Y
61847

ინგა აბდუშელიშვილი

ბიოქიმიის პრაქტიკუმი

უაკ 577.1(076.5)
ა-149

ინგა გურამის ასული აბდუშელიშვილი

ბიოქიმიის პრაქტიკუმი

სახელმძღვანელო საქართველოს სახელმწიფო აგრარული უნივერსიტეტის სტუდენტებისათვის. თბილისი: საერთაშორისო გამომცემლობა "პროგრესი" 2009. – 100 გვ.

განხილულია და მოწონებულია გამოსაცემად საქართველოს სახელმწიფო სასოფლო-სამეურნეო უნივერსიტეტის კვების პროდუქტების ტექნოლოგიის ფაკულტეტის აკადემიური საბჭოს მიერ (ოქმი №8, 13.06.08)

წინამდებარე დამხმარე სახელმძღვანელო განკუთვნილია სასოფლო-სამეურნეო უნივერსიტეტის კვების პროდუქტების ტექნოლოგიის და აგრონომიული ფაკულტეტის სტუდენტებისათვის. პრაქტიკუმში მოცემული ამოცანები შერჩეულია ცილების, პეპტიდების, ამინომჟავების, ნუკლეინის მჟავების, ფერმენტების, ვიტამინების, ნახშირწყლების, ლიპიდების, ალკალოიდების, ფენოლური ნაერთების ბიოქიმიიდან. სახელმძღვანელოში ასევე მოცემულია ამოცანები ორგანული მჟავების განსაზღვრისათვის და დუღილის პროცესების შესწავლისათვის. პრაქტიკულ სამუშაოებს თან ერთვის თემის შესაბამისი მოკლე თეორიული მიმოხილვა.

რედაქტორი ქიმიის მეცნ. დოქტორი,
პროფ. ბ. ფერეთელი

რეცენზენტები: ბიოლოგიის მეცნ. დოქტორი,
პროფ. ა. შალაშვილი

ქიმიის მეცნ. დოქტორი,
პროფ. რ. კუბლაშვილი

© ინგა აბდუშელიშვილი

LIBRARY
GEORGIAN STATE AGRARIAN UNIVERSITY

ISBN 978-9941-0-1243-3

1. ნახშირწყლები

ნახშირწყლები ორგანული ნივთიერებებია, რომელთა შედგენილობას გამოსახავენ ზოგადი ფორმულით: $C_m(H_2O)_n$, სადაც m,n>3. აქედან წარმოიშვა მათი სახელწოდება "ნახშირწყალი", თუმცა შემდეგში აღმოჩნდა, რომ ამ კლასის ბევრი წარმომადგენელი არ აკმაყოფილებს ამ ფორმულას, ხოლო მსგავსი შედგენილობის ზოგიერთი ნაერთი ნახშირწყალს არ წარმოადგენს. მიუხედავად ამისა, ამ ნაერთებს ეს ძველი სახელწოდება მაინც შემორჩათ.

ნახშირწყლები ბუნებაში ძლიერ გავრცელებული ბუნებრივი ნაერთებია. ისინი შედიან, როგორც მიკროორგანიზმების, ასევე მცენარეულ და ცხოველურ ორგანიზმების შედგენილობაში. მცენარეებში ნახშირწყლების შემცველობა 80%-ია, ხოლო ადამიანის და ცხოველის ორგანიზმებში – 20%. ამ ნაერთებს დიდი როლი ენიჭებათ მთელ რიგ ფიზიოლოგიურ პროცესებში.

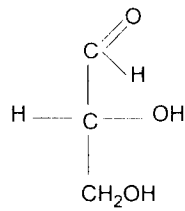
ქიმიური აღნაგობის მიხედვით ნახშირწყლები წარმოადგენს პოლიჰიდროქსიალდეჰიდს ან პოლიჰიდროქსიკეტონს და მათ ნაწარმებს.

