ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԱՓՈՅԱՆ Ս. Հ.

Դեղաբույսերում քլորոֆիլի և կարոտինոիդների քանակական որոշումը էլեկտրոնային կլանման և ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի մեթոդներով

(Ուսումնամեթոդական աշխատանք)

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԱՓՈՅԱՆ Ս. Հ.

Դեղաբույսերում քլորոֆիլի և կարոտինոիդների քանակական որոշումը էլեկտրոնային կլանման և ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի մեթոդներով

(Ուսումնամեթոդական աշխատանք)

Երևան
ԵՊՀ հրատարակչություն
2016

ՀՏԴ 615(07)
ԳՄԴ 52.8g7
Ա 976

Հրատարակության է երաշխավորել
ԵՊՀ դեղագիտության և քիմիայի ֆակուլտետի
գիտական խորհուրդը

Ափոյան Ս. Հ.
Ա 976 **Դեղաբույսերում քլորոֆիլի և կարոտինոիդների քանակական որոշումը էլեկտրոնային կլանման և ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի մեթոդներով:** Ուսումնամեթոդական աշխատանք/Ափոյան Ս. Հ.: -Եր., ԵՊՀ հրատ., 2016, 20 էջ:

Ուսումնամեթոդական աշխատանքում շարադրված են էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի և ֆլուորեսցենտային անալիզի հիմնական դրույթները և ներկայացված են այդ մեթոդների օգնությամբ իրականացվող մի շարք լաբորատոր աշխատանքներ, որոնք վերաբերվում են կենսաբանական համակարգերի ուսումնասիրմանը:

Ներկայացված աշխատանքը նախատեսվում է բակալավրիատի և մագիստրատուրայի լաբորատոր աշխատանքների անցկացման համար:

ՀՏԴ 615(07)
ԳՄԴ 52.8g7

ISBN 978-5-8084-2118-9

© ԵՊՀ հրատ., 2016
© Ափոյան Ս. Հ., 2016

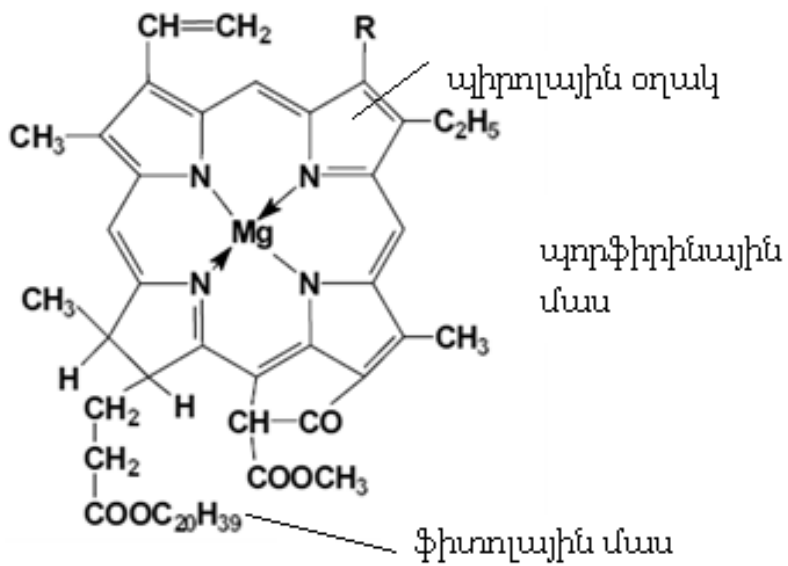
Տեսական մաս

Քլորոֆիլի մոլեկուլի կառուցվածքային առանձնահատկությունը

Կենդանի բջիջներում և հյուսվածքներում գտնվող բազմաթիվ միացություններ կլանում են էլեկտրամագնիսական ճառագայթը սպեկտրի տարբեր մարզերում: Այդ միացությունների թվին են պատկանում գունանյութերը, որոնք տեսանելի մարզում լույսը կլանում են ընտրողաբար: Գունանյութերի լույսը կլանելու հատկությունը պայմանավորված է դրանց մոլեկուլում առկա քրոմոֆոր խմբերով, որոնք կրկնակի կապ ունեցող համակարգեր են: Գունանյութի գույնը պայմանավորված է, թե ինչ ալիքի երկարության ճառագայթ է կլանվում կամ բաց թողնվում: Ֆոտոսինթեզ կատարող բոլոր օրգանիզմներում գտնվող գունանյութերը բաժանվում են երեք խմբի՝ քլորոֆիլներ, ֆիկոբիլիններ (տետրապիրոլային բնույթի գունանյութեր) և կարոտինոիդներ: Քլորոֆիլները և կարոտինոիդները չեն լուծվում ջրում, բայց լուծվում են օրգանական լուծիչներում: Արևի լույսը կլանելու հատկությամբ առաջնային դերը պատկանում է քլորոֆիլին: Քլորոֆիլի կանաչ գույնը պայմանավորված է անդրադարձվող լույսով: Բուսական բջիջներում գոյություն ունեն քլորոֆիլի մի քանի ձևեր: Բարձրակարգ բույսերում քլորոֆիլի երկու ձևերն են ա-ն և բ-ն, ըստ որում քլորոֆիլ ա-ի քանակությունը մոտ երեք անգամ գերազանցում է քլորոֆիլ բ-ի քանակությանը: Բուսական բջիջում գտնվող մնացած գունանյութերը կլանում են այլ ալիքի երկարության լույս և ֆոտոսինթեզի գործընթացում օգնում են բույսին արևի էներգիան ավելի մեծ տիրույթով կլանելու:

