Lab (1) : التعرف على الاجهزه المختبريه

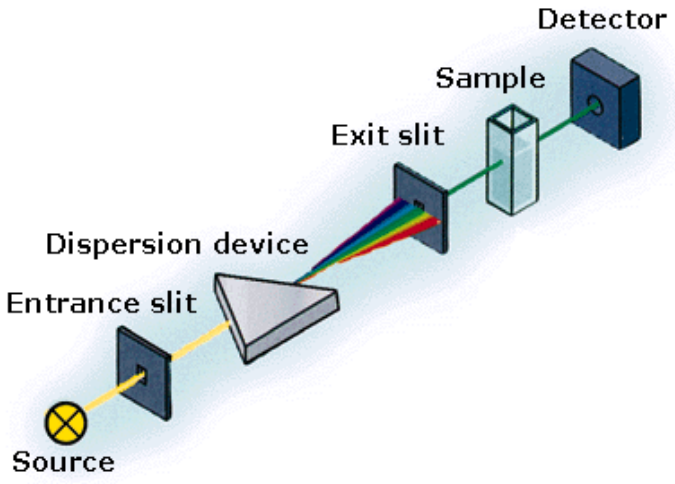
Spectrophotometerالمطياف

يستعمل لقياس مقدار الضوء الممتص من قبل العينه ،يقوم المطياف بفصل الضوء الى عده حزم ضوئيه قسم منها يعبر خلال العينه وبها يقاس ضمن طول موجي معين ويقدر عندها مقدار الضوء الممتص نوع الامتصاص وكميته يمكننا من معرفه نوع المواد لان كميه الامتصاص لها علاقه بالتركيز

Photometer (sometime known as colorimeter) and spectrophotometer are the instruments that use light in measurement.

Principles of Spectrophotometery بادئ المطياف

أيspectrophotometer يَشْملُ آلتين،كلمه spectrometer aتعني لإنْتاج ضوءِ أيّ لون مختار (طول موجة)، و photometer aلقياس كثافةِ الضوءِ



- **There Are Two Class Of Spectrophotometer**

أ- مطياف ذو الشعاع لوحيد Single beam يَعْبرُ كُلّ الضوء العيّنة(all light pass through sample)

ب- مطياف ذوالشعاع المضاعف Double beam (تَعْبرُ إشارةَ العيّنةً reference pass through sample))

أساس المكوّناتِ Basic of components

١. **مصدر الضوء(Light source)هو المصدرُ الذي يَبْعثُ الطاقةَ المتألقةَ لتحديد الضوء ونوعيته**
في photometer تستعمل عاده لمبه تنجستنِ (tungsten lamb)الذي يَبْعثُ طيف مستمر مِنْ الضوءِ ضمن المدى المرئي (٤٠٠ – ٧٦٠ نانوميتر)

١. **<u>من مساوئ هذا النوع</u>**
هو لا يُجهّزُ طاقةَ متألقةَ كافيةَ للمقياسِ تحت ٤٠٠ nm لذا لا مقياسَ يو في يُمْكِنُ أَنْ تُعْمَلَ في photometer
في spectrophotometer هو نستعمل عاده الهلوجينُ أوالديتريم Deuterium الذان يَبْعثانِطيف مستمر مِنْ الضوءِ في المرئي والمدى يو في (١٩٨ – ١٠٠٠نانوميتر)
شقّ المدخلِ:Entrance slit
يستعمل هذا الجزءِ في مرورالشعاع الرفيع جداً مِنْ الضوءِ ويَعْبرُه إلىmonochromator
Monochromator موشور:هو يُستَعملُ لعَزْل طولِ الموجةِ المعيّنِ مِنْ مصدرِ الضوء.
في photometer تستعمل مرشحاتِ زجاج بصريه لإعْطاء الأحادية اللونِ الضوء

المرشحاتFilter
تمتص المرشحات بَعْض أطوالِ الموجة وتَسْمحُلتشكيلة واسعة نسبيأَمن الاأطوالِ الموجية بالمرور
المُلاحظة: إنّ لونَ المرشِحِ مكمّلُ عادة إلى لونِ السائل العابر

في الspectrophotometer الموشورَ يُستَعملِ لإعْطاء الضوءِ الأحادي اللونِ مِنْ طولِ موجةِ مُعَرَّفِ واحد طولَ موجة مُعَرَّفَ واحد.

