

ΒΙΟΛΟΓΙΑ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ

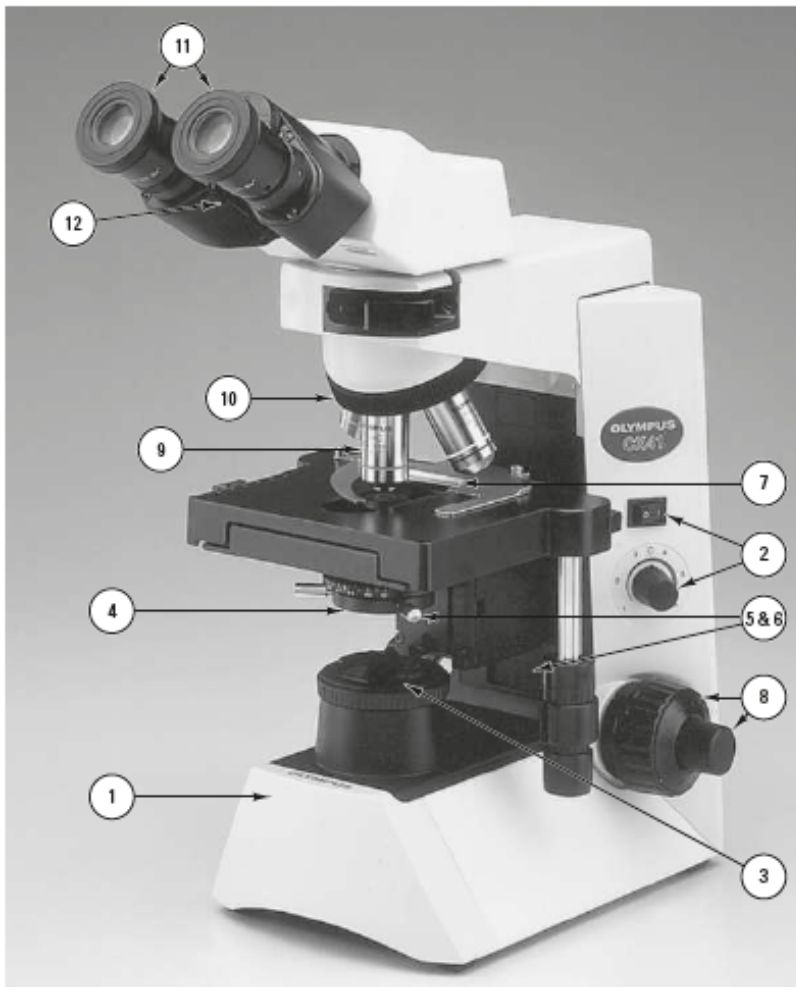
ΜΕΖΙΤΗ ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ

ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟ ΕΤΟΣ 2024-2025

ΑΣΚΗΣΗ 1: ΜΙΚΡΟΣΚΟΠΙΟ

Μικροσκόπιο θεωρείται η διάταξη φακών με την οποία επιτυγχάνεται μεγέθυνση διαφόρων μικρών αντικειμένων. Βασική ιδιότητα ενός μικροσκοπίου είναι η διακριτική ή διαχωριστική ικανότητα η οποία καθορίζει την ικανότητα να διακρίνονται ευκρινώς οι λεπτομέρειες των αντικειμένων σε μία μεγέθυνση.

Η διακριτική ικανότητα του μικροσκοπίου (RP; resolution power) εξαρτάται κυρίως από τον αντικειμενικό φακό και είναι αντίστροφη του διακριτικού ορίου



$$RP = \lambda / 2 * NA$$

λ = μήκος κύματος φωτός
NA: αριθμητικό άνοιγμα φακού
(καθορίζει την ποσότητα του διερχόμενου φωτός)

$NA = n * \eta \mu(\varphi / 2)$
 n = δείκτης διάθλασης του μέσου που παρεμβάλλεται μεταξύ αντικειμενικού φακού και αντικειμένου
 φ : το γωνιακό άνοιγμα (η μέγιστη γωνία που σχηματίζουν οι ακτίνες που ξεκινούν από ένα καλά εστιασμένο σημείο και μπαίνουν μέσα στον αντικειμενικό φακό)

Σχήμα 1. Οπτικό Μικροσκόπιο

Στο σχήμα 1 φαίνονται τα διαφορετικά κομμάτια του μικροσκοπίου.

1. Λάμπα → παροχή φωτός
2. Διακόπτης για κλείσιμο και κοχλίας για ρύθμιση της έντασης του φωτός
3. Διάφραγμα για ρύθμιση της περιοχής που φωτίζεται
4. Συγκεντρωτικός φακός
5. Διάφραγμα συγκεντρωτικού φακού

6. Ρυθμιστής συγκεντρωτικού φακού για τη σύγκλιση του φωτός στο δείγμα και προβολή της εικόνας του στον αντικειμενικό φακό.

7/8. Τοποθέτηση δείγματος (συνήθως σε αντικειμενοφόρο και ρύθμιση εστίασης και ύψους της βάσης).

9. Αντικειμενικοί φακοί διαφορετικής μεγέθυνσης (η ποιότητα τους είναι καθοριστική για την ποιότητα της εικόνας)

11. προσοφθάλμιος φακός

Οπτικό σύστημα

Οι προσοφθάλμιοι φακοί (11) είναι αυτοί με τους οποίους βλέπουμε το είδωλο. Ανάλογα με τον αριθμό των προσοφθάλμιων το μικροσκόπιο λέγεται μονοφθάλμιο (monocular) ή διοφθάλμιο (binocular). Υπάρχει δυνατότητα προσαρμογής προσοφθάλμιων με διαφορετικές μεγεθύνσεις (συνήθως 10X).