Քլորոֆիլի մոլեկուլը բարդ է և հիշեցնում է հեմոգլոբինի մոլեկուլին (նկ.1): Այն կազմված է երկու հիմնական մասից: Մի մասը պորֆիրինն է, որը բաղկացած է 4 պիրոլային օղակներից, որոնց կենտրոնում գտնվում է Mg-ի ատոմը: Mg-ի ատոմը այնպես է միացված պիրոլային օղակներին, որ հեշտությամբ կարող է հանդիսանալ էլեկտրոնի դոնոր կամ ակցեպտոր: Պիրոլային օղակներում գտնվող ազոտի ատոմները երկու

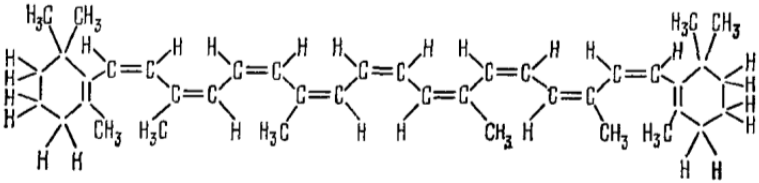
կոորդինացիոն կապերով կապված են մագնեզիումի ատոմի հետ: Քլորոֆիլի մոլեկուլի երկար ածխաջրածնային շղթան, ֆիտոլային մնացորդը, միացված է պորֆիրինային օղակին և ունի լիպոֆիլային հատկություն: Նրա օգնությամբ քլորոֆիլի մոլեկուլը ամրանում է բջջային մեմբրանին: Բացի դրանից քլորոֆիլն ունի մեկ ցիկլոպենտանային օղակ, որը պարունակում է քիմիական բարձր ակտիվությամբ օժտված կետոն խումբ: Այն ոչ միայն մասնակցում է քլորոֆիլի մոլեկուլների ասոցիատների առաջացմանը, այլև ջրի մոլեկուլի և քլորոֆիլի միջև կոմպլեքսի առաջացմանը:



Նկ. 1

Քլորոֆիլ ա-ի և բ-ի կառուցվածքները, R=CH քլորոֆիլ ա, R=COH քլորոֆիլ բ

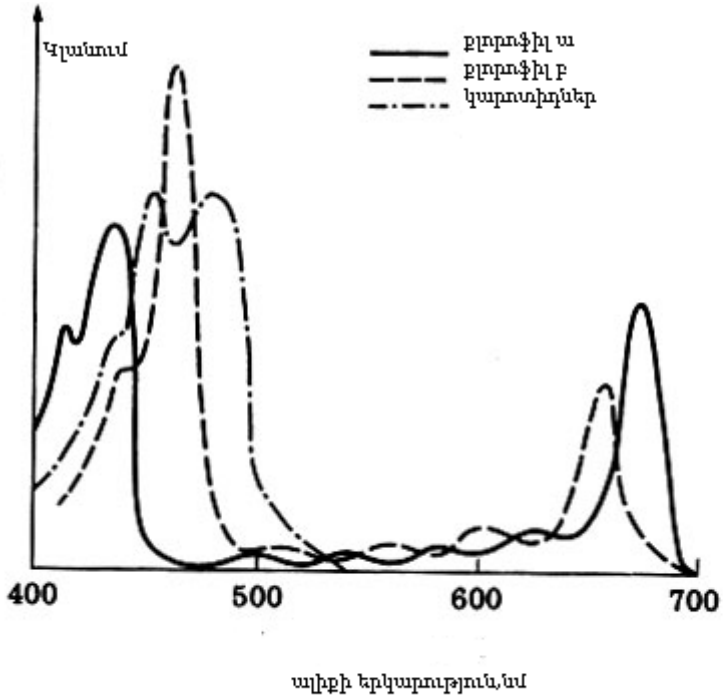
Կարոտինոիդները դեղին նարնջագույն և կարմիր գունանյութերի մեծ խումբ են: Կարոտինոիդների գույնը պայմանավորված է դրանց մոլեկուլում կրկնակի կապերի քանակով ու դիրքով (նկ.2):