შედგენილობის მიხედვით ნახშირწყლები იყოფა დიდ ჯგუფად: მონოსაქარიდებად, ოლიგოსაქარიდებად და პოლისაქარიდებად. მონოსაქარიდების ზოგადი ფორმულაა $C_nH_{2n}O_n$. მონოსაქარიდები ეწოდებათ ისეთ ნახშირწყლებს, რომლებიც უფრო მარტივ ნახშირწყლებად აღარ ჰიდროლიზდება. პოლისაქარიდები მონოსაქარიდების პოლიკონდენსაციის პროდუქტებია. ისინი ტიპიური პოლიმერებია და მათი მაკრომოლეკულები ათასობით მონოსაქარიდული ნაშთებისაგანაა აგებული. ოლიგოსაქარიდებს შუალედური ადგილი უჭირავს მონო და პოლისაქარიდებს შორის, მის

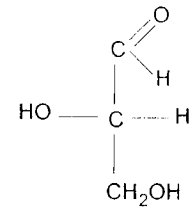
შედგენილობაში შედის ორიდან ათამდე მონოსაქარიდის ნაშთი. ოლიგო და პოლისაქარიდის ზოგადი ფორმულაა $C_mH_{2n}O_n$

მონოსაქარიდები პოლიქიდროქსიალდეჰიდები და პოლიჰიდროქსიკეტონებია, ამასთან ალდეჰიდის ჯგუფის შემცველ მონოსაქარიდებს – ალდოზები, ხოლო კეტონის ჯგუფის შემცველ მონოსაქარიდებს კეტოზები ეწოდება. დაბოლოება "ოზა" დამახასიათებელია ნებისმიერი მონოსაქარიდისათვის. ჯაჭვში ნახშირბადატომების რიცხვის მიხედვით არჩევენ ტრიოზებს, ტეტროზებს, პენტოზებს, ჰექსოზებს, ჰეპტოზებს და ა. შ.

უმარტივესი ალდოზაა გლიცერინის ალდეჰიდი, რომელიც, ასიმეტრიულ ნახშირბადატომს - ე.წ. ქირალურ ცენტრს შეიცავს, რის გამოც გლიცერინის ალდეჰიდი არსებობს ორი სტერეოიზომერის სახით, რომლებიც მარჯვენა და მარცხენა ხელის ანალოგიურად, ერთმანეთის სარკული გამოსახულებებია:



D – გლიცერინის ალდეჰიდი



L – გლიცერინის ალდეჰიდი

ასეთ სტერეოიზომერებს გააჩნიათ ოპტიკური აქტივობა, რის გამოც მათ ოპტიკურ იზომერებს უწოდებენ. ოპტიკური იზომერები ერთნაირი კუთხით, მაგრამ განსხვავებული მიმართულებით აბრუნებს სინათლის პოლარიზაციის სიბრტყეს: ერთი მარცხნივმბრუნავია, მეორე – მარჯვნივ-

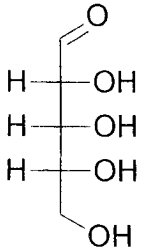
მბრუნავი. ამ იზომერთა დასახელება ხდება ე. წ. D , L ნომენკლატურით. თუ ფორმულაში ჰიდროქსიდის ჯგუფი ქირალური ნახშირბადის ატომის მარჯვნივაა მოთავსებული, მაშინ ეს ნაერთი D - რიგისაა, ხოლო თუ მარცხნივ L რიგის. D გლიცერინის ალდეჰიდი სინათლის პოლარიზაციის კუთხეს მარჯვნივ აბრუნებს, ხოლო L გლიცერინის ალდეჰიდი – მარცხნივ. თუმცა ბრუნვის მიმართულება უშუალოდ არ არის დაკავშირებული კონფიგურაციასთან. ორ ნაერთს შეიძლება ჰქონდეს ერთნაირი კონფიგურაცია, მაგრამ ბრუნვის საპირისპირო მიმართულება.

ნაერთთა სტერეოიზომერების რაოდენობა გამოითვლება ფორმულით 2^n, სადაც n – მოლეკულაში ქირალური ნახშირბადატომების რაოდენობაა.

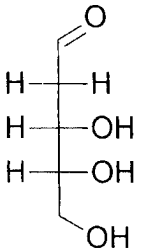
ბუნებაში გავრცელებულ მონოსაქარიდთა უმეტესობა D კონფიგურაციისაა, იშვიათად გვხვდება L კონფიგურაციის მონოსაქარიდები.

მონოსაქარიდებიდან განსაკუთრებით დიდი მნიშვნელობა აქვს პენტოზებს და ჰექსოზებს.