Στο κάτω μέρος του στελέχους του μικροσκοπίου υπάρχουν οι αντικειμενικοί φακοί (9), βιδωμένοι σε μία περιστρεφόμενη κεφαλή. Οι αντικειμενικοί φακοί εστιάζουν το φως που έχει περάσει από το παρασκεύασμα και μέσω συστήματος πρισμάτων του οπτικού σωλήνα του μικροσκοπίου οδηγείται στο προσοφθάλμιο σύστημα. Κάθε αντικειμενικός φακός έχει πάνω του γραμμένη την μεγέθυνση (4X, 10X, 40X). Πολλές φορές υπάρχει και καταδυτικός φακός (100X). Για να γίνει παρατήρηση με τον καταδυτικό φακό πάνω στην καλυπτρίδα τοποθετείται μία σταγόνα από κεдрέλαιο ή άλλο κατάλληλο έλαιο. Η ολική μεγέθυνση υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας τη μεγέθυνση του αντικειμενικού φακού με τη μεγέθυνση του προσοφθάλμιου.

Τύποι φωτονικών μικροσκοπίων

1. Σύνθετο μικροσκόπιο

Παρουσιάστηκε παραπάνω

2. Μικροσκόπιο αντίθεσης φάσεων

Τα βιολογικά συστήματα στο κοινό μικροσκόπιο φαίνονται σχετικά διαφανή. Τα βιολογικά συστήματα όμως δεν είναι ανομοιογενή και έχουν διαφορά ως προς τον δείκτη διάθλασης. Στο συγκεκριμένο μικροσκόπιο οι διαφορές στο δείκτη διάθλασης (αόρατες στο μάτι) μετατρέπονται σε διαφορές στην ένταση (ορατές στο μάτι) χρησιμοποιώντας το φαινόμενο της συμβολής. Μπορούμε να μελετήσουμε ζωντανό υλικό χωρίς την ανάγκη χρώσης.

3. Μικροσκόπιο συμβολής

Ίδια αρχή με το αντίθεσης φάσεων και μπορούμε να υπολογίσουμε και ξηρά βάρη κυτταρικών συστατικών.

4. Πολωτικό μικροσκόπιο

Η αρχή λειτουργίας είναι ίδια με του κοινού μικροσκοπίου, αλλά διαθέτει πολωτή στο συγκεντρωτικό φακό και αναλυτή στον αντικειμενικό και έτσι μετράει την διπλοθλαστικότητα κάποιων βιολογικών ενώσεων (θετικό ή αρνητικό).

5. Μικροσκόπιο σκοτεινού πεδίου

Παρόμοιο με το κοινό μικροσκόπιο αλλά στηρίζεται στο φαινόμενο του σκεδασμού του φωτός επειδή ο συγκεντρωτικός φακός φωτίζει το αντικείμενο πλάγια. Μπορούν να

παρατηρηθούν διάφορα σωματίδια ή οργανίδια με διακριτικό όριο $<0.2 \mu\text{m}$, μόνο ως φωτεινά σημεία και δεν μπορούν να αναλυθούν.

6. Μικροσκόπιο φθορισμού

Χρήση διαφορετικών ακτινοβολιών μικρότερου μήκους κύματος (από αυτό που τελικά θα παρατηρήσουμε) για την αύξηση της διακριτικής ικανότητας. Αρχικά είχαν παρουσιαστεί βλάβες στους οφθαλμούς του παρατηρητή αλλά και καταστροφή ζωντανών κυττάρων (μετά την χρήση UV). Μπορεί να δώσει πληροφορίες για βιολογικά μόρια (π.χ. βιταμίνες) που έχουν τη δυνατότητα διέγερσης από την ακτινοβολία που απορροφάται και εκπέμπεται σε μεγαλύτερο μήκος κύματος που περιλαμβάνεται στο ορατό (φθορισμός). Μπορούμε επίσης να ενσωματώσουμε φθορίζουσες ουσίες για την παρατήρηση συγκεκριμένων τμημάτων του κυτταρού.

7. Στερεοσκόπιο

Χρησιμοποιείται για μικρές συνολικά μεγεθύνσεις (X4-X50). Απαιτείται μεγάλη απόσταση ανάμεσα στον αντικειμενικό φακό και την τράπεζα είτε επειδή το αντικείμενο δεν είναι επίπεδο ή επειδή χρησιμοποιούνται εργαλεία ανατομίας. Το είδωλο σχηματίζεται όρθιο και όχι ανεστραμμένο.

Σε όλους τους τύπους φωτονικών μικροσκοπίων εκτός από το στερεοσκόπιο τα δείγματα τοποθετούνται σε αντικειμενοφόρους πλάκες (γυάλινο παραλληλόγραμμο πλακίδιο) με διαστάσεις 77mm x 25 mm και καλύπτονται από καλυπτρίδα (γυάλινο, συνήθως τετράγωνο πλακίδιο) με διαστάσεις 20mm x 20 mm.

Οδηγίες-Τρόπος χρήσης μικροσκοπίου

1. Φροντίζουμε να είναι τοποθετημένος (εσωτερικά προς το μέρος του παρατηρητή) ο αντικειμενικός φακός με τη μικρότερη μεγέθυνση, και η τράπεζα να είναι χαμηλά.
2. Ανάβουμε τη λάμπα
3. Τοποθετείται το παρασκευασμα στην επιφάνεια εργασίας και στερεώνουμε με το πίεστρο. Μετακινούμε για να είναι το παρασκεύασμα στο κέντρο του φωτισμού.
4. Παρατηρούμε με τον προσοφθάλμιο και προσπαθούμε να εστιάσουμε με τον μακρομετρικό κοχλία.
5. Αφού εστιάσουμε καλά, μπορούμε να πάμε σε μεγαλύτερη μεγέθυνση για να παρατηρήσουμε καλύτερα. Στη μεγαλύτερη μεγέθυνση δουλεύουμε μόνο με τον μικρομετρικό.

Άσκηση εστίασης

1. Ζωγραφίστε με ανεξίτηλο μαρκαδόρο κάποιο γράμμα πάνω σε μία αντικειμενοφόρο.
2. Τοποθετείστε την αντικειμενοφόρο στο μικροσκόπιο και εστιάστε σε διαφορετικές μεγεθύνσεις
3. Σημειώστε τις παρατηρήσεις σας.