Նկ. 2

β- կարոտինի կառուցվածքը:

Քլորոֆիլի մոլեկուլը պարունակում է կրկնակի և միակ կապերի կանոնավոր զուգորդում: Բարձր շարժունությամբ օժտված կրկնակի կապերի զույգված π էլեկտրոնները հեշտ գրգռվում են տեսանելի և մոտիկ ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների ազդեցությամբ: Քլորոֆիլի էլեկտրոնային սպեկտրը բնութագրվում է կլանման երկու մաքսիմումներով՝ 420, 660 նմ քլորոֆիլ ա-ի դեպքում և 435, 643 նմ քլորոֆիլ բ-ի դեպքում (նկ. 3): Կլանման կարճալիքային շերտը կոչվում է Սորեի շերտ և հատուկ է բոլոր տետրապիրոլներին, չնայած կախված մոլեկուլի կառուցվածքից այն կարող է գտնվել տարբեր մարզերում ՝ մոտիկ ուլտրամանուշակագույնից մինչև կապույտ: Կարոտինոիդների էլեկտրոնային սպեկտրը բնութագրվում է կլանման երեք մաքսիմումներով 420-425, 440-450 և 470-480 նմ ալիքի երկարության տակ (նկ 3): Կախված լուծիչի բնույթից նկատվում է կլանման մաքսիմումների տեղաշարժ:



Նկ. 3

Քլորոֆիլի և կարոտինոիդների կլանման էլեկտրոնային սպեկտրները:

Քլորոֆիլի և կարոտինոիդների քանակական պարունակությունը տերևներում կախված է օրգանիզմի կենսագործունեությունից, դրա գենետիկական հատկություններից: Դրա շնորհիվ այն կարող է օգտագործվել որպես ֆիզիոլոգիական ցուցանիշ, որը բնութագրում է բույսերի գենետիկական և տարիքային առանձնահատկությունները: Գունանյութերի քանակությունը հիմնականում պայմանավորված է նաև բուսական օրգանիզմի աճման պայմաններով, այսինքն կարևոր դեր ունեն էկոլոգիական գործոնները:

Քլորոֆիլին հատուկ են նաև այլ օպտիկական երևույթներ, ինչպիսիք են ֆլուորեսցենցիան և ֆոսֆորեսցենցիան: Քլորոֆիլի ֆլուորեսցեն-

ցիան բնութագրում է քլորոֆիլի ֆոտոքիմիական ակտիվությունը: Անկախ ընկնող ճառագայթի ալիքի երկարությունից քլորոֆիլի ֆլուորեսցենտային սպեկտրն ունի մաքսիմում 670 նմ ալիքի երկարության տակ: Քլորոֆիլն ուժեղ ֆլուորեսցենցում է լուծույթում և թույլ՝ բույսի տերևներում: Ֆլուորեսցենցիայի ելքի վրա ազդում է նաև ֆլուորոֆորի մոլեկուլը շրջապատող միջավայրը, այսինքն թե ինչ լուծիչում է գտնվում քլորոֆիլը: Ոչ բևեռային լուծիչներում քլորոֆիլը հիմնականում գտնվում է ասոցիատների ձևով: Ասոցիատների առաջացման մասին վկայում է էլեկտրոնային սպեկտրի շեղումը դեպի երկարալիք մարզը:

Նշված համակարգերի կառուցվածքային առանձնահատկությունները կարելի է ուսումնասիրել էլեկտրոնային կլանման և ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի մեթոդներով:

Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիա

Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիան ուսումնասիրում է էլեկտրամագնիսական ճառագայթների հետ նյութի փոխազդեցությունը՝ ալիքի երկարության որոշակի ինտերվալում: Այն օգտագործվում է մեկ և ավելի թվով բաղադրիչներ պարունակող համակարգերի քանակական որոշման, լուծույթում անցողիկ մետաղների իոնների մասնակցությամբ ընթացող կոմպլեքսագոյացման ուսումնասիրությունների համար: Էլեկտրամագնիսական ճառագայթի կարևոր բնութագրերից են հաճախությունը-ν, ալիքի երկարությունը-λ և ալիքային թիվը υ(υ=1/λ): Ալիքի երկարության և հաճախության միջև եղած կապն արտահայտվում է c=λν հավասարումով, որտեղ c-ն լույսի տարածման արագությունն է վակուումում ($c=2.998\cdot10^8$մ/վրկ): Կախված մոլեկուլում մոլեկուլային օրբիտալների էներգիաներից էլեկտրոնային անցումները տեղի են ունենում ուլտրամանուշակագույն, տեսանելի և մոտիկ ինֆրակարմիր ճառագայթման ազդեցությամբ: Մոլեկուլների էլեկտրոնային սպեկտրներին հիմնականում համապատասխանում են 100 նմ-ից մինչև 1000 նմ ալիքի երկարությունները, որոնք ընդգրկում են $100 \le \lambda \le 400$ նմ –ուլտրամանուշակագույն և $400 \le \lambda \le 800$ նմ -տեսանելի լույսի մարզերը: Երբ

