

## **الفصل الرابع**

### **Chapter Four**

**حسابات امتصاص الغازات وتحررها من لدن**

**الأنظمة البيولوجية**

**Measurements of Gas Uptake and Output by  
Biological System**

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

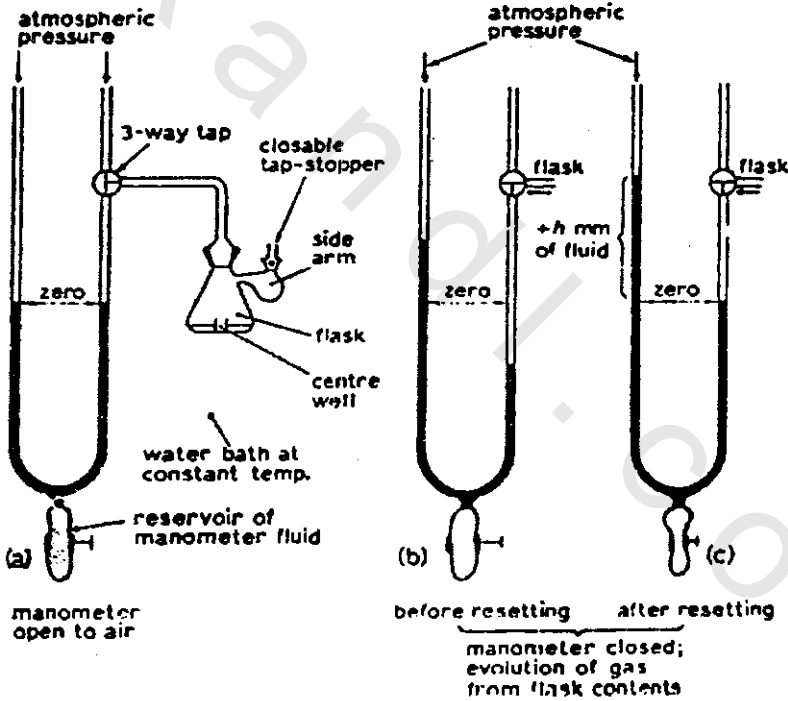
١- طريقة المانوميتر ذو الضغط الثابت. وهي تقيس التغير في الحجم مع بقاء الضغط ودرجة الحرارة ثابتين.

٢- طريقة المانوميتر ذي الحجم الثابت. وهي تقيس التغير في الضغط بينما يبقى الحجم ودرجة الحرارة ثابتين.

### جهاز فاربرغ Warburg Apparatus

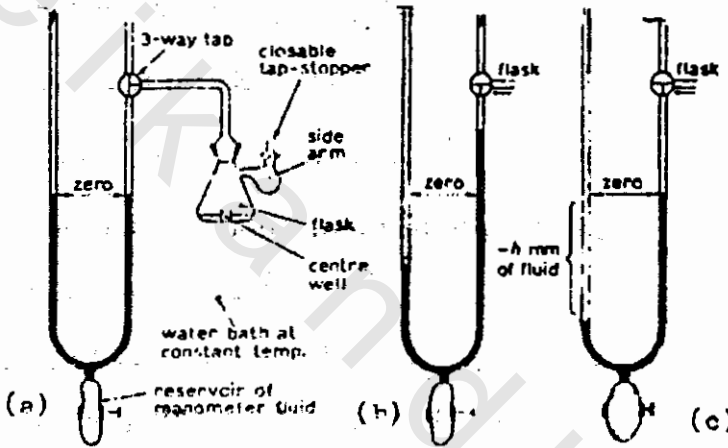
يعمل جهاز فاربرغ بالطريقة الثابتة ويوضح الشكل المرقم (٤-١) تخطيطاً لجهاز

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,

فإذا ازداد الضغط نتيجة تحرر الغازات مما يسبب دفع السائل سفلياً فسي انخفض الأيمن للمانوميتر وارتفاع السائل في الذراع الأيسر (شكل ٤-١-ب) ويثبت الحجم بإرجاع السائل إلى العلامة صفر (zero) وذلك بضخ السائل الموجود في المخزن (Reservoir) كما في الشكل (٤-١-ج) وتُقاس زيادة الضغط بـ (+h). أما في حالة انخفاض الضغط نتيجة امتصاص الغازات فتؤدي إلى ارتفاع السائل في الذراع الأيمن وانخفاض السائل في الذراع الأيسر (شكل ٤-٢-ب) ويثبت الحجم بإرجاع السائل إلى المخزن كما في شكل (٤-٢-ج) 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** ولأجل

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.

$$K = \frac{V(g) \left( \frac{273}{T} \right) + V_f \cdot \alpha}{P_0} \quad \dots(1-4)$$

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

وأن  $V_0$  هو حجم الغاز الموميود في الفراغ بالسلم  $^3$ .

وأن  $T$  هي درجة الحرارة المطلقة للتجربة.

وأن  $V_f$  هو حجم السائل في دورق المانوميتر بالسلم  $^3$ .

