحلل) إلى مكوناتها تظهر على شكل بقع توجد في اماكن مختلفة من الورقة

و من ثم يتم ازالة الورقة من الوعاء و تجفيف الورقة و من ثم معرفة مكونات العينة من خلال حسابات خاصة . و تستخدم كروماتوغرافيا الورق لفصل المخاليك المعقدة للحموض الأمينية و الببتيدات و الكربوهيدرات و البيورينات و بالإضافة إلى قائمة طويلة من المركبات العضوية . كما يمكن فصل العديد من الأيونات العضوية بهذه الطريقة .

أنواع الورق المستخدم في الكروماتوغرافيا الورقية:

1. الأوراق المشبعة بالمحاليل العضوية.

2. أوراق التبادل الأيوني.

3. أوراق كارهة للماء.

4. الأوراق ذات البعدين .

بعض أنواع الأطوار المتحركة المستخدمة في الكروماتوغرافيا الورق

1. كحول البيوتانول المشبع بحامض الهيدروكلوريك.

2. استيل أسيتون المشبع بالماء .

3. حامض الخليك الثلجي الحاوي على (5%) من كحول الميثانول

4. اثيل - مثيل كيتون .

5. كحول الميثانول .

ويستفاد من تقنية كروماتوغرافيا الورق في تشخيص المركبات العضوية فقط , حيث يمكن معرفة قيمة عامل الإعاقة (R_f) للمركبات , ومن ثم مقارنته مع عامل الإعاقة للمركب

القياسي (المعروف الهوية) فإذا تطابق كان المركب مماثل للمركب القياسي أي إن عامل الإعاقة (Rf) هو مقياس لسرعة حركة المكون نسبة إلى جبهة الطور المتحرك . ويتم قياس المسافة اعتباراً من خط الابتدء, أي من مركز البقعة (النموذج الذي على الورقة) أي جبهة الطور المتحرك كما في الشكل.

تجربة الكروماتوغرافي الورقي

المواد والادوات:

ورق كروماتوغرافي (ورق ترشيح مناسب) – مذيب (الايثانول أو كحول ايزوبروبيل (Isopropyl alcohol)- صبغة (بقعة بقلم فلوماستر ملون) أو نقطة حبر أسود و أحمر – قلم رصاص مع مسطرة – سلك لربط الورقة - ماصة.

خطوات العمل:

جهز ورقة الكروماتوغرافي بعرض مناسب (2 سم تقريباً) وبطول ثلثي الأنبوبة ارسم خط البداية بالقلم الرصاص على منتصف الورقة على شكل حرف T كما في الشكل، وضع عليه بقعة ملونة كثيفة و اتركها قليلاً لتجف ثم ضع قطرة ثانية في نفس المكان لزيادة تركيز القطرة على الورقة .

صب المذيب في الأنبوبة بعمق قليل بمسافة حوالي 1 سم اسفل قطرة الصبغ كما في الشكل. ثبت الورقة في سلك (يمكن تثبيت الورقة في ثقب أسفل السدادة بدلاً من السلك) وضعها في الأنبوبة بحيث يكون سطح المذيب أسفل خط البداية.

انتظر حتى يصعد المذيب الى ما قبل نهاية الورقة بحوالي (1) سم.

اخرج الورقة من داخل الأنبوبة وجففها.

