



Τμήμα Αειφορικής Γεωργίας

**Γεωπονική Σχολή
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΠΑΤΡΩΝ**

Εργαστηριακές Ασκήσεις Αναλυτικής και Οργανικής Χημείας

Αγγελική Απ. Γαλάνη

Χημικός PhD, Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό (ΕΔΙΠ)

8^η Εργαστηριακή Άσκηση
Προσδιορισμός χλωροφύλλης με Φασματοσκοπία UV-
VIS

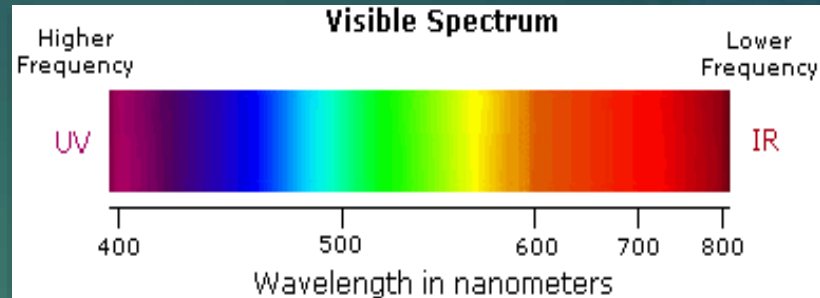
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η φασματοσκοπία είναι η
μελέτη του τρόπου
αλληλεπίδρασης της
ηλεκτρομαγνητικής
ακτινοβολίας με την ύλη

Ηλεκτρομαγνητικό φάσμα

ΤΜΗΜΑ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ	ΜΗΚΟΣ ΚΥΜΑΤΟΣ
Ακτίνες X	0,3 – 100 Å
Υπεριώδες	200 – 400 nm
Ορατό	400 – 800 nm
Εγγύς υπέρυθρο	0,8-2,5μm(1000 – 4000cm⁻¹)
Υπέρυθρο	2,5 – 15 μm(4000 – 400 cm⁻¹)
Άπω Υπέρυθρο	15 – 200 μm(400 – 10 cm⁻¹)
Μικροκύματα	0,2 – 7,0 mm
Ραδιοσυχνότητες	100 – 10000 m

ΦΑΣΜΑ ΟΡΑΤΟΥ



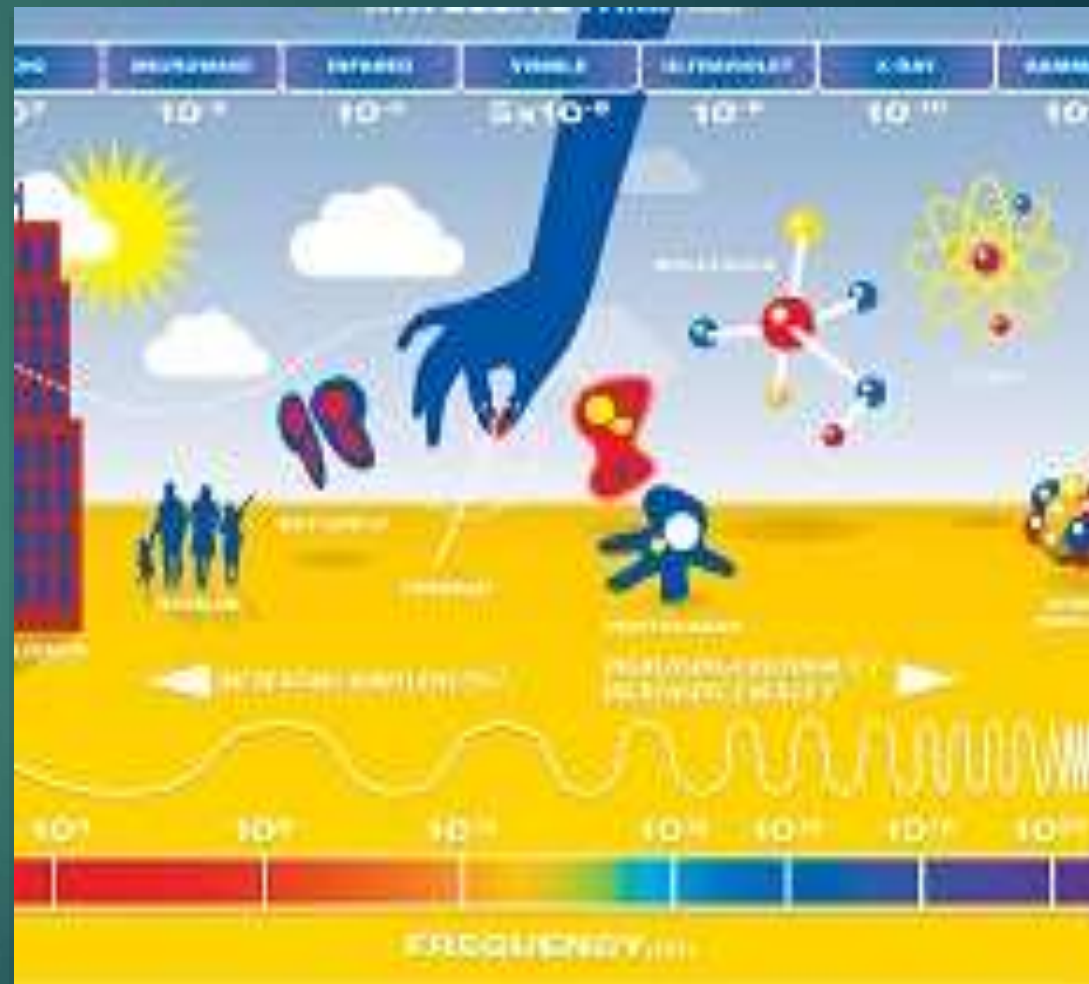
COLORS	WAVELENGTH IN NANOMETERS
Violet	400 - 420 nm
Indigo	420 – 440 nm
Blue	440-490 nm
Green	490 – 570 nm
Yellow	570 – 585 nm
Orange	585 – 620 nm
Red	620 – 780 nm

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

6

Υπάρχουν διάφοροι τύποι φασματοσκοπικών τεχνικών, όμως η βασική αρχή στην οποία στηρίζονται όλες είναι, η ακτινοβολία του δείγματος με δέσμη συγκεκριμένης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και η παρατήρηση της επίδρασης σε αυτό ενός τέτοιου ερεθίσματος.

Η παρατήρηση αυτή, επιτρέπει στους επιστήμονες να αποκτήσουν πληροφορίες σχετικά με τη δομή και τις ιδιότητες της ύλης.



Οι
φασματοσκοπικές
μέθοδοι έχουν
ευρύ φάσμα
εφαρμογής

Στον προσδιορισμό δομής

Στην ποιοτική ανάλυση

Στην ποσοτική ανάλυση

Στην ανάλυση μίγματος
ουσιών

Στον προσδιορισμό του
τύπου συμπλόκου ιόντος

Στον προσδιορισμό της
σταθεράς ιονισμού
πρωτεολυτικού δείκτη

Κάποιες φασματοσκοπικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται συχνά είναι οι:

Υπεριώδους – Ορατού (UV – Vis)

Στα φάσματα υπεριώδους ακτινοβολίας, (200-400nm) και ορατού φωτός, (400-800nm), συμβαίνει εκλεκτική απορρόφηση ενέργειας από τα μόρια και διέγερση των ηλεκτρονίων σθένους από τη βασική τους στάθμη σε αντιδεσμική υψηλότερης ενέργειας. Για το λόγο αυτό τα φάσματα ονομάζονται ηλεκτρονικά

Υπερύθρου (IR)

Η απορρόφηση υπέρυθρης ακτινοβολίας προκαλεί διεγέρσεις δονήσεως, παραμόρφωσης και περιστροφής των μορίων.

Πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)

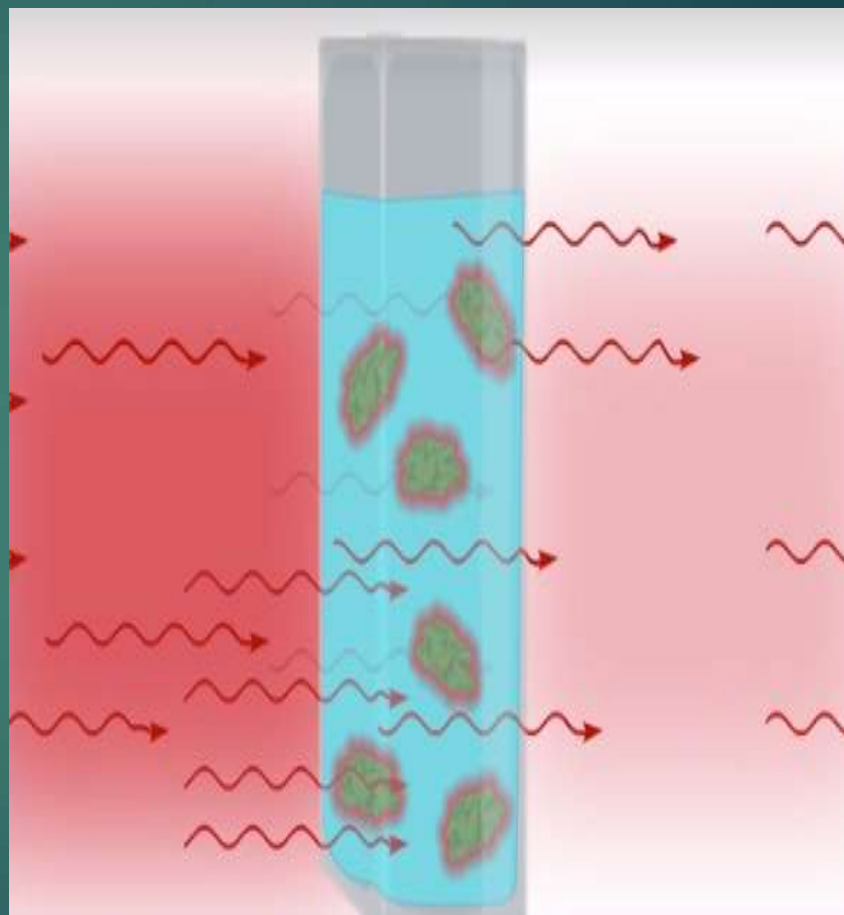
Στην περίπτωση αυτή συμβαίνουν μεταβολές στην ενέργεια των πυρήνων

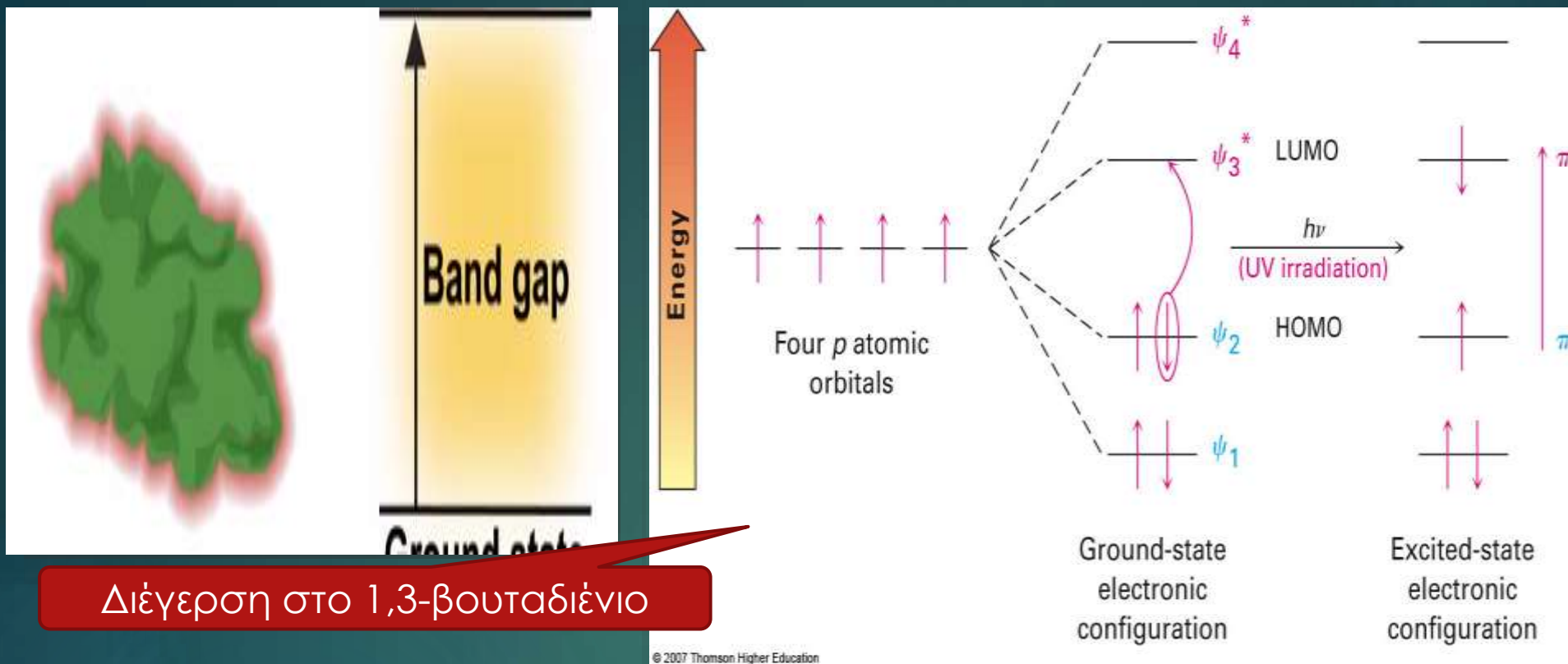
Φασματοσκοπία
Υπεριώδους –
Ορατού
Ultraviolet –
Visible, UV-Vis.
Διακρίνεται σε
εκπομπής και
απορρόφησης

Όταν καταγράφεται η απορροφημένη ενέργεια σε συνάρτηση με το μήκος κύματος έχουμε τα ηλεκτρονικά φάσματα απορρόφησης που κύρια χρησιμοποιούνται στην οργανική.

Όταν έχουμε διέγερση λόγω προσφοράς ενέργειας και καταγράφεται η ακτινοβολία που εκπέμπουν τα ηλεκτρόνια μεταπίπτοντας από τη διεγερμένη κατάσταση στη βασική, μιλάμε για ηλεκτρονικά φάσματα εκπομπής τα οποία ωστόσο δεν βρίσκουν μεγάλη εφαρμογή στα οργανικά μόρια για το λόγο ότι τα τελευταία καταστρέφονται εξαιτίας των δραστικών συνθηκών διέγερσης που χρησιμοποιούνται.

Στη φασματοσκοπία UV-Vis, το φως διέρχεται μέσω δείγματος σε συγκεκριμένο μήκος κύματος του υπεριώδους ή του ορατού φάσματος.

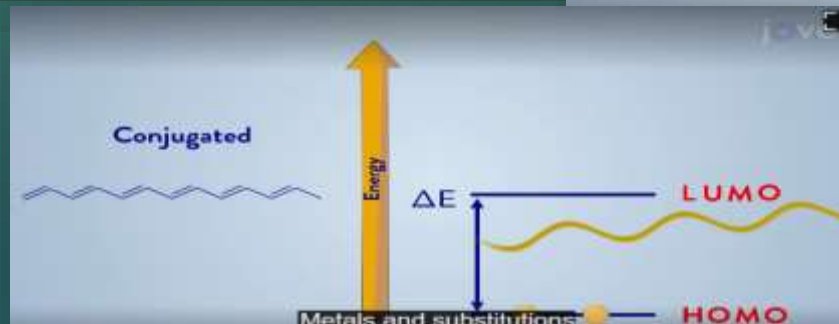
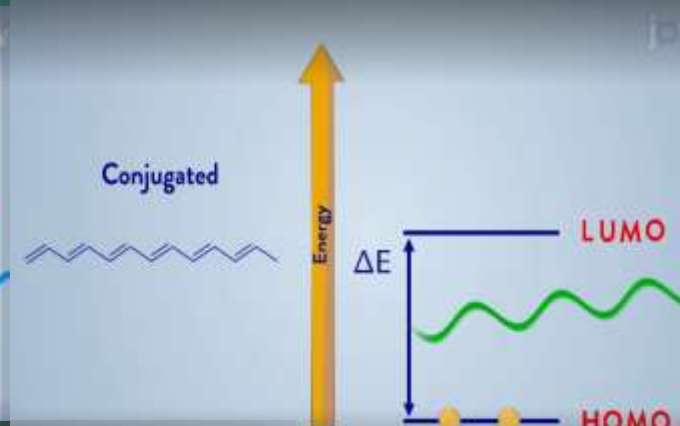
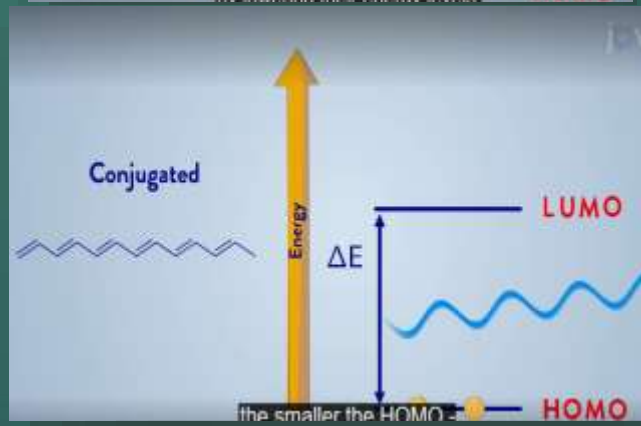
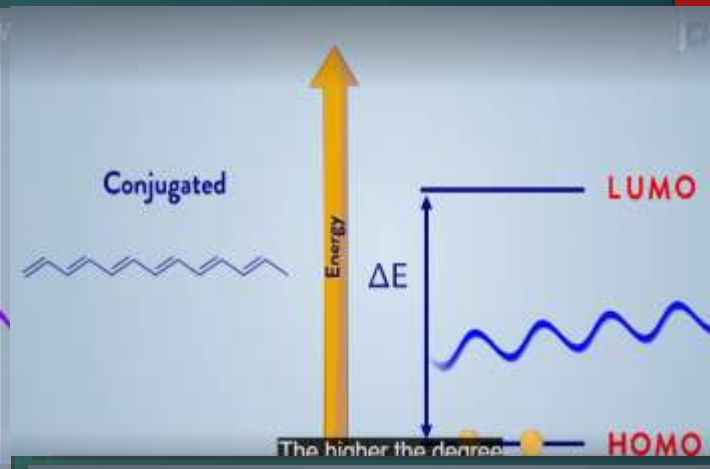
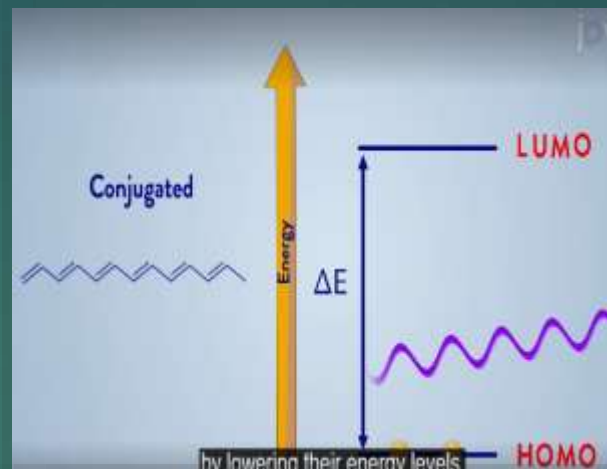
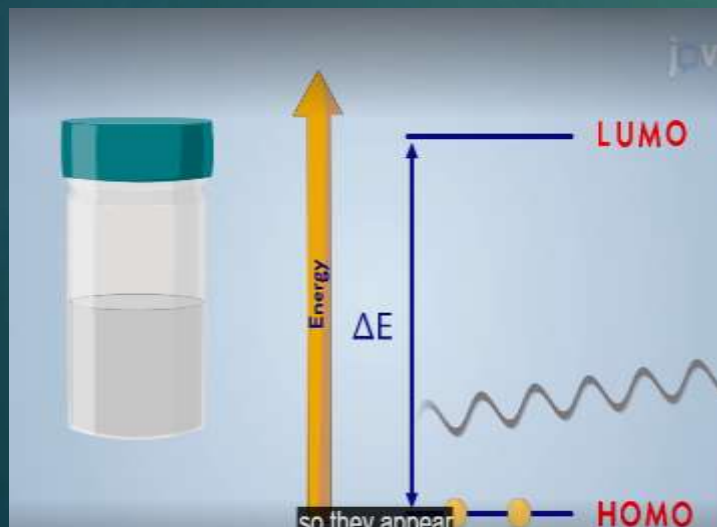
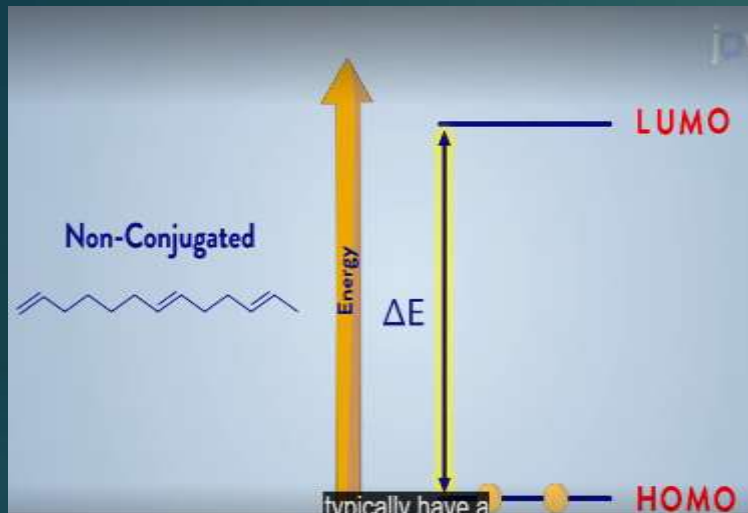


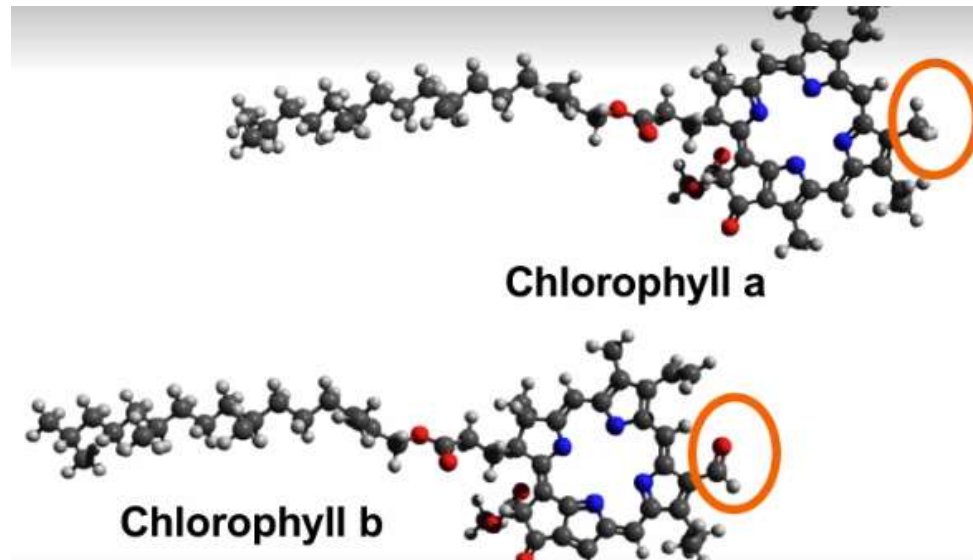
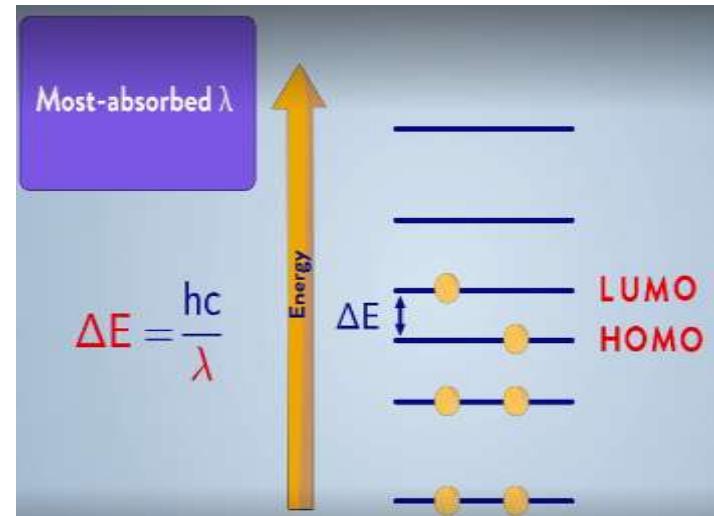
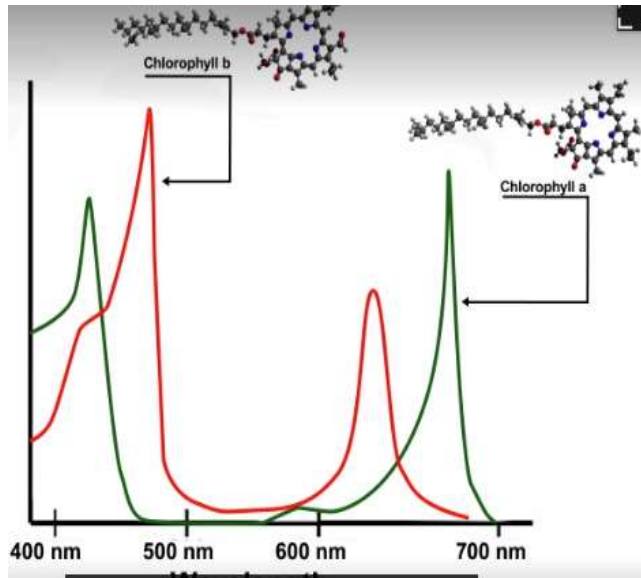


- Όταν φωτόνιο προσπίπτει σε μόριο και απορροφάται, τα ηλεκτρόνια στο υψηλότερο κατειλημμένο μοριακό τροχιακό HOMO (ψ_2), υφίστανται μετάπτωση στο χαμηλότερο μη κατειλημμένο μοριακό τροχιακό LUMO, (ψ_3^*).
- Η ενεργειακή διαφορά μεταξύ των δύο είναι το κενό ζώνης.
- Η ενέργεια του φωτονίου πρέπει να ταιριάζει ακριβώς με το κενό ζώνης για να απορροφηθεί.

Μη συζυγιακά συστήματα

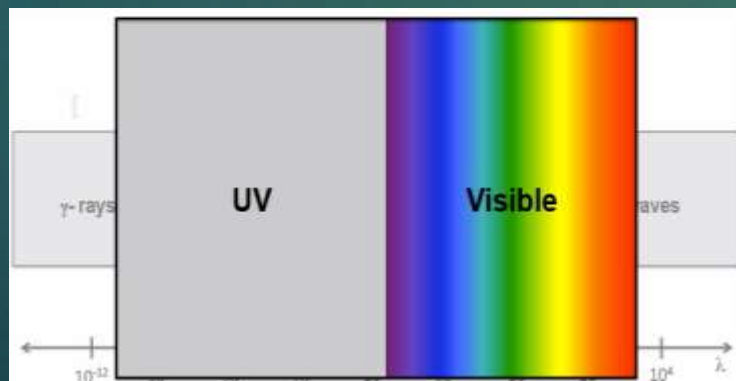
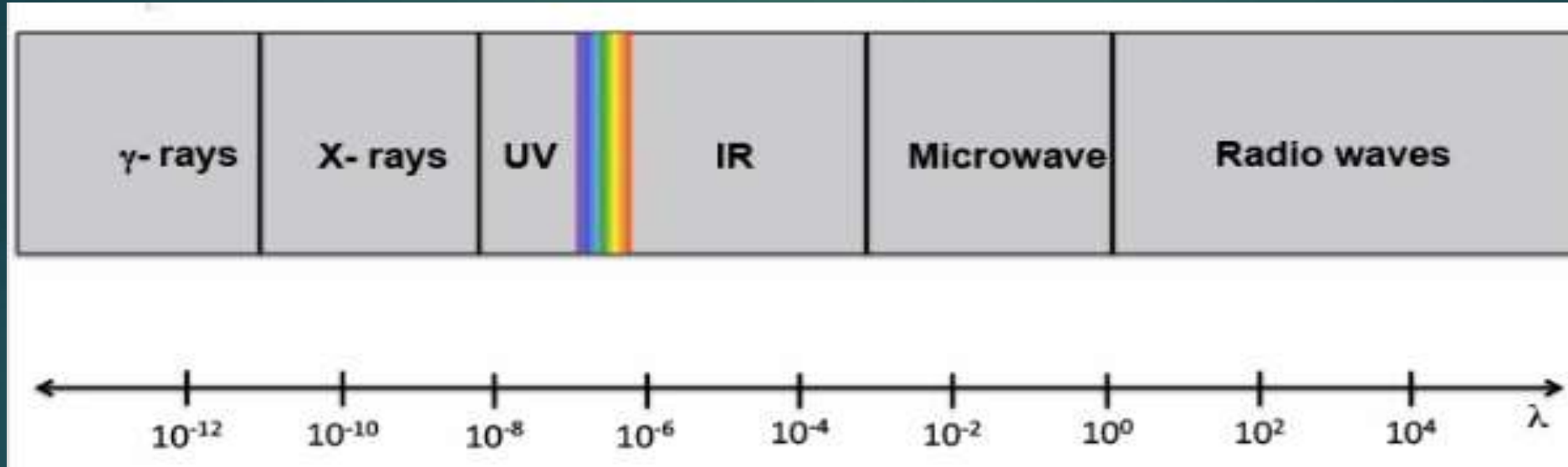
Συζυγιακά συστήματα





Η χημική δομή καθορίζει το κενό ζώνης.
Επομένως το κάθε μόριο έχει μοναδικό φάσμα απορρόφησης.

Η φασματοσκοπία UV-Vis είναι μια γενική τεχνική, καθώς τα περισσότερα μόρια απορροφούν φως στο εύρος μήκους κύματος της περιοχής ορατού υπεριώδους.



Φασματοφωτόμετρα Υπεριώδους - Ορατού μετρούν

Απορρόφηση A
Absorbance (Abs)

$$A = -\log T$$

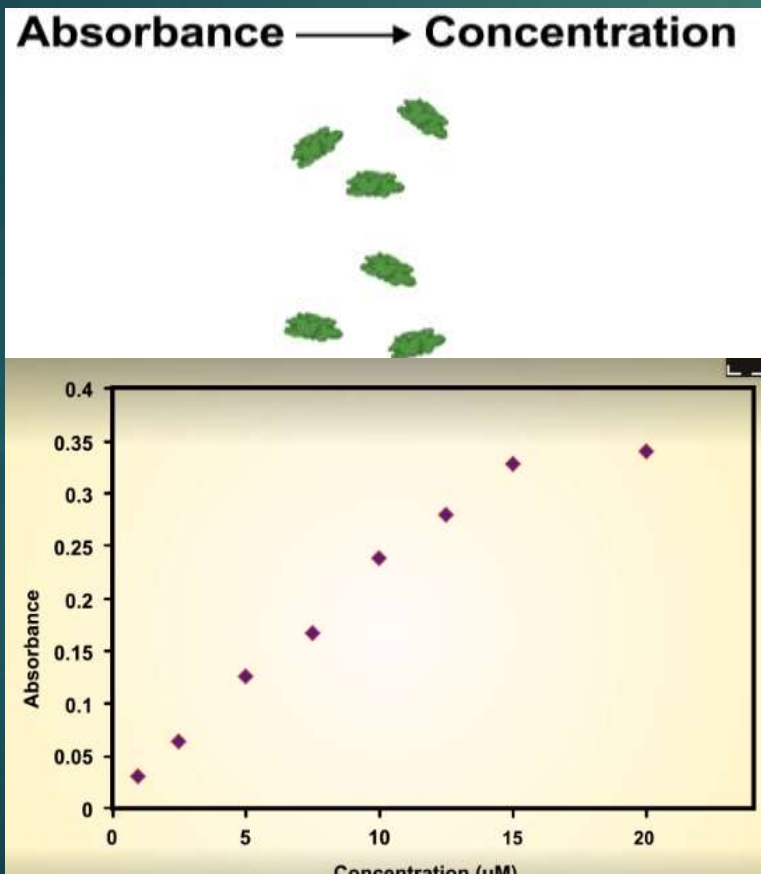
% Διαπερατότητα
δείγματος
% T
Transmission

Με βάση αυτά μπορούμε να
κάνουμε ποσοτική και
ποιοτική ανάλυση του
δείγματος μας

Συχνότατα η φασματοσκοπία UV-Vis, χρησιμοποιείται είτε για ποσοτικό είτε για ποιοτικό προσδιορισμό

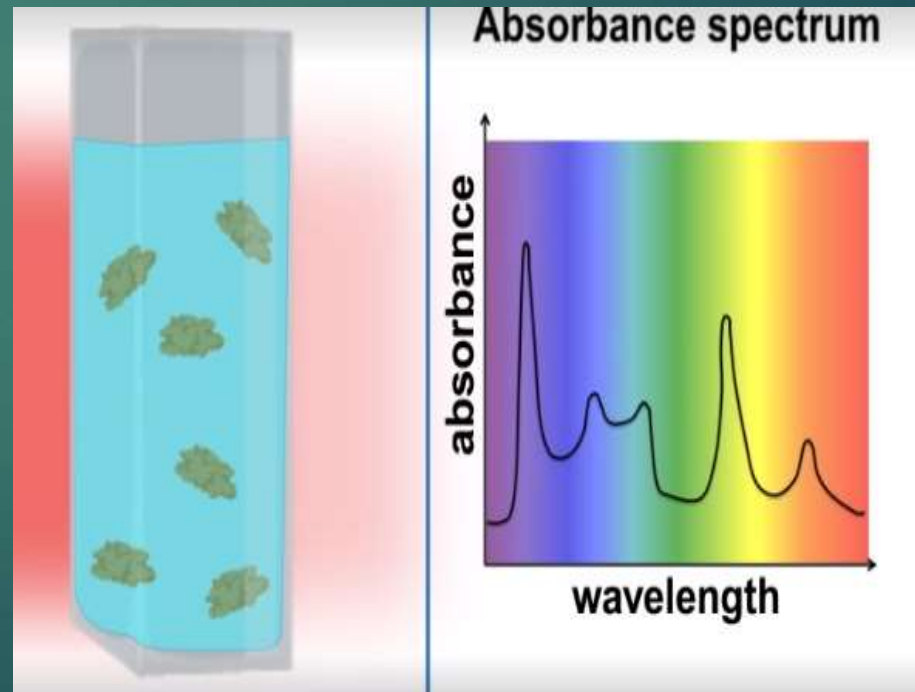
Ποσοτικός προσδιορισμός

Πρότυπη καμπύλη



Ποιοτικός προσδιορισμός

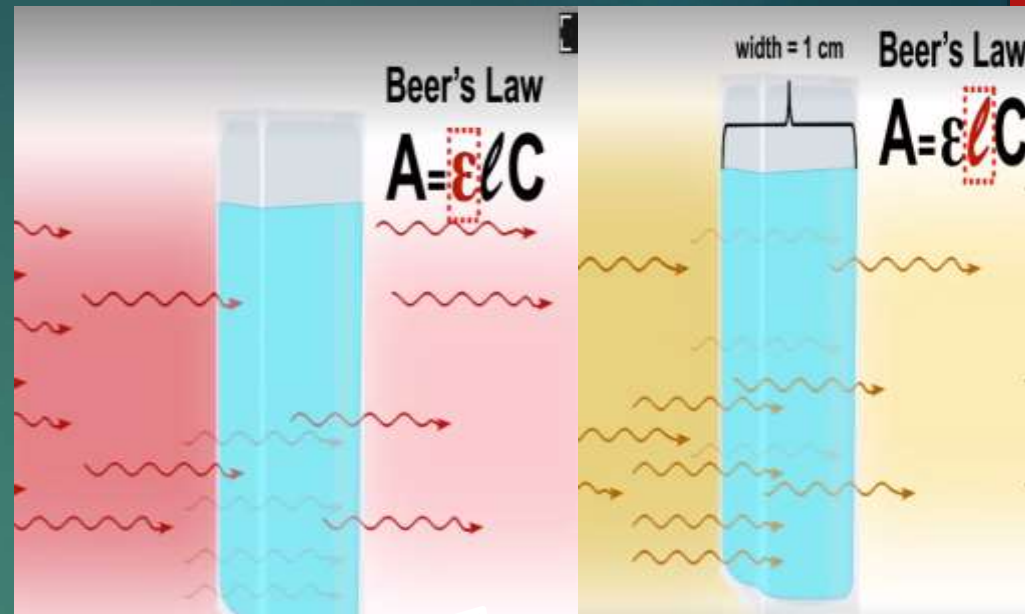
Φάσμα απορρόφησης



Νόμος Lambert - Beer

“Όταν μονοχρωματική ακτινοβολία διέρχεται από διάλυμα που περιέχει ουσία που απορροφά, η ισχύς της ελαττώνεται προοδευτικά κατά μήκος της διαδρομής λόγω της απορρόφησής της από την ουσία”.

Η μείωση της ισχύος της ακτινοβολίας, εξαρτάται από τη συγκέντρωση της ουσίας που απορροφά και από την απόσταση που διανύει η δέσμη μέσα στο διάλυμα.



Όπου

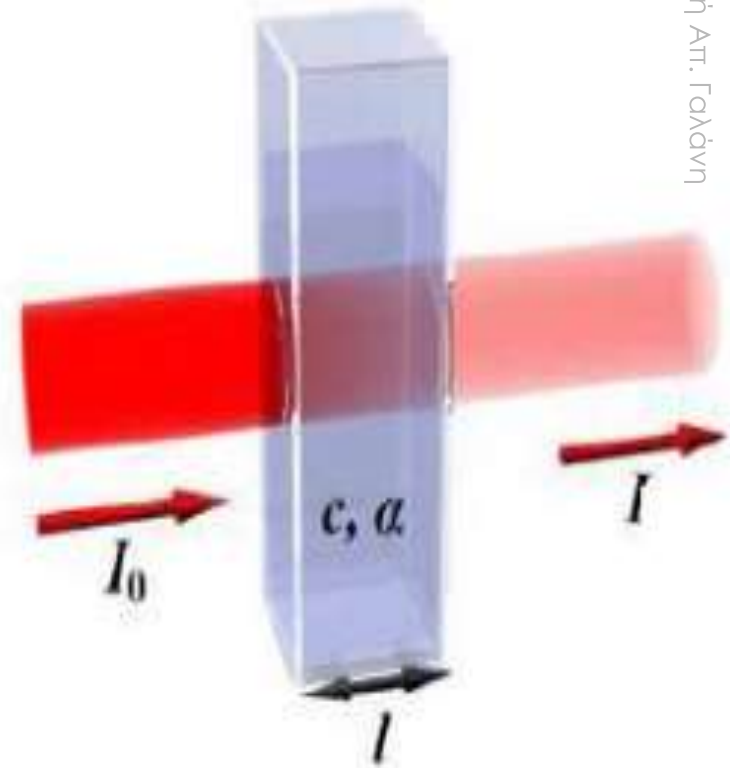
- **ϵ** : μοριακή απορρόφηση (απορρόφηση διάλ/τος της ουσίας 1M)
- **l** : (εσωτερική διάμετρος κυψελίδας cm),
- **C** : συγκέντρωση διαλυμένης ουσίας (σε mole/l)

Η μαθηματική έκφραση του νόμου Lambert - Beer

$$A = \log I_0/I = -\log T = a l c_{g/L} = \epsilon \cdot l \cdot c_{\text{moll/L}}$$

όπου:

- **A:** Η απορρόφηση
- **I_0 :** Η ένταση της προσπίπτουσας ακτινοβολίας
- **I :** Η ένταση της εξερχόμενης ακτινοβολίας, μετά τη δίοδο από το διάλυμα.
- **T:** Η διαπερατότητα που εκφράζεται επί τοις εκατό %T.
- **l :** Το μήκος της διαδρομής που διανύεται στο διάλυμα (αναφέρεται και σαν εσωτερικό πάχος κυψελίδας).
- **a :** η απορροφητικότητα, χρησιμοποιείται όταν η συγκέντρωση εκφράζεται σε g/L
- **ϵ :** η μοριακή απορροφητικότητα, χρησιμοποιείται όταν η συγκέντρωση εκφράζεται σε mol/L



Προϋποθέσεις εφαρμογής του νόμου των Lambert - Beer

- Ο μόνος μηχανισμός αλληλεπίδρασης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και διαλυμένης ουσίας, είναι η απορρόφηση.
- Η προσπίπτουσα ακτινοβολία, είναι μονοχρωματική.
- Η απορρόφηση γίνεται σε ομοιόμορφης διατομής όγκο διαλύματος.
- Τα σωματίδια που απορροφούν, δρουν ανεξάρτητα μεταξύ τους και άσχετα με τον αριθμό και το είδος τους. Έτσι ακόμη και στην περίπτωση μίγματος ουσιών, ο νόμος ισχύει με τη μορφή :

$$\begin{aligned}A_{\text{ολ.}} &= A_1 + A_2 + \dots + A_n = \\ &= \varepsilon_1 b c_1 + \varepsilon_2 b c_2 + \varepsilon_n b c_n\end{aligned}$$

- Τα διαλύματα δεν είναι πυκνά $c < 0,01 \text{ F}$

Ποσοτικός προσδιορισμός ουσίας με εφαρμογή νόμου Beer $A = \epsilon l C$

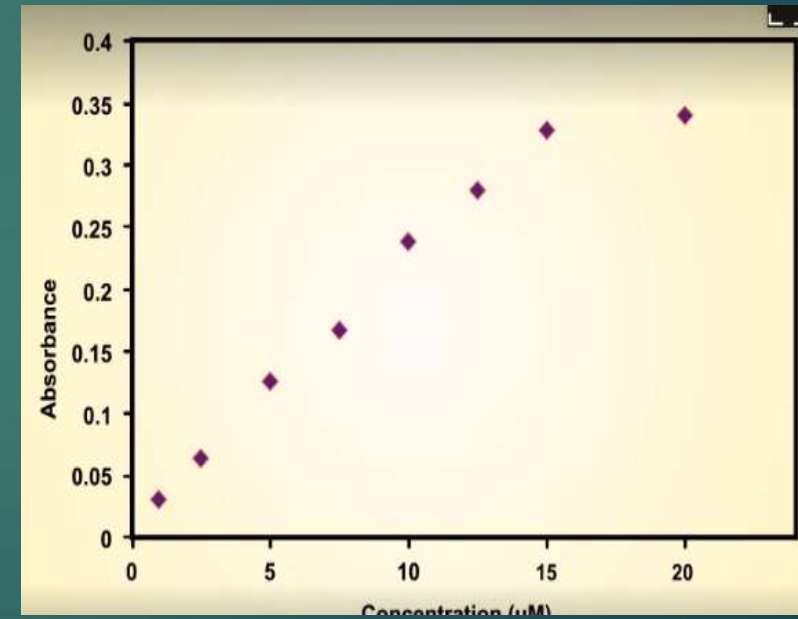
20

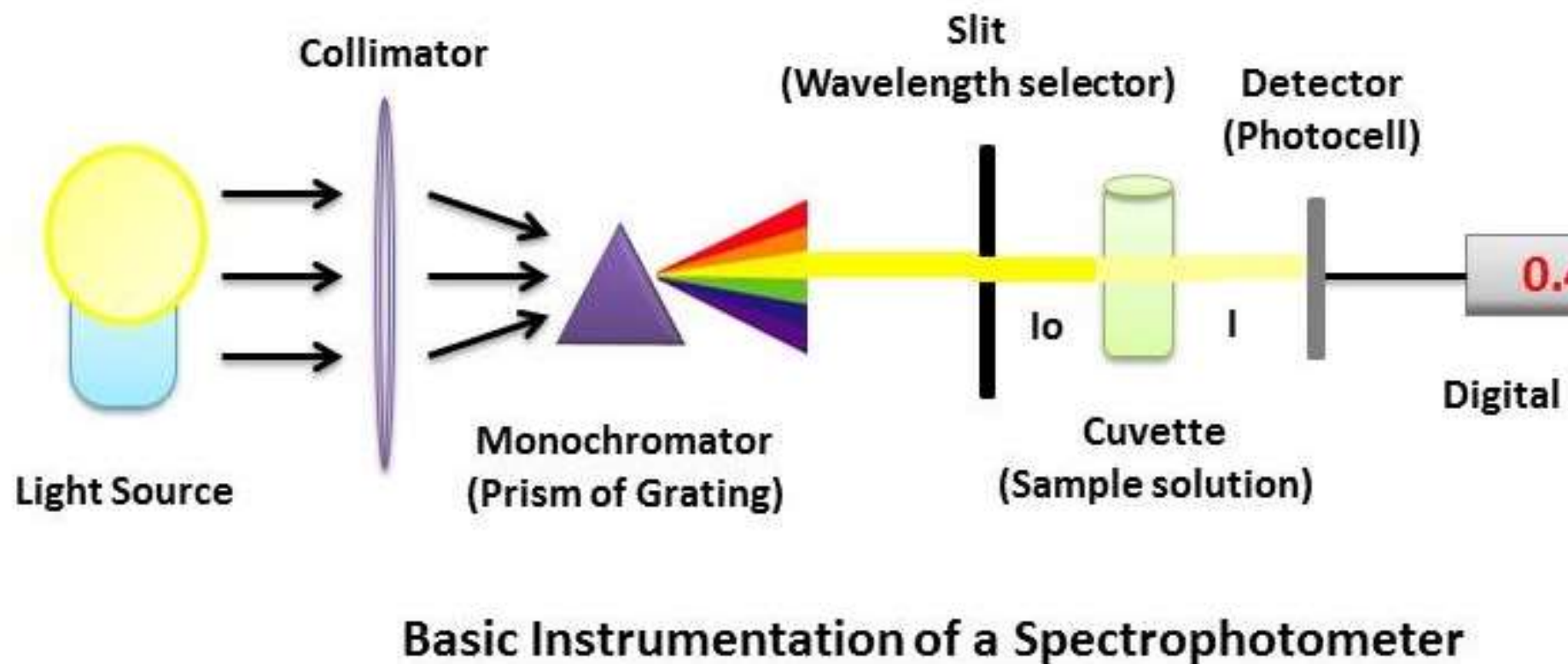
Αγγελική Απ. Γαδάνη

Εάν είναι γνωστή η τιμή ϵ από τη βιβλιογραφία

Κατασκευάζεται η γραφική παράσταση απορρόφησης συναρτήσει της συγκέντρωσης με βάση τις τιμές απορρόφησης 5 πρότυπων, (γνωστής C) διαλυμάτων.

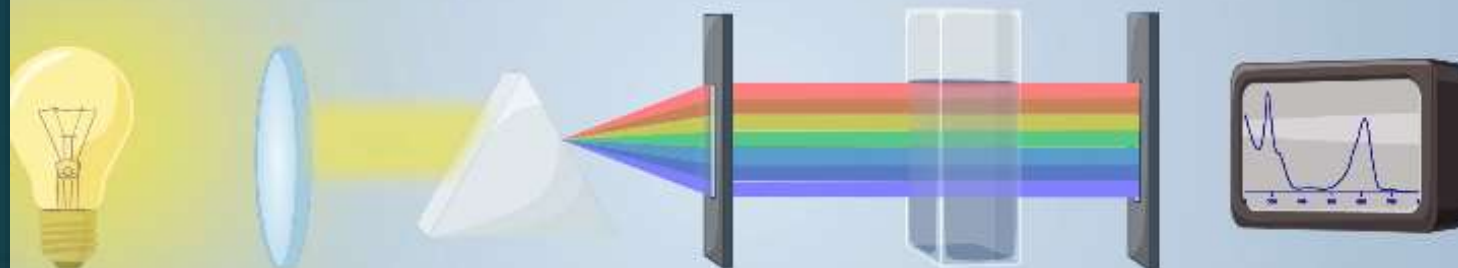
$$A = \epsilon l C$$





Βασική οργανολογία φασματοφωτόμετρου ορατού

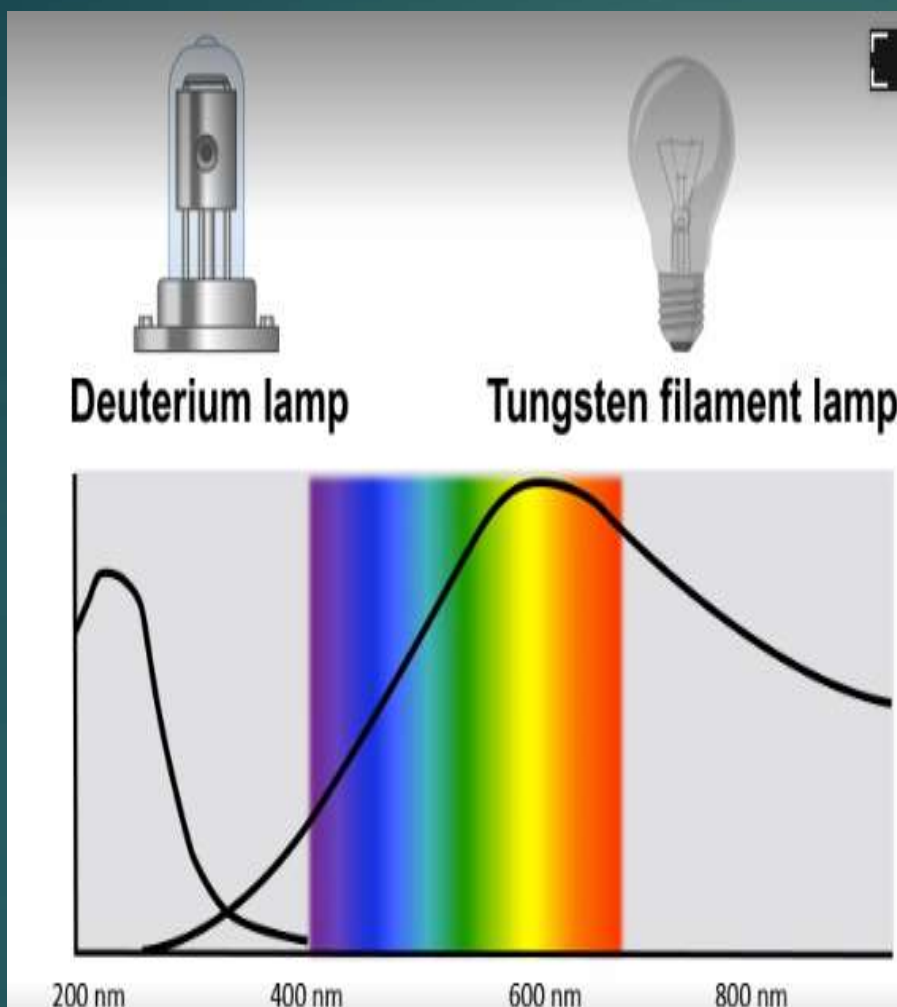
UV-Vis Spectrophotometer



UV-Vis Spectrophotometer



Μπορούμε να
πάρουμε τιμή
απορρόφησης ή
φάσμα
απορρόφησης



Τα περισσότερα φασματοφωτόμετρα UV-Vis χρησιμοποιούν μια λυχνία δευτερίου για την περιοχή UV, η οποία παράγει φως από 170-375 nm και μια λάμπα πυράκτωσης βολφραμίου για την ορατή περιοχή.

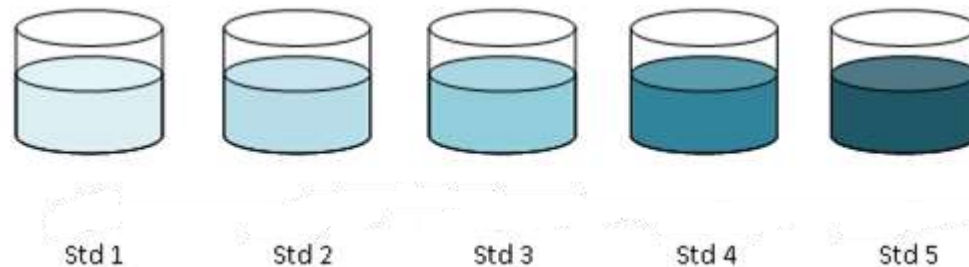
Η πηγή φωτός είναι συνήθως μια λάμπα με ευρεία κλίμακα μήκους κύματος. Συγκεκριμένο μήκος κύματος επιλέγεται χρησιμοποιώντας είτε οπτικά φίλτρα είτε μονοχρώματα.

- ▶ Ο μονοχρωμάτωρας διαχωρίζει τα μήκη κύματος του φωτός και στη συνέχεια αυτά περνούν από μια σχισμή εξόδου όπου επιλέγεται το επιθυμητό μήκος κύματος.
- ▶ Μπορεί να σαρώσει πολλά μήκη κύματος και τελικά να δώσει ολόκληρο φάσμα απορρόφησης. Αυτό καθιστά την τεχνική χρήσιμη για ποσοτικό προσδιορισμό και για προσδιορισμό πολλών μορίων.



Βασικά βήματα στην ποσοτική ανάλυση όταν δεν είναι γνωστή η τιμή ϵ για την ουσία που αναλύουμε:

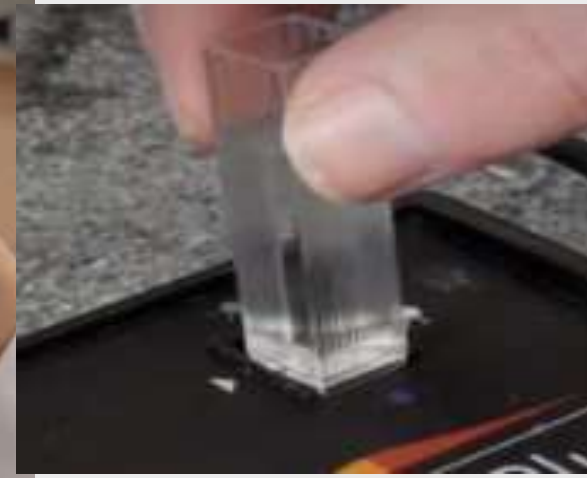
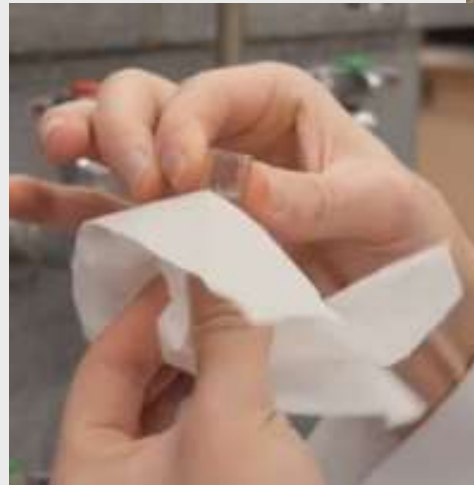
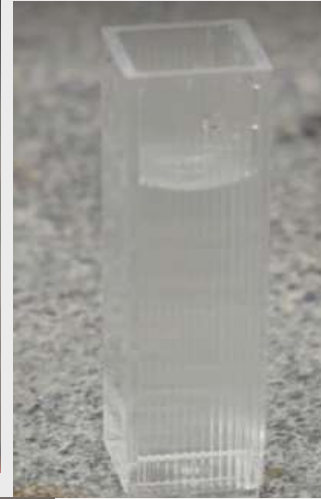
1. Άνοιγμα φωτόμετρου 20 λεπτά πριν τη χρήση.
2. Παρασκευή 5 πρότυπων διαλυμάτων, (διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης της ουσίας).



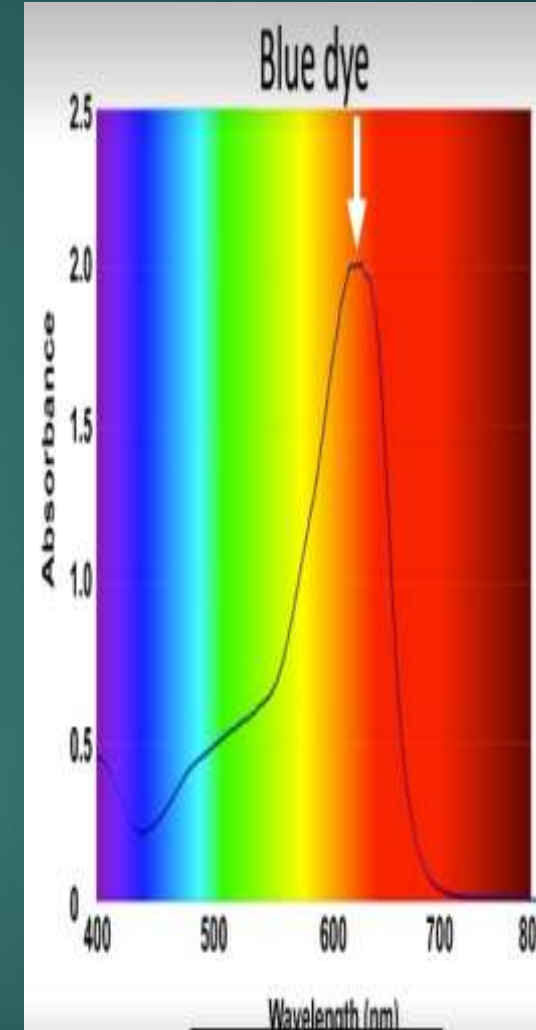
3. Τοποθέτηση Blanc στο φωτόμετρο και μηδενισμός.
Ως Blanc χρησιμοποιείται ο διαλύτης που έχουμε κάθε φορά.

$$A_{\text{total}} = A_{\text{compound}} + A_{\text{solvent}}$$

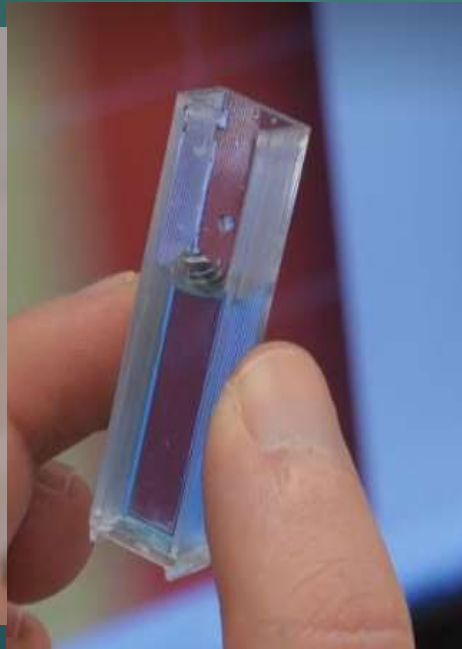
$$A_{\text{total}} - A_{\text{solvent}} = A_{\text{compound}}$$



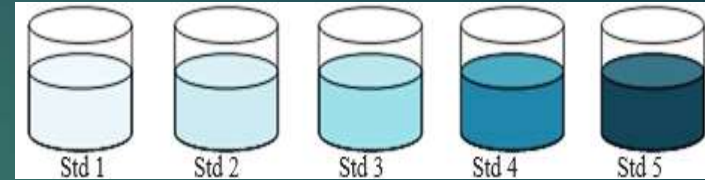
4. Απόρριψη του blanc, ξέπλυμα της κυψελίδας 2-3 φορές με ένα από τα πρότυπα διαλύματα και στη συνέχεια γέμισμα αυτής κατά τα 2/3 με το συγκεκριμένο πρότυπο διάλυμα.
5. Λήψη φάσματος απορρόφησης ώστε να επιλεγεί το βέλτιστο μήκος κύματος (αυτό που αντιστοιχεί στη μέγιστη απορρόφηση). Εναλλακτικά την τιμή του βέλτιστου μήκους κύματος για την ουσία μας την αναζητούμε βιβλιογραφικά.
6. Απόρριψη του διαλύματος, ξέπλυμα της κυψελίδας με το διαλύτη (blanc), επιλογή στο φωτόμετρο του βέλτιστου μήκους κύματος, μηδενισμός με blanc.



7. Ακολουθεί η μέτρηση της απορρόφησης στο επιλεγμένο μήκος κύματος, όλων των πρότυπων διαλυμάτων, ξεκινώντας από το αραιότερο και συνεχίζοντας με το αμέσως πιο πυκνό κλπ. Συγκεκριμένα ξεπλένουμε πρώτα την κυψελίδα 2 φορές με το αραιότερο πρότυπο και στη συνέχεια τη γεμίζουμε με αυτό κατά τα $2/3$. Την τοποθετούμε στο φωτόμετρο, κλείνουμε το καπάκι και σημειώνουμε την τιμή της απορρόφησης.



8. Ακολουθεί η μέτρηση στο επιλεγμένο μήκος κύματος των απορροφήσεων και των υπόλοιπων πρότυπων. (Εφόσον μετρούμε από το αραιότερο προς το πυκνότερο διάλυμα της ίδιας ουσίας, σε αυτό το στάδιο η κυψελίδα δεν χρειάζεται ξέπλυμα).

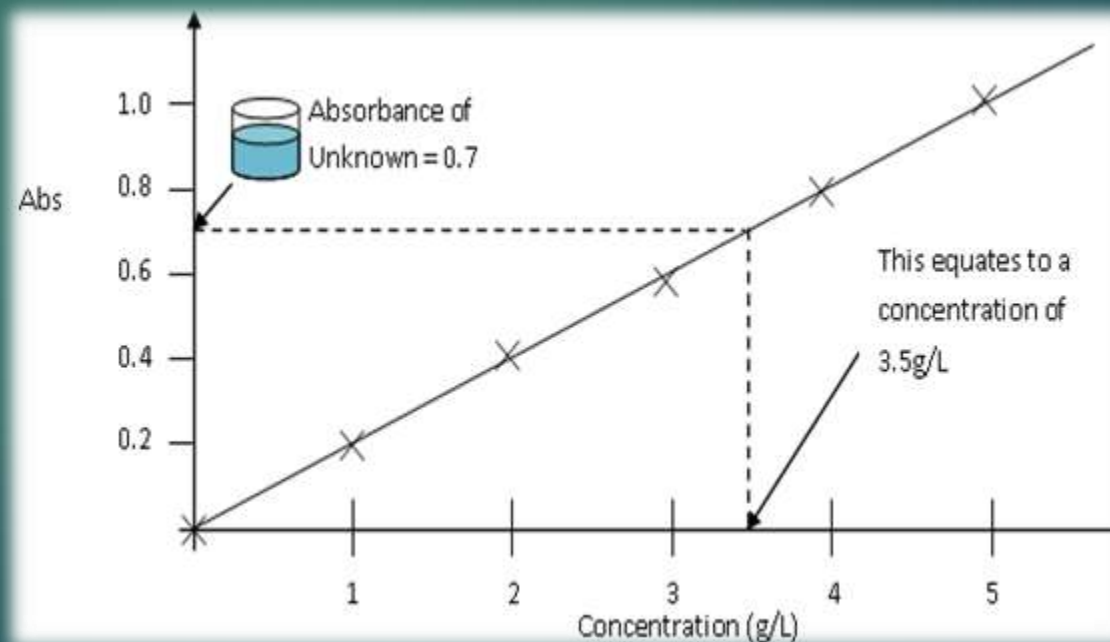
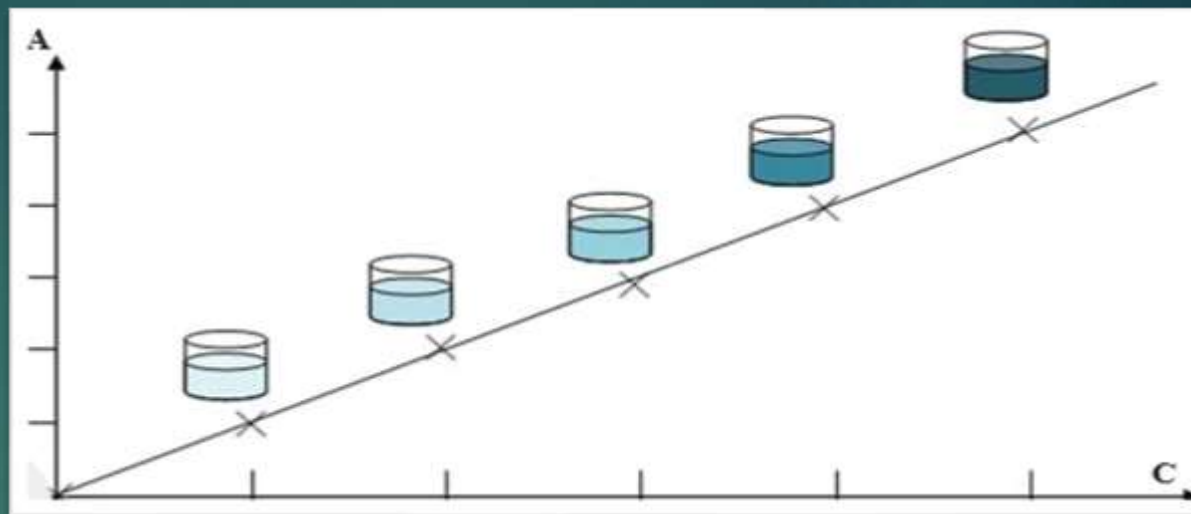


9. Στη συνέχεια ακολουθεί η μέτρηση απορρόφησης για το δείγμα άγνωστης συγκέντρωσης. Ξέπλυμα της κυψελίδας πρώτα με το διαλύτη και στη συνέχεια με το δείγμα άγνωστης συγκέντρωσης, γέμισμα κατά τα 2/3 της με το δείγμα, τοποθέτηση στο φωτόμετρο, και μέτρηση της απορρόφησης του δείγματος.



10. Κατασκευή της πρότυπης καμπύλης, με τη χρήση των τιμών απορρόφησης των πρότυπων διαλυμάτων (γνωστής συγκέντρωσης).

11. Εύρεση μέσω της πρότυπης καμπύλης της συγκέντρωσης του αγνώστου.



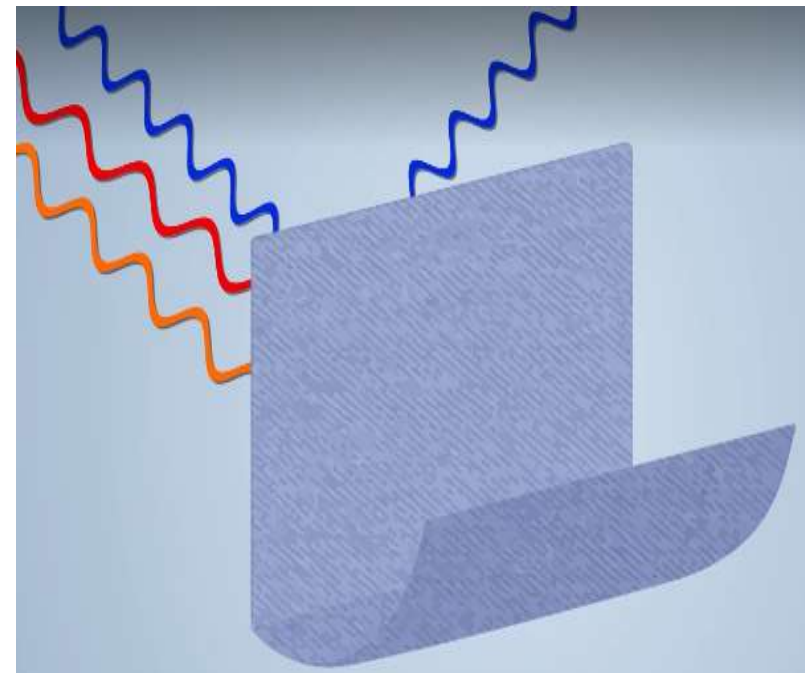
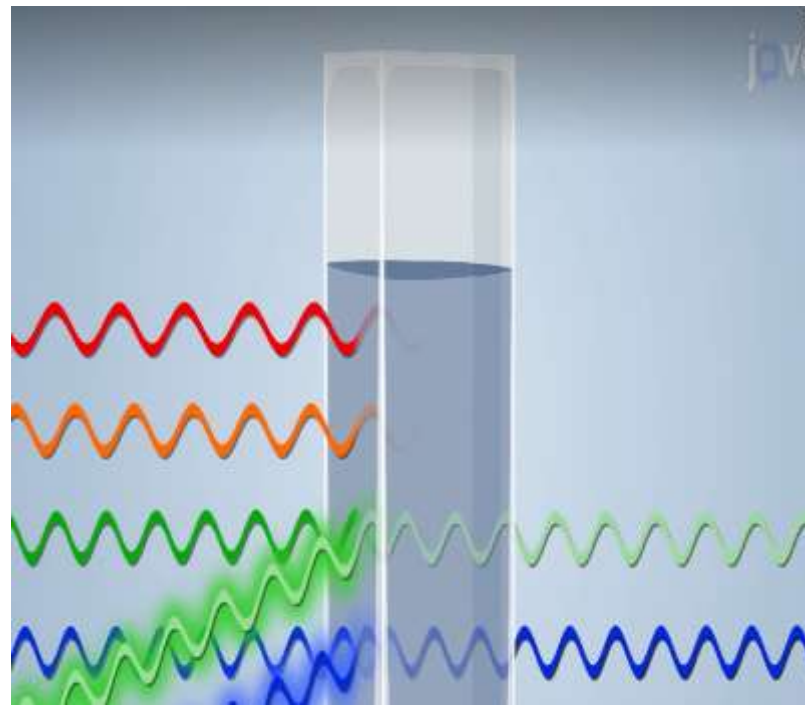
ΕΦΑΡΜΟΓΗ
ΕΥΡΕΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ
ΧΛΩΡΟΦΥΛΗΣ ΣΕ
ΔΕΙΓΜΑ ΠΡΑΣΙΝΩΝ
ΦΥΛΛΩΝ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το χρώμα το οποίο αντιλαμβανόμαστε είναι αυτό που αντανακλάται στην ορατή περιοχή.

Το χρώμα άρα που βλέπουμε εξαρτάται από το μήκος κύματος του φωτός που ανακλάται.

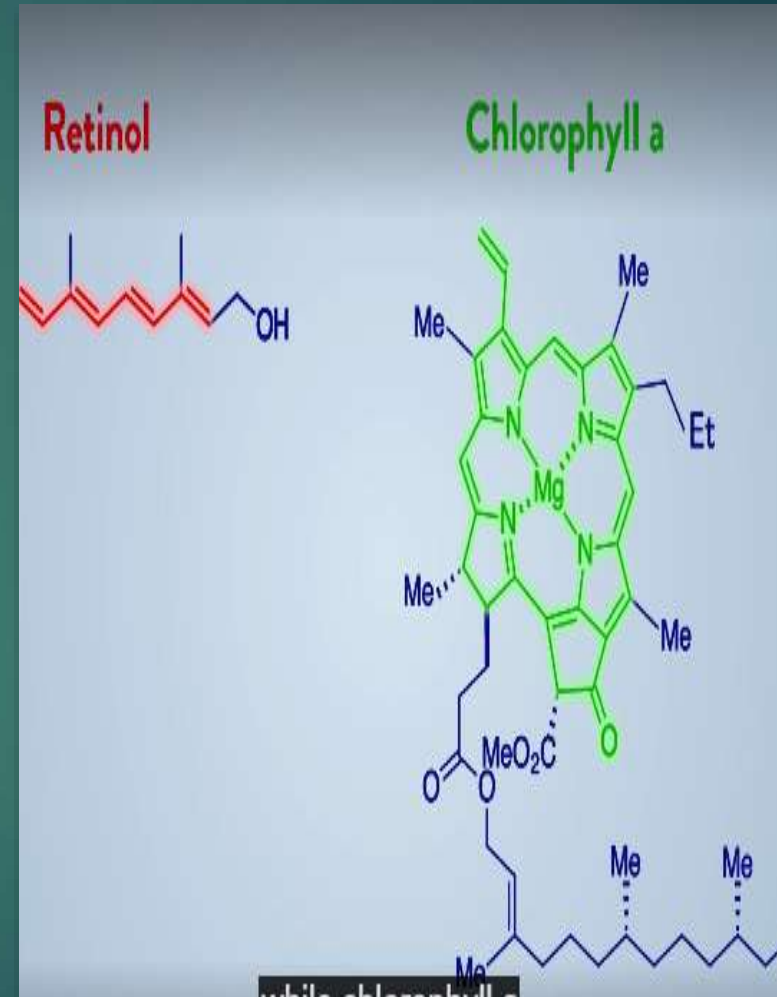
Μια ουσία που αντιλαμβανόμαστε ως μπλε αντανακλά φως στο μπλε εύρος (430 - 480 nm) του ορατού φάσματος και απορροφά φως (το οποίο συμπληρώνει το ανακλώμενο), στην πορτοκαλί περιοχή (590 - 630 nm) του ορατού φάσματος.



Χημική δομή και χρώμα

34

- ▶ Το χρώμα συνδέεται με παρουσία στο μόριο ακόρεστων αλλά και κορεσμένων ομάδων που καλούνται αντίστοιχα χρωμοφόρες και αυξόχρωμες (Witt το 1986).
- ▶ Χρωμοφόρα ομάδα είναι το τμήμα του μορίου που είναι υπεύθυνο για την απορρόφηση στην περιοχή υπεριώδους/ορατού. Αποτελείται από συστήματα συζυγών διπλών δεσμών.
- ▶ Κάποιες κοινές χρωμοφόρες ομάδες στις οργανικές ενώσεις είναι οι:
 - C=C-(Ομάδα βινυλενίου), -C=O (ομάδα καρβονυλίου), -C=S (θειοκαρβονυλομάδα), -NO₂(νιτροομάδα), -N=O (νιτροδοομάδα), -N=N-(αζωομάδες) και η -C=NH(ιμινομάδα).



- ▶ Αυξόχρωμος ομάδα καλείται η κορεσμένη πολική λειτουργική ομάδα με μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων η οποία όταν βρίσκεται σε συζυγιακή θέση σε σχέση με κάποιο χρωμοφόρο, αυξάνει την ένταση της απορρόφησης ή και μετατοπίζει το μέγιστο της απορρόφησης σε μεγαλύτερα μήκη κύματος.
- ▶ Κοινές αυξόχρωμες ομάδες είναι οι:
 - OH, (ομάδα του υδροξυλίου), -
 - COOH(ομάδα καρβοξυλίου), -
 - SO₃H(σουλφομάδα), -NH₂ (πρωτοταγής αμινομάδα), -NH- (δευτεροταγής αμινομάδα), -C(O)NH₂ (αμιδομάδα) και τέλος τα αλογόνα.

Χλωροφύλλη

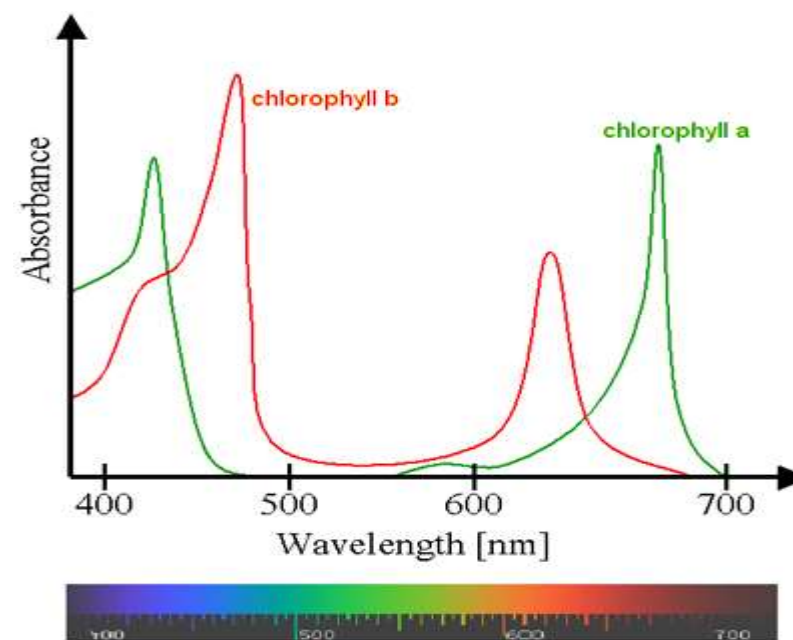
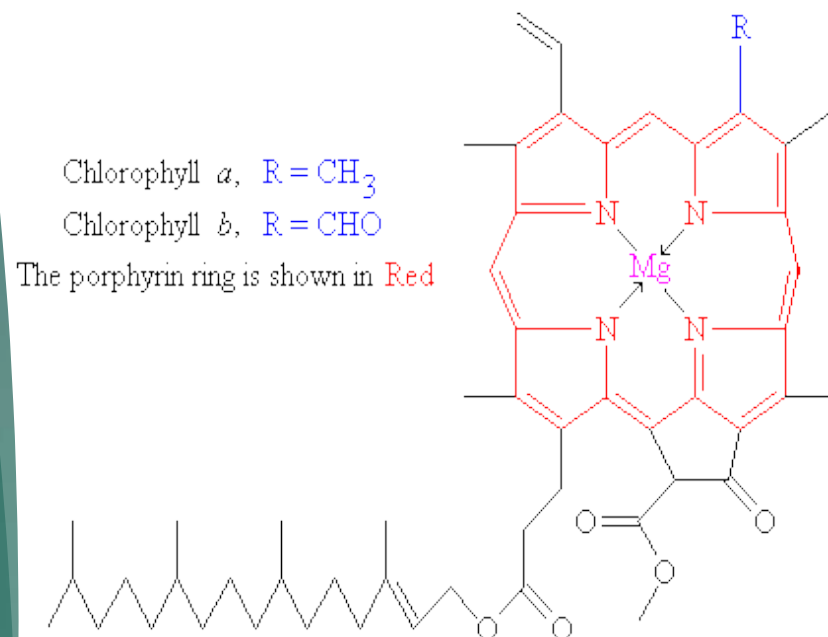
36

Αγγελική Απ. Γαδάνη

- ▶ Ως χλωροφύλλη χαρακτηρίζεται μια ολόκληρη ομάδα χρωστικών ουσιών, οι οποίες προσδίδουν το πράσινο χρώμα σχεδόν σε όλα τα φυτά.
- ▶ Η χλωροφύλλη είναι το μόριο που απορροφά το φως του ήλιου και χρησιμοποιεί την ενέργεια του για να συνθέσει υδατάνθρακες από το CO_2 και το νερό. Αυτή η διαδικασία είναι γνωστή ως φωτοσύνθεση και αποτελεί τη βάση για τη διατήρηση της διαδικασίας της ζωής όλων των φυτών. Δεδομένου ότι τα ζώα και οι άνθρωποι λαμβάνουν την τροφή τους με την κατανάλωση φυτών, η φωτοσύνθεση μπορεί να ειπωθεί ότι είναι η πηγή της ζωής μας.



- ▶ Οι 2 κύριοι τύποι χλωροφύλλης, ονομάζονται a και b, διαφέρουν ελάχιστα και συγκεκριμένα, στη σύνθεση μιας πλευρικής αλυσίδας (στην a είναι $-\text{CH}_3$, στην b είναι $-\text{CHO}$).
- ▶ Και οι δύο είναι πολύ αποτελεσματικοί φωτοϋποδοχείς, διότι περιέχουν δίκτυο εναλλασσόμενων μονών και διπλών δεσμών.



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Αντιδραστήρια – Σκεύη – Όργανα

Ακετόνη, φύλλα σπανακιού, ιγδίο πορσελάνης, ογκομετρικός κύλινδρος 25 mL, κωνική φιάλη 250 mL, γυάλινο χωνί, πτυχωτός ηθμός, ογκομετρική φιάλη 100 mL, κυψελίδες, φασματοφωτόμετρο ορατού.

2. Πειραματική Πορεία

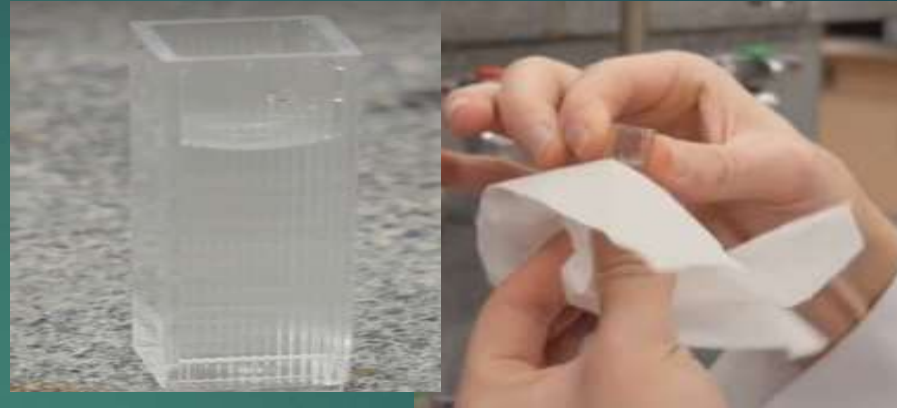
1. Ανοίγεται το φασματοφωτόμετρο.
2. Ζυγίζονται 1g φύλλων σπανακιού και λειοτριβούνται σε ιγδίο πορσελάνης.
3. Προσθέτονται 25 mL ακετόνης και αναμένεται να εκχυλιστούν οι χρωστικές. Τα φύλλα αποχρωματίζονται ενώ το διάλυμα γίνεται πράσινο.



4. Ακολουθεί απλή διήθηση με πτυχωτό ηθμό.
5. Ο ηθμός απορρίπτεται.
6. Το διήθημα, μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη 100 mL της οποίας ο όγκος συμπληρώνεται με ακετόνη έως τη χαραγή.



7. Επιλέγεται στο φωτόμετρο για μήκος κύματος 645 nm.
8. Γεμίζεται περίπου κατά τα 2/3 η κυψελίδα με το διαλύτη (ακετόνη), και σκουπίζεται προσεκτικά.
9. Τοποθετείται η κυψελίδα με τη διάφανη επιφάνεια προς το μέρος της πηγής φωτός και κλείνεται το καπάκι του φωτόμετρου.
10. Μηδενίζεται η απορρόφηση.



11. Αφαιρείται η κυψελίδα από το φωτόμετρο, και απορρίπτεται ο διαλύτης. Ξεπλένεται η κυψελίδα 2-3 φορές με το προς μέτρηση διάλυμα, γεμίζεται με αυτό περίπου κατά τα $2/3$ και σκουπίζεται προσεκτικά.
12. Η κυψελίδα τοποθετείται και πάλι στο φωτόμετρο με τη διάφανη πλευρά της προς την πηγή φωτός, κλείνεται το καπάκι του φωτόμετρου και καταγράφεται η μέτρηση της απορρόφησης του δείγματος στα 645nm .
13. Επιλέγεται ως μήκος κύματος 663 nm και επαναλαμβάνονται τα στάδια 8 έως και 12 και για αυτό το μήκος κύματος.



3. Μετρήσεις - Αποτελέσματα

Αποτελέσματα

Μετρήσεις

λ(nm)	Absorbance
645
663

$$\text{Chlorophyll a (mg/g)} = \frac{(12,7 * A_{663}) - (2,69 * A_{645}) * V}{1000 * W}$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g)} = \frac{(22,9 * A_{645}) - (4,7 * A_{663}) * V}{1000 * W}$$

$$\text{Chlorophyll total (mg/g)} = \text{Chlorophyll a} + \text{Chlorophyll b}$$

Όπου:

A₆₆₃: Απορρόφηση στα 663 nm

A₆₄₅: Απορρόφηση στα 645

V : Ο τελικός όγκος εκχυλίσματος σε mL

W: Το βάρος του δείγματος (φύλλων), σε g

Τα φασματοφωτόμετρα είναι δυνατόν να είναι μονής δέσμης, (Ορατού) αλλά και διπλής δέσμης, (Ορατού – Υπεριώδους)

Τα διπλής δέσμης, διαθέτουν δύο θέσεις για κυψελίδες. Μία πίσω και μια μπρος. Στην πίσω αφήνουμε πάντα κυψελίδα με blank (διαλύτη), και στην εμπρός τοποθετούμε blank όταν μηδενίζουμε και δείγμα όταν μετρούμε την απορρόφηση δείγματος.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

45

Αγγελική Ατ. Γαλάνη

- ▶ <https://www.jove.com/science-education/10204/ultraviolet-visible-uv-vis-spectroscopy>
- ▶ <https://www.jove.com/science-education/11225/uv-vis-spectroscopy-of-dyes>
- ▶ Madaín Pérez-Patricio, et all, «Optical Method for Estimating the Chlorophyll Contents in Plant Leaves», 22 February 2018 *Sensors* (<https://www.mdpi.com/journal/sensors>)
- ▶ <https://courseware.cutm.ac.in/wp-content/uploads/2020/05/Lec-11-Practical-Fundamentals-of-Crop-Physiology.pdf>
- ▶ https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-0716-1080-0_37
- ▶ <https://www.khanacademy.org/science/organic-chemistry/spectroscopy-jay/uv-vis-spectroscopy/v/absorption-in-the-visible-region>
- ▶ <https://www.khanacademy.org/science/organic-chemistry/spectroscopy-jay/uv-vis-spectroscopy/v/conjugation-and-color-1>
- ▶ https://www.youtube.com/watch?v=fguh6b_KNFI
- ▶ Αγγελική Ατ. Γαλάνη, « Σημειώσεις Εργαστηρίου Οργανικής Χημείας», Τμήμα Δ.Π.Φ.Π., Πανεπιστήμιο Πατρών, Ιούνιος 2016
- ▶ https://www.saddleback.edu/faculty/thuntley/bio3b/labs/bio3BChlorophyll_lab.pdf
- ▶ http://stevegallik.org/cellbiologyolm_Ex01_P03.html
- ▶ <http://www.di.uq.edu.au/sparqspectro>
- ▶ <http://www.rsc.org>
- ▶ http://www.thyssen-web.de/assets/files/fd_documents/sp_buche/uv_vis_pigmente.pdf
- ▶ http://www.chm.bris.ac.uk/motm/chlorophyll/chlorophyll_h.htm
- ▶ <http://www.isca.in/rjcs/Archives/v4/i9/12.ISCA-RJCS-2014-146.pdf>
- ▶ <http://docplayer.gr/8888282-Ergastirio-organikis-himeias-askisi-2-i-fasmatoftometria-geoponiko-panepistimio-athinon-geniko-tmima-ergastirio-himeias.html>