موشورات *Prisms*

أي موشور يمكن أن يُستَعملَ للحُصُول على أحادي اللونِ (لون وحيد) الضوءِحيثيستعمل شقّ –ذو فتحه ضيقه تَسْمحُ فقطلكمية صغيرة مِنْ الطيفِ بالعُبُور ويُحسّنُ نقاوتَه اللونيةَ.
يُستَعملُ لعَزْل شعاعَ الضوءِ

- **<u>خلية الإمتصاصAbsorption cell (cuvets)</u>**

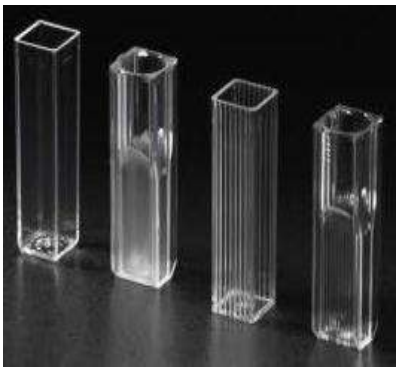
نوع مِنْ زجاجياتِ المختبرِ (إنبوب صغير ذات المقطع العرضي الدائري أَو المربّع وصمّمَ لحَمْل العيناتِ لتجاربِ spectroscopic.. الcuvete المربع موصّى بهُ للعملِ الأكثرِ دقّةً لان السطحَ المستويَ لانه يسمح لمرور اسم من الضوء

- انواع الcuvets

هناك ثلاثة أنواعِ مختلفةِ لcuvettes مستعملة عموماً، بأطوالِ الموجة الصالحة للإستعمالِ المختلفةِ : **(cuvets)**

.

1. **Glass, with a wavelength from 380 to 780 nm (visible spectrum)**
2. **Plastic, with a wavelength from 380 to 780 nm (visible spectrum)**
3. **Quartz, with a wavelength below 380 nm (ultraviolet spectrum)**

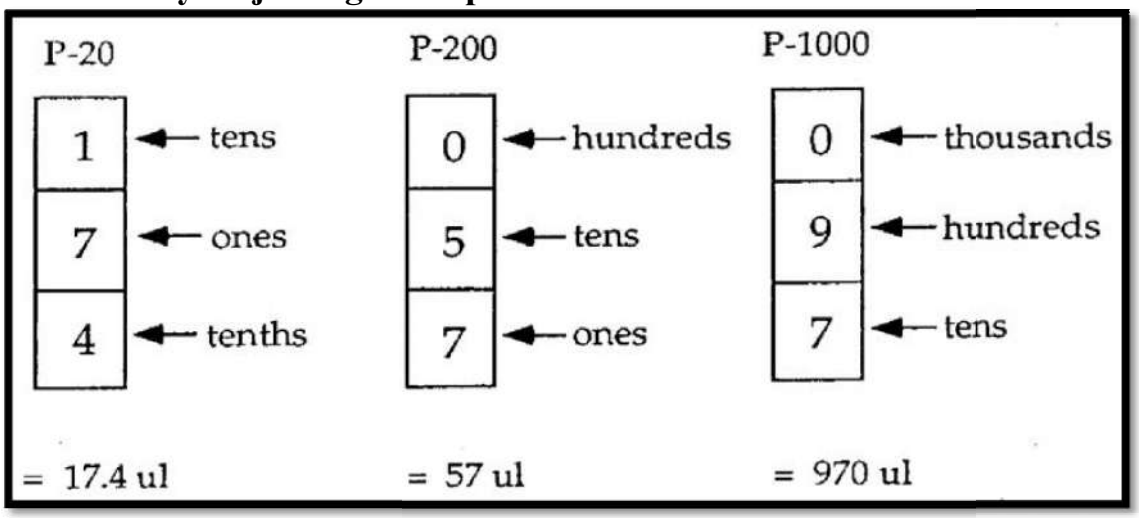


ملاحظه:لان مدى طول موجة الضوءِ في الاشعه فوق البنفسجي مِنْ ٣٤٠ nm أَو أقل فانه لايَمْرُّ بالكاد من خلالِ الخلية الزجاجية، لذا هو لا يُمْكن أنْ يُستَعملَ لقياسِ مد *UV*.