ثم قيس المسافة بين نقطة البداية (الخط الاصلي) ومنتصف صعود اللون الاحمر ومنتصف

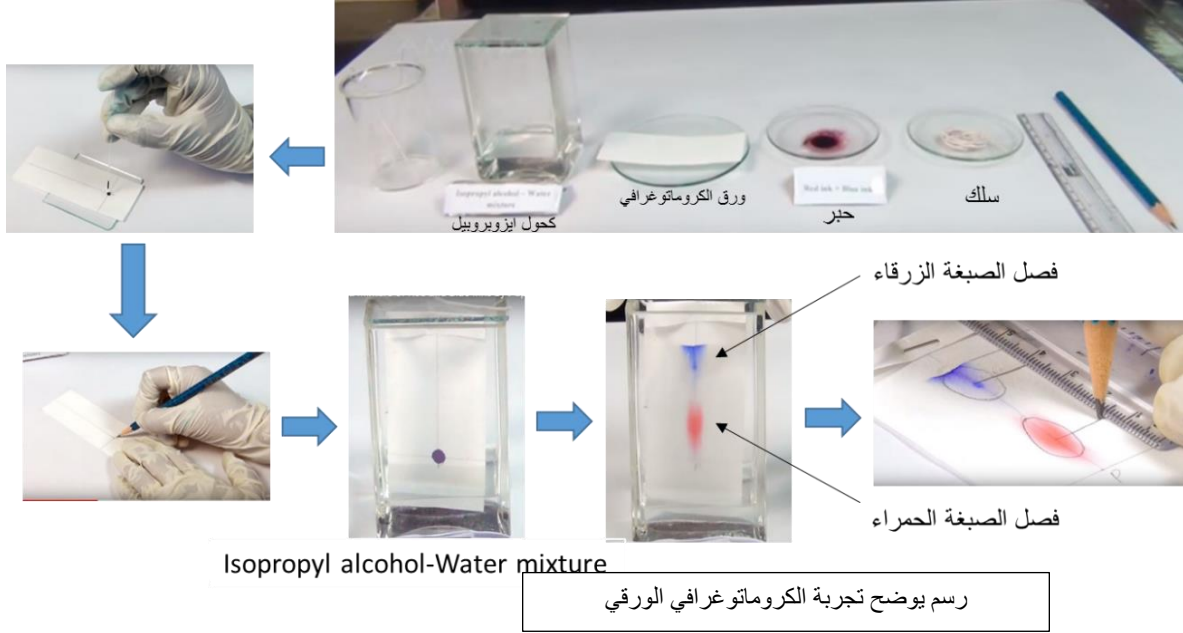
صعود اللون الازرق و اعلى ارتفاع ، يمكن معرفة قيمة عامل الإعاقة (Rf) من خلال

المعادلة التالية :

$$Rf = \frac{\text{Distance travelled by the component from the original line}}{\text{Distance travelled by the solvent from the original line}}$$

ماذا تلاحظ؟.....فصل الصبغات (الالوان)

الاستنتاج: البقعة الملونة مادة مخلوطة ، يستخدم التحليل الكروماتوغرافي في فصل مكونات مخلوط



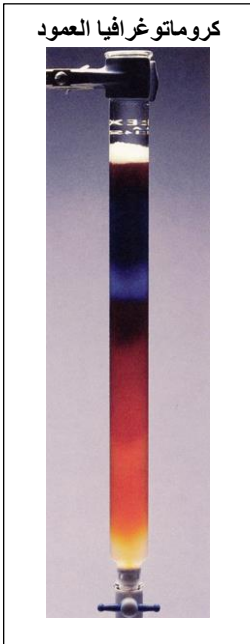
كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin – Layer Chromatography

نوع من أنواع الكروماتوغرافيا يرمز لها بالرمز TLC و هي تقنية تستخدم لعمليات لتحليل الكيمياء ، و في هذه التقنية يأخذ الطور الثابت شكل طبقة رقيقة تغطي شريحة أو لوح زجاجي ، بينما الطور المتحرك يكون على شكل سائل كالإيثانول مثلا . ففي هذه التقنية يتم وضع قطرة أو نقطة من العينة على اللوح الزجاج بمسافة تبعد عن الحافة السفلية للوح الزجاجي تقريبا 3 سم و من ثم يتم تجفيف اللوح و بعد ذلك يوضع اللوح في وعاء يحتوي على مذيب .



و اثناء انتقال المذيب من اسفل لأعلى خلال اللوح الزجاجي عن طريق الخاصية الشعرية ، فإنه يحمل معه العينة و هذه العينة اثناء انتقالها من اسفل لأعلى تتحلل حسب مكوناتها و تكون على شكل بقع ملونة على طول اللوح الزجاجي .

و بعد مرور فترة من الزمن يتم تجفيف اللوح و من ثم يتم تحديد و دراسة هذه البقع ، و من خلال حساب المسافة التي قطعتها البقع مع حساب الزمن يمكن تحديد و معرفة المواد المركبة للعينة .



كروماتوغرافيا العمود Column Chromatography

Chromatography

طريق من طرق التحليل الكروماتوغرافي فيه توضع محلول العينة في عمود مملوء بالسيليكا جل أو هلام السيليكا . وأثناء سير المحلول خلال العمود فإن مكونات العينة تتفاوت في سرعتها في الوصول إلى أسفل العمود و بالتالي يصبح العمود معلما بحلقات أفقية ملونة كل منها يمثل احد مكونات محلول العينة