



תفاعل هيل - القسم العملي

❖ تعليمات عامة حول العمل في المختبر:

- ممنوع امتصاص مواد عن طريق الفم! استخدم الماصة لامتصاص المواد.
- يجب وضع انابيب الاختبار الى الوعاء المائي في نفس المكان دائما حتى يتم تعريضهم لنفس شدة الضوء.
- ترقيم انابيب الاختبار يتم في القسم العلوي منها. ترقيم الانابيب في اجزاء اخرى يشوش نتيجة فحص مدى امتصاص الضوء عند استخدامكم جهاز السبكتروفوتوميتر.
- عليك مسح انابيب الاختبار دائما قبل ادخالهم جهاز السبكتروفوتوميتر. انابيب متسخة تشوش نتيجة فحص مدى امتصاص الضوء.
- عند اضافة مادة معينة الى انبوب الاختبار عليك خلطه: غلفوا فتحة انبوب الاختبار بواسطة ورق البارافيلم ثم قلب الانبوب عدة مرات. لا تحركه بشدة حتى نمع الحصول على رغو.

❖ الادوات المستخدمة في التجربة:

1. وعاء مائي شفاف وبداخله حامل أنابيب اختبار . الوعاء المائي يمنع حدوث تغييرات حادة في درجة الحرارة والتي من الممكن ان تؤدي الى خلل في التجربة. الحرارة المنبعثة من المصباح الكهربائي هي التي من الممكن ان تؤدي الى مثل هذه التغييرات في درجة الحرارة.
 2. مصباح كهربائي. يتم قياس شدة ضوء المصباح بواسطة جهاز الفوتوميتر. يجب المحافظة على بعد ثابت بين المصباح الكهربائي والوعاء المائي طوال فترة التجربة. تحريك المصباح خلال التجربة يؤدي الى تغيير شدة الضوء الواصلة الى الانابيب المختلفة وبذلك يتم الحصول على نتائج خاطئة. في حال تم تحريك المصباح استعن بالمرشد لتحديد شدة الضوء من جديد.
 3. مقياس الضوء الطيفي (سبكتروفوتوميتر) . بواسطته يتم فحص مدى امتصاص المادة الموجودة في انبوب الاختبار للضوء. طول الموجة التي سيفحص بها امتصاص الضوء هو 550 نانوميتر (nm).
- سؤال :** لماذا نستعمل طول الموجة 550 (nm) لفحص شدة امتصاص الضوء؟

في تفاعل هيل الأصلي استعمل روبرت هيل محلول الكلوروبلاستيدات المرسب حيث أضاف اليه مادة Ferric Potassium Oxalate - مستقبل الكترولونات غير موجود بشكل طبيعي في الورقة. تبين بعد ذلك وجود عدد كبير من مستقبلات الكترولونات اصطناعية والتي من الممكن استخدامها في تفاعل هيل. مثال على ذلك هو صبغة DCPIP (2,6dichlorophenolindolphenol) والتي سنستخدمها في تجاربنا لتطبيق تفاعل هيل. لون هذه الصبغة بصورتها المؤكسدة هو ازرق, بينما تكون عديمة اللون بصورتها المختزلة. بالامكان تعقب اختفاء لون ال DCPIP في عينة مضاءة تحوي كلوروبلاستيدات مستخلصة. اختفاء اللون (اختزال ال DCPIP) دليل على حدوث تفاعل هيل. اختفاء اللون يفحص عن طريق استخدام مقياس الضوء الطيفي (سبكتروفوتوميتر) والذي يقيس مدى امتصاص العينة المفحوصة للضوء. يقوم هذا الجهاز بتمرير اشعة ضوء عبر العينة المفحوصة (انبوب اختباري يحوي محلولاً) ويقيس



مدى امتصاص المحلول في العينة للضوء. كلما كان المحلول أكثر تعكراً، يكون مدى امتصاص الضوء أكبر. وحدة القياس للجهاز هي الكثافة الضوئية (Optical density- OD).

❖ تجهيزات مسبقة للتجربة:

- شغل مقياس الضوء الطيفي. اضبط طول الموجة على 550nm . قم بتصفير الجهاز باستخدام أنبوب اختبار يحتوي على معادل STN. (لا تنس تنظيف الأنبوب قبل وضعه في الجهاز).
- حدد البعد بين المصباح الكهربائي والوعاء المائي بحيث تكون شدة الضوء المنبعثة من المصباح 30000 لوكس. استعن بالمرشد لقياس شدة الضوء بواسطة الفوتومتر. (لا تنس المحافظة على بعد ثابت بين المصباح والوعاء المائي طوال فترة التجربة).