الماصات ومهاره السحب بالماصه(Micropipettors And Pipetting Skills):

هي أكثر المهاراتِ الأساسيةِ في عِلْمِ الأحياء الجزيئي. لانه نحن يَجِبُ أَنْ نَقِيسَ كمياتَ صغيرةَ جداً بدقّة في أغلب الأحيان،لذا فالإستعمال الصحيح لmicropipettors أحد أهم المهاراتِ التي يجب ان نتعلمها .
الماصات لها مصادر مختلفه من المنتجات لذا لاتبدو متشابهه. على أية حال، اذا تعلمنا كَيفَ تَستعملُ واحد بشكل صحيح من السّهلِ عادة فَهْم استعمال باقي الانواع آلاخرى لانه نفس المبادئِ الأساسيةِ تستعمل للعديد مِنْ نماذجِ pipettor. رقم تحت المعارضِ عِدّة micropipettors مشترك.
عاده على راس الماصه يوجد حجم الكميه المكن سحبها من السائل فيها زحيث لكل ماصه مدى معين من الحجم وهو رقم حرجCRITICAL . يوجد (P-number) وهو يشير الى اقصى حجم من uL ممكن سحبه بهذه الماصه مثلا (P200 uL- 20 uL) يسحب من العشرين الى مائتين ماكرو ليتر ولايسحب لااقل ولا اكثر منها هذا بالنسبه للماصه التحركه اما الماصه الثابته
فيكتب عليها مثلا p1000 فتسحب فقط الف مايكروليتر .

2. Correctly Adjusting the Pipettors

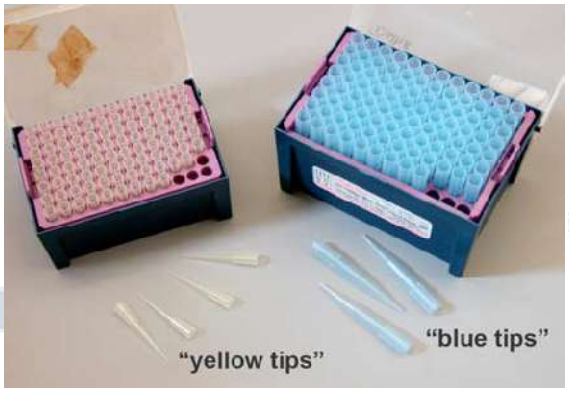


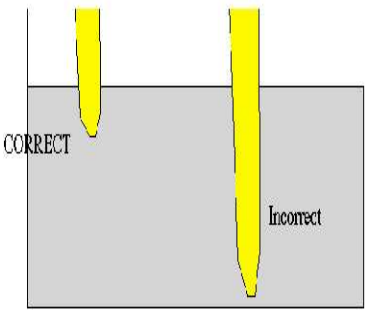
Type of tip of pipette نوع رأسِ الماصّةِ

١- الاصفر Yellow tip:- used in both P20 ,P200

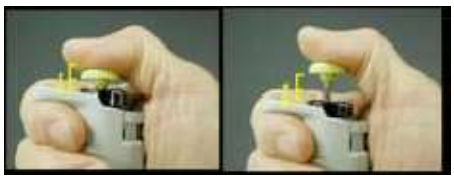
٢- الازرقBlue tip used in p200

٣- الابيضWhit tip less than P20



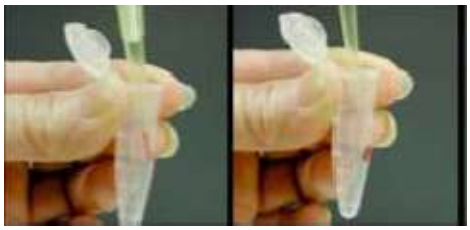


- **How to removal and ejection a sample**


Removing a sample

سحب العينه

Ejecting a sampleقذف العينه



جهاز الطرد المركزيCentrifuge

طارد مركزي a أداة لفَصْل الجزيئاتِ مِنْ السائل طبقاً لحجمِهم، شكل، كثافة، لزوجة سرعةِ الدوّارَ والوسطَ المستعملحيث ان الجزيئات التي كثافتهم أعلى مِنْ تلك مِنْ كثافه السائل سوف تصبح بشكل (راسب sink (sediment))، والجزيئات التي أخف منه تطوف الى الاعلى float. الإختلاف في الكثافةِ يؤدي لفَصْل الجزيئاتِ المُخْتَلِفةِ حيث الجاذبيه ممكن انتستبدل ب "قوة الطرد المركزية" القويَّة الأكثر بكثير زوّدتْ مِن قِبل طارد مركزي