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

وأن  $P_0$  هو الضغط الجوي الاعتيادي بالمليمتر في سائل المانوميتر. وعادة يعمل السائل عندما يكون  $P_0$  يعادل 10000 ملليمتر في سائل المانوميتر.

مثال (1-4)

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 $^{\circ}$  احسب ثابت المانوميتر لهاتين التجريبتين علماً بأن  $O_2$  بدرجة حرارة 310 كالفن هي 0.024 وأن  $N_2$  بدرجة حرارة 303

كالفن هي 0.013. وأن  $V_f$  هو  $3 \times 10^3$  mm

الحل

1- بالنسبة لامتصاص الأوكسجين تستعمل المعادلة المرقمة (1-4) وهي:

$$K = \frac{(V_g) \left( \frac{273}{T} \right) + V_f \cdot \alpha}{P_0}$$

حيث أن K مجهولة.

$$23 - 3 = 20 \text{ cm}^3$$

$$(20 \times 10^3 \text{ mm}) 20 \times 1000 \text{ mm}$$

وأن  $V_g$  هي

وأن T هي 310K

وأن P هو 10000

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

وأن  $\alpha$  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 لتحريير النتروجين تستعمل نفس المعادلة المرفقة (٤-١) وبما أن  $\alpha = 0.013$

$$20 \times 10^3 \text{ mm} = V_g$$

وأن T هي 303 K

وأن  $P_0$  هو 1000

وأن  $V_f$  هو  $3 \times 10^3$

وعند التعويض يحصل الآتي:

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

$$K = 1.806$$

وبعد إجراء العمليات الحسابية يكون

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:

$$V = (h) (K)$$

$$\dots(2-4)$$

حيث أن  $V$  هو حجم الغاز المتبادل بالمليتر المكعب بالظروف القياسية

وأن  $h$  هي المسافة بالمليتر 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) فإن  $V$  تمتلك أيضاً قيمة سالبة تساوي حجم الغاز بالمليتر المكعب (بـالظروف  
القياسية) المأخوذة من الدورق.

أما إذا كان  $h$  ذا قيمة موجبة فإن  $V$  تمتلك قيمة موجبة تساوي حجم الغاز بالمليتر المكعب  
(بـالظروف القياسية) المنتجة في الدورق.

وبما أن المايكرومول الواحد من الغاز في الظروف القياسية يشغل 22.4 مليتر مكعب  
فإن 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 دولرقها (معرضة للهواء) على:

١- 3 سم<sup>٣</sup> محلول Buffer أو ما يسمى Thermbarometer.

٢- معلق البكتريا في 2.8 سم<sup>٣</sup> محلول Buffer (20 ملغم وزن جاف للبكتريا) مع

0.2 سم<sup>٣</sup> من محلول KOH (4 mol/ dm<sup>3</sup>) في الحوض الوسطي.

٣- كالحالة الثانية ولكن مع إضافة 0.1 سم<sup>٣</sup> من محلول مسائي لخلات الصوديوم  
المدخل في الذراع الجانبية في وقت الصفر وكذلك مع معلق البكتريا الحلوي على

نفس الكمية من البكتريا 2.7 سم<sup>٣</sup> من محلول Buffer.

الوقت  
دقيقة

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

احسب ما يأتي:

أ-  $QO_2$  لأكسدة الخلات بمعلق البكتريا علماً بأن  $QO_2$  تعني  $mg$  /  $mm^3$  of  $O_2$

.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

(١-٤).

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

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

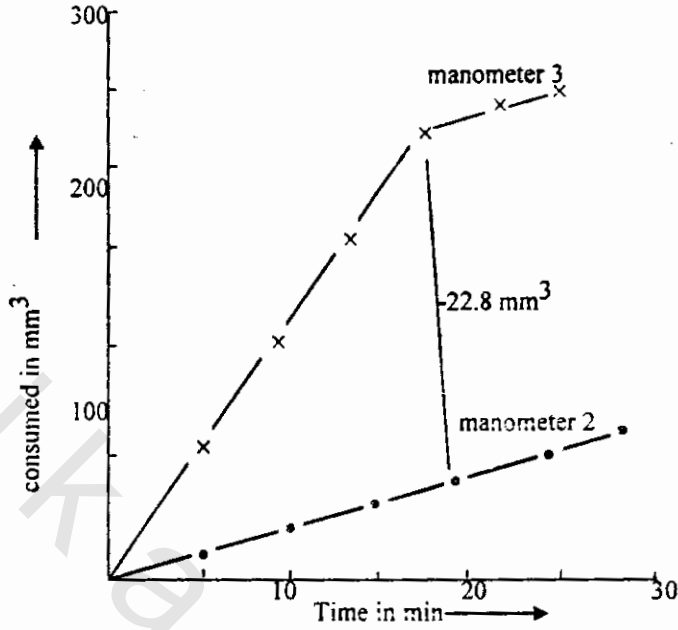
د- ضرب قيمة اختلافات الحجم الناتجة في العمود أو الحقل (ii) في قيم الثوابت (k) وترتيب النتائج في الحقل (iii).

هـ- جمع فروقات الحجم 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 كما 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 (٣-٤): المنحنى البياني لامتصاص الأوكسجين مع الوقت بغياب مادة التفاعل  
 ووجود مادة التفاعل (x-x) عن: Morris, 1974

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

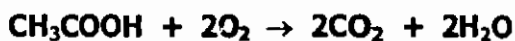
وعد افتراض أن التنفس الداخلي يستمر بصورة ثابتة أثناء استهلاك الخلايا فإن  
 امتصاص الأوكسجين الحقيقي بسبب أكسدة الخلايا يعادل الفرق بين حجوم الغازات  
 المستهلكة في نهاية 20 دقيقة في المانوميتر (2) و (3). وهذا يعادل 228 ملليمتر مكعب  
 بالظروف القياسية (من الشكل) علماً بأن  $CO_2$  المنتج بالتنفس تمتصه  $KOH$  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	109	-7	-5	-10	-40
25	28	0	104	-6	-5	-10	-50
30	27	-1	99	-6	-4	-8	-68

Time/ min	Thermobarometer 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



....(٣-٤)

فان أكسدة المايكرومول الواحد من الخلايا تمتهلك مايكرومولين من الأوكسجين.

أ- حساب  $QO_2$  لأكسدة الخلايا

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

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

ب- حساب كمية الخلايا المضافة

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

كل 1 مايكرومول من الخلايا تحتاج 44.8 ملليمتر مكعب.

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

مايكرومول خلايا

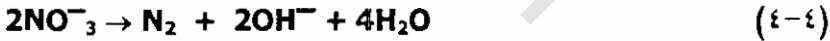
أي نحتاج إلى حوالي خمسة مايكرومولات من خلايا الصوديوم لمعلق البكتريا في النورق (3).

## الأسئلة

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

لحسب حجم النتروجين المتحرر من بلازما الدم للذين رجعوا إلى الضغط الجوي المعادل  $101.3 \text{ K Pa}$  بعد التعويض للطويل للهواء الجوي وغوص ماعقه  $270$  من الماء علما بأن **Absorption Coefficient** للنتروجين هو  $0.012$  وأن معدل حجم بلازما الدم للرجل هو  $(3.2 \text{ dm}^3)$   $(3.2 \text{ liter})$  وأن ضغط المتر الواحد من الماء هو  $9.807 \text{ KPa}$ . وأن الهواء يحتوي على  $78\%$  نتروجين.

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



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

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

و1.2 سم<sup>3</sup> من الماء.

وفي الذراع الجانبي للدورق وضع 0.5 سم<sup>3</sup> من محلول مشبع لمادة **Hydrazine**

**Sulphate** و0.5 سم<sup>3</sup> من محلول **NaOH 4 mole/ liter** بعد التوازن البدائي بدرجة حرارة 303 K وجعل المانوميتر في حالة تحرر الغاز فان محتويات الذراع الجانبي قد شنت إلى الدورق الرئيسي ومن ثم اكتمل التفاعل بدقائق قليلة عندما ازدادت قراءة المانوميتر إلى 103 ملليمتر وفي الوقت نفسه فان قراءة الـ **Thermobarometer** قلت بـ 2 ملليمتر. احسب ما يأتي:

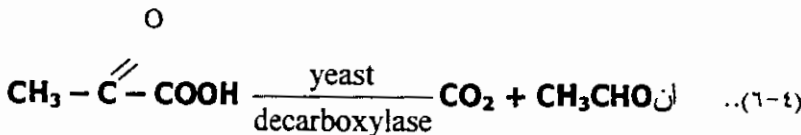
أ- ثابت المانوميتر K للنتروجين بدرجة حرارة 303 كالفن.

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:



وان الـ **Absorption Coefficient** ( $\alpha$ ) للنتروجين بدرجة حرارة 303K هي 0.0134 وان ( $\alpha$ ) لثاني اوكسيد الكربون بدرجة حرارة 298 هي 0.759 وان  $P^\circ$  هي 1000 mm.

(5-4) ان حامض البايروفيك **Pyruvic Acid** قد يكتسب بالمانوميتر اثناء فقدان مجموعة الكربوكسيل **Decarboxylation** بطريقة انزيمية وفي الـ pH المعادل لـ (5) الآتي:



0.5 سم<sup>3</sup> محلول الـ **Pyruvate** بتركيز مجهول قد وضعت في دورق المانوميتر

الحاوي على 2.5 سم<sup>3</sup> من الخميرة yeastdecarboxylase في محلول Acetate Buffer في الـ pH المعادل (5) واثناء حدوث التفاعلات تحت التروجين بدرج حرارة 303 كالفن فان خروج CO<sub>2</sub> 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 ورق المانوميتر مع الذراع يعادل 22.5 سم<sup>3</sup> وان  $\alpha$  لثاني اوكسيد الكربون بدرجة حرارة 303 كالفن تعادل 0.665.