الفصل الرابع

Chapter Four

حسابات امتصاص الغازات وتحررها من لدن الأنظمة البايولوجية

Measurements of Gas Uptake and Output by Biological System

مقدمة

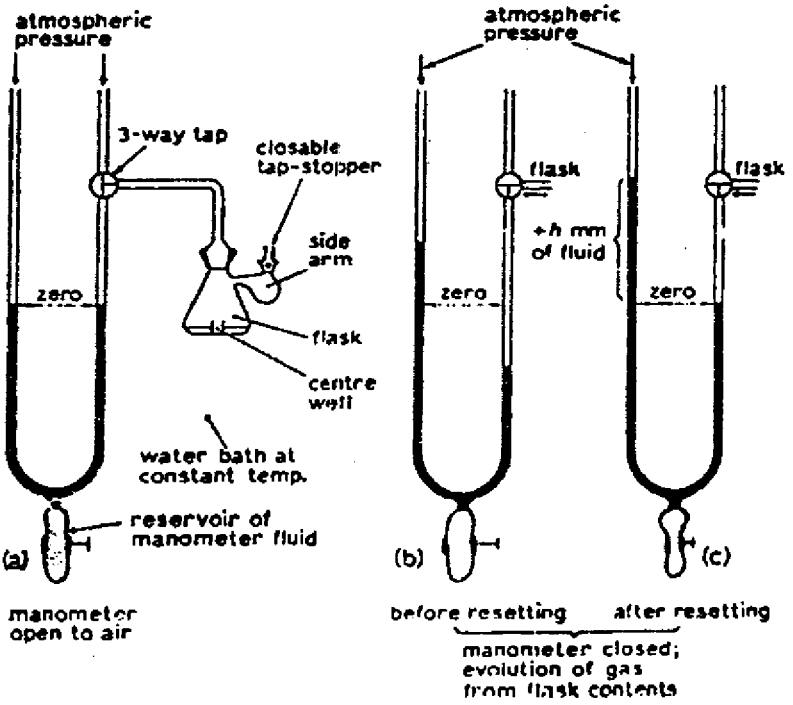
أن قياس حجم الغازات بدرجات الحرارة والضغط المختلفة وتحويل الحجـــم إلـــى تراكيز المولارية تعد من الحسابات المألوفة في البحوث الفسيولوجية.

١- طريقة المانوميتر ذو الضغط الثابت. وهي نقيس التغير في الحجم مع بقاء الضغط ودرجة الحرارة ثابتين.

٢- طريقة المانوميتر ذي الحجم الثابت. وهي تقيس التغير في الضغـط بينمـا يبقـي الحجم ودرجة الحرارة ثابتين.

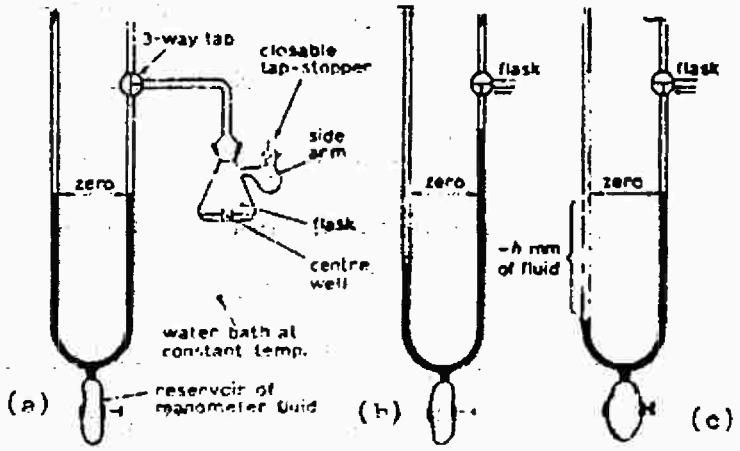
جهاز فاربرغ Warburg Apparatus

يعمل جهاز فابرغ بالطريقة الثابتة ويوضح الشكل المرقم (٤-١) تخطيطاً لجـهاز فاربرغ من ناحية تفاصيل مكوناته (شكل ٤- ١- a) وكذلك كيفية تثبيت الحجم.