, gravity can be replacedwith the much more powerful "**centrifugal force**"provided by a centrifuge.

جهاز الطرد المركزي مكون من
1-Motor 2-Drive shift 3- rotor

اسس الفصل لجهاز الطرد المركزيBasis of separation:

١. الحجمSize
٢. -الشكلShape
٣. -الكثافه Density

جهاز الطرد المركزي يمكن تقسيمه اعتمادا على

- **الشكل Depended On Size**

١. كبير Larger (simply Centrifuge)
٢. صغيرSmaller(micro Centrifuge)

- **اعتمادا على السرعهDepended on speed**

- قليل السرعهLow speed Centrifuge(4000-5000 rpm,RCF3000xg)
- ذو السرعه العاليهHigh –speed Centrifuge(12000-15000 rpm,11000-12000xg)
- ذو سرعه عاليه جداUltra Centrifuge(100000rpm,54000xg)

انابيب جهاز الطرد المركزيMicrocentrifuge tubeاوEppendorf tube

حاوياتَ بلاستيكيةَ إسطوانيةَ صغيرةَ مخروطيةِ، بقبّعةِ سريعةِ تكامليةِ.تستعمل في عِلْمِ الأحياء الجزيئي والكيمياء الحيويةِ لخَزْن كمياتِ الصغيرةِ للسائلِ. بينما ذات استعمال واحدوتهمل وتهمل بعد الاستعمال ،رخيصه، تستعمل من قبل العديد الصيادلة والأحيائيين حيث تستعمل لتعبه عينه معينه بدلا عَنْ القوارير الزجاجية؛ هذا مفيدُ جداً عندما هناك استعمال وحيد لكمية صغيرة مِنْ السائلِ في الإنبوبِ أو عندما كمياتِ صغيرةِ مِنْ السوائلِ الأخرى إضافيةُ،

لَيسَ: لأن micro centrifugation مصنوع من polypropylene، هم يُمْكِنُ أَنْ تستعمل في درجةِ الحرارة المنخفضةِ جداً (-٨٠ C° إلى درجاتِ حرارة النتروجينِ السائلةِ) أَو مَع سوائل عضوية مثل الكلوروفورمِ.لها العديد مِنْ الحجومِ المختلفةِ، يَتراوحُ عموماً مِنْ٢(إلى ٢٥٠ مليلترِ). إنّ الحجمَ الأكثر شيوعاً ١.٥ مليلترُ. التطهير محتملُ (١ atm، c° 120، ٢٠ دقيقة)

ملاحظه: بسبب كلفتِهم المنخفضةِ والصعوبةِ في تنظيف السطحِ البلاستيكي، تهمل عادة بعد كُلّ إستعمال.

.

قوة الطرد المركزية النسبية ((Relative centrifugal force(RCF

هي مقياس لقوه التي تضاف الى العينه ضمن جهاز الطرد المركزي

(is the measurement of the force applied to a sample within a centrifuge)

- RCF **calculated from the speed (RPM) and the rotational radius (cm) using the following calculation**.