մոլեկուլը հիմնական վիճակից անցնում է գրգռված վիճակի տեղի է ունենում ֆոտոնի կլանում: Այդ անցումը հնարավոր է, եթե մոլեկուլը կլանում է այնքան էներգիա, ինչքան գրգռված և հիմնական մակարդակների էներգիաների տարբերությունն է:

$$\Delta E = E_2 - E_1,$$

որտեղ E_2-ը գրգռված վիճակի էներգիան է, իսկ E_1-ը՝ հիմնական վիճակի:

Ըստ Բորի՝ $\Delta E = h\nu$, որտեղ ν-ն ֆոտոնի հաճախությունն է, իսկ h-Պլանկի հաստատունն է, $h = 6.626 \cdot 10^{-34}$Ջ·վրկ: Էլեկտրամագնիսական ճառագայթման ազդեցությանը ենթարկվելիս մոլեկուլի էներգիան կարող է փոփոխվել ոչ միայն էլեկտրոնային, այլև մոլեկուլի տատանողական և պտտական վիճակների միջև տեղի ունեցող անցումների հետևանքով: Մոլեկուլի էլեկտրոնային, տատանողական և պտտական էներգիաները անկախ են մեկը մյուսից և մոլեկուլի լրիվ էներգիան E-ն կարելի է արտահայտել հետևյալ բանաձևով

$$E_{\text{լրիվ}} = E_{\text{էլ}} + E_{\text{տատ}} + E_{\text{պտտ}},$$

որտեղ $E_{\text{էլ}}$ -էլեկտրոնային, $E_{\text{տատ}}$ -տատանողական և $E_{\text{պտտ}}$ պտտական էներգիաներ են:

Ըստ որում յուրաքանչյուր $E_{\text{էլ}}$-ին համապատասխանում են որոշակի տատանողական մակարդակներ, իսկ յուրաքանչյուր $E_{\text{տատ}}$ –ին որոշակի պտտական մակարդակներ, իրենց դիսկրետ էներգիաներով: Մոլեկուլային սպեկտրոսկոպիայում էլեկտրամագնիսական ճառագայթումն առաջ չի բերում նյութի քիմիական փոխարկում, այլ տեղի է ունենում վալենտական էլեկտրոնների գրգռում մոլեկուլում էլեկտրական լիցքերի վերաբաշխմամբ, որի հետևանքով փոխվում են միջուկների վրա ազդող էլեկտրաստատիկ ուժերը: Արդյունքում երբ մոլեկուլի մեջ փոփոխվում է էլեկտրոնի էներգիան, միաժամանակ փոխվում են նաև տատանողական և պտտական էներգիաները և էլեկտրոնայինի փոխարեն նկատվում են էլեկտրոնա-տատանողա-պտտական անցումներ, որոնց սովորաբար անվանում են էլեկտրոնային:

Նմուշի միջով ճառագայթն անցնելով կլանվում, անդրադարձվում կամ ցրվում է նյութի կողմից և այդ պատճառով դուրս եկող ճառագայթի ինտենսիվությունը փոքրանում է: Լուսային փնջի ընկնող ճառագայթի (I_0) և դուրս եկող ճառագայթի ինտենսիվությունների (I) միջև գոյություն ունեցող քանակական կապը արտահայտվում է Լամբերտ-Բերի օրենքով:

$$\lg (I_0/I) = \varepsilon cl$$

Որտեղ c-ն կլանող նյութի կոնցենտրացիան է արտահայտված մոլ/լ, l-ը կլանող շերտի հաստությունն է արտահայտված սմ-ով, իսկ ε-ը կոչվում է էքստինկցիայի կամ կլանման մոլային գործակից, որի չափողականությունն է լ $մոլ^{-1}սմ^{-1}$: I/I_0 կոչվում է թափանցելիություն և նշանակվում է T, իսկ $\lg (I_0/I)$ կոչվում է օպտիկ խտություն և նշանակվում է D տառով:

$$- \lg T= D= \varepsilon cl$$

Այսինքն լուծույթի օպտիկական խտությունը ուղիղ համեմատական է լուծված նյութի կոնցենտրացիային:

Էլեկտրոնային սպեկտրները անմիջական տեղեկություններ են տալիս մոլեկուլների էլեկտրոնային կառուցվածքի մասին: Սպեկտրների վերլուծությամբ կարելի է որոշել տարբեր մոլեկուլային օրբիտալների էներգիան:

Ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիա

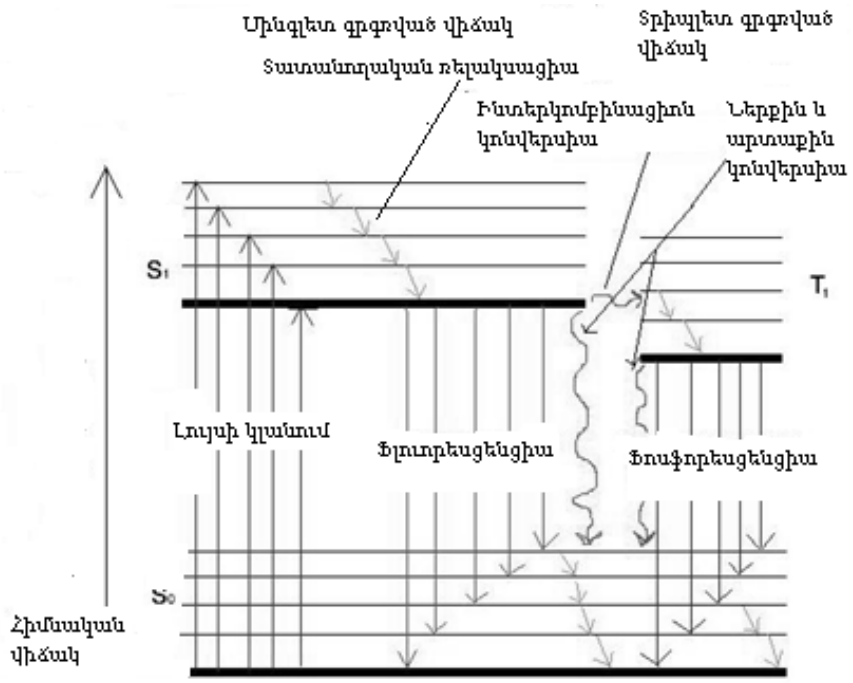
Էլեկտրոնային գրգռված վիճակներից ֆոտոնների առաքման պրոցեսը կոչվում է լյումինեսցենցիա: Ըստ գրգռման աղբյուրի լյումինեսցենցիան բաժանվում է ֆոտոլյումինեսցենցիայի, քեմիլյումինեսցենցիայի և այլն:

Լյումինեսցենցիայի տարատեսակներից ֆոտոլյումինեսցենցիան իր հերթին ընդգրկում է երկու երևույթ՝ ֆլուորեսցենցիա և ֆոսֆորեսցեն-

ցիա: Լույսի կլանման և առաքման պրոցեսները պատկերված են Յաբլոնսկու դիագրամում (նկ. 4):

Նյութերի կառուցվածքային առանձնահատկությունների ուսումնասիրության համար հատկապես կարևոր է ֆլուորեսցենցիան:

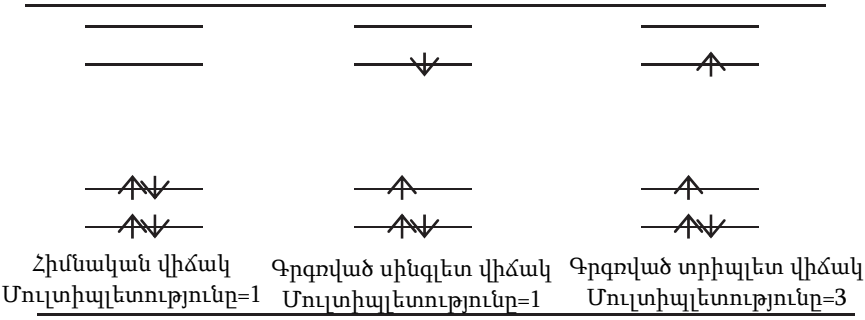
Սինգլետ գրգռված վիճակում բարձր և ցածր էներգետիկ մակարդակներում գտնվող էլեկտրոնների սպինները ունեն հակառակ ուղղվածություն: Այլ կերպ ասած, այդ էլեկտրոնների սպիները զույգված են: Տրիպլետ վիճակում վերջիններս զույգված չեն, այսինքն ունեն միևնույն ուղղությունը: Գրգռված սինգլետ վիճակից հիմնական սինգլետ վիճակի անցնելիս էլեկտրոնի սպինի փոփոխություն չպետք է տեղի ունենա, ինչը սակայն տեղի ունի տրիպլետ վիճակից հիմնական սինգլետ վիճակի անցնելիս:



Նկ. 4

Յաբլոնսկու դիագրամը:

Ֆլուորեսցենցիան ֆոտոնների այնպիսի առաքումն է, որի դեպքում էլեկտրոնների սպինների փոփոխություն տեղի չի ունենում: Իսկ ֆոսֆորոցենցիան այն առաքումն է, որը տեղի է ունենում տարբեր մուլտիպլետության վիճակների միջև անցումների ժամանակ (հիմնականում՝ գրգռված տրիպլետից հիմնական սինգլետ վիճակի անցնելիս):



Նկ. 5

Սպինների կոնֆիգուրացիաները հիմնական և գրգռված վիճակներում:

Ֆլուորեսցենցիան նույն մուլտիպլետությունը ունեցող վիճակների միջև ճառագայթային անցումն է և թույլատրելի է ըստ սպինի (նկ. 4): Դա շատ արագ պրոցես է, իսկ առաքման ժամանակամիջոցը 10^{-9}-ից 10^{-6} վրկ կարգի է: Շատ բազմատոմ մոլեկուլների մոտ նկատվող ֆլյուրեսցենցիան պայմանավորված է $S_1 \rightarrow S_0$ անցումով:

Էներգիայի առաքումով պայմանավորված սպեկտրները կոչվում են ֆլուորեսցենտային սպեկտրներ: Այն ճառագայթվող լույսի ինտենսիվության կախվածությունն է ալիքի երկարությունից:

Ֆլուորեսցենցիայի երևույթն առնչվում է մի շարք ընդհանուր կանոնների հետ:

1. Գրգռման ալիքի երկարությունը չի ազդում առաքման ազդանշանի վրա (Կաշայի կանոն): Գրգռումից հետո տեղի է ունենում արագ ապագրգռում մինչև S_1 մակարդակը, որի պատճառով էլ առաքման ազդանշանը և քվանտային ելքը անկախ են գրգռման ալիքի երկարությունից:

2. Որպես կանոն, ֆլուորեսցենտային առաքման սպեկտրը էլեկտրոնային կլանման սպեկտրի հայելային անդրադարձումն է (հայելային պատկերի կանոն): Այս երևույթը կապված է Ֆրանկ-Կոնդոնի սկզբունքի հետ, համաձայն որի էլեկտրոնային անցումների ժամանակ միջուկների տեղաշարժ տեղի չի ունենում և այդպիսի անցումները Յաբլոնսկու դիագրամում պատկերվում են ուղղահայաց գծերով: Սա նշանակում է, որ ֆլուորոֆորի գրգռված վիճակում տատանողական մակարդակները նման են հիմնական վիճակի տատանողական մակարդակներին:
3. Ֆլուորոֆորի գրգռումը որպես կանոն տեղի է ունենում մինչև S_1 կամ S_2 որոշակի տատանողական մակարդակ, որից հետո տեղի է ունենում արագ ապագրգռում մինչև S_1 ավելի ցածր տատանողական մակարդակ: Այս պրոցեսը կոչվում է ներքին կոնվերսիա, որը տեղի է ունենում 10^{-12} վրկ-ի ընթացքում:

Ֆլուորեսցենց սպեկտրոսկոպիան մեծ նշանակություն ունի կենսաբանական համակարգերի ուսումնասիրման համար: Դա հիմնված է այն հանգամանքի վրա, որ կենսամոլեկուլներում տեղի ունեցող պրոցեսները անմիջական դրսևորում են ունենում ֆլուորեսցենտային սպեկտրներում:

Լաբորատոր աշխատանքներ

Փորձնական մաս

Քլորոֆիլի և կարոտինոիդների անջատումը

Վերցնել եղինջի, երիցուկի կամ այլ չոր դեղաբույսի տերևներ, կշռել 0.3-0.5 գ և հախճապակե հավանգի մեջ մանրացնել: Ավելացնել 10 մլ 96 %- անոց էթանոլ, թողնել 5-10 րոպե, ստացված կանաչ լուծույթը ֆիլտրել: Ֆիլտրելուց հետո ավելացնել ևս 20 մլ 96%- անոց էթանոլ, թողնել 5 րոպե, ֆիլտրել և ավելացնել նախորդ լուծույթին: Եթե դեղաբույսերը թարմ են, ապա վերցնել հավասար մակերեսներով 1գ կտրտած տերևներ և կատարել նույն գործողությունը: Նման ձևով պատրաստել լուծույթ ացետոնում:

Քլորոֆիլի և կարոտինոիդների քանակական որոշումը դեղաբույսերում էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի մեթոդով