❖ مراحل العمل في المختبر:

- تقسم التجارب المختلفة التي ستقومون بها الى اربعة اقسام :
- 1- تجارب لتحديد العوامل المحددة لتفاعل هيل.
 - 2- تأثير تركيز الكلوروبلاستيدات على وتيرة تفاعل هيل.
 - 3- تأثير المعيق DCMU على وتيرة تفاعل هيل .
 - 4- تأثير طول الموجة على وتيرة تفاعل هيل .

أقرأ بتمعن كل الإرشادات. حضر الجداول اللازمة لكتابة النتائج في كل مرحلة من مراحل التجربة .

1. تجارب لتحديد العوامل المحددة لتفاعل هيل:

التجارب في هذا القسم:

1. تفاعل بوجود كلوروبلاستيدات في الضوء.
2. فحص مدى امتصاص العامل المؤكسد DCPIP للضوء.
3. تفاعل بوجود كلوروبلاستيدات في الظلام.
4. تفاعل بوجود كلوروبلاستيدات مسخنة.
5. تفاعل بوجود كلوروبلاستيدات في الضوء بدون العامل المؤكسد DCPIP.

سير التجربة

1. رقم خمسة انايبب اختبار (1-5).
2. ضع في انايبب الاختبار المرقمة المواد المذكورة في الجدول رقم 1 حسب الكميات المذكورة فيه.



جدول رقم 1

رقم انبوب الاختبار	معادل (STN (Buffer (ملل)	مادة DCPIP (ملل)
1	4	1
2	4	1
3	4	1
4	4	1
5	5	---

انبوب الاختبار رقم 1 – تفاعل بوجود كلوروبلاستيدات في الضوء

1. اضع 0.1 ملل من الكلوروبلاستيدات. اخلط الانبوب مستعملا ورق البارافيلم.
 2. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
 3. اضبط الساعة على 4 دقائق. لا تشغيلها بعد.
 4. ادخل الانبوب الى الوعاء المائي.
 5. اشعل المصباح الكهربائي وشغل الساعة في **ان واحد**. انتظر حتى انقضاء الوقت (4 دقائق).
 6. اطفئ المصباح. نشف انبوب الاختبار واخلطه جيدا بواسطة جهاز الدوامة (vortex).
 7. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء مرة ثانية. سجل النتيجة في الجدول.
- انتبه! هل حصل تغيير في النتيجة؟** اذا لم يحدث تغيير عليك اخبار المرشد بذلك.

انبوب الاختبار رقم 2 – فحص التغييرات في مدى امتصاص ال DCPIP للضوء عند تفاعله مع عامل مختزل (صوديوم دي

ثيونيت)

1. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
2. اضع إلى الانبوب عدة حبيبات من مادة الصوديوم دي ثيونيت (مادة مختزلة).
3. اخلط محتوى الأنبوب مستعملا ورق البارافيلم. انتظر دقيقة.
4. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء مرة ثانية. سجل النتيجة في الجدول.

ما هدف هذه التجربة؟

صف وشرح النتيجة التي حصلت عليها:

انبوب الاختبار رقم 3 – تفاعل بوجود كلوروبلاستيدات في الظلام

1. اضع 0.1 ملل من الكلوروبلاستيدات. اخلط الانبوب مستعملا ورق البارافيلم.
2. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
3. اضبط الساعة على 4 دقائق. لا تشغيلها بعد.



4. גלף אניוב الاختبار بورق الومنيوم وادخله الى الوعاء المائي.
 5. اشعل المصباح الكهربائي وشغل الساعة **في ان واحد**. انتظر حتى انقضاء الوقت (4 دقائق).
 6. اطفئ المصباح. قم بازالة ورق الالومنيوم عن الانبوب, نشفه واخلطه جيدا بواسطة جهاز الدوامة (vortex).
 7. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء مرة ثانية.
 8. سجل النتيجة في الجدول.
- صف واشرح النتيجة التي حصلت عليها:

انبوب الاختبار رقم 4 – تفاعل بوجود كلورويلاستيدات مسخنة

1. اضع 0.1 ملل من الكلورويلاستيدات المسخنة (70 درجة مئوية). احصل عليها من المرشد. اخلط الانبوب مستعملا ورق البارافيلم.
 2. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
 3. اضبط الساعة على 4 دقائق. **لا تشغيلها بعد**.
 4. ادخل الانبوب الى الوعاء المائي.
 5. اشعل المصباح الكهربائي وشغل الساعة **في ان واحد**. انتظر حتى انقضاء الوقت (4 دقائق).
 6. اطفئ المصباح. نشف انبوب الاختبار واخلطه جيدا بواسطة جهاز الدوامة (vortex).
 7. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء مرة ثانية.
 8. سجل النتيجة في الجدول.
- صف واشرح النتيجة التي حصلت عليها:

انبوب الاختبار رقم 5 – تفاعل بوجود كلورويلاستيدات في الضوء بدون وجود DCPIP

1. اضع 0.1 ملل من الكلورويلاستيدات. اخلط الانبوب مستعملا ورق البارافيلم.
 2. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
 3. اضبط الساعة على 4 دقائق. **لا تشغيلها بعد**.
 4. ادخل الانبوب الى الوعاء المائي.
 5. اشعل المصباح الكهربائي وشغل الساعة **في ان واحد**. انتظر حتى انقضاء الوقت (4 دقائق).
 6. اطفئ المصباح. نشف انبوب الاختبار واخلطه جيدا بواسطة جهاز الدوامة (vortex).
 7. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء مرة ثانية.
 8. سجل النتيجة في الجدول.
- صف واشرح النتيجة التي حصلت عليها:



ב. تأثير تركيز الكلوروبلاستيدات على وتيرة التفاعل:

في هذه القسم ستستخدمون تركيزين مختلفين من الكلوروبلاستيدات. حتى تتم المقارنة بين التجريتين علينا تخفيض مدى امتصاص الكلوروبلاستيدات للضوء. لذا، سيتم تصفير السبكتروفوتومتر باستخدام المعادل STN الذي يحوي كلوروبلاستيدات.

تجربة رقم 1- 0.1 ملل من الكلوروبلاستيدات

1. رقم انبوب اختباري بالرقم 1.
2. اصف 3.9 ملل من المعادل STN.
3. اصف 0.1 ملل من الكلوروبلاستيدات. اخلط الانبوب باستعمال ورق البارافيلم.
4. صفر جهاز السبكتروفوتومتر باستخدام انبوب رقم 1.
5. اصف 1 ملل DCPIP.
6. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
7. اضبط الساعة على دقيقة. اشعل المصباح الكهربائي والساعة في ان واحد. انتظر حتى انتهاء الوقت.
8. اطفئ المصباح. نشف انبوب الاختبار ثم اخلطه بواسطة جهاز الدوامة (vortex).
9. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
10. اعد نفس المراحل 7-9 اربع مرات. سجل النتائج في الجدول.

تجربة رقم 2- 0.2 ملل من الكلوروبلاستيدات

1. رقم انبوب اختباري بالرقم 2.
2. اصف 3.8 ملل من المعادل STN.
3. اصف 0.2 ملل من الكلوروبلاستيدات. اخلط الانبوب باستعمال ورق البارافيلم.
4. صفر جهاز السبكتروفوتومتر باستخدام انبوب رقم 2.
5. اصف 1 ملل DCPIP.
6. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
7. اضبط الساعة على دقيقة. اشعل المصباح الكهربائي والساعة في ان واحد. انتظر حتى انتهاء الوقت.
8. اطفئ المصباح. نشف انبوب الاختبار ثم اخلطه بواسطة جهاز الدوامة (vortex).
9. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
10. اعد نفس المراحل 7-9 اربع مرات. سجل النتائج في الجدول.

ج. تأثير المعيق DCMU على وتيرة تفاعل هيل:

- احذر: ال DCMU مادة سامة. احذر امتصاصها عن طريق الفم.
- استخدم القفازات قبل البدء بالعمل.



סיר التجربة:

- * قم بتصفير جهاز السبكتروفوتوميتر باستخدام انبوب اختباري يحوي المعادل STN فقط. (تذكر: في القسم ب تم تصفير السبكتروفوتوميتر باستخدام انبوب اختباري يحوي المعادل STN وكلورويلاستيديات).
- * رقم انبوبي اختبار بالارقام 1-2.
- * اضع الى انبوبي الاختبار المواد المذكورة في الجدول رقم 2 :

جدول رقم 2

رقم انبوب الاختبار	المعادل STN (ملل)	DCPIP (ملل)	DCMU (ملل)
1	3.8	1	0.1
2	3.4	1	0.5

انبوب الاختبار رقم 1

1. اضع 0.1 ملل من الكلورويلاستيديات. اخلط الانبوب مستعملا ورق البارافيلم.
2. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
3. اضبط الساعة على دقيقة واحدة. اشعل المصباح الكهربائي وشغل الساعة في ان واحد. انتظر حتى انقضاء الوقت (دقيقة).
4. اطفي المصباح. نشف انبوب الاختبار واخلطه جيدا بواسطة جهاز الدوامة (vortex).
5. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء.
6. كرر المراحل من 3-5 اربع مرات. سجل النتائج في الجدول.