ΑΣΚΗΣΗ 2: Παρατήρηση ευκαρυωτικού κυττάρου και εγκλείστων

Το κύτταρο είναι η μικρότερη λειτουργική μονάδα με χαρακτηριστικά ζωής. Κάθε φυτικό κύτταρο αποτελείται πυρήνα, πλαστίδια, μιτοχόνδρια, κυτταρόπλασμα και περιβάλλεται από την κυτταρική μεμβράνη (πλασμαλήμμα) και το κυτταρικό τοίχωμα. Στο κυτταρόπλασμα περιέχεται το θεμελιώδες πλάσμα και ένα πλήθος από μεμβρανικά οργανίδια (ενδοπλασματικό δίκτυο, σύμπλεγμα Golgi κ.α.). Η μεμβράνη που περιβάλλει τα χυμοτόπια λέγεται τονοπλάστης και η μεμβράνη που περιβάλλει τον πυρήνα λέγεται πυρηνική μεμβράνη.

Εκτός από τα ζωντανά συστατικά του κυττάρου υπάρχουν και τα νεκρά στοιχεία που είτε είναι τελικά προϊόντα εναλλαγής της ύλης (κρύσταλλοι) ή συστατικά για την ανάπτυξη των οργανισμών (αμυλόκοκκοι σπερμάτων). Τα κυρίως προϊόντα του μεταβολισμού στο φυτικό κύτταρο είναι κυρίως το άμυλο, πρωτεΐνες και έλαια και συγκεντρώνονται στα χυμοτόπια που καταλαμβάνουν το κεντρικό μέρος των φυτικών κυττάρων και είναι γεμάτα, εκτός των άλλων, με νερό και άλατα.

Ασκηση

1. Παρατήρηση κυττάρων κρεμμυδιού (*Allium cepa*)

1.1. Τομή και απλή παράτηρηση

1. Με ξυραφάκι χωρίζουμε μικρά τετράγωνα (~ 5mm) στην εσωτερική επιφάνεια του χιτώνα του βολβού του κρεμμυδιού
2. Με τη βοήθεια λαβίδας ανασηκώνουμε και μεταφέρουμε ένα τετράγωνο σε αντικειμενοφόρο πλάκα πάνω σε μία σταγόνα νερό.
3. Τοποθετούμε προσεχτικά καλυπτρίδα, αποφεύγοντας τη δημιουργία φυσαλίδων.
4. Παρατηρούμε τα πολυγωνικά κύτταρα και τις γραμμές που τα διαχωρίζουν. Οι γραμμές αυτές είναι τα κυτταρικά τοιχώματα.
5. Αυξάνοντας τη μεγέθυνση μπορούμε να διακρίνουμε τον πυρήνα και όσως και τους πυρηνίσκους
6. Σχεδιάστε μερικά κύτταρα

1.2. Παρατήρηση χρωσμένων κυττάρων

Η εκλεκτική χρώση ορισμένων τμημάτων βελτιώνει την ευκρίνεια της εικόνας

1.2.1. Χρώση πυρήνα με οξική καρμίνη

1. Πραγματοποιούμε τόμες όπως αναφέρθηκε παραπάνω.
2. Βυθίζουμε τις τομές σε μερικές σταγόνες οξικής καρμίνης και αφήνουμε για 10 λεπτά
3. μεταφέρουμε τα κομμάτια σε καθαρή αντικειμενοφόρο με μία σταγόνα νερό.
4. Παρατηρούμε στο μικροσκόπιο. Οι πυρήνες έχουν κόκκινο χρώμα και κάποιες φορές φαίνονται και τα χυμοτόπια

1.2.2. Χρώση κυττάρων με μπλε του μεθυλενίου (Methylene blue)

1. Πραγματοποιούμε τόμες όπως αναφέρθηκε παραπάνω
2. Βυθίζουμε τις τομές σε μερικές σταγόνες μπλε του μεθυλενίου και αφήνουμε για 4-5 λεπτά

3. Ξεπλένουμε με άφθονο νερό
4. Παρατηρούμε τα κύτταρα στο μικροσκόπιο.

1.3. Πλασμόλυση

Η κίνηση ουσιών από το περιβάλλον στο εσωτερικό του κυττάρου και αντίστροφα ελέγχεται από τον τονοπλάστη. Όταν το κύτταρο βρεθεί σε υπερτονο περιβάλλον, νερό εξέρχεται από το χυμοτόπιο με αποτέλεσμα την σμικρύνσή του. Το φαινόμενο ονομάζεται πλασμόλυση και είναι αντιστρεπτό. Εάν τα κύτταρα το τοποθετηθούν σε υπότονο περιβάλλον τότε το χυμοτόπιο θα διογκωθεί ξανά.

1. Πραγματοποιούμε τόμες όπως αναφέρθηκε παραπάνω.
2. Τοποθετούμε σε μία αντικειμενοφόρο μία σταγόνα διαλύματος NH_4SCN (θειοκυανιούχο αμμώνιο).
3. Μεταφέρουμε μία τομή στην αντικειμενοφόρο και καλύπτουμε.
4. Παρατηρούμε το φαινόμενο της πλασμόλυσης.

2. Παρατήρηση αμυλόκοκκων

Το άμυλο εμφανίζεται στα πλαστίδια υπό μορφή χαρακτηριστικών κόκκων των αμυλόκοκκων (αφομοιωτικό άμυλο). Αργότερα μεταφέρεται σε αποταμιευτικά όργανα όπου επανασυντίθεται στους αμυλοπλάστες σε μεγαλύτερο κόκκους (αποταμιευτικό άμυλο).

Με την επίδραση του Ιωδίου το άμυλο παίρνει κυανοϊώδες χρώμα. Στο οπτικό μικροσκόπιο οι αμυλόκοκκοι εμφανίζουν στρωματοειδή υφή που οφείλεται στην εναλλάξ απόθεση αμυλοπηκτίνης και αμυλόζης.