g = **RCF = (1.118 x 10^{-5})(rpm)^2(r)**

where:

g = Relative centrifuge force**قوة الطرد المركزي النسبية**

r = rotational radius (centimetre, cm)نصف قطر الدوار

RPM = rotating speed (revolutions per minute, r/min) عدد الدورات في الدقيقه

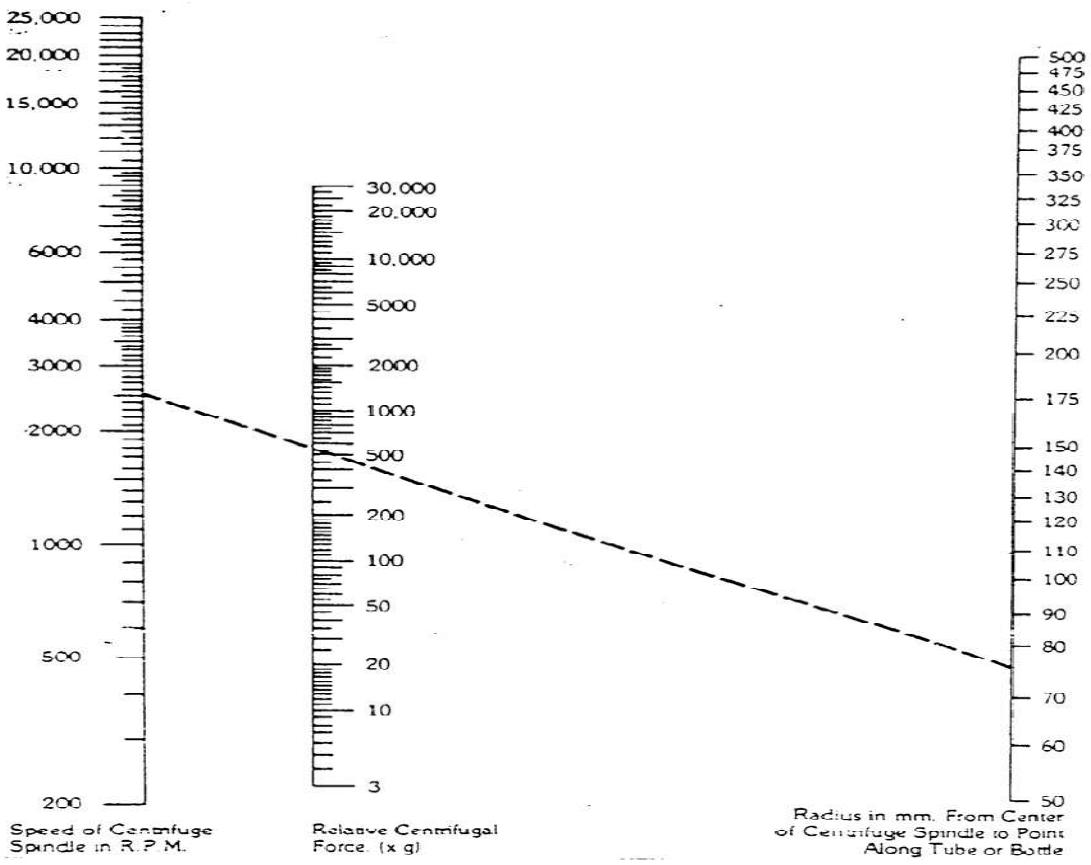
NOMO GRAM

رسم تخطيطي يُشيرُ إلى العلاقةِ بين(rpm , radus, g)إذا نَعْرفُ قيمتين الذي الثالثَ يُمْكِنُ أَنْ نعرفه مِن خط مستقيم يربط بين الثلاث قيم .

(Is agraphical refer to the relationship between the rpm ,g force and rotor radus(if we know two values the third can determined by straightedge)

- **اذاعرفنا قيمتين فنسحب خط مستقيم بين القيمتين المعروفه ونسقطها على القيمه المجهوله فنعرفقيمه المجهوله**

- **For example**, *spinning a sample at 2500 rpm in a rotor with a 7.7 cm radius results in a RCF of 550 x g.?*



جهاز قياس الحموضهPH meter

ثبات الpHأثناءإجراءالتجارب في أغلب الأحيان إحدى أكثرالعوامل الحاسمةِ في النتائج. لمكوّناتَ ال بفرات في المحلولِ هي التي تَبقىpHثابت بقيمة مُعَرَّوفة.حيث الpHيُبقى ثابت بسبب التعادل بين الحوامضِ والقواعدِ الضعيفةِ.