انبوب الاختبار رقم 2

- كرر نفس المراحل المذكورة اعلاه (انبوب رقم 1) من 1-6.
- * الضابط في هذه التجربة هو انبوب اختباري يحوي نفس المواد الموجودة في انبوبي الاختبار 1 و2 باستثناء المعيق DCMU. قمت بتحضير نفس انبوب الاختبار هذا في القسم ب (0.1 ملل من الكلورويلاستيديات).

د. تاثير طول الموجة على وتيرة تفاعل هيل:

على طاولة العمل تجدون الادوات التالية:

- مصباحين كهربائيين ملونين: احمر و اخضر.
- اكياس سيلوفان ملونة: احمر و اخضر.

سیر التجربة:

- * رقم انبوبي اختبار بالارقام 1-2.
- * اضع الى انبوبي الاختبار المواد المذكورة في الجدول رقم 3:



جدول رقم 3

DCPIP (ملل)	معادل STN (ملل)	رقم انبوب الاختبار
1	4	1
1	4	2

ضوء اخضر

1. بدل المصباح الابيض بالمصباح الاخضر. **إحذر: المصباح ساخن جدا، استعمل الورق لتغييره.** حدد البعد بين المصباح الكهربائي والوعاء المائي بحيث تكون شدة الضوء المنبعثة من المصباح 30000 لوكس. استعن بالمرشد لقياس شدة الضوء بواسطة الفوتومتر.
2. اضف للانبوب رقم (1) 0.1 ملل من الكلورويلاستيدات. اخلط الانبوب مستعملا ورق البارافيلم.
3. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء. سجل النتيجة في الجدول.
4. اضبط الساعة على دقيقة واحدة. **لا تشغيلها بعد.** ادخل انبوب الاختبار الى الوعاء المائي.
5. غلف الوعاء المائي باستخدام كيس السيلوفان الاخضر. اهتم بان تكون الجهة المقابلة للمصباح الكهربائي مغلقة **بثلاث طبقات** من كيس السيلوفان.
6. اشعل المصباح الكهربائي وشغل الساعة **في ان واحد.** انتظر حتى انقضاء الوقت (دقيقة).
7. اطفئ المصباح. نشف انبوب الاختبار واخلطه جيدا بواسطة جهاز الدوامة (vortex).
8. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء.
9. كرر المراحل من 6-8 **اربع مرات.** سجل النتائج في الجدول.

ضوء احمر

1. بدل المصباح الابيض بالمصباح الاحمر. **إحذر: المصباح ساخن جدا، استعمل الورق لتغييره.** حدد البعد بين المصباح الكهربائي والوعاء المائي بحيث تكون شدة الضوء المنبعثة من المصباح 30000 لوكس. استعن بالمرشد لقياس شدة الضوء بواسطة الفوتومتر.
2. اضف للانبوب رقم (2) 0.1 ملل من الكلورويلاستيدات. اخلط الانبوب مستعملا ورق البارافيلم.
3. افحص مدى الامتصاص للضوء للانبوب. سجل النتيجة في الجدول.
4. اضبط الساعة على دقيقة واحدة. **لا تشغيلها بعد.** ادخل انبوب الاختبار الى الوعاء المائي.
5. غلف الوعاء المائي باستخدام كيس السيلوفان الاحمر. اهتم بان تكون الجهة المقابلة للمصباح الكهربائي مغلقة **بطبقة واحدة فقط** من كيس السيلوفان.
6. اشعل المصباح الكهربائي وشغل الساعة **في ان واحد.** انتظر حتى انقضاء الوقت (دقيقة).
7. اطفئ المصباح. نشف انبوب الاختبار واخلطه جيدا بواسطة جهاز الدوامة (vortex).
8. افحص مدى امتصاص الانبوب للضوء.



9. كرر المراحل من 6-8 اربع مرات. سجل النتائج في الجدول.
اشرح الفوارق بين النتائج التي حصلت عليها في أنبوبي الاختبار:
