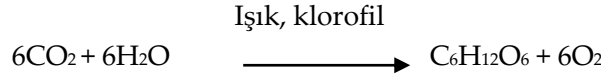


FOTOSENTEZ

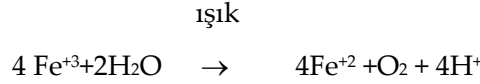
Yaşamın temeli olan bütün biyokimyasal süreçler için enerji gereklidir. Bütün enerjilerin kaynağı güneştir. Hiçbir canlı güneşin ışık enerjisini doğrudan kullanamaz, ancak onu başka enerji şekillerine dönüştürerek yararlanabilir. Biyosferin en önemli enerji dönüşümü fotosentezle gerçekleştirilir. Dünyamıza ulaşan güneş ışığı klorofil gibi özel pigmentlere sahip bitkiler, algler, bakteriler tarafından tutularak hücrelerin yararlanabileceği enerji şekline dönüştürülür.

Yeşil bitkilerin güneş enerjisini kullanarak organik besin maddesi sentezlemesi 'fotosentez' olarak tanımlanır. Glukoz oluşması temel alınırsa fotosentez reaksiyonunun toplu denklemi aşağıdaki gibidir.



Hill Reaksiyonu

1937 yılında Robert Hill, yapraklardan izole edilen kloroplastlar kullanarak ışık altında, suya uygun alıcıların (akseptörlerin) bulunduğu bir sistemde CO₂ olmadan fotosentezin gerçekleştiğini ve suyun parçalanarak O₂'ni oluşturduğunu ferrioksalat çözeltisi kullanarak bulmuştur.



Fotosentez sırasında bazı reaksiyonların gerçekleşmesi için ışık gerekir. Bu reaksiyonlara 'aydınlık faz reaksiyonları' adı verilir. Bu aşamada tilakoid zarları üzerinde bulunan ışık absorplayıcı pigmentler görev yapmaktadır. Burada oluşan reaksiyonlar sonucunda elde edilen indirgenmiş koenzim ve ATP, fotosentezin 'karanlık faz reaksiyonları' nda kullanılmaktadır. Ancak bu, reaksiyonların karanlıkta gerçekleştiği anlamına gelmeyip, sadece bu reaksiyonlar için ışık gerekmediğini gösterir.

1. Kloroplast

Fotosentez yapan ökaryotik hücrelerde, fotosentezin meydana geldiği organellerdir. Kloroplastlar, bitkilerde yaprak yüzeyine yakın mezofil hücrelerinde bulunurlar. Bir bitki hücresinde 30-40 tane kloroplast bulunur. Bileşiminde %50 protein, %40 lipit ve %10 pigment

vardır. Çift zarlıdırlar. Dış zarın geçirgenliği iç zara göre oldukça fazladır. İç zar matrikse benzeyen ve 'stroma' olarak adlandırılan bir sıvıyı çevreler. Stromada çözünmüş enzimler bulunur. Bu enzimler fotosentezin karanlık safhasında CO₂'in karbohidratlara dönüşme reaksiyonlarında görev alırlar. Stromada dağılmış olarak, 'tilakoid' adı verilen yassı keseciklerin bozuk para sütunları gibi üst üste dizilmelerinden oluşan 'granalar' bulunur. Granalar birbirleri ve iç zar ile 'stroma lamella' adı verilen yassı, zarlı kanalcıklar ile bağlanmışlardır. Tilakoid zarları üzerinde fotosentezin aydınlık fazı ile ilgili enzimler ve taşıyıcı moleküller bulunur. Bu zarların çevrelediği keseciğin iç kısmına 'lümen' denir.

2. Klorofil

Bitkilerde güneşten gelen görünür ve UV bölgedeki ışınların absorplanabilmesi için çeşitli pigmentler bulunur. En önemli pigment 'klorofil' dir. Klorofil molekülü merkezde bulunan bir Mg atomu çevresinde yer alan 4 tane pirol halkasından oluşan bir yapıdır. Bu tetra pirol yapısına 'Mg-porfirin' adı verilir. Pirol halkalarından birine yani molekülün 7. karbon atomuna uzun ve düz zincirli bir alkol olan fitol, ester bağı ile bağlanmıştır. Klorofiller, 'klorofil-a' ve 'klorofil-b' olarak ikiye ayrılırlar.

3. Karoten ve Ksantofil

Karoten, fotosentez için önemli diğer bir fotosentetik pigmenttir. Absorbladığı ışığı klorofile aktararak fotosenteze katkıda bulunur. Sebze ve meyvelere turuncu renk verir.

C₄₀H₅₆ kapalı formülüne sahip olan karoten bir terpendir, sekiz izopren biriminden biyokimyasal olarak sentezlenir.

C₄₀H₅₆O₂ kapalı formülüne sahip olan sarı renkli ksantofiller, karotenin okside olmuş türevleridir. Fotosentezde yardımcı pigment olarak görev alır. İçerdiği hidroksil gruplarından dolayı karotenlere göre daha polardırlar.

4. Fotosenteze Etki Eden Çevresel ve İç Faktörler

CO₂ konsantrasyonu, ışığın şiddeti, sıcaklık, su ve mineral tuzlar fotosentez hızını doğrudan etkileyen çevresel faktörlerdir.

5. Deneysel Çalışmalar

Deney 5.1. Yarım Yaprak Deneyi

Deneyin prensibi: Fotosentez reaksiyonu sonucunda oluşan nişastanın lugol çözeltisinde bulunan iyot ile etkileşerek renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır.

Deneyin yapılışı:

- (1) Sardunya yaprağı alüminyum folyo ile sarılır ve üzerinde bant şeklinde bir açıklık oluşturulur. Bu şekilde 4-5 gün aydınlık ortamda bekletilir.
- (2) Yaprak alüminyum folyodan çıkarılır ve yaprak hücre zarlarının geçirgen hale gelmesi için içerisinde kaynar su bulunan beherde 10 dk bekletilir.
- (3) Yaprak sudan çıkartılır, klorofilin nişastayı perdelemesini önlemek için içerisinde sıcak etil alkol bulunan behere koyulur ve klorofilin yeşil rengi giderilinceye kadar beklenir (Bu aşama, etil alkol bulunan beheri sıcak su banyosuna koyarak gerçekleştirilir).
- (4) Alkolle yıkanmış yaprak, soğuk su ile yıkanır.
- (5) Yaprak, içerisinde 20 mL lugol çözeltisi bulunan petri kabına daldırılır, 5 dk sonra bir saat camı üzerine alınarak ışıktta incelenir.

Çözeltiler:

Lugol çözeltisi: 0.5 g iyot üzerine 2.5 g KI ilave edilir ve elde edilen karışım havanda öğütülür, toz haline gelmiş olan karışım toplam hacim 100 mL olacak şekilde saf su ilavesi ile çözülür.

Deney 5.2. Klorofil a ve b'nin Farklı Dalga Boylarındaki Absorbsiyonlarının Spektrofotometrik Olarak Ölçülmesi

Deneyin prensibi: Klorofil a ve b moleküllerinin petrol eteri ve metanol çözücüleri içerisinde optik yoğunluklarının, $\lambda=380-700$ nm dalga boyu aralığında spektrofotometrik olarak ölçülmesidir ($\lambda=380-400-420-440-460-520-560-600-640-660-680-700$).

Deneyin yapılışı:

- (1) Isırgan otu ya da ıspanak yaprakları makas ya da bıçak yardımıyla ince ince kesilir.
- (2) Yapraklarının üzerini kaplayacak miktarda aseton ilave edilir.
- (3) 10-15 dk bekletilir.
- (4) Koyu renkli karışım 5 dk santrifüjlenir, çökelek atılır. Çözelti (ham ekstrakt) temiz bir tüpe alınır.
- (5) Örnekler ölçüm için aşağıdaki tabloya göre hazırlanır.

1. Tüp	1. Kör tüp	2. Tüp	2. Kör tüp
6.6 mL petrol eteri	6.6 mL petrol eteri	6.6 mL metanol	6.6 mL metanol
0.4 mL yaprak ekstraktı	0.4 mL aseton	0.4 mL yaprak ekstraktı	0.4 mL aseton

(6) Her iki çözelti için okunan absorbans değerleri dalga boyuna karşı grafiğe geçirilir.

Deney 5.3. Klorofil ve Karotenoid Miktarının Belirlenmesi

Deneyin prensibi: Bir önceki deneyden elde edilen ham ekstraktın çeşitli dalga boylarında ($\lambda=661.6, 644.8$ ve 470 nm) kör tüpe karşı (aseton) ölçümleri alınarak, klorofil ve karotenoid miktarları aşağıdaki formüle göre hesaplanacaktır.

Pigment konsantrasyonlarının hesaplanması:

$$C_a = 11.24 \times A_{661.6} - 2.04 \times A_{644.8}$$

$$C_a = \text{Klorofil a konsantrasyonu } (\mu\text{g/mL})$$

$$C_b = 20.13 \times A_{644.8} - 4.19 \times A_{661.6}$$

$$C_b = \text{Klorofil b konsantrasyonu } (\mu\text{g/mL})$$

$$C_{a+b} = 7.05 \times A_{661.6} + 18.09 \times A_{644.8}$$

$$C_{a+b} = \text{Total klorofil konsantrasyonu } (\mu\text{g/mL})$$

$$C_{x+c} = [1000 \times A_{470} - 1.90 \times C_a - 63.14 \times C_b] / 214$$

$$C_{x+c} = \text{Total karotenoid konsantrasyonu } (\mu\text{g/mL})$$

Deney 6.5.4. Klorofil ve Karotenoid'in Kalitatif Tayini

Deneyin prensibi: Ham klorofil ekstraktı içeriğinde bulunan maddelerin çözünürlük ve absorpsiyon özelliklerinin farklı olmasından yararlanılarak birbirinden ayrılması esasına dayanır.

Deneyin yapılışı: Isırgan otu makas ya da bıçak yardımıyla ince ince kesilir, üzerine 10 mL etanol ilave edilir ve 10-15 dk bekletilir. Elde edilen çözeltiye 'ham klorofil ekstraktı' adı verilir. Berrak bir ekstrakt elde etmek için çözelti, filtre kağıdından süzülür.

(a) Çözünürlük özelliklerine göre;

Süzüntüden 2 mL alınarak bir deney tüpüne aktarılır. Tüpün üzerine aynı miktarda benzen ve birkaç damla su ilave edilir (Su ilave edilmesinin amacı alkol karışımının yoğunluğunu arttırıp, benzenin kolayca tüpün üst kısmına çıkmasını sağlamaktır) ve çözelti karıştırılır. Bir süre sonra

tüpün üst kısmında benzende çözünen klorofil, alt kısmında ise alkolde kalan sarı renkli karoten ve ksantofil toplanır.

(b) Absorpsiyon ve moleköl ağırlığı özelliklerine göre;

Süzüntüden 1 mL alınarak bir deney tüpüne aktarılır. İçerisine şerit şeklinde kesilerek hazırlanmış süzgeç kağıdı yerleştirilir. Bir süre sonra kağıdın üst kısımlarında sarı renkli karoten ve ksantofil, alt kısımda ise yeşil renkli klorofilin toplandığı görülür.

KAYNAKLAR

- (1) [www.yok.gov.tr / egitim/ ogretmen/ kitaplar/ biyo/ unite 9.doc](http://www.yok.gov.tr/egitim/ogretmen/kitaplar/biyo/unite9.doc)
- (2) [www. biyologlar.com](http://www.biyologlar.com)
- (3) [www.istanbul.edu.tr/ fen/ mbg/ notlar](http://www.istanbul.edu.tr/fen/mbg/notlar)
- (4) www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/IOLTP/2282/unite04.pdf
- (5) Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Bitki Fizyoloji Laboratuvar Föyü