مكونات الالكترود للCombined PH electrode:-

. إنّ قلبَ القطب الكهربائي مكون بصله رقيقه تكون مكونه من زجاج حسّاس للpH، الذي يكون مَنْ فُوق في نهايةِ انبوب الزجاج. الزجاج الحسّاس للpH يكون (غشاءزجاجي) يُخْتَمُ إلى القطب الكهربائي ويُحتوي سائل من كلوريدِالبوتاسيومِ يكونpH =7. هناك سلك فضّي مطَلى بكلوريد الفضّيِ يَتّصلُب السائلِ. هناك

تركيب من الـAgClAg/يكون بِاتصال مع السائل المرجعي حيث يعطي اشاره مرجعيه . تَعتمدُهذه الإمكانيةِعلى تركيزِالكلوريدَفي السائلّ ِالمرجعي وطالماهذا التركيزِثابت ،إمكانيةالقطبا لكهربائي ثابتةُ.

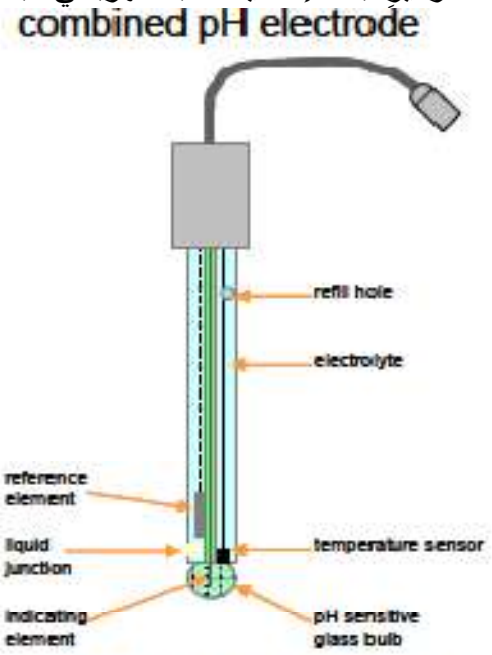


Figure (2): combined pH glass electrode

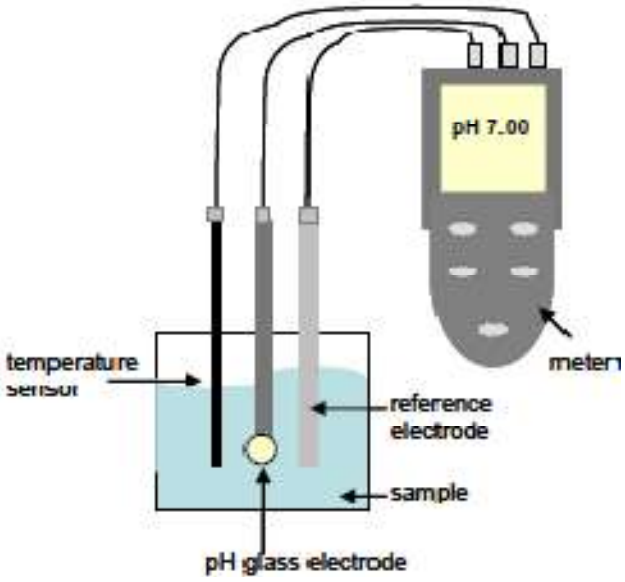


Figure (3): pH measurement system

A pH measurement system (figure (3) consists of a pH probe, reference probe, temperature sensor, pH meter and the sample to be measured. In most cases the three probes are combined in one electrode (figure (2). When the pH probe is in contact with a solution a potential forms between the pH probe and the reference probe (figure (4). The meter measures the potential and converts it, using the calibration curve parameters, into a pH value.

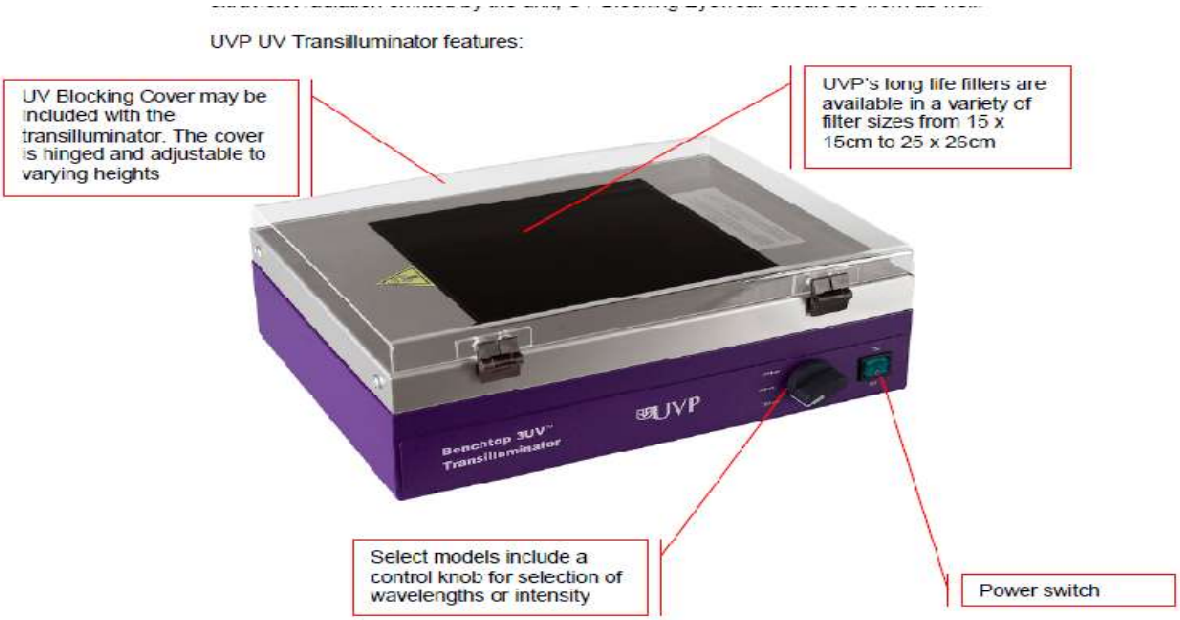
UV -Transilluminator

- يستعمل للكشف عن اماكن تواجد حزم الدنا DNA المتألقه بسب وجود صبغه الاثيديوم بروماید او الصبغه الحمراء .

يتكون الجهاز من :-

١. UV- tube (wave length 312\365nm)
٢. Filter
٣. Polaroid camera

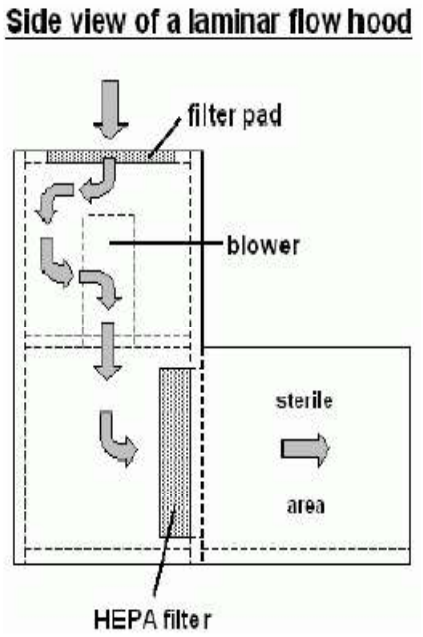
تحذير الجهازهومصادرقوية من الأشعة فوق البنفسجية التي تسبب الضررللعيون والجلدغيرالمحمية. قبل تشغيل أي وحدة،تأكدمن جميعا لموظفين في منطقة محمية وينبغي ارتداء نظارات حجب ا لأشعة فوق البنفسجية



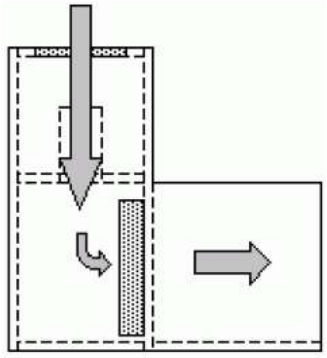
Laminar flow hood

يتم تمريرالهواءمن خلال فلتر عالية الكفاءة جسيمات الهواء) HEPA

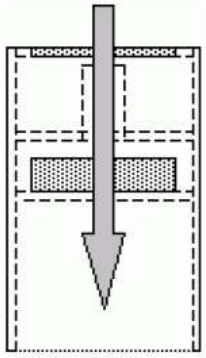
الذي يزيل كل تلوث الهواءللحفاظ على ظروفمعقمة. (High Efficiency Particulates Air



يوجد نوعين من الفلاتر (الهود) عمودي وافقي **vertical or horizontal**



horizontal air flow

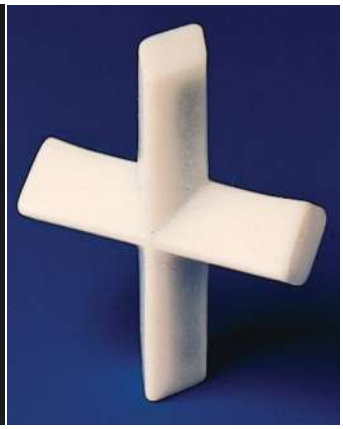


vertical air flow

Magnetic stirrers

المعروف أيضا باسم للوحات تحريك مغناطيسي) شائعةجدا في الكيمياء والبيولوجي االتجريبية. وهي تستخدم لمزج المكونات (الموادالصلبة والسوائل) للحصول على مخاليط متجانسةالسائل. وتشمل الأمثلة الشائعة محاليل وسائط النموو عازل البكتيريا.

كيفيةعملها: يخلط السائل باستخدام المجال المغناطيسي الخارجي الذي يدوره الشريط الصغيرالمغناطيسي التي توضع افيه المزيج.



incubatorالحاضنه

فيعلمالأحياء،حاضنةهوجهازيستخدم لتنميه والحفاظ على المزارع الميكروبيولوجية أومزارع الخلايا. تحتفظ الحاضنة على درجةالحرارةالمثلى والرطوبة والظروف الأخرىمثل ثاني أكسيدالكربون (CO_2) ومحتوى الأكسجين في الغلاف الجوي في الداخل. الحاضنات ضرورية لكثير من العمل التجريبي في بيولوجيا الخلية وعلمالأحياءالمجهرية وعلمالأحياءالجزيئي وتستخدم لزراعه كل من البكتيريا وكذلك الخلاياحقيقية النواة. وتستخدم الحاضنات أيضا في صناعةالدواجن ليكون بمثابة بديل عن الدجاج. هذاغالبامايؤدي إلى ارتفاع معدلات التفيقس بسبب القدرةعلى السيطرةعلى درجةالحرارة والرطوبة. ابسط الحاضنات تحتوي على الصناديق المعزولة مع سخان للتعديل،وعادةماتصل إلى ٦٠ - ٦٥ درجة مئوية (١٤٠-١٥٠ درجةفهرنهايت)،علىالرغممنبعضيمكنأنتذهبأعلىقليلا (عموم االى مالايزيد من ١٠٠ درجة مئوية .

خلاطالدوامةvortex

أوvortexer ،هوجهازبسيط يستخدم عادة في المختبرات لخلط قارورة صغيرة من السائل. هويتألف من محرك كهربائي مع محرك رمح موجه عموديا وتوضع قطعة المطاط المقعرقليلاخارج المركز. كماالمحرك يديرقطعةالمطاطي تذبذب بسرعة فيحركة دائرية. عندالضغط على أنبوب الاختبارأوغيرهامن الحاويات المناسبة في كأس المطاط. معظم خلاطات دوامة لديهاإعدادات متغيرة السرعةويمكن وضعه التشغيل بشكل مستمر،أولتشغيل فقط عندما يتم الضغط النزولي على قطعة المطاط

جهاز الوصتنهSonicator

صوتنة (إدخال مسبار مباشرة في وعاءالعينة) هي الطريقة الأكثرشيوعا لمعالجة العينة. يتم نقل الطاقة مباشرة فيعينة ذات كثافةعالية وتتم معالجة العينة بسرعه.قطرمن طرف المسبا يحدد حجما لسوائل التي يمكن معالجتهابشكل فعال .كلما كبر حجم المسبار قلت كفائه معالجه العينه لان الصغير يكون اكثر تركيزا عله
يمكن أقطارطرف أصغر ((Microtip تسليم عالية الكثافة صوتنة ويركزعلى الطاقة داخل صغيرة،وتتركز area.Larger أقطارطرف معالجة كميات أكبر،ولكن تقدم أقل كثافة.