Παρατήρηση αμυλόκοκκων από κονδύλους πατάτας]

1. Τοποθέτηση ξύσματος πατάτας (*Solanum tuberosus*), σε αντικειμενοφόρο πλάκα με μία σταγόνα νερό.
2. Αναζητείστε τους αμυλόκοκκους και αναζητήστε τις διαφορετικές στρώσεις.
3. Επαναλάβετε τη διαδικασία αφού κάνετε και χρήση με διάλυμα Lugol

ΑΣΚΗΣΗ 3: Μίτωση

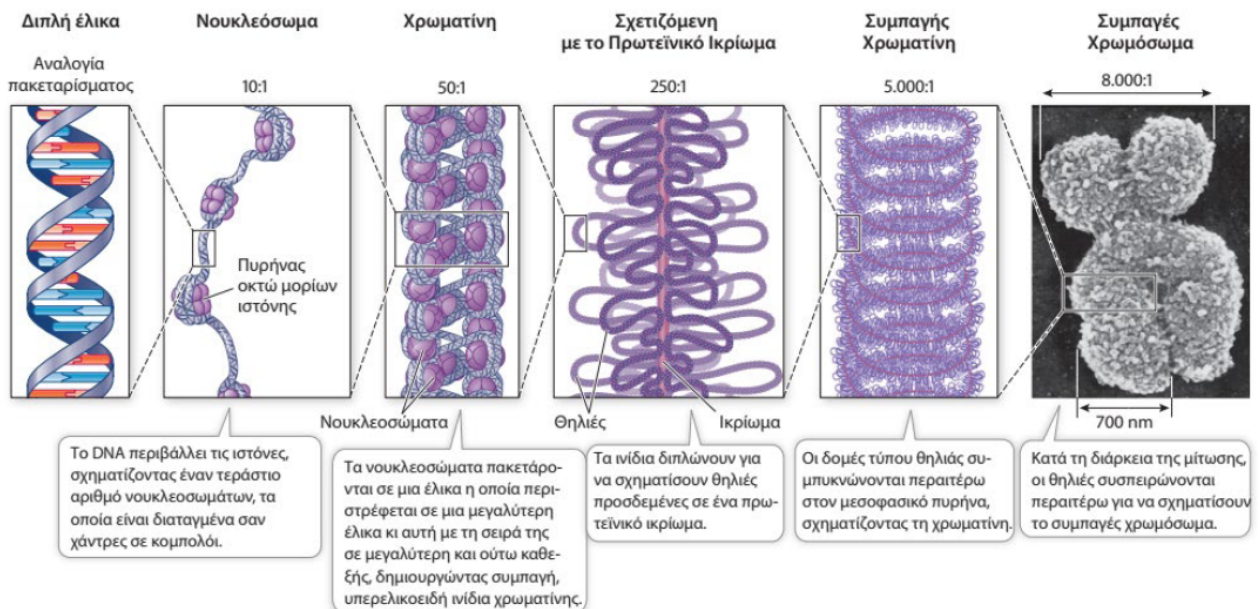
Η κυτταρική διαίρεση είναι η σημαντικότερη λειτουργία του κυττάρου γιατί με αυτή επιτυγχάνεται η συνέχιση της ζωής και δημιουργούνται οι κατάλληλες συνθήκες για την εξέλιξη των ζωντανών οργανισμών. Στην κυτταρική διαίρεση τα χρωμοσώματα κατέχουν την κεντρική θέση. Καθώς είναι οι φορείς της κληρονομικότητας καθορίζουν τα χαρακτηριστικά των κυττάρων και των απογόνων τους. Τα κύτταρα έχουν ορισμένο αριθμό χρωμοσωμάτων που είναι χαρακτηριστικός και ίδιος για όλα τα κύτταρα ενός οργανισμού και για όλα τα άτομα ενός είδους. Οι συνηθισμένοι αριθμοί χρωμοσωμάτων είναι από 10-100 (ο άνθρωπος έχει 46). Τα χρωμοσώματα είναι διατεταγμένα σε ζευγάρια (ομόλογα χρωμοσώματα). Η κατάσταση αυτή ονομάζεται διπλοειδής και συμβολίζεται με $2N$ όπου N είναι ο απλοειδής αριθμός των χρωμοσωμάτων.

Η κυτταρική διαίρεση είναι μία περίπλοκη συνεχής διαδικασία. Οι πιο σημαντικές διαφορές που πρέπει να γίνουν κατανοητές είναι αυτές ανάμεσα στη μίτωση και στη μείωση.

