



Žloutnutí listů – měření obsahu chlorofylu

Pomůcky

Spektrometr Vernier GDX-SVISPL, kyvety dodávané se spektrometrem, pipeta nebo brčko, nádobky na výluhy z listů, líh, podzimní listy stromů různých barev, k rozmělnění listů lze použít nůžky nebo třecí misku.



Teorie

Chlorofyl je barvivo (pigment) obsažené v zelených rostlinách. Rostlina díky chlorofylu zachycuje energii světelného záření a používá ji k syntéze sacharidů z oxidu uhličitého a vody. Kromě chlorofylu jsou v listech také žlutá, oranžová, červená nebo fialová barviva, která jsou v přítomnosti chlorofylu méně výrazná.


Pigmenty se v listech postupně rozkládají (degradují), rostlina je proto musí obnovovat. Za určitých okolností (např. přicházející podzim nebo nedostatek živin) rostlina produkci pigmentů sníží. Chlorofyl se rozkládá rychleji než ostatní barviva, proto listy po nějakou dobu zůstávají žluté nebo oranžové, než úplně zhnědnou.


K zjišťování přítomnosti chlorofylu lze využít skutečnost, že chlorofyl vykazuje takzvanou fluorescenci, kdy po ozáření fotony s vhodnou energií dojde k jejich pohlcení a následnému vyzáření fotonů s nižší energií – vzorek obsahující chlorofyl po vystavení fialovému světlu září červeně.

Příprava vzorků a spektrometru

1. Je třeba nejprve narušit strukturu listů natrháním či nastříháním na kousky, případně můžete listy podrtit v třecí misce.
2. Listy následně vložte do nádobky a zalijete trochou lihu. Po několika minutách naplňte výluhem kyvety.
3. Spustíte aplikaci *Spectral Analysis*, v úvodní nabídce vyberte možnost *Fluorescence vs. vlnová délka (Celé spektrum)* a připojte spektrometr ([návod](#)).



4. V okně, které se objeví v pravé části obrazovky, zvolte excitační vlnovou délku 405 nm. Zkontrolujte, že se v šachtě spektrometru rozsvítil fialový excitační zdroj.
5. Klikněte na tlačítko **KALIBROVAT**.
6. Vložte do šachty spektrometru kyvetu s čistým lihem a zvolte **DOKONČIT KALIBRACI**.
7. Okno nastavení můžete zavřít kliknutím na .

Vernier Go Direct SpectroVis Plus připojeno 

Odpojit

Nastavení měření

KALIBROVAT

Integrační čas ms

Vyhazování vlnových délek nm

Průměrování přes čas

Vlnová délka (excitace) 405 nm

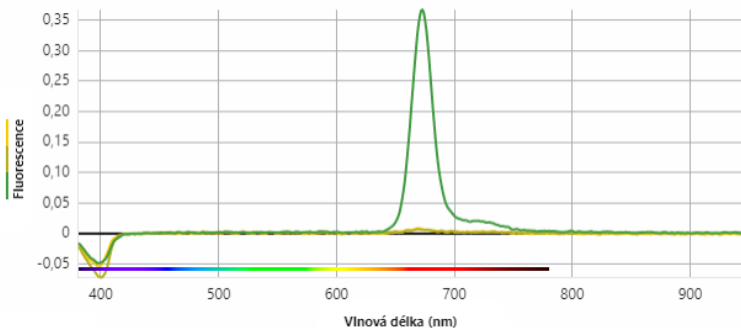
Provedení experimentu

1. Vložte do šachty spektrometru kyvetu se vzorkem. Bílá šipka u okraje šachty by přitom měla ukazovat na hladkou (tj. ne na vroubkovanou) stěnu kyvetu.
2. Tlačítkem **ZAHÁJIT MĚŘENÍ** spustíte sběr dat. Po vykreslení závislosti zvolte **ZASTAVIT** a kyvetu vyjměte.
3. Kroky 1 a 2 zopakujte s dalšími vzorky.

Ukázka naměřených dat a závěr

Zelená křivka odpovídá výluhu ze zelených listů, ostatní barvy (na grafu špatně viditelné, protože se překrývají) pak odpovídají výluhům ze žlutých a hnědých listů.

Všechny vzorky pohlcovaly fialové světlo, což se projevilo „prohlubní“ v grafu, ale pouze u zelených listů (obsahujících chlorofyl) došlo k následnému vyzáření červeného světla, což se projevilo v grafu „kopečkem“.



Poznámky

- Hodnoty na vodorovné ose v grafu ukazují relativní intenzitu záření na dané vlnové délce. Nemá smysl zabývat se konkrétními hodnotami, ale pouze jejich poměry.
- Chcete-li sladit barvu čar v grafu s barvou listů, klikněte na název svislé osy a následně na barevné kolečko vedle příslušné datové řady.