Աշխատանք 1

Աշխատանքի նպատակն է որոշել քլորոֆիլ ա–ի, քլորոֆիլ բ-ի և կարոտինոիդների քանակները դեղաբույսերում (եզան լեզու, եղինջ, երիցուկ և այլն): Վերևում նկարագրված եղանակով ստանալ դեղաբույսերի էքստրակտները էթանոլում: Ստացված էքստրակտները նոսրացել 2-4 անգամ: Լուծույթը լցնել 1սմ կվարցե կյուվետի մեջ և գրանցել դրանց կլանման սպեկտրները Specord 50 սպեկտրոֆոտոմետրի միջոցով λ=200-1000 նմ միջակայքում: Քանի որ Specord 50 սպեկտրոֆոտոմետրը մեկ ճառագայթային է, դրա համար մինչև լուծույթի գրանցումն անհրաժեշտ է նույն կյուվետում գրանցել 96%-անոց էթանոլի կլանման սպեկտրը: Քլորոֆիլի էթանոլային լուծույթների էլեկտրոնային կլանման սպեկտրներից հանելով էթանոլի սպեկտրը որոշել 470; 648 և 664 ալիքի

երկարություններին համապատասխանող օպտիկ խտությունների արժեքները և տեղադրելով գրականությունից հայտնի հետևյալ բանաձևերի մեջ, որոշել քլորոֆիլի և կարոտինոիդների քանակները:

$C(ա) = 13.36D_{664} - 5.19\ D_{648}$ (1)

$C(բ) = 27.43D_{648} - 8.12\ D_{664}$ (2)

$C(կ) = (1000D_{470} - 2.13\ Cա - 97.64\ Cբ)/209$ (3)

Որտեղ C(ա)-ն, C(բ)-ն և C(կ)-ն քլորոֆիլ ա-ի, բ-ի և կարոտինոիդների կոնցենտրացիաներն են մգմլ$^{-1}$- ով արտահայտված: D-ն տվյալ ալիքի երկարությանը համապատասխանող օպտիկ խտության արժեքն է: Ստացված արդյունքները գրանցել աղյուսակում:

Դեղաբույսեր	**Օպտիկ խտություն D**			**Պիգմենտի քանակությունը (մգ մլ$^{-1}$)**				**C-ընդհանուր**
	D_{663}	D_{646}	D_{470}	$C_{քլ.\ ա}$	$C_{քլ.\ բ}$	$C_{կար}$	$C_{քլ.\ ա}/C_{քլ.\ բ}$	$C_{ընդհանուր}$
Դեղաբույս								

Եթե քլ ա-ի հարաբերությունը քլ բ-ին տատանվում է 3.3-4.2 –ի միջակայքում, ապա դա նշանակում է, որ դեղաբույսերն աճել են նորմալ պայմաններում առանց ստրեսի և կարելի է օգտագործել որպես դեղաբույս:

Աշխատանք 2

Նման ձևով ստանալ ացետոնում քլորոֆիլի էքստրակտը և գրանցել քլորոֆիլի կլանման սպեկտրները: Համեմատականության կյուվետը պետք է լցված լինի ացետոնով: Լուծույթների սպեկտրներից հանելով ացետոնի սպեկտրը որոշել 470; 644 և 661 ալիքի երկարություններին համապատասխանող օպտիկ խտությունների արժեքները և տեղադրելով հետևյալ բանաձևերի մեջ որոշել տարբեր տիպի քլորոֆիլների և կարոտինոիդների քանակները ացետոնում:

$C(ա) = 11.24D_{661} - 2.04\ D_{644}$ (4)

$C(բ) = 20.13D_{644} - 4.19\ D_{661}$ (5)

$C(կ) = (1000D_{470} - 1.9\ Cա - 63.14\ Cբ)/214$ (6)

Արդյունքները տեղադրել աղյուսակում:

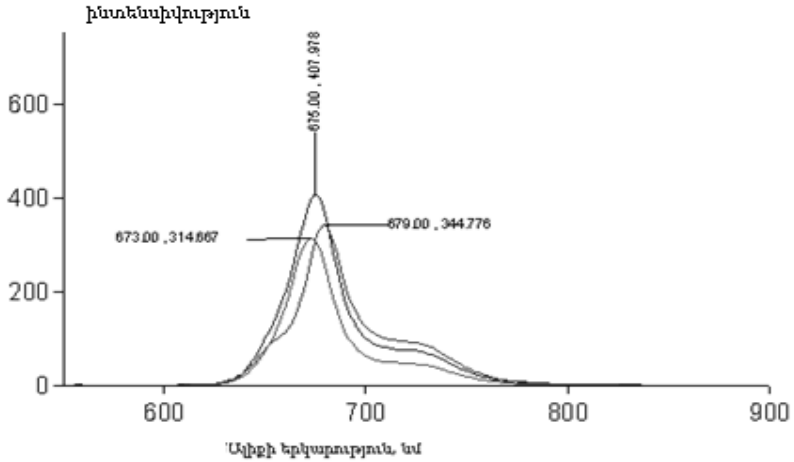
Դեղա-բույսեր	**Օպտիկ խտություն D**			**Պիգմենտի քանակությունը մգ/մլ**				**C- ընդհա-նուր**
	D_{661}	D_{644}	D_{470}	$C_{քլ.\ ա}$	$C_{Քլ.\ բ}$	$C_{կար}$	$C_{քլ.\ ա}/C_{քլ.\ բ}$	$C_{ընդհանուր}$
Դեղա-բույս								

Համեմատել էթանոլում և ացետոնում $C_{քլ.\ ա}/C_{քլ.բ}$:

Քլորոֆիլի և կարոտինոիդների լուծույթների ուսումնասիրությունը ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի մեթոդով

Աշխատանք 3

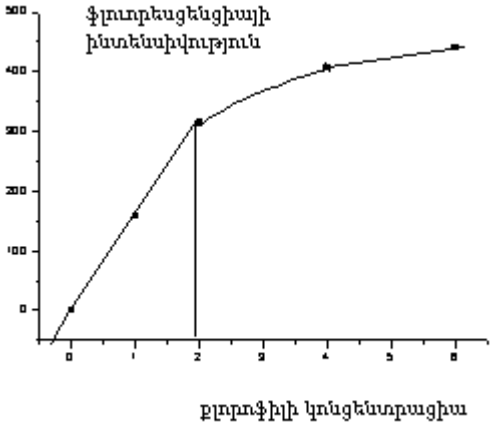
Աշխատանքի նպատակն է որոշել քլորոֆիլի այն կոնցենտրացիան, որի դեպքում սկսվում է քլորոֆիլի և դրա ածանցյալների ասոցիատների առաջացումը: Գրանցել պատրաստված լուծույթների (ացետոնում և էթանոլում) ֆլուորեսցենտային առաքման սպեկտրները Cary Eclipse սարքի օգնությամբ և որոշել առաքման մաքսիմումներին համապատասխան ինտենսիվության արժեքները (նկ. 6):



Նկ.6

Քլորոֆիլի ֆլուորեսցենտային սպեկտրը, քլորոֆիլի տարբեր կոնցենտրացիաների դեպքում:

Կառուցել ֆլուորեսցենցիային ինտենսիվության և քլորոֆիլի գումարային (նախորդ աշխատանքի աղյուսակներում C ընդհանուրը) կոնցենտրացիայի կախվածության գրաֆիկը (նկ. 7): Կորի ուղղագծությունից շեղումը այն կոնցենտրացիան է, որից սկսվում է ասոցիատների առաջացումը:



Նկ. 7

Քլորոֆիլի ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվության կախվածությունը քլորոֆիլի կոնցենտրացիայից:

Գրականություն

1. **И. И. Кулаков**, Методы оптической спектроскопии, Москва, 2015, ст. 117.
2. **Շ. Ա. Մարգարյան**, Մոլեկուլային սպեկտրոսկոպիա, Երևանի համալսարանի հրատարակչություն, Երևան, 2003 թ., էջ 177:
3. **М. Я. Мельников, В. Л. Иванов**, Экспериментальные методы химической кинетики, Фотохимия, Издательство Московского университета, 2004, ст. 124.
4. **K Hartmut.** Lichtenthaler and Claus Buschmann. Food Analytical Chemistry, 2001, p. F4.3.1-F4.3.8.
5. **J. R. Albani.** Principles and Applications of Fluorescence Spectroscopy. Blackwell, Publishing, 2007, p 255.

Բովանդակություն

Տեսական մաս
Քլորոֆիլի մոլեկուլի կառուցվածքային առանձնահատկությունը.....3
Էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիա.....7
Ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիա 9

Լաբորատոր աշխատանքներ
Փորձնական մաս
Քլորոֆիլի և կարոտինոիդների անջատումը 13
Քլորոֆիլի և կարոտինոիդների քանակական որոշումը ղեղաբույսերում էլեկտրոնային կլանման սպեկտրոսկոպիայի մեթոդով 13
Քլորոֆիլի և կարոտինոիդների լուծույթների ուսումնասիրությունը ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի մեթոդով 15
Գրականություն.....18

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԱՓՈՅԱՆ ՍՎԵՏԼԱՆԱ ՀԱԿՈԲԻ

Դեղաբույսերում քլորոֆիլի և կարոտինոիդների քանակական որոշումը էլեկտրոնային կլանման և ֆլուորեսցենտային սպեկտրոսկոպիայի մեթոդներով

(Ուսումնամեթոդական աշխատանք)

Համակարգչային ձևավորումը՝ Կ. Չալաբյանի
Հրատ. սրբագրումը՝ Վ. Դերձյանի

Ստորագրված է տպագրության՝ 08.07.2016:
Չափսը՝ 60x84 $^{1}/_{16}$: Տպ. մամուլը՝ 1,25:
Տպաքանակը՝ 100 օրինակ:

ԵՊՀ հրատարակչություն
ք. Երևան, 0025, Ալ. Մանուկյան 1