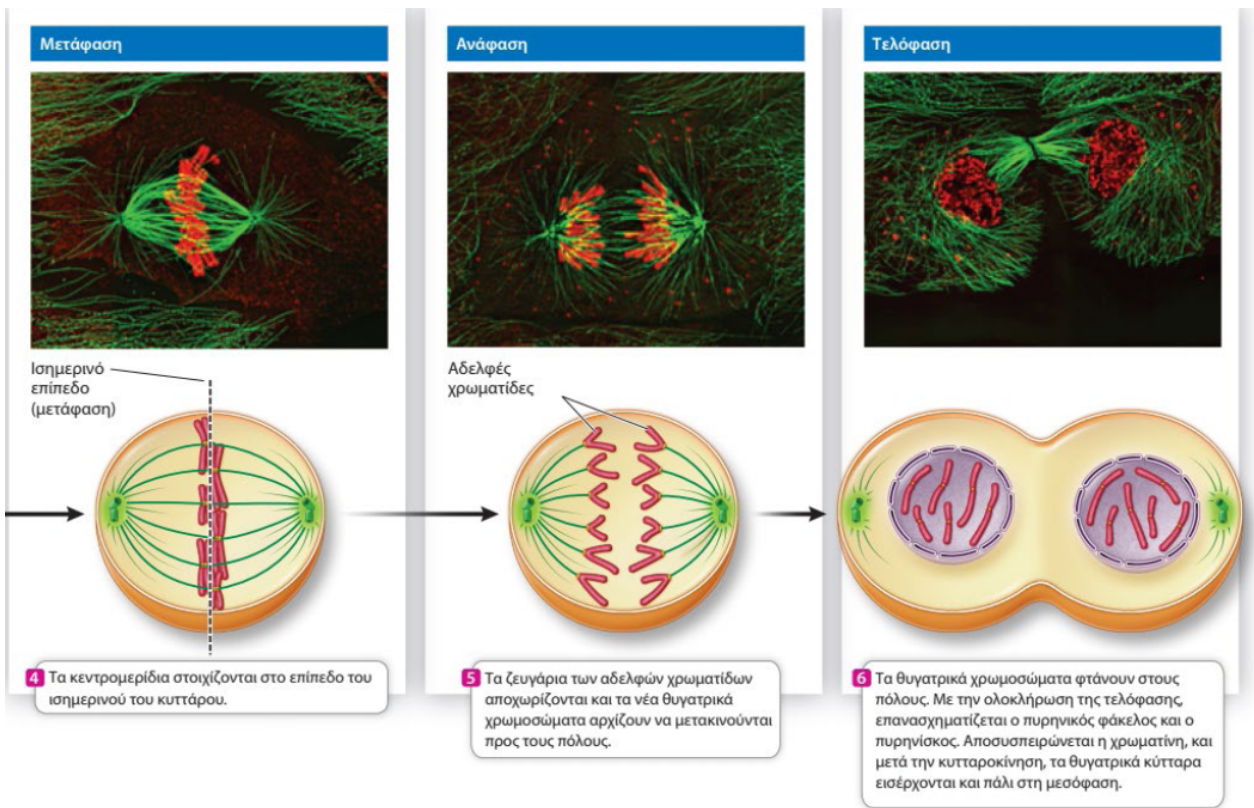
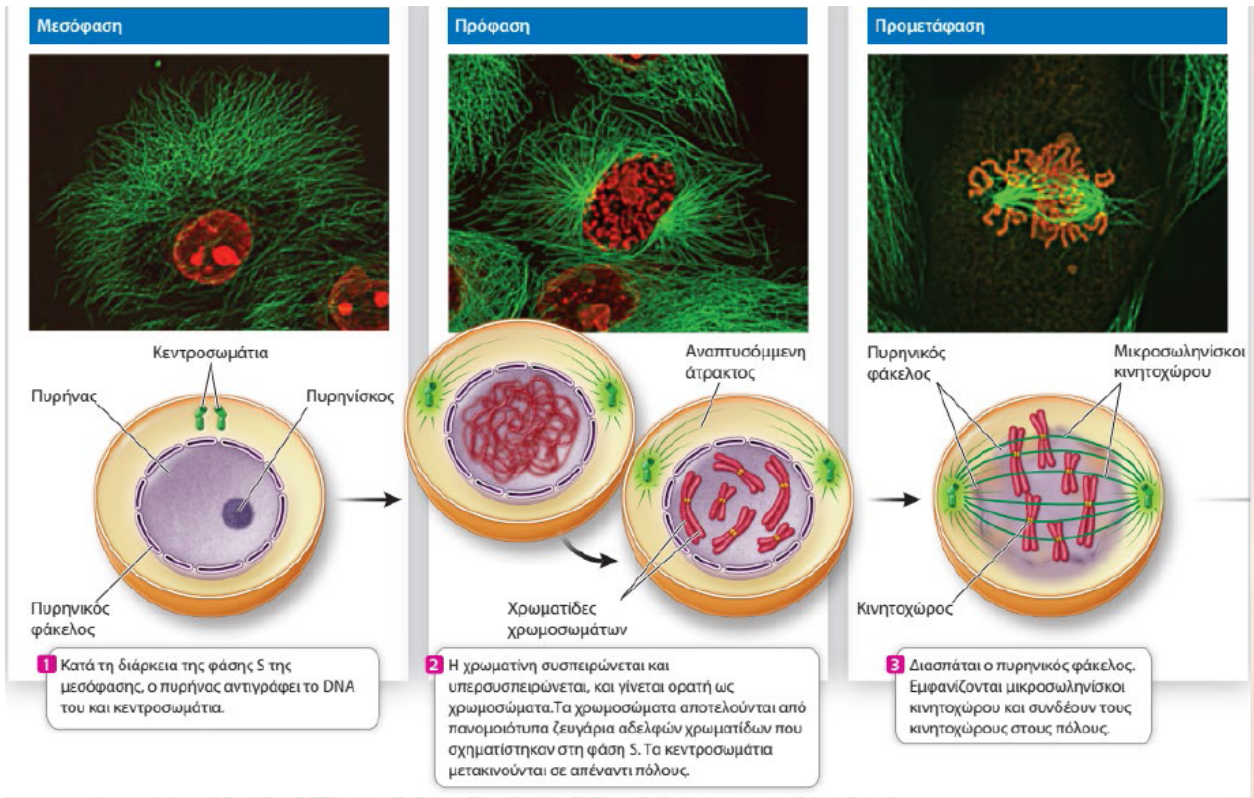
Μίτωση: μηχανισμός με σκοπό την ακριβή κατανομή των χρωμοσωμάτων στα νέα κύτταρα. Είναι ο τρόπος κυτταρικής διαίρεσης που συμβαίνει κατά την ανάπτυξη του οργανισμού. Ένα κύτταρο που διαιρείται μιτωτικά δίνει δύο κύτταρα ίδια με το αρχικό και μεταξύ τους ($2N \rightarrow 2 \cdot 2N$).

Μείωση: Σκοπός είναι ο διαχωρισμός των ομόλογων χρωμοσωμάτων στα θυγατρικά κύτταρα. Μείωση του αριθμού των χρωμοσωμάτων στο μισό ($2N \rightarrow 4 \cdot N$).

Διαφορετική συμπεριφορά χρωμοσωμάτων κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου



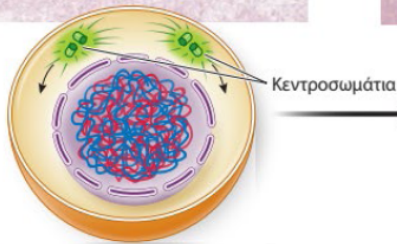
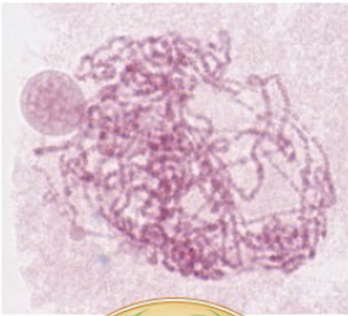
Στάδια κυτταρικής διαίρεσης (Μεσόφαση κ μίτωση)



Μείωση

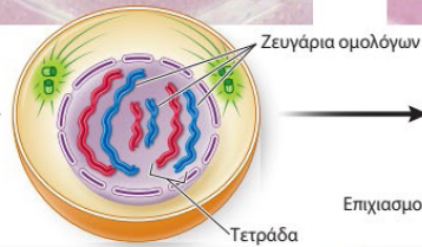
ΜΕΙΩΣΗ I

Πρώιμη πρόφαση I



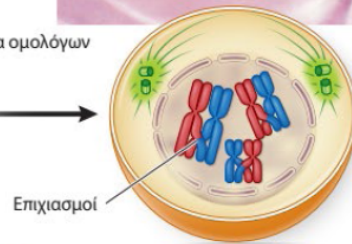
1 Η χρωματίνη αρχίζει να συμπυκνώνεται μετά τη μεσόφαση.

Μεσο-πρόφαση I



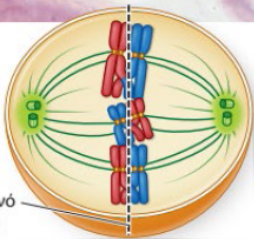
2 Οι συνάψεις στοιχίζουν τα ομόλογα και τα χρωμοσώματα συμπυκνώνονται περαιτέρω.

Όψιμη πρόφαση I-Προμετάφαση



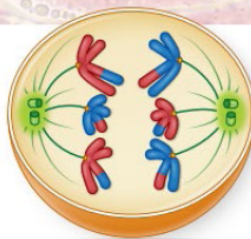
3 Τα χρωμοσώματα συνεχίζουν να συσπειρώνονται και να κονταίνουν. Οι επιχιασμοί αντιπροσωπεύουν τις ανταλλαγές γενετικού υλικού μεταξύ μη αδελφών χρωματίδων σε ένα ομόλογο ζευγάρι. Στην προμετάφαση διασπάται ο πυρηνικός φάκελος.

Μετάφαση I



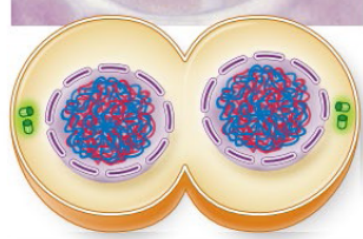
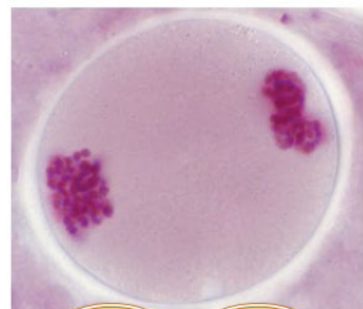
4 Τα ομόλογα ζεύγη στοιχίζονται στο ισημερινό (μεταφασικό) επίπεδο.

Ανάφαση I



5 Τα ομόλογα χρωμοσώματα (καθένα με δύο χρωματίδες) κινούνται προς τους απέναντι πόλους του κυττάρου.

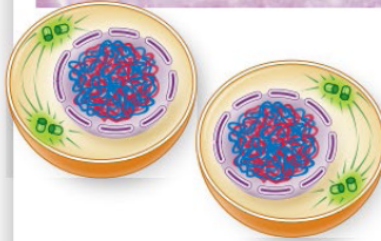
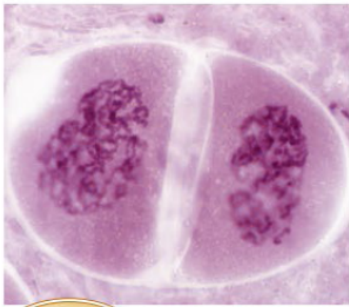
Τελόφαση I



6 Τα χρωμοσώματα συγκεντρώνονται στον πυρήνα και το αρχικό κύτταρο διαιρείται.

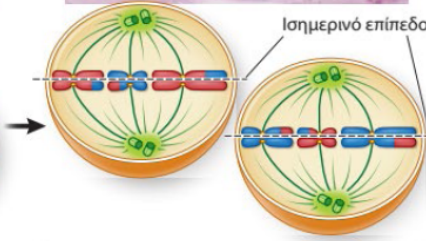
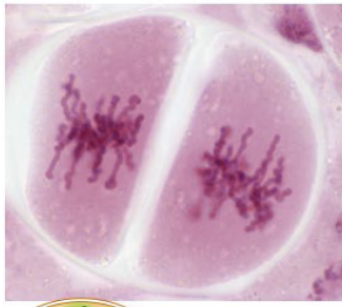
ΜΕΙΩΣΗ II

Πρόφαση II



7 Τα χρωμοσώματα συμπυκνώνονται και πάλι, μετά από μια σύντομη μεσόφαση στην οποία δε γίνεται αντιγραφή του DNA.

Μετάφαση II



8 Τα κεντρομερίδια των αδελφών χρωματίδων στοιχίζονται κατά μήκος του ισημερινού επιπέδου κάθε κυττάρου.

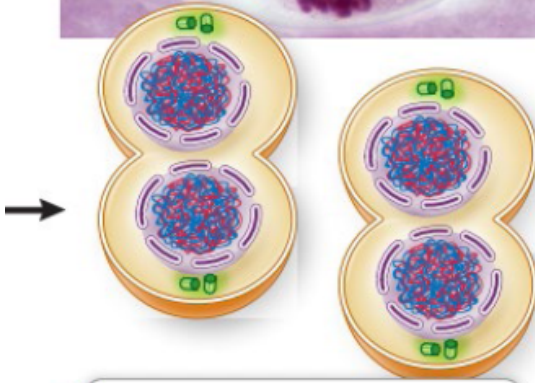
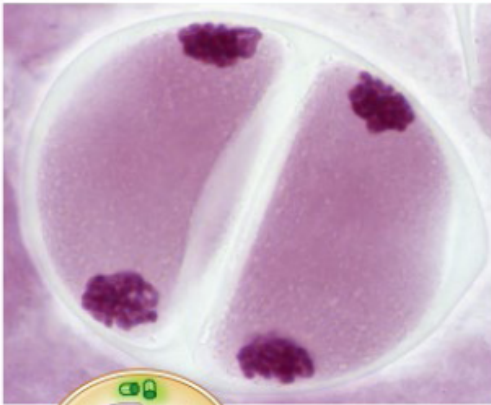
Ανάφαση II



9 Τελικά οι χρωματίδες αποχωρίζονται και γίνονται χρωμοσώματα, ενώ μετακινούνται σε αντίθετους πόλους. Λόγω των επιχιασμών και του ανεξάρτητου διαχωρισμού, κάθε νέο κύτταρο θα διαθέτει διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο.

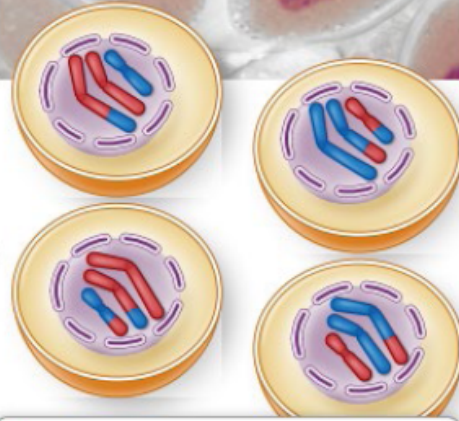
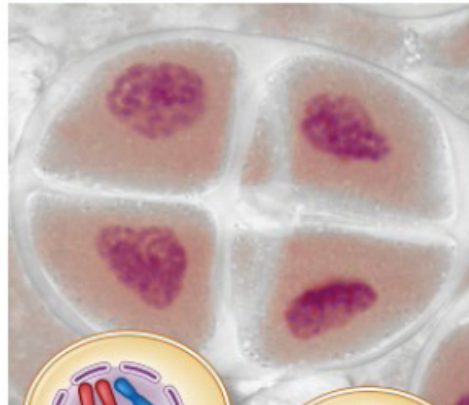
Αναγνωρίστε τις παρακάτω φάσεις της κυτταρικής διαίρεσης

Τελόφαση II

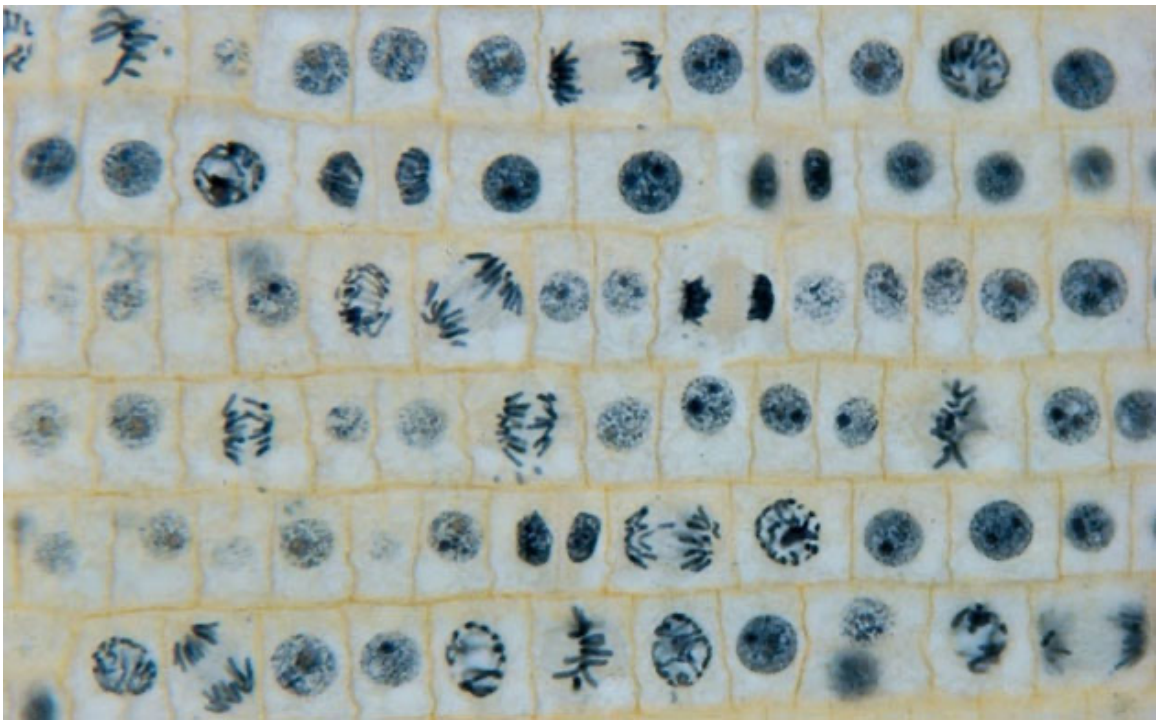


10 Τα χρωμοσώματα συγκεντρώνονται στον πυρήνα και το κύτταρο διαιρείται.

Προϊόντα



11 Καθένα από τα τέσσερα κύτταρα έχει ένα πυρήνα με απλοειδή αριθμό χρωμοσωμάτων.



ΑΣΚΗΣΗ 4: Φασματοφωτομετρία

Το χρώμα των αντικειμένων ή των χημικών ουσιών εξαρτάται από το ποια μήκη κύματος του προσπίπτοντος φωτός απορροφούν και ποια αφήνουν να περάσουν. Το χρώμα ενός αντικειμένου ή ενός διαλύματος που βλέπουμε οφείλεται στο φως που τα διαπερνά ή ανακλάται. Για παράδειγμα η χλωροφύλλη που υπάρχει στα φυτά απορροφά στην περιοχή του κόκκινου και του ιώδους-κυανού. Το πράσινο φως δεν απορροφάται αλλά ανακλάται και για αυτό τα περισσότερα φυτά φαίνονται πράσινα. Η ιδιότητα αυτή αξιοποιείται στις χρωματομετρικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται σε πολλά πειράματα στη Βιολογία και κυρίως στη Βιοχημεία, αποσκοπώντας πρωτίστως στον προσδιορισμό συγκεντρώσεων ουσιών. Ουσίες που δεν είναι έγχρωμες μπορούν να τροποποιηθούν με την χρήση κατάλληλων αντιδραστηρίων κατάλληλων αντιδραστηρίων ώστε να απορροφούν στην ορατή περιοχή του φάσματος. Η ποσότητα του απορροφούμενου φωτός είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της ουσίας. Το ποσοστό του προσπίπτοντος φωτός που απορροφάται από ένα διάλυμα εξαρτάται από το πάχος του διαλύματος, τη συγκέντρωση και τη φύση της ουσίας στο διάλυμα που απορροφά φως. Η σχέση απορρόφησης και συγκέντρωσης της ουσίας εκφράζεται μαθηματικά από τον νόμο των Lambert-Beer.

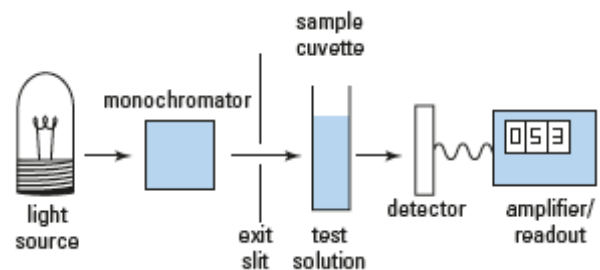


Fig. 68.2 Components of a UV/visible spectrophotometer.

Η φωτομετρία ορατού υπεριώδους είναι η τεχνική που μετράει την απορρόφηση στην ορατή ή στην υπεριώδη περιοχή του φάσματος.

Βασικές αρχές της απορρόφησης του φωτός

1. Η απορρόφηση του φωτός που περνάει μέσα από ένα διάλυμα σχετίζεται εκθετικά με τον αριθμό των μορίων της διαλυμένης ουσίας που απορροφά την ακτινοβολία (π.χ. την συγκέντρωση της διαλυμένης ουσίας)

2. Η απορρόφηση του φωτός που περνάει μέσα από ένα διάλυμα σχετίζεται εκθετικά με το μήκος (απόσταση που διανύει το φως) του διαλύματος που απορροφά (L).

Αυτές οι αρχές συνδυάζονται στη σχέση Beer-Lambert (Νόμος του Beer) και συνήθως εκφράζονται με την απορρόφηση (A), όπου $A = \log [I_0 \text{ (προσπίπτον φως)} / I \text{ (αναδύμενο φως)}]$ και επίσης $A = \epsilon \cdot L \cdot [C]$.

Στην δεύτερη εξίσωση η C εκφράζεται σε mol/L ή σε g/L, και το L σε cm. Το ϵ είναι μία σταθερά, γνωστή για την ουσία που απορροφά και θέλουμε να μετρήσουμε.

Η σημασία της δεύτερης εξίσωσης είναι ότι τα σύγχρονα φωτόμετρα δίνουν κατευθείαν την απορρόφηση χωρίς να χρειάζεται να μετρήσουμε ξεχωριστά το προσπίπτον και το αναδύμενο φως.

Τα περισσότερα φωτόμετρα είναι σχεδιασμένα για κυψελίδες 1 cm, άρα $L=1$.

Χρησιμοποιούνται πλαστικές κυψελίδες για υδατικά και αλκοολούχα διαλύματα και κυψελίδες από quartz για μετρήσεις στο υπεριώδες.

Πάντα μηδενίζουμε στην αρχή με ένα τυφλό διάλυμα που περιέχει μόνο τον διαλύτη.

Οι πιο αξιόπιστες μετρήσεις της A είναι στο εύρος 0-1, οπότε φροντίζουμε τα πρότυπα διαλύματά μας να έχουν συγκεντρώσεις που δίνουν A σε αυτό το εύρος.

Η συγκέντρωση μίας ουσίας σε ένα διάλυμα μπορεί να υπολογιστεί από την A και τον νόμο του Beer ($A = \epsilon \cdot L \cdot [C]$) εφόσον γνωρίζουμε το ϵ .

Κατασκευή πρότυπης καμπύλης (Standard Curve) -Μέτρηση συγκέντρωσης άγνωστου διαλύματος.

Υλικά

Πυκνό διάλυμα κυανού του μεθυλενίου

Δοκιμαστικοί σωλήνες

Σιφώνια 5 και 10 ml

Φασματοφωτόμετρο

1. Δίνεται πυκνό διάλυμα κυανού του μεθυλενίου που έχει παρασκευαστεί από διάλυση 5mg methylene blue σε 10 ml νερού.
2. Σε σειρά 10 δοκιμαστικών σωλήνων προσθέστε 10,9,8,7, ...,1 ml διαλύματος και στη συνέχεια προσθέστε νερό μέχρι τελικού όγκου 10 ml.
3. Μετρήστε την οπτική πυκνότητα στα 666 nm.
4. Σχεδιάστε την πρότυπη καμπύλη.
5. Χρησιμοποιώντας την πρότυπη καμπύλη να προσδιορίσετε τη συγκέντρωση των διαλυμάτων που θα σας δοθούν.

Βιβλιογραφία

<https://bcphysics180.wordpress.com/2015/01/12/day-61-onion-root-tip-lab/>

Allan Jones, Rob Reed and Jonathan; Practical skills in biology, Weyers. pp 292. Longman Scientific & Technical, England. 2016 (6^η έκδοση.)

Sadava, David E, Life: The Science of Biology. Sunderland, MA, Sinauer Associates, 2011. (11^η έκδοση)

Ευστράτιου Μ.Α. Εργαστηριακές σημειώσεις Βιολογίας, Μυτιλήνη 2001