პენტოზებიდან მნიშვნელოვანია რიბოზა და დეზოქსირიბოზა, რადგანაც მათი ნაშთები შედის ნუკლეინის მჟავათა შემადგენლობაში:

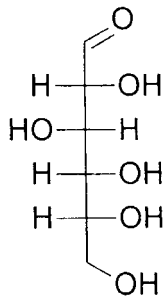


D – რიბოზა

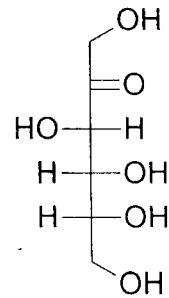


D – დეზოქსირიბოზა

ჰექსოზების უმნიშვნელოვანესი წარმომადგენელია გლუკოზა და ფრუქტოზა. ისინი ერთმანეთის იზომერებია. გლუკოზა – ალდოზაა, ფრუქტოზა – კეტოზა:

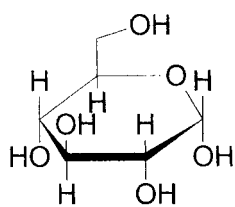


D – გლუკოზა

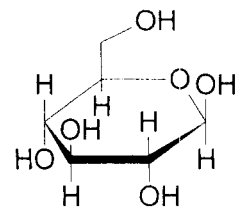


D – ფრუქტოზა

გლუკოზა და ფრუქტოზა გარდა ღიაჯაჭვიანი ალდოზური და კეტოზური ფორმისა, შეიძლება არსებობდეს ციკლური ფორმით, რომელსაც გამოსახავენ ჰაუორსის პროექციული ფორმულებით:



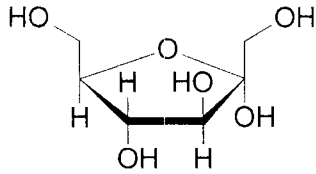
α – გლუკოპირანოზა



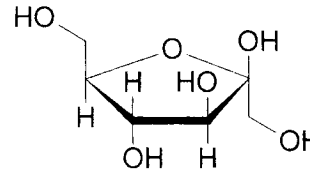
β – გლუკოპირანოზა

რადგან ალდეჰიდის ჯგუფს შეუძლია ბრუნვა პირველ და მეორე ნახშირბადის ატომებს შორის არსებული σ–ბმის გარშემო, ჰიდროქსილის ჯგუფები ამ ატომებთან შეიძლება

აღმოჩნდნენ სიბრტყის ერთ (α-ფორმა), ან სხვადასხვა მხარეს (β -ფორმა). ანალოგიურად ხდება α–β ფორმების წარმოქმნა ფრუქტოზის შემთხვევაში.



α – ფრუქტოფურანოზა

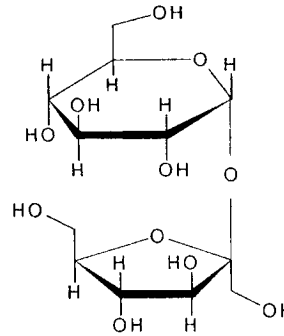


β – ფრუქტოფურანოზა

აღსანიშნავია, რომ წყალხსნარიდან გამოკრისტალებული D გლუკოზა α -ფორმის სახითაა. წყალში გახსნისას α ფორმა ალდეჰიდური ფორმის გავლით β ფორმაში გადადის და მათ შორის მყარდება წონასწორობა β ფორმის სიჭარბით. ამიტომ წყალხსნარებში შესაძლებელია გლუკოზის როგორც ალდეჰიდური, ისე ციკლური ფორმებისათვის დამახასიათებელი რეაქციები წარიმართოს.

გლუკოზისაგან განსხვავებით ფრუქტოზა ხსნარში ძირითადად ფურანოზული ფორმების სახით არსებობს.

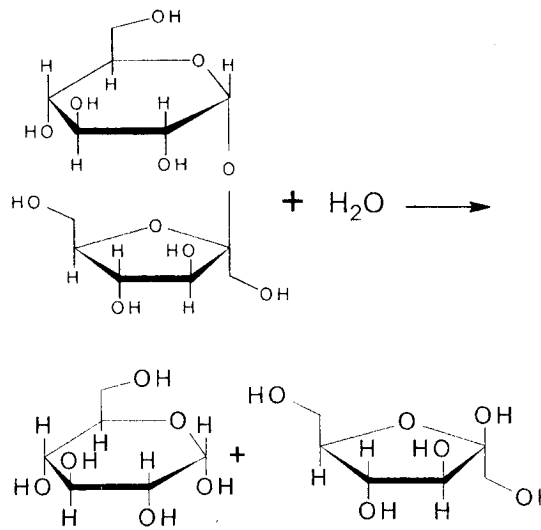
ოლიგოსაქარიდებიდან მნიშვნელოვანია დისაქარიდები, ნაერთები რომელთა მოლეკულები შედგება ორი ერთნაირი ან სხვადასხვა მონოსაქარიდული ნაშთებისაგან. მაგ. საქაროზა ($C_{12}H_{22}O_{11}$). მისი მოლეკულა შედგება α - D – გლუკოზის და β - D – ფრუქტოზის ნაშთებისაგან.



საქაროზა.

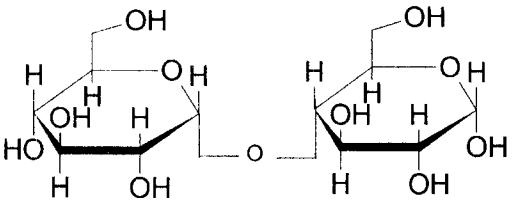
საქაროზას ჰიდროლიზურ დაშლას ინვერსია ეწოდება, ხოლო გლუკოზისა და ფრუქტოზის თანაბარი რაოდენობის ნარევს – ინვერტული შაქარი.

საქაროზას ჰიდროლიზურ დაშლას (ინვერსიას) შემდეგნაირად გამოსახავენ:

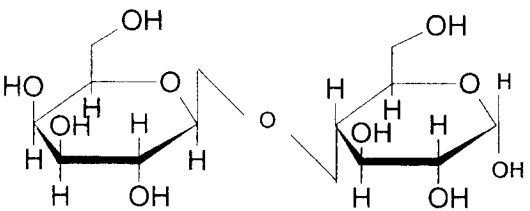


გლუკოზა ფრუქტოზა

საქაროზის იზომერებია მალტოზა (ალაოს შაქარი) და ლაქტოზა (რძის შაქარი).



მალტოზა



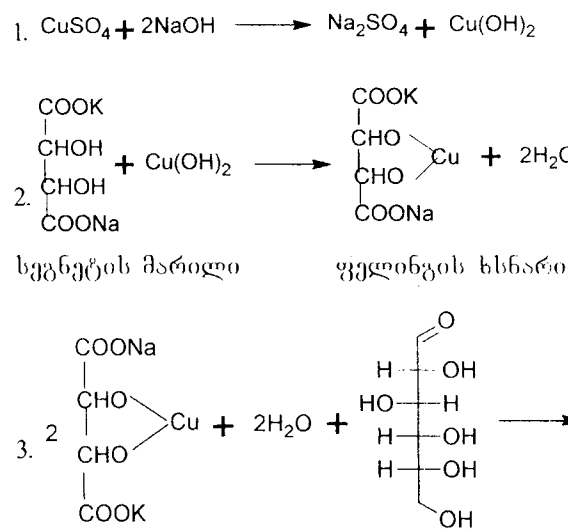
α – ლაქტოზა

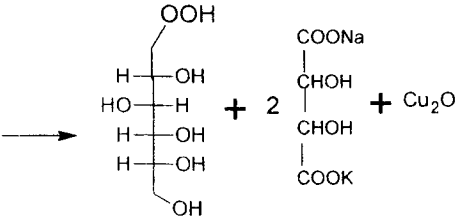
პოლისაქარიდები მონოსაქარიდების ან მათი ნაწარმების პოლიკონდენსაციის შედეგად მიღებული მაღალმოლეკულური ნახშირწყლებია. პოლისაქარიდი, რომელიც შედგება მხოლოდ ერთი მონოსაქარიდის ნაშისაგან ჰომოპოლისაქარიდია, ხოლო თუ პოლისაქარიდის მაკრომოლეკულაში სხვადასხვა მონოსაქარიდული ნაშთები შედის – ასეთი პოლისაქარიდი ჰეტეროპოლისაქარიდია. სახამებელი და ცელულოზა ