

AstroFarmer: scenariusze warsztatów oraz instrukcje techniczne

Spis treści

Ćwiczenie 1. Charakteryzacja regolitu – porównanie z glebą	2
Ćwiczenie 2. Magnetyczna separacja cząstek z regolitu księżycowego	5
Ćwiczenie 3. Odsolenie regolitu marsjańskiego	7
Ćwiczenie 4. Hodowla glonów i wykorzystanie biomasy jako nawozu	8
FAQ – Hodowla glonów do AstroFarmingu	11
Ćwiczenie 5. Metody filtracji biomasy.....	12
Instrukcja 1: Pomiar suchej masy Chlorelli	16
Instrukcja 2: Obliczanie tempa fotosyntezy	18
Instrukcja 3: Widmo absorpcyjne UV-VIS glonów (Chlorella)	20



Rys. 1. Uczestnicy warsztatów 19.12.2025 na Wydziale Inżynierii Środowiska Politechniki Warszawskiej

Ćwiczenie 1. Charakteryzacja regolitu – porównanie z glebą

Zanim zaczniemy modyfikować regolit i wykorzystywać go do uprawy roślin, warto poznać jego podstawowe właściwości fizyczne i chemiczne. W przeciwieństwie do ziemskiej gleby, która zawiera materię organiczną, mikroorganizmy, wodę i rozpuszczone składniki mineralne, regolit jest suchym, jałowym zbiorem ziaren mineralnych. W tym ćwiczeniu porównamy dwie próbki: *A* — *regolit* oraz *B* — *gleba*, aby sprawdzić m.in. wielkość i kształt ziaren, gęstość, wilgotność, pH oraz pojemność wodną. To pozwala zrozumieć, dlaczego regolit nie nadaje się bezpośrednio do uprawy roślin i jakie procesy trzeba w nim odtworzyć.

Cel:

Poznanie podstawowych właściwości fizycznych i chemicznych regolitu oraz porównanie ich z cechami typowej gleby.

Materiały:

- Próbka A (regolit), Próbka B (gleba)
- mikroskop z podziatką,
- menzurka i waga laboratoryjna (gęstość),
- higrometr elektroniczny (przed i po suszeniu)
- zestaw do pomiaru wilgotności grawimetrycznej (pomiar zmiany masy),
- zlewka, woda i płyn Helliga (pomiar pH)
- zestaw do pomiaru pojemności wodnej.
- zlewka, regolit, woda – pomiar EC (przewodności elektrycznej) w celu oceny zasolenia; można porównać regolit księżycowy, marsjański oraz typową glebę.

Pokaz / demonstracja:

- zdjęcia z analiz XRD – omówienie składu mineralnego i struktury ziaren.

Procedura:

1. Ocena morfologii ziaren:

Umieść odrobinę regolitu na szkiełku i obejrzyj pod mikroskopem z podziatką. Zwróć uwagę na wielkość, krawędzie i zróżnicowanie ziaren.

2. Pomiar gęstości nasypowej:

Odmierz określoną objętość regolitu w menzurce i zważ próbkę. Oblicz gęstość nasypową.

3. Pomiar wilgotności:

Zmierz wilgotność higrometrem oraz wykonaj pomiar grawimetryczny: zważ próbkę przed i po suszeniu.

4. Pomiar pH:

Zmieszaj regolit z wodą, odczekaj chwilę i użyj płynu Helliga. Zanotuj wynik i porównaj z typowym pH gleby.

5. Pojemność wodna:

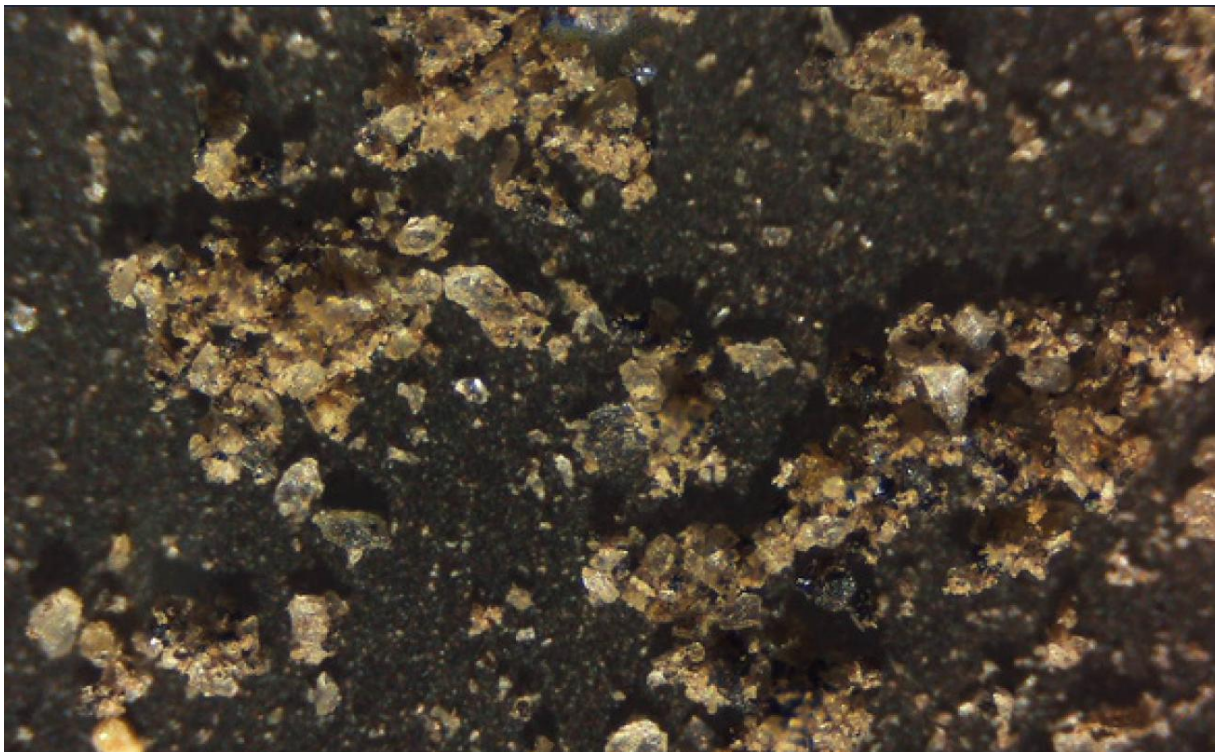
Zalej próbkę wodą, pozwól jej nasycić się i ocieknąć. Zmierz ilość zatrzymanej wody. Wynik przyda się w kolejnych ćwiczeniach dotyczących uprawy roślin.

6. Pomiar EC:

Sprawdź przewodność roztworu wodnego regolitu. Porównaj zasolenie regolitu marsjańskiego, księżycowego i gleby przy tej samej wilgotności.

Obserwacje i wnioski:

- oceń, czy regolit ma ostre, nieregularne ziarna, czy jest zróżnicowany mineralnie,
- porównaj gęstość i wilgotność z glebą – czy regolit trzyma wodę?
- zanotuj różnice w pH i potencjalny wpływ na rośliny,
- zwróć uwagę, jak bardzo typowa gleba różni się od regolitu pod względem właściwości retencyjnych oraz chemicznych.



Rys. 2. Regolit w mikroskopie optycznym.



Rys. 3. Odważanie porcji regolitu do późniejszej serii pomiarów.

Ćwiczenie 2. Magnetyczna separacja cząstek z regolitu księżycowego

Regolit księżycowy, w odróżnieniu od ziemskich gleb, jest bardzo ubogi w składniki odżywcze i pozbawiony życia biologicznego, ale zawiera sporo minerałów bogatych w żelazo. To właśnie dzięki nim można pozyskiwać surowce, np. do produkcji energii czy materiałów budowlanych.

Wyzwanie polega na tym, że takie cząstki trzeba najpierw odseparować od reszty regolitu. W tym ćwiczeniu pokazujemy prostą metodę: wykorzystujemy magnes do wydzielenia frakcji ferromagnetycznej, tak jak robiłyby to bardziej zaawansowane technologie ISRU (ang. *In-Situ Resource Utilization*). Przykładem ISRU jest również wykorzystanie ilmenitu do produkcji tlenu i wody (patrz: artykuł Izy).

https://reference-global.com/article/10.2478/arsa-2024-0002?utm_source=researchgate.net&utm_medium=article



Cel:

Poznanie właściwości magnetycznych regolitu księżycowego i wyodrębnienie frakcji bogatej w żelazo.

Materiały:

- próbka regolitu księżycowego (symulant)
- magnes neodymowy
- naczynie płaskie
- szpatułka
- waga laboratoryjna

Procedura:

1. Jeśli próbka jest wilgotna – wysusz ją w suszarce laboratoryjnej lub na powietrzu.
2. Wysyp cienką warstwę regolitu na naczynie.
3. Owiń magnes materiałem (np. folią)
4. Powoli przesuwaj magnes nad powierzchnią próbki. Ferromagnetyczne cząstki przyciągną się do magnesu.
5. Oddal magnes od bariery – zbierz cząstki przyciągnięte do niej przez magnes do osobnego naczynia.
6. Powtarzaj proces kilkakrotnie, aby zwiększyć czystość frakcji magnetycznej.
7. Zważ frakcję magnetyczną i pozostałość niemagnetyczną.

Obserwacje i wnioski:

- zanotuj ilość i wygląd ziaren ferromagnetycznych (pod mikroskopem)
- porównaj udział frakcji magnetycznej i niemagnetycznej,

Dalszy komentarz

Warto także zwrócić uwagę na silne właściwości elektrostatyczne regolitu księżycowego, które prowadzą do jego przywierania do skafandrów, zatykania instrumentów i licznych problemów eksploatacyjnych. Zagadnienie to jest intensywnie badane, a polskie zespoły ([m.in. AGH-
https://www.agh.edu.pl/aktualnosci/detail/lunaris-analizator-pylu-ksiezycowego-z-agh-przetestowany-w-europejskiej-agencji-kosmicznej](https://www.agh.edu.pl/aktualnosci/detail/lunaris-analizator-pylu-ksiezycowego-z-agh-przetestowany-w-europejskiej-agencji-kosmicznej)) opracowują własne rozwiązania ograniczające te efekty.



Rys. 4. Separacja magnetyczna sumlantu regolitu marsjańskiego.

Ćwiczenie 3. Odsolenie regolitu marsjańskiego

Marsjański regolit jest jeszcze trudniejszy do uprawy niż księżycowy, bo oprócz tego, że nie ma w nim próchnicy ani mikroorganizmów, zawiera też związki szkodliwe dla roślin – przede wszystkim sole i chlorany. Te związki utrudniają wchłanianie wody i mogą działać toksycznie. Dlatego jednym z pierwszych kroków w przygotowaniu regolitu do uprawy jest jego odsolenie. W tym ćwiczeniu sprawdzamy, jak wyptukać sól z regolitu, a przy okazji uczymy się, jak monitorować skuteczność tego procesu, np. za pomocą pomiaru przewodności roztworu.

Cel:

Zrozumienie, jak zasolenie ogranicza wykorzystanie regolitu marsjańskiego jako podłoża oraz jak można je usuwać.

Materiały:

- próbka regolitu marsjańskiego (symulant)
- NaCl (sól kuchenna)
- waga laboratoryjna
- naczynie, sito lub wirówka
- woda dejonizowana
- suszarka laboratoryjna
- konduktometr EC

Procedura:

1. Umieść zasoloną próbkę w naczyniu i dodaj wodę dejonizowaną w stosunku 1:2–1:5 (regolit : woda).
2. Mieszaj przez kilka minut, aż sól się rozpuści.
3. Oddziel wodę (np. odwirowanie lub sedymentacja/dekantacja).
4. Powtórz płukanie 2–3 razy, aby usunąć większość soli. Powtarzaj pomiary EC.
5. Osusz regolit w suszarce laboratoryjnej lub na powietrzu.
6. Zmierz przewodność ostatniego roztworu płuczącego – to pozwoli ocenić, ile soli pozostało.

Obserwacje i wnioski:

- sprawdź, czy w kolejnych płukaniach przewodność roztworu maleje,
- oceń, ile cykli płukania potrzeba, by skutecznie odsolić próbkę.

Komentarz:

Nasz regolit został zasolony przed zajęciami, ponieważ obecna wersja komercyjnie dostępnego jest już odsolona (odważono porcję regolitu (100 g) i dodano soli (1 g NaCl) dla uzyskania 1% zasolenia).

Ćwiczenie 4. Hodowla glonów i wykorzystanie biomasy jako nawozu

Nawet jeśli uda się oczyścić regolit, pozostaje on jałowym „piaskiem” – bez materii organicznej i mikroorganizmów, które umożliwiłyby rozwój roślin. Dlatego konieczne jest stworzenie podstawowego obiegu składników odżywczych. Jednym z prostych rozwiązań jest hodowla glonów, np. *Chlorelli*, które szybko produkują biomasę bogatą w azot, fosfor i mikroelementy. Wyzwanie polega na tym, że sama biomasa musi być rozłożona przez inne organizmy, aby składniki stały się dostępne dla roślin – a regolit takich mikroorganizmów nie ma. To otwiera dyskusję o tym, jak „ożywić” martwy materiał i zamienić go w prawdziwą glebę.

Cel:

Zbadanie możliwości produkcji biomasy glonów jako źródła materii organicznej i nawozu dla regolitu. Zwrócenie uwagi, że mogą również być wykorzystywane do produkcji tlenu.

Materiały:

- butelka 5-litrowa (reaktor hodowlany)
- pompka akwariowa z wężykiem (napowietrzanie)
- źródło światła (lampa LED lub świetlówka)
- szczep glonów (np. *Chlorella*)
- pożywka: 1 g/l Azofoska, 0,25 g/l Polifoska, kilka kropli roztworu mikroelementów
- pielucha tetrowa, filtry do kawy lub wirówka (do separacji biomasy)
- regolit (symulant), który ma być wzbogacony biomasą

Działania do podjęcia dwa tygodnie przed zajęciami:

1. Napętnij butelkę wodą i dodaj pożywkę (Azofoska, Polifoska, mikroelementy).
2. Zaszczep kulturę glonów.
3. Napowietrzaj i oświetlaj przez 10–14 dni, aż woda stanie się intensywnie zielona. Maksymalne stężenie biomasy to ok. 1 g/l/dzień.

Działania na warsztatach:

4. Pobierz pipetą próbkę do spektrometru – oceń „gęstość” kolonii
5. Odfiltruj glony przez filtry lub odwirowanie.
6. Uzyskaną „zieloną maź” (biomasę) dodaj do regolitu: 10g suchej biomasy (czyli z 80g mokrej na 1kg podłoża)
7. Awaryjnie: dysponujemy a) biomasą ze szkolnej hodowli oraz b) tabletkami z apteki z chlorellą oraz spiruliną (rozdrobnij – zwróć uwagę na kolory!)
8. Część kultury zostaw jako inokulum do kolejnego cyklu – uzupełnij wodą i pożywką, by rozpocząć nową hodowlę.

Obserwacje i wnioski:

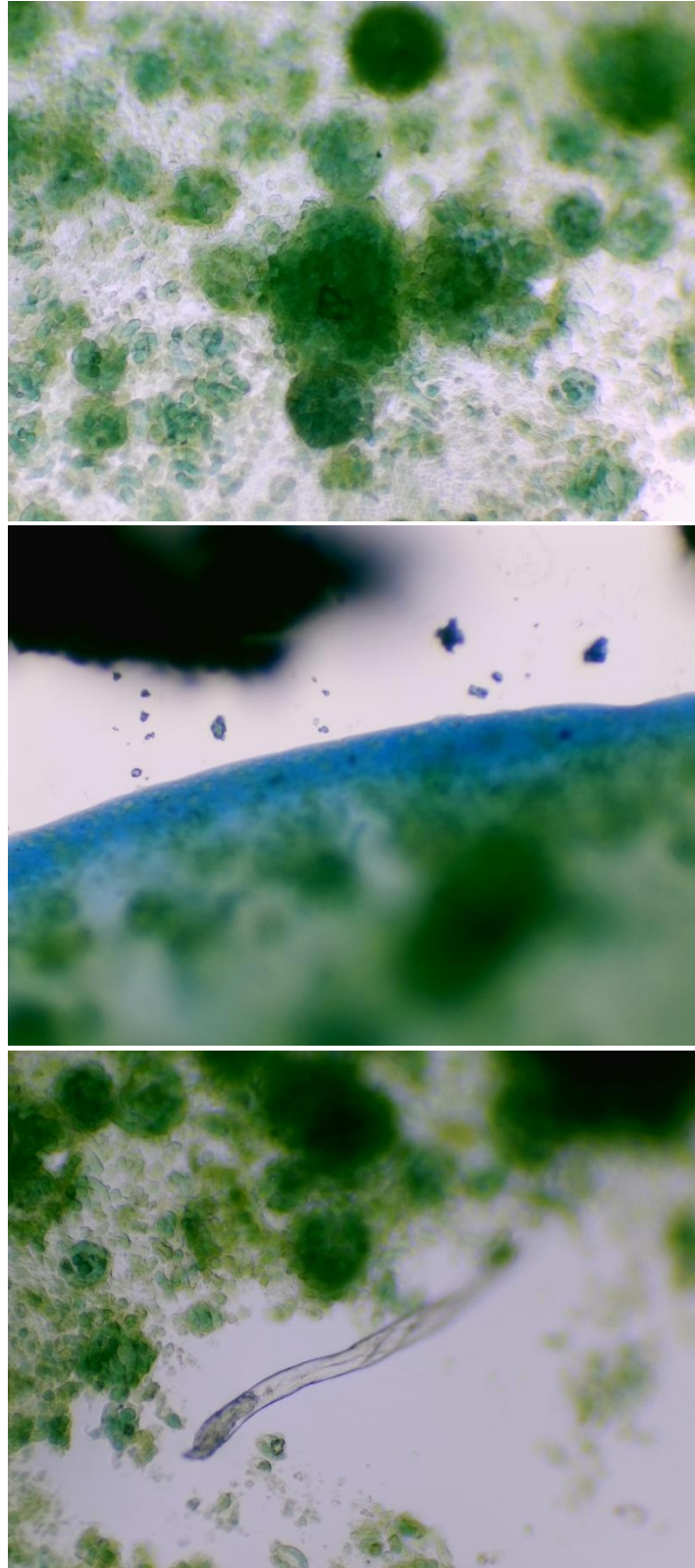
- regolit sam w sobie jest jałowy i ubogi, zawiera toksyczne składniki (np. glin, chlorany w wersji marsjańskiej),
- dodanie biomasy glonów może wprowadzić źródło materii organicznej, ale w regolocie brak mikroorganizmów rozkładających tę biomasę - humifikacja to ważny proces, ale zbyt długi na warsztat
- jakie dodatkowe elementy (np. bakterie glebowe, grzyby) są potrzebne do stworzenia „żywej gleby”?

Komentarz:

1. Biomasa odzyskaną z pierwszego reaktora mogliśmy mrozić
2. Świeża dostawa dzień przed pozwala zaszczyć nową hodowlę
3. Reaktor domowy versus reaktor profesjonalny
4. Kalibracja gęstości kolonii w g/l przez absorbancję zawiera jeden haczyk – absorbancja jest nieliniowa gdy przekracza 1,0-1,2, wtedy trzeba rozcieńczyć roztwór



Rys. 5. GrowBox z widoczną hodowlą glonów.



Rys. 6. Seria zdjęć mikroskopowych spiruliny i chlorelli po rozkruszeniu tabletek z suszoną biomasą

FAQ – Hodowla glonów do AstroFarmingu

1. Czy zbiornik powinien być przykryty?

Tak, najlepiej lekko przykryć, żeby ograniczyć zanieczyszczenia z zewnątrz, ale nie szczelnie. Ponieważ woda jest napowietrzana pompką, musi istnieć ujście dla powietrza.

2. Czy nie lepiej zamiast czystej Chlorelli użyć wody z kałuży, gdzie są różne glony (bioróżnorodność)?

To możliwe i faktycznie wprowadzi większą różnorodność gatunków. Trzeba jednak pamiętać, że w takiej wodzie mogą być także bakterie i inne mikroorganizmy, które mogą wypierać glony i obniżyć stabilność hodowli. Dlatego do powtarzalnych eksperymentów zwykle używa się monokultur (np. Chlorella).

3. Jak najlepiej oddzielić glony od wody?

Możesz użyć różnych metod:

- pielucha tetrowa,
- bibuła filtracyjna, filtr do kawy lub filtr laboratoryjny.
- odwirowanie

Po filtracji na materiale zostaje zielona „maź”, którą zdrapuje się szpatułką i dalej wykorzystuje.

4. Czy glony są równomiernie rozmieszczone w zbiorniku?

Chlorella rozkłada się w wodzie dość jednorodnie, więc nie ma większego znaczenia, czy próbkę pobierzesz z góry, środka czy dołu zbiornika. Przy innych gatunkach może być inaczej (np. formy nitkowate mogą tworzyć kępy albo opadać na dno).

Ćwiczenie 5. Metody filtracji biomasy

Biomasa glonów powstająca w trakcie hodowli jest silnie rozcieńczona – większość objętości stanowi woda. Aby możliwe było jej dalsze wykorzystanie (analizy, suszenie, przetwarzanie na bioprodukty), trzeba oddzielić biomasę od pożywki. W tym ćwiczeniu porównujemy różne metody filtracji biomasy glonów, analizując **tempo filtracji**, **możliwość skalowania** oraz **nakład energii**. Jako obiektywną miarę jakości filtracji wykorzystujemy **pomiar przejrzystości filtratu (OD) spektrometrem UV-VIS** oraz **pomiar masy biomasy zatrzymanej na filtrze**.

Cel:

Porównanie metod odzysku biomasy glonów z zawiesiny wodnej na podstawie tempa procesu, jakości filtratu (UV-VIS) i masy odzyskanej biomasy, z uwzględnieniem skalowalności i nakładu energii.

Materiały:

- hodowla glonów (zawiesina biomasy w pożywce)
- lejek filtracyjny (grawitacyjny)
- filtr do kawy (papierowy)
- bibuła filtracyjna (różne porowatości, jeśli dostępne)
- lejek Büchnera i kolba ssawkowa
- pompa próżniowa lub aspirator wodny
- cylindry miarowe / zlewki
- stoper
- spektrometr UV-VIS i kuwety
- waga laboratoryjna
- suszarka (opcjonalnie, do „suchej masy”)

Procedura:

1. Przygotowanie próbek

- Wymieszaj hodowlę, aby zawiesina była jednorodna.
- Odmierz równe objętości do każdej metody (np. 100–200 ml).
- Pobierz próbkę „przed filtracją” do pomiaru UV-VIS (referencja).

2. Pomiar UV-VIS próbki wyjściowej (OD początkowe)

- Ustaw „blank” na samej pożywce (bez glonów), jeśli jest dostępna.
- Zmierz gęstość optyczną zawiesiny glonów przy wybranej długości fali (np. 680 nm dla chlorofilu lub 750 nm jako pomiar rozpraszania światła). Zapisz jako **OD₀**.

3. Filtracja grawitacyjna

- Zważ suchy filtr (bibuła/filtr do kawy) i zapisz masę **m_{filtr-0}**.
- Przeprowadź filtrację w lejku grawitacyjnym. Mierz czas do uzyskania np. 90% objętości filtratu.
- Zbierz filtrat (przesącz) do osobnego naczynia.

4. Filtracja próżniowa (Büchner + podciśnienie)

- Zważ suchą bibułę przeznaczoną do Büchnera (**m_filtr,0**).
- Wykonaj filtrację podciśnieniową tej samej objętości zawiesiny. Zmierz czas.
- Zbierz filtrat.

5. Ocena jakości filtracji – UV-VIS filtratów

- Dla każdego filtratu wykonaj pomiar OD w tych samych warunkach co dla próbki wyjściowej. Zapisz jako **OD_f**.
- Oblicz „sprawność klarowania” jako np. **% usunięcia zawiesiny = $(1 - OD_f / OD_0) \times 100\%$** (im wyższy wynik, tym klarowniejszy filtrat).

6. Ocena odzysku biomasy – masa na filtrze

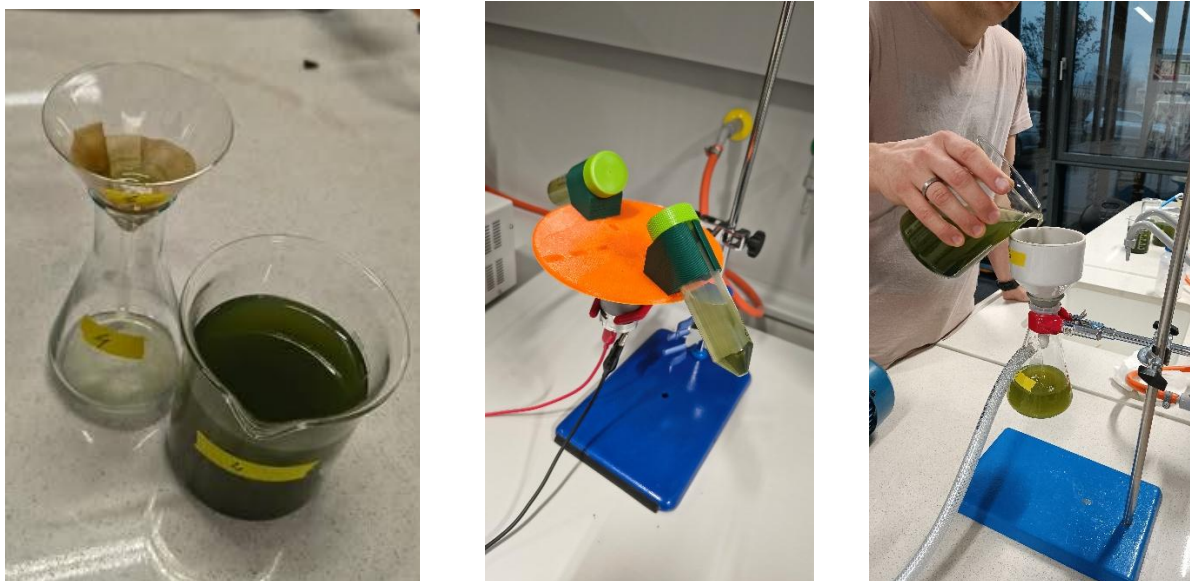
- Po filtracji odsącz filtr (opcjonalnie krótkie dosuszenie na powietrzu lub w suszarce).
- Zważ filtr z biomasą: **m_filtr,1**.
- Oblicz masę mokrej (lub suchej) biomasy: **m_biomasy = m_filtr,1 - m_filtr,0**.
- Jeśli masz suszarkę: dosusz do stałej masy i uzyskaj **suchą masę biomasy** (bardziej porównywalną między metodami).

Obserwacje i wnioski:

- porównaj **tempo filtracji** (ml/min) i podatność filtrów na zapychanie,
- porównaj **OD filtratów (OD_f)** i wyliczony **% usunięcia zawiesiny**,
- porównaj **masę odzyskanej biomasy** na filtrach,
- czy metoda dająca najczystszy filtrat zawsze daje największy odzysk biomasy?
- omów kompromis: grawitacja (niska energia, wolno) vs próżnia (szybciej, wyższy nakład energii/sprzętu).

Komentarz:

Pomiar UV-VIS daje prostą, ilościową ocenę przejrzystości filtratu i pozwala porównać metody nawet wtedy, gdy „na oko” różnice są subtelne. Filtracja grawitacyjna jest najtańsza energetycznie, ale zwykle najwolniejsza i trudna do skalowania przy dużych objętościach. Filtracja próżniowa przyspiesza proces kosztem energii i infrastruktury. W większej skali (pół-przemysłowej) często rozważa się urządzenia o pracy ciągłej (np. filtry taśmowe) lub metody szybkie, ale energochłonne (wirowanie). Dlatego w praktyce wybór metody zależy od tego, czy priorytetem jest **czas, koszt energii, czy maksymalny odzysk biomasy**.

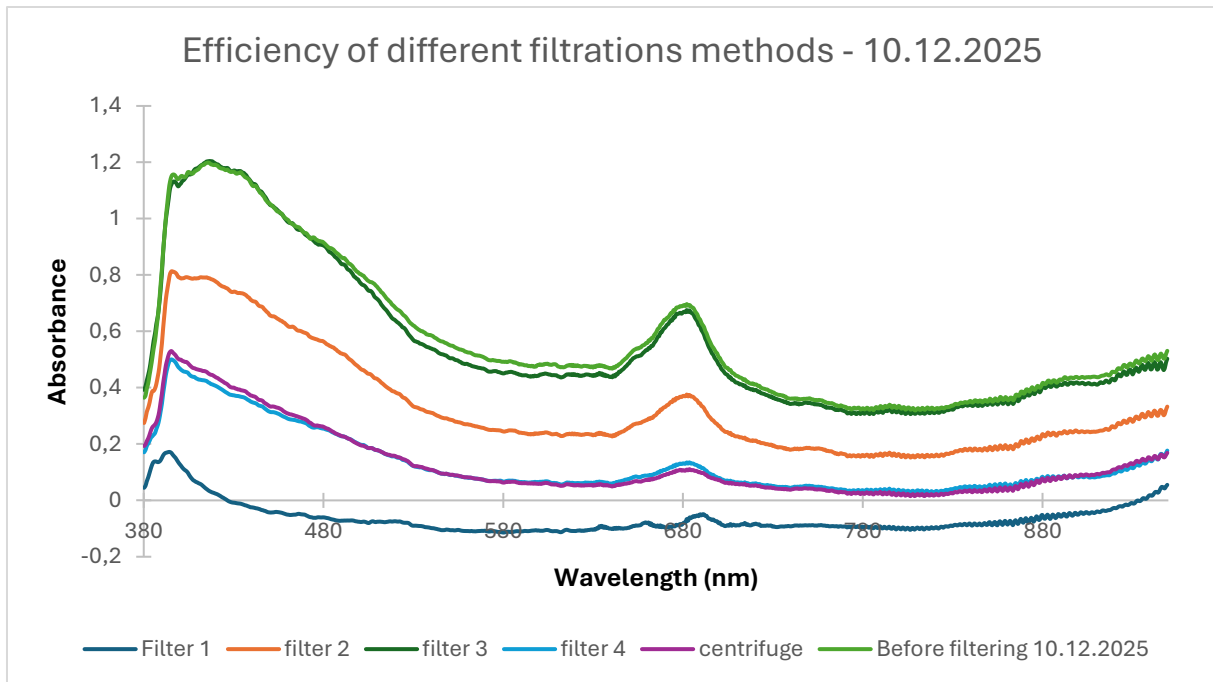


Rys. 7. Seria stanowisk do filtracji różnymi metodami (za uprzejmością Akademeia High School, gdzie przeprowadzono część prac przygotowawczych)



Rys. 8. Seria zdjęć prezentujących preparaty po filtracji różnymi metodami (za uprzejmością Akademeia High School, gdzie przeprowadzono część prac przygotowawczych)

Poniższy wykres zawiera ilościowe porównanie efektywności różnych metod filtracji:



	SUM of absorbance	percentage filtered
Before filtering 10.12.2025	447,1	N/A
Filter 1	-49,3	89,0%
filter 2	253,9	43,2%
filter 3	430,9	3,6%
filter 4	100,1	77,6%
centrifuge	99,5	77,7%

Instrukcja 1: Pomiar suchej masy Chlorelli

Dlaczego:

Suszenie glonów pozwala wyznaczyć suchą masę (g/L), która jest standardowym sposobem wyrażania stężenia biomasy.

Jak:

Pobierz znaną objętość hodowli (np. 10 lub 50 mL), przefiltruj ją lub odwiruj, a następnie susz osad/pozostałość na płycie grzewczej w temperaturze ok. 60–80 °C, aż masa stanie się stała.

Uwaga:

Zbyt wysoka temperatura (>100 °C) może powodować rozkład barwników i związków organicznych. Jeśli chcesz zachować biomasę do analizy składników odżywczych, pozostań bliżej 60–70 °C.

Zastosowanie:

Mając zależność suchej masy od absorbancji, możesz przygotować krzywą kalibracyjną i nie musisz suszyć próbek za każdym razem.

Ile trwa suszenie?

Zależy to od rodzaju materiału, grubości warstwy i temperatury. Dla próbek w skali warsztatów:

Chlorella (na filtry / bibule)

- 10–50 mL hodowli → cienka warstwa na filtrze, 60–80 °C: **30–90 min** do osiągnięcia stałej masy
- Grube osady / „żelowe” placki: **1–2 h** (czasem dłużej)

Wskazówka: utrzymuj temperaturę ≤ 80 °C, aby nie „przypiekać” ani nie rozkładać związków organicznych, jeśli biomasa ma być później wykorzystana.

Jak ważyć podczas suszenia

Zwykłe wagi nie pozwalają ważyć „na gorąco” na płycie grzewczej. Zrób to tak:

- Wytaruj i opisz pojemnik (alumiowa tódką wagową, szkiełko zegarkowe lub wcześniej wysuszony filtr). Zapisz jego masę.
- Nałóż próbkę → zapisz masę mokłą (pojemnik + próbka).
- Susz na płycie grzewczej do wybranej temperatury. Przez pierwsze 5–10 min zacznij od niższej temperatury, aby uniknąć pryskania, potem zwiększ.
- Zdejmij z płyty, przykryj luźno (folią z naktuciami) i ostudź 5–10 min (najlepiej w ekssykatorze).
- **Nie waż gorącej próbki:** unoszące się powietrze i siła wyporu powodują błędy, a gorące naczynia mogą uszkodzić wagę.
- Zważ → włóż z powrotem do suszenia → powtarzaj cykl suszenie–chłodzenie–ważenie aż do uzyskania stałej masy.

Kryterium stałej masy:

zmiana < 5 mg między dwoma ważeniami dla małych próbek lub < 0,1% masy próbki.

Wskazówki praktyczne

- Filtry i łożki wagowe wysusz i wytaruj wcześniej, aby uzyskać dokładne wyniki biomasy.
- Glony susz poniżej 80 °C;
- Pracuj czysto: pył regolitu jest ostry — używaj maski i nie susz glonów i regolitu obok siebie.
- Jeśli masz dostęp do analizatora wilgotności (waga z wbudowanym grzaniem), możesz mierzyć masę ciągle; w przeciwnym razie metoda cykliczna: zdejmij–ostudź–zważ jest właściwym rozwiązaniem.

Instrukcja 2: Obliczanie tempa fotosyntezy

Dostarczony zestaw DAQ z sensorem CO₂ oraz czujnikiem światła pozwala oszacować tempo fotosyntezy rośliny. Kluczem jest umieszczenie liścia/rośliny, szczelnej komorze i mierzenie, jak szybko zmienia się stężenie CO₂ przy kontrolowanym oświetleniu.

Sprzęt

- Przezroczysta komora z pokrywą (o znanej objętości V, np. 2,0 L)
- Mały wentylator mieszający wewnątrz komory (bardzo ważny)
- Czujnik CO₂ (rejestrujący ppm w funkcji czasu)
- Czujnik światła (PAR) lub luksomierz; lampa z regulacją natężenia
- Stoper/rejestrator danych, termometr (T) i – jeśli to możliwe – barometr (P)
- Linijka/telefon + kartka w kratkę do wyznaczenia powierzchni liścia A (m²)

Przygotowanie

- Umieść liść (lub małą roślinę) w komorze; zmierz lub oszacuj powierzchnię liścia A.
- Włącz wentylator i czujniki. Poczekaj, aż wskazania się ustabilizują (1–2 minuty).
- Rejestruj CO₂ w czasie przy kilku poziomach oświetlenia (np. ciemność, niskie, średnie, wysokie). Każdy etap utrzymuj wystarczająco długo, aby uzyskać wyraźne liniowe nachylenie.
- Opcjonalnie (ale bardzo zalecane): wykonaj pomiar w ciemności (światło wyłączone), aby zmierzyć oddychanie.

Obliczenia

- Dla każdego poziomu oświetlenia dopasuj linię prostą do zależności CO₂ (ppm) od czasu (min) → nachylenie d(ppm)/dt.
- Przelicz to na netto wymianę CO₂ w przeliczeniu na powierzchnię liścia:

$$\text{Fotosynteza netto } (\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})) = -d(\text{ppm})/\text{dt} \times P/(\text{R} \cdot \text{T}) \times V/A \times 1/10^6 \times 1/60$$

gdzie:

- P = ciśnienie (Pa), T = temperatura (K), R = 8,314 J·mol⁻¹·K⁻¹
- V = objętość komory (m³), A = powierzchnia liścia (m²)
- Znak minus, ponieważ podczas fotosyntezy stężenie CO₂ maleje.

Szybka reguła dla 25 °C i 1 atm: $P/(\text{R} \cdot \text{T}) \approx 40,9 \text{ mol}/\text{m}^3$

Przykład (realistyczne liczby)

- Nachylenie = -150 ppm/min
- $V = 0,002 \text{ m}^3$ (2 L)
- $A = 0,010 \text{ m}^2$ (liść 100 cm^2)
- $T = 298 \text{ K}$

tempo $\approx -(-150 \times 10^{-6}) \times 40,9 \times 0,002 / 0,010 \times 1/60 \approx 20 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$

To zdrowa, typowa wartość dla wielu liści.

Fotosynteza netto a brutto

- **Fotosynteza netto** to wartość obliczona podczas pomiaru w świetle.
- **Oddychanie w ciemności**: oblicz (dodatnie) nachylenie w ciemności (CO_2 roślinie).
- **Fotosynteza brutto = fotosynteza netto + oddychanie.**

Pomiary światła

- Jeśli masz czujnik PAR, używaj go bezpośrednio ($\mu\text{mol fotonów m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).
- Jeśli masz tylko luksomierz, możesz notować luks jako wartość porównawczą, ale przeliczanie luks \rightarrow PAR jest przybliżone (dla białych LED-ów bardzo orientacyjnie: 50–70 luksów $\approx 1 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

Ile czasu zajmuje ćwiczenie w klasie?

- Komora / ustawienie i pomiar powierzchni liścia: ~ 10 – 15 min
- Stabilizacja i sprawdzenie kalibracji: ~ 5 min
- Pomiary przy 3–4 poziomach oświetlenia (każdy: ~ 5 min stabilizacji + ~ 5 min rejestracji nachylenia): ~ 30 – 40 min
- Opcjonalny pomiar w ciemności: ~ 5 – 10 min
- Szybka analiza (dopasowanie nachyleń, obliczenia): ~ 10 – 15 min

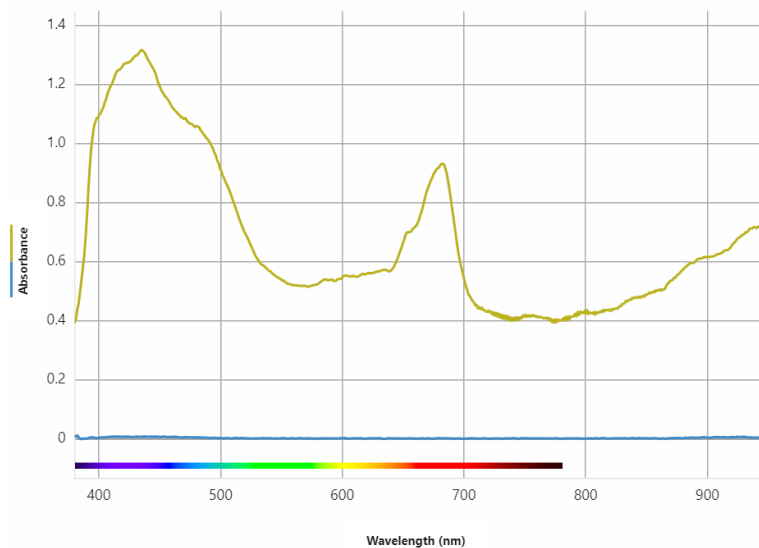
Wskazówki i pułapki

- Zachowuj liniowość zmian CO_2 : używaj wentylatora mieszającego i unikaj zbyt długich etapów, które nadmiernie obniżają stężenie CO_2 .
- Unikaj nieszczelności i przegrzewania: uszczelnij połączenia, używaj chłodnego źródła LED, kontroluj temperaturę liścia.
- Opóźnienie czujnika: zacznij liczyć czas dopiero po ustabilizowaniu wskazań; do dopasowania nachylenia używaj najbardziej liniowego, środkowego fragmentu danych.
- Powierzchnia liścia: zrób zdjęcie na papierze milimetrowym, policz kratki lub użyj ImageJ, aby zwiększyć dokładność.

Instrukcja 3: Widmo absorpcyjne UV-VIS glonów (Chlorella)

Gdy mierzymy widmo absorpcji UV-Vis zawiesiny glonów, oś X przedstawia długość fali (w nanometrach), a oś Y **absorbancję** – czyli ile światła jest pochłaniane przez próbkę. Wyższa absorbancja oznacza, że mniej światła przechodzi przez próbkę. Piki w widmie odpowiadają długościom fal, przy których barwniki, takie jak chlorofil, silnie absorbują światło.

Dla organizmów fotosyntetyzujących, takich jak *Chlorella*, charakterystyczne są dwa piki chlorofilu: jeden w obszarze niebieskim (~430–450 nm) i drugi w obszarze czerwonym (~660–680 nm). W zakresie 500–600 nm absorpcja jest niska, dlatego glony wydają się zielone — odbijają lub przepuszczają światło zielone. Patrząc na typowe widmo, zobaczysz silny pik w części niebieskiej, silny pik w części czerwonej oraz „dotek” w obszarze zielonym, dokładnie tak, jak można oczekiwać dla barwników chlorofilowych.



Rys. 9. Widmo absorpcyjne UV-VIS próbki pobranej z hodowli wodnej glonów *Chlorella* - widmo chlorofilu.

Wysokość tych pików odzwierciedla stężenie hodowli. Na przykład w naszych danych próbki o wyższej całkowitej absorbancji (np. Abs ~1,3 przy 657 nm) odpowiadają gęstszym zawiesinom glonów, zawierającym więcej chlorofilu i więcej komórek, natomiast próbki o niższej absorbancji wskazują na rozcieńczone kultury. W praktyce absorbancja ~1,0 oznacza, że około 90% światła jest pochłaniane przy danej długości fali, natomiast 0,3 oznacza około 50% absorpcji. Powyżej ~1,2–1,5 pomiary stają się niewiarygodne, ponieważ pochłaniane jest zbyt dużo światła, dlatego gęste próbki często trzeba rozcieńczać.

Do ilościowego opisu wzrostu glonów najbardziej użyteczny jest czerwony pik w okolicach 680 nm, ponieważ jest on zdominowany przez absorpcję chlorofilu *a*. Pomiar absorbancji w tym miejscu nazywa się gęstością optyczną przy 680 nm (OD_{680}) i stanowi wiarygodny wskaźnik biomasy glonów. Absorbancja podlega prawu Lamberta-Beera: jest proporcjonalna do stężenia, o ile pozostajemy w zakresie liniowym (zwykle 0,1–1,0). Na przykład, jeśli jedna hodowla ma $OD_{680} = 0,5$, a druga $OD_{680} = 1,0$, to druga zawiera około dwukrotnie większą biomasę.

Wykonując codzienne pomiary OD₆₈₀, można zbudować krzywą wzrostu: wykres absorbancji w funkcji czasu pokazuje fazę lag, fazę wykładniczą i fazę stacjonarną. Nachylenie krzywej w fazie wykładniczej informuje o szybkości wzrostu. Jeśli potrzebna jest rzeczywista biomasa w gramach na litr, konieczna jest krzywa kalibracyjna: należy pobrać znane objętości hodowli, wysuszyć biomasę, zważyć ją, a następnie sporządzić wykres zależności OD₆₈₀ od suchej masy. Przykładowo OD₆₈₀ = 0,5 może odpowiadać ~0,2 g/L suchej masy, a OD₆₈₀ = 1,0 ~0,4 g/L. Mając taką zależność, można bezpośrednio przeliczać absorbancję na stężenie biomasy.

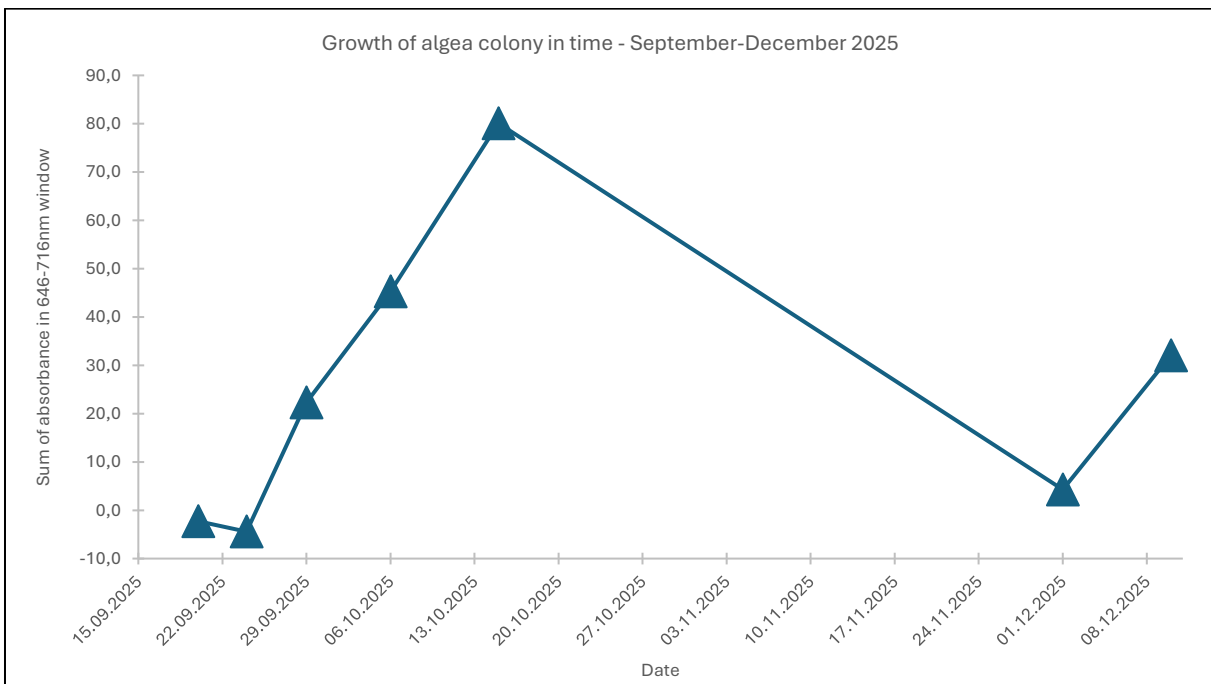
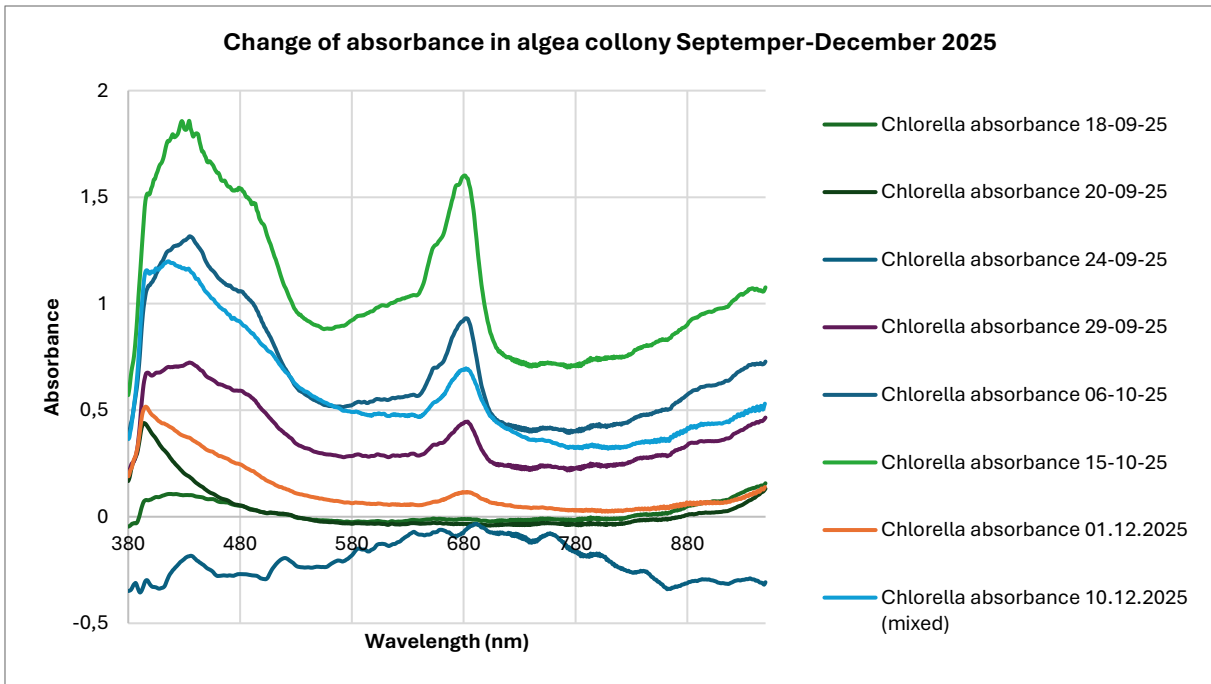
Ponieważ gęste hodowle przekraczają zakres liniowy, często konieczne jest rozcieńczanie próbek. Jeśli zmieszasz 1 część próbki z 1 częścią wody, otrzymujesz rozcieńczenie 1:2 (współczynnik rozcieńczenia = 2). Jeśli zmieszasz 1 mL próbki z 9 mL wody, jest to rozcieńczenie 1:10. Aby skorygować wynik, należy pomnożyć zmierzona absorbancję przez współczynnik rozcieńczenia:

$$A_{\text{oryginalna}} = A_{\text{zmierzona}} \times DF$$

Na przykład, jeśli spektrometr pokazuje OD₆₈₀ = 0,80 po rozcieńczeniu 1:5, rzeczywista wartość wynosi 0,80 × 5 = 4,0. Taka korekta pozwala porównywać hodowle w sposób spójny, nawet gdy są bardzo gęste.

Podsumowanie dla uczniów:

- Chlorofil silnie absorbuje światło w zakresie niebieskim (~430–450 nm) i czerwonym (~660–680 nm); glony wyglądają na zielone, ponieważ w tym obszarze nie absorbują światła.
- Im wyższa absorbancja, tym gęstsza jest hodowla glonów.
- OD₆₈₀ to standardowa miara biomasy glonów — śledź ją w czasie, aby budować krzywe wzrostu.
- Utrzymuj wartości w zakresie liniowym (<1,2), rozcieńczając próbki i korygując wyniki współczynnikiem rozcieńczenia.
- Aby uzyskać biomasę w g/L, przygotuj krzywą kalibracyjną na podstawie pomiarów suchej masy.



Rys. 10. Wykresy pokazujące zmiany w gęstości hodowli Chlorelli na przestrzeni kilku miesięcy.