



חקר פוטוסינתזה במערכת של כלורופלסטים מבודדים

הערות כלליות:

1. בניסוי נשתמש באמבט מים שקוף ובתוכו מעמד למבחנות. אמבט המים מונע שינויי טמפרטורה חדים אשר עלולים לפגום בניסוי. שינויי טמפרטורה עלולים להיווצר בשל חום הנפלט מהמנורה.
2. את עוצמת ההארה של הנורה נבדוק בעזרת מד אור. המנורה חייבת להישאר במרחק קבוע מאמבט המים לכל אורך הניסוי. הזזת המנורה באמצע הניסוי תשנה את עוצמת האור שתגיע למבחנות השונות ותשבש את תוצאות הניסוי. במקרה של הזזת המנורה עליך לקבוע את מיקומה הנכון בעזרת המדריך.
3. יש להעמיד את המבחנה באמבט הניסוי תמיד באותו מקום כדי שכל מבחנות הניסוי, תקבלנה עוצמת הארה זהה.

מערכת הניסוי:

במעבדה זו נבדוק את השפעתם של גורמים שונים על שיעור הפוטוסינתזה בכלורופלסטים מבודדים. למערכת הניסוי נוסף חומר הנקרא DCPIP - שהוא אינדיקטור, כלומר חומר המשנה את צבעו מכחול לשקוף, כאשר בכלורופלסטים מתבצע השלב הראשון של תהליך הפוטוסינתזה. בניסוי, נעקוב אחר העלמות הצבע הכחול של DCPIP בתמיסה בה מצויים כלורופלסטים מבודדים בתנאים שונים. העלמות הצבע היא סימן עבורנו לכך שהתרחשה פוטוסינתזה.

את העלמות הצבע של האינדיקטור נבדוק בעזרת מכשיר הספקטרופוטומטר שמוודד את מידת הבליעה של התמיסה אותה נרצה לבדוק. הספקטרופוטומטר מעביר קרן אור דרך מבחנה מלאה בנוזל ומוודד את מידת בליעת האור על ידי הנוזל שבמבחנה. ככל שהנוזל שבמבחנה כהה יותר כך הבליעה תהייה גבוהה יותר. יחידת הבליעה הינה צפיפות אופטית ונמדדת ביחידות (O.D.) Optical Density.

חלק א': הכנת מערכת הניסוי:

- הדלק את הספקטרופוטומטר, כוון לאורך גל 550 ננומטר
- אפס את הספקטרופוטומטר עם מבחנה המכילה בופר STN.
- סמן שלוש מבחנות במספרים 1,2,3.
- הוסף למבחנות את התמיסות הבאות על פי הטבלה:

אינדיקטור DCPIP (מ"ל)	בופר STN (מ"ל)	מס' מבחנה
1	4	1
1	4	2
--	5	3



מבחנה מספר 1 – תגובה עם כלורופלסטים באור

1. הוסף 0.1 מ"ל של תרחיף כלורופלסטים וערבב.
 2. מדוד את הבליעה. רשום את התוצאה בטבלה המתאימה בסוף חלק א'.
 3. כוון את השעון ל – 4 דקות.
 4. הכנס את המבחנה לאמבט.
 5. הדלק את המנורה והפעל את השעון.
 6. מקץ 4 דקות, כבה את המנורה, נגב את המבחנה וערבב היטב בוורטקס.
 7. מדוד את הבליעה בפעם השנייה ורשום את התוצאה בטבלה המתאימה במחשב.
- שים לב! האם חל שינוי בתוצאה? במידה ולא חל כל שינוי בתוצאה יש לדווח למדריך.**

תאר את התוצאה שהתקבלה והסבר: _____

מבחנה מס' 2 – תגובה בחושך

1. הוסף 0.1 מ"ל של תרחיף כלורופלסטים וערבב.
2. מדוד את הבליעה ורשום את התוצאה בטבלה המתאימה במחשב.
3. כוון את השעון ל – 4 דקות.
4. עטוף את המבחנה בנייר אלומיניום והכנס את המבחנה לאמבט.
5. הדלק את המנורה והפעל את השעון.
6. מקץ 4 דקות, כבה את המנורה, הסר את נייר האלומיניום, נגב את המבחנה וערבב היטב בוורטקס.
7. מדוד את הבליעה בפעם השנייה.
8. רשום את התוצאה בטבלה המתאימה במחשב.

תאר את התוצאה שהתקבלה והסבר: _____

מבחנה מס' 3 – ריאקציה עם כלורופלסטים באור ללא נוכחות אינדיקטור

1. הוסף 0.1 מ"ל של תרחיף כלורופלסטים.
2. מדוד את הבליעה. רשום את התוצאה בטבלה המתאימה במחשב.
3. כוון את השעון ל – 4 דקות.
4. הכנס את המבחנה לאמבט.
5. כוון את שעון העצר ל 4 דקות, הדלק את המנורה והפעל את השעון.



6. מקץ 4 דקות, כבה את המנורה, נגב את המבחנה וערבב היטב בוורטקס.
7. מדוד את הבליעה בפעם השניה.
8. רשום את התוצאה בטבלה המתאימה במחשב.

תאר את התוצאה שהתקבלה והסבר: _____

טבלה לסיכום הנתונים:

השינוי ב OD	בליעה באורך גל 550nm (O.D)		נוכחות אינדיקטור	הטיפול	מס' מבחנה
	4 דקות	זמן 0			
			+	אור	1
			+	חושך	2
			-	אור	3

שאלות:

1. שרטט גרף עמודות המתאר את התוצאות.
2. נסח 3 שאלות מחקר שתוכל לבדוק באמצעות מערכת הניסוי איתה עבדת
3. לאחר סיכום כיתתי של השאלות בצע את הניסוי שבחרת. העזר בפרוטוקול בהמשך.

חלק ב': בדיקת השפעתם של גורמים שונים על קצב ושיעור הפוטוסינתזה:

השפעת הרתחה מוקדמת של הכלורופלסט

השפעת אורך גל

השפעת עוצמת אור

השפעת טמפרטורה

השפעת ריכוז כלורופלסטים



הנחיות עבודה כלליות:

בדיקת השפעת הרתחה מוקדמת של כלורופלסטים / אורך הגל/ עוצמת אור/ טמפרטורה על

שיעור וקצב הפוטוסינתזה.

כתוב את נושא הניסוי:

□ סמן שלוש מבחנות במספרים 1,2,3.

□ הוסף למבחנות את התמיסות הבאות על פי הטבלה:

אינדיקטור DCPIP (מ"ל)	בופר STN (מ"ל)	מס' מבחנה	הטיפול (למילוי ע"י התלמידים)
1	4	1	
1	4	2	
1	4	3	

הנחיות ביצוע כלליות לכל הניסויים:

1. בצע את ההכנות המקדימות לניסוי אותו אתה עורך. היעזר במדריך
2. הכן בעזרת המדריך את המערך המתאים למבחנה מספר 1
3. הוסף 0.1 מ"ל של תרחיף כלורופלסטים למבחנה מספר 1 וערבב.
4. מדוד את הבליעה. רשום את התוצאה בטבלה בהמשך
5. כוון את השעון ל- 1 דקה.
6. הכנס את המבחנה לאמבט.
7. סיים לארגן את מערך הניסוי במידת הצורך
8. הדלק את המנורה והפעל את השעון.
9. מקץ דקה, כבה את המנורה, נגב את המבחנה וערבב היטב בוורטקס.
10. מדוד את הבליעה.
11. חזור על שלבים 8-6 כל דקה, במשך 4 דקות נוספות. את התוצאות רשום בטבלה.
12. הכן את המערך המתאים למבחנה מספר 2
13. חזור על שלבים 10-3 עם מבחנה מספר 2
14. הכן את המערך המתאים למבחנה מספר 3
15. חזור על שלבים 10-3 עם מבחנה מספר 3



בליעה באורך גל 550 nm (O.D)					הטיפול	מס' מבחנה
4	3	2	1	0		
						1
						2
						3

הנחיות לביצוע חלקי הניסוי השונים:

1. לבדיקת השפעת הרתחה מוקדמת של הכלורופלסטים:

1. למבחנה מספר 1 : בצע הניסוי באותו אופן שבוצע בניסוי המקדים
2. למבחנה מספר 2 : השתמש בכלורופלסטים מחוממים במקום בכלורופלסטים רגילים.
3. הכן את מבחנות הניסוי ופעל ע"פ הנחיות ביצוע כלליות
4. למבחנה מספר 3 : בצע חזרה נוספת עם כלורופלסטים מחוממים

2. לבדיקת השפעת אורך גל:

קח מן השולחן בקצה המעבדה מצויים הכלים הבאים :
שתי נורות צבעוניות : אדומה וירוקה ; שני ניירות צלופן צבעוניים : אדום וירוק.
במהלך הניסוי יהיה עליך להחליף את הנורות ולעטוף האמבט בניירות צלופן בצבע המתאים.

בדיקת השפעת אור ירוק:

1. היעזר במדריך להחליף את הנורה הלבנה בירוקה. השתמש בכפפות עבות משום שהנורה חמה מאוד.
2. הכן המבחנות ע"פ הנחיות ביצוע כלליות עד לביצוע מדידת זמן 0
3. כסה את האמבט בשקית ירוקה כך ששלוש שכבות של הנייר מצויות מול הנורה.
4. הצמד את הנורה הירוקה לאמבט, הדלק אותה והפעל את השעון, והמשך ע"פ ההנחיות אור אדום

1. היעזר במדריך להחליף את הנורה הירוקה באדומה. השתמש בכפפות עבות משום שהנורה חמה מאוד.
2. הכן המבחנות ע"פ הנחיות ביצוע כלליות עד לביצוע מדידת זמן 0
3. כסה את האמבט בשקית אדומה כך ששכבה אחת של הנייר מצויה מול הנורה.
4. הצמד את הנורה האדומה לאמבט, הדלק אותה והפעל את השעון.



3. לבדיקת השפעת עוצמת אור:

1. למבחנה מספר 1 : בצע הניסוי באותו אופן שבוצע בניסוי המקדים
2. למבחנה מספר 2 : היעזר במדריך ושנה את מרחק המנורה : קרב אותה למחצית המרחק בו הייתה
3. מדוד את עוצמת האור בעזרת מד אור
4. הכן את מבחנות הניסוי ופעל ע"פ הנחיות ביצוע כלליות
5. למבחנה מספר 3 : היעזר במדריך ושנה את מרחק המנורה : הרחק אותה למרחק כפול מהמרחק בו הייתה במדידת מבחנה מספר 1.
6. מדוד את עוצמת האור בעזרת מד אור
7. הכן את מבחנות הניסוי ופעל ע"פ הנחיות ביצוע כלליות

4. לבדיקת השפעת טמפרטורה:

1. למבחנה מספר 1 : בצע הניסוי באותו אופן שבוצע בניסוי המקדים
2. למבחנה מספר 2 : היעזר במדריך ושנה את טמפרטורת המים באמבט הניסוי
3. מדוד את הטמפרטורה באמצעות מד חום
4. הכן את מבחנות הניסוי ופעל ע"פ הנחיות ביצוע כלליות
5. למבחנה מספר 3 : חזור על סעיף 2.

5. לבדיקת השפעת ריכוז הכלורופלסטים על קצב הריאקציה.

בניסוי זה, נשתמש בשני ריכוזים שונים של כלורופלסטים. על מנת להשוות בין שני הניסויים עלינו להפחית את מידת הבליעה של הכלורופלסטים. לכן, בניסוי זה נאפס את הספקטרופוטומטר על ידי בופר STN המכיל כלורופלסטים.

ניסוי ראשון: 0.1 מ"ל כלורופלסטים.

1. סמן מבחנה אחת במספר 1.
2. הוסף 3.9 מ"ל בופר STN.
3. הוסף 0.1 מ"ל תרחיף כלורופלסטים וערבב.
4. אפס את הספקטרופוטומטר על ידי מבחנה מספר 1.
5. הוסף 1 מ"ל DCPIP.
6. מדוד את הבליעה ורשום את התוצאה בטבלה המתאימה במחשב.
7. כוון את שעון העצר לדקה, הדלק את המנורה והפעל את השעון.
8. מקץ דקה, כבה את המנורה, נגב את המבחנה וערבב היטב בוורטקס.
9. מדוד את הבליעה ורשום את התוצאה בטבלה המתאימה במחשב.
10. עליך לחזור ארבע פעמים על שלבים 7-8 ורשום את התוצאות בטבלה המתאימה



ניסוי שני: 0.2 מ"ל כלורופלסטים.

1. סמן מבחנה אחת במספר 2.
2. הוסף 3.8 מ"ל בופר STN.
3. הוסף 0.2 מ"ל תרחיף כלורופלסטים וערבב.
4. אפס את הספקטרופוטומטר על ידי מבחנה מספר 2.
5. הוסף 1 מ"ל DCPIP.
6. מדוד את הבליעה ורשום את התוצאה בטבלה המתאימה במחשב.
7. כוון את שעון העצר לדקה, הדלק את המנורה והפעל את השעון.
8. מקץ דקה, כבה את המנורה, נגב את המבחנה וערבב היטב בוורטקס.
9. מדוד את הבליעה ורשום את התוצאה בטבלה המתאימה במחשב.
10. עליך לחזור ארבע פעמים על שלבים 7-8 ולרשום את התוצאות בטבלה המתאימה