شكل رقم (٤-١): توضيح عمل جهاز فاربرغ في حالة تحرر الغازات. عن: **Barrow, 1974**

فإذا ازداد الضغط نتيجة تحرر الغازات مما يسبب دفع السائل سفلياً في الذراع الأيمن للمانوميتر وارتفاع السائل في الذراع الأيسر (شكل ٤- ١- b) ويثبت الحجم بإرجاع السائل إلى العلامة صفر (zero) وذلك بضخ السائل الموجود في المخزن (Reservoir) كما في الشكل (٤- ١- c) ونقاس زيادة الضغط بـ (h +). أما في حالة انخفاض الضغط نتيجة امتصاص الغازات فتودي إلى ارتفاع السائل في الذارع الأيمن وانخفاض السائل في الذراع الأيسر (شكل ٤- ٢- b) ويثبت الحجم بإرجاع السائل إلى المخزن كما في شكل (٤- ٢- c) ويقاس انخفاض الضغط بـ (h-).



before

resetting after resetting

manometer closed: absorption of gas

شكل رقم (٤-٢): توضيح عمل جهاز فاربرغ في حالة امتصاص الغازات

عن Barrow, 1974

أما كيفية إجراء الحسابات بعد جمع المعلومات المتعلقة بالبحث لاجل قياس الضغط فتستلزم معرفة عامل ثابت يسمى ثابت المانوميتر Manometer Constant ولاجل

معرفة العامل الثابت يجب معرفة طبيعة الغاز الذي سيتغير ضغطه الجزئي في المانوميتر والدورق وكذلك درجة الحرارة وحجم السائل في الدورق. هذا وقد احتسبت قيمة العامل الثابت **Manometer Constant** كالآتي.

$$K = \frac{V(g)\left(\frac{273}{T}\right) + V_f \cdot \alpha}{P_o} \qquad \ldots.(١-٤)$$

حيث أن **K** هو العامل الثابت **Manometer Constant** وهو وحدة مجردة.

وأن V_g هو حجم الغاز الموجود في الفراغ بالسم^3.

وان **T** هي درجة الحرارة المطلقة للتجربة.

وان V_f هو حجم السائل في دورق المانوميتر بالسم^3.

وأن α هو معامل الامتصاص **Absorption Coefficient** للغاز المتبادل في محتويات السائل في دورق المانوميتر بدرجة حرارة **T**.

وان P_o هو الضغط الجوي الاعتيادي بالمليمتر في سائل المانوميتر وعادة يعمل السائل عندما يكون P_o يعادل **10000** مليمتر في سائل المانوميتر.

مثال (٤-١)

دورق مانوميتر فاربرغ (حجمه**23**سم^3 يكون متصلاً بالمانوميتر) يحتوي على**3** سم^3 من معلق البكتريا المجهزة بمادة التفاعل. واستعمل الجهاز في تتبع امتصاص الأوكسجين من الهواء عندما يوضع المعلق على درجة حرارة **37** م وكذلك تتبع تحرير النتروجين من النترات بدرجة حرارة **30** م° احسب ثابت المانوميتر لهاتين التجربتين علماً بأن αO_2 بدرجة حرارة **310** كالفن هي **0.024** وأن αN_2 بدرجة حرارة**303** كالفن هي **0.013**. وأن V_f هو $3 \times 10^3 mm$.

الحل

١- بالنسبة لامتصاص الأوكسجين تستعمل المعادلة المرقمة (٤-١) وهي:

$$K = \frac{(V_g)\left(\frac{273}{T}\right) + V_f \cdot \alpha}{P_o}$$

حيث أن K مجهولة.

$23 - 3 = 20\ cm^3$

$(20 \times 10^3\ mm)\ 20 \times 1000\ mm$

وأن V_g هي

وأن T هي 310K

وأن P هو 10000

وأن V_f هو $(3 \times 10^3 mm)\ 3\ cm^3 = 3 \times 1000\ mm$

وأن α هي 0.024

وعند التعويض يحصل؛

$$K = \frac{(20 \times 10^3)\left(\frac{273}{310}\right) + (3 \times 10^3)\ (0.024)}{10 \times 10^3}$$

$$K = \frac{(10^3)\left(20 \times \frac{273}{310} + 3 \times 0.024\right)}{10^3 \times 10}$$

وبعد إجراء العمليات الحسابية ينتج الآتي:

$K = 1.767$

ب- بالنسبة لتحرير النتروجين تستعمل نفس المعادلة المرقمة (٤-١) وبما أن؛ $\alpha = 0.013$

وأن $V_g = 20 \times 10^3\ mm$

وأن T هي 303 K

وأن P_o هو 1000

وأن V_o هو 3×10^3

وعند التعويض يحصل الآتي:

$$K = \frac{(20 \times 10^3)\left(\frac{273}{303}\right) + (3 \times 10^3)\,(0.013)}{10 \times 10^3}$$

وبعد إجراء العمليات الحسابية يكون $K = 1.806$

حساب حجم أو كمية المادة المنتجة أو المستهلكة في دورق فاربرغ

أن كمية أو حجم الغاز المنتجة أو المستهلكة في دورق مانوميتر فاربرغ خلال مدة معينة من الوقت تحتسب من المعادلة الآتية:

$$V = (h)\,(K) \qquad \ldots(٢-٤)$$

حيث أن V هو حجم الغاز المتبادل بالمليمتر المكعب بالظروف القياسية

وأن h هي المسافة بالمليمتر التي يتحرك فيها السطح المقعر للسائل miniscus في الجهة اليسرى من المانوميتر.

وأن K هو ثابت المانوميتر.

ومما يذكر أنه إذا كان h ذا قيمة سالبة (أي السائل في المانوميتر ينزل في الذراع اليسرى) فان V تمتلك أيضاً قيمة سالبة تساوي حجم الغاز بالمليمتر المكعب (بالظروف القياسية) المأخوذة من الدورق.

أما إذا كان h ذا قيمة موجبة فانV تمتلك قيمة موجبة تساوي حجم الغاز بالمليمتر المكعب (بالظروف القياسية) المنتجة في الدورق.

وبما أن المايكرومول الواحد من الغاز في الظروف القياسية يشغل 22.4 مليمتر مكعب فأن الـ $\frac{V}{22.4}$ تساوي عدد المايكرومولات المنتجة أو المستهلكة ضمن دورق مانوميتر فاربرغ.

مثال (٤-٢)

أن القراءات الآتية قد استحصلت من ثلاثة مانومترات وضعت بدرجة حرارة **30م°** وحاوية في داخل دوارقها (معرضة للهواء) علي:

١- **3** سم^{3}محلول **Buffer** أو ما يسمي **Thermbarometer**.

٢- معلق البكتريا في **2.8** سم^3 محلول **Buffer** **(20** ملغم وزن جاف للبكتريا) مع **0.2** سم^{3}من محلول **KOH** **(4 mol/ dm^3)** في الحوض الوسطي.

٣- كالحالة الثانية ولكن مع إضافة **0.1** سم^{3}من محلول مائي لخلات الصوديوم المدخل في الذراع الجانبي في وقت الصفر وكذلك مع معلق البكتريا الحاوي على نفس الكمية من البكتريا **2.7** سم^3 من محلول **Buffer**.

الوقت دقيقة	المانوميتر		
	1	2	3
صفر	29	130	145
5	27	123	115
10	29	120	86
15	30	116	55
20	28	109	24
25	28	104	19
30	27	99	14

احسب ما يأتي:

أ- QO_2 لأكسدة الخلات بمعلق البكتريا علماً بان QO_2 تعني **($mm^3$of O_2/ mg dry weight of bacteria/ hour)**.

ب- كمية الخلات المضافة (مفترضاً حدوث الأكسدة الكاملة).

الحل

تتبع الخطوات الآتية:

أ- حساب الاختلاف في قراءة الـ **Thermobarometer** كما في الجدول المرقم

(٤-١).

ب- حساب الفروقات في الوقت في المانوميترين الاخرين ووضع الناتج في الحقل المعلم **(i)**.

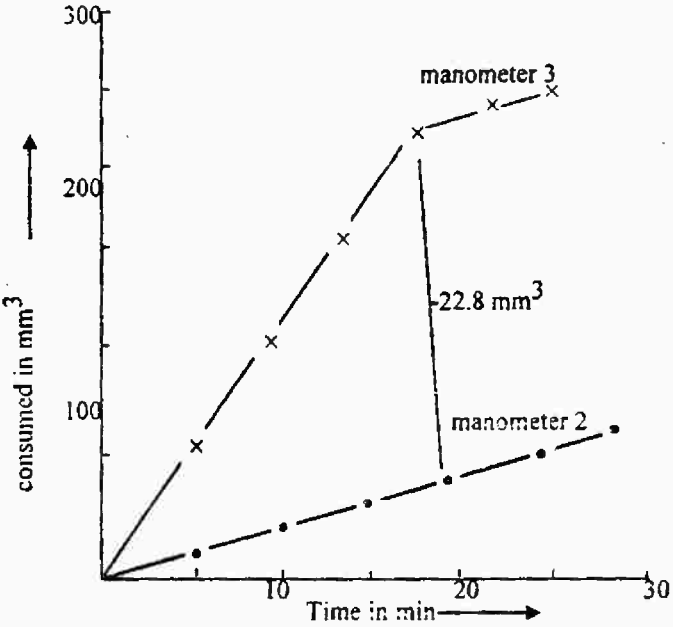
جـ- طرح فروقات الـ **Thermobarometer** أ مما يتعلق بها في ب وترتيب النتائج في الحقل **(ii)**.

د- ضرب قيمة اختلافات الحجوم الناتجة في العمود أو الحقل **(ii)** في قيم الثوابت**(k)** وترتيب النتائج في الحقل **(iii)**.

هـ- جمع فروقات الحجوم الناتجة من الحقل **(iii)** لتعطي التغير الكلي في حجم الغاز كما في العمود **(iv)**.

و- رسم خط بياني لتبادل الغاز في كل مانوميتر واضعاً التغير الكلي في حجم الغاز (مليمتر مكعب بالظروف القياسية) مع الوقت كـ ا في الشكل المرقم (٤-٣).

ومن هذا المنحنى البياني يتضح بأن استهلاك الأوكسجين في المانوميتر **(2)** قليلاً ولكن يتقدم بصورة ثابتة بسبب التنفس الداخلي لمعلق البكتريا. بينما استهلاك الأوكسجين السريع في المانوميتر **(3)** يتوقف بعد **20** دقيقة.



شكل رقم (٤-٣): المنحنى البياني لامتصاص الأوكسجين مع الوقت بغياب مادة التفاعل ووجود مادة التفاعل (x- x) عن: **Morris, 1974**

وعندما تتأكسد كل الخلايا ثم ينخفض استهلاك الأوكسجين لمستوى استهلاك الأوكسجين في المانوميتر (2).

وعند افتراض أن التنفس الداخلي يستمر بصورة ثابتة أثناء استهلاك الخلايا فان امتصاص الأوكسجين الحقيقي بسبب أكسدة الخلايا يعادل الفرق بين حجوم الغازات المستهلكة في نهاية 20 دقيقة في المانوميتر (2) و(3). وهذا يعادل 228 مليمتر مكعب بالظروف القياسية (من الشكل) علماً بان CO_2 المنتج بالتنفس تمتصه KOH الموجودة في حوض الوسط للدورق وعند حدوث الأكسدة الكاملة كما في المعادلة الآتية:

جدول رقم (٤-١) قراءات الاختلافات في المانومترات والـ Thermobarometer. عن:
Morris, 1974

Time/ min	Thermobarometer Reading	Change	Manometer 2 (K –1.98) Reading	i	ii	iii	iv
0	29	–	130	–	–	–	–
5	27	-2	123	-7	-5	-10	-10
10	29	-2	120	-3	-5	-10	-20
15	30	1	116	-4	-5	-10	-30
20	28	-2	10 9	-7	-5	-10	-40
25	28	0	104	-6	-5	-10	-50
30	27	-1	99	-6	-4	-8	-68

Time/ min	Thermobarmeter Reading	Change	Manometer 3 (K– 2.23) Reading	I	ii	iii	iv
0	29	–	145	–	–	–	–
5	27	-2	115	-30	-28	63 _	-63
10	29	2	86	-29	-31	69 _	-132
15	30	1	66	-31	-32	71 _	-203
20	28	-2	24	-31	-29	65 _	-268
25	28	0	19	-5	-5	10 _	-278
30	27	-1	14	-5	-4	-8	-286

$$CH_3COOH + 2O_2 \rightarrow 2CO_2 + 2H_2O \quad \ldots(٤-٣)$$

فان أكسدة المايكرومول الواحد من الخلات تستهلك مايكرومولين من الأوكسجين.

أ- حساب QO_2 لأكسدة الخلات

نلاحظ أن **20** ملغم من الوزن الجاف للبكتريا استهلكت **228** مليمتر مكعب من الأوكسجين فترة **20** دقيقة.

$$QO_2 = 228 \times \frac{1}{20} \times \frac{60}{20} = 34.2 \text{ mm}^3/\text{mg/hr}$$

ب- حساب كمية الخلات المضافة

أن المايكرومول الواحد من الأوكسجين يشغل **22.4** مليمتر مكعب بالظروف القياسية وان **2** مايكرومول يشغل **44.8** مليمتر مكعب.

كل **1** مايكرومول من الخلات تحتاج **44.8** مليمتر مكعب.

$$x = \frac{1 \times 228}{44.8} = 5.09 \text{ micromole of acetate}$$

مايكرومول خلات

أي نحتاج إلى حوالي خمسة مايكرومولات من خلات الصوديوم لمعلق البكتريا في الدورق **(3)**.

الأسئلة

(٤-١) أن العاملين تحت الماء يتنفسون الهواء تحت ضغط اعلى من الضغط الجوي. وإذا رجعوا إلى السطح بسرعة فان النتروجين المذاب بدمهم (بسبب الضغط العالي) سوف يخرج من محلول الدم ويؤدي إلى تكوين فقاعات في مجري الدم مسببا بعض الأمراض. إلا ان الخروج البطيء إلى سطح الماء او استعمال الغرف الحاوية على الضغط لمعادلة الضغط في قاع البحر سيعطي الوقت الكافي للتخلص من النتروجين المذاب.

احسب حجم النتروجين المتحرر من بلازما الدم للذين رجعوا إلى الضغط الجوي المعادل **101.3 K Pa** بعد التعويض الطويل للهواء الجوي وغوص ماعمقه **270** من الماء علما بان **Absorption Coefficient** للنتروجين هو **0.012** وان معدل حجم بلازما الدم للرجل هو **(3.2 dm^3) (3.2 liter)** وان ضغط المتر الواحد من الماء هو **9.807 KPa**. وان الهواء يحتوي على **78%** نتروجين.

(٤-٢) تحت الظروف غير الهوائية فان معلق البكتريا المسماة **Micrococcus denitrifican** سوف يختزل النترات إلى غاز النتروجين وإذا ما جهزت بكفاية من المادة القابلة للتأكسد مثل الـ **Succinate** حسب المعادلة الآتية:

$$2NO^-_3 \rightarrow N_2 + 2OH^- + 4H_2O \qquad (٤-٤)$$

ان **200** سم^3 من معلق البكتريا المغسولة قد جهز بكفاية من الـ **Succinate** و**0.25 mole** نترات ووضعت في درجة حرارة **303** كالفن في قنينة مغلقة سعتها **2dm^3 (2liter)** والحاوية في البداية على النتروجين الجوي الخالي من الأوكسجين بضغط قدره **100 KPa** ما هو الضغط النهائي للغاز في هذه القنينة بعد الاختزال الكامل للنترات مفترضا عدم ذوبان النتروجين في وسط الزراعة.

(٤-٣) أن دورق مانوميتر فاربرغ يحتوي على **0.4** سم^3 من محلول **Potassium Freeicyanide (0.1 mole/ liter)** و**0.4** سم^3 من محلول **NaOH 4 mole/ liter**

و**1.2** سم^3 من الماء.

وفي الذراع الجانبي للدورق وضع **0.5** سم^3 من محلول مشبع لمادة**Hydrazine Sulphate** و**0.5** سم^3 من محلول **NaOH 4 mole/ liter** بعد التوازن البدائي بدرجة حرارة **303 K** وجعل المانوميتر في حالة تحرر الغاز فان محتويات الذراع الجانبي قد شدت إلى الدورق الرئيسي ومن ثم اكتمل التفاعل بدقائق قليلة عندما ازدادت قراءة المانوميتر إلى **103** مليمتر وفي الوقت نفسه فان قراءةالـ**Thermobarometer** قلت بـ **2** مليمتر. احسب ما يأتي:

أ- ثابت المانوميتر**K** للنتروجين بدرجة حرارة **303** كالفن.

ب- ثابت المانوميتر**K** للنتروجين بدرجة حرارة **298** كالفن علما بان مادة**Potassium Ferricyanide** تؤكسدة مادة **Hydrazine** بالمحلول القلوي ليعطي غاز النتروجين حسب المادة الآتية:

$$4\,Fe(CN)_6^{-3} + {}^{-2}N_2H_4 \rightarrow N^\circ_2 + 4H^+ + 4Fe(CN)_6^{-4} \quad \ldots(٥-٤)$$

وان الـ **Absorption Coefficient** (α) للنتروجين بدرجة حرارة **303K** هي **0.0134** وان(α) لثاني اوكسيد الكاربون بدرجة حرارة **298** هي **0.759** وان**P°** هي **1000 mm**.

(٤-٤) ان حامض البايروفيك **Pyruvic Acid** قد يكتشف بالمانوميتر اثناء فقدان مجموعة الكاربوكسيل **Decarboxylation** بطريقة انزيمية وفي الـ**pH** المعادل لـ **(5)** كما يأتي:

$$CH_3 - \overset{O}{\overset{\parallel}{C}} - COOH \xrightarrow[\text{decarboxylase}]{\text{yeast}} CO_2 + CH_3CHO \quad \text{ان} \quad \ldots(٦-٤)$$

0.5سم^3 محلول الـ **Pyruvate** بتركيز مجهول قد وضعت في دورق المانوميتر

الحاوي على **2.5**سم^3 من الخميرة **yeastdecarboxylase** في محلول**Acetate Buffer** في الـ**pH** المعادل **(5)** واثناء حدوث التفاعلات تحت النتروجين بدرجةحرارة**303** كالفن فان خروج **CO_2** يسبب زيادة في قراءة المانوميتر بطول**110mm**. أما قراءة **Themobarometer** فقد قلت بواقع **7mm** بالوقت نفسه.

احسب تركيز الـ **Pyruvate** في المحلول علما بان الحجم في دورق المانوميتر مع الذراع يعادل **22.5**سم^3 وان α لثاني اوكسيد الكاربون بدرجة حرارة **303** كالفن تعادل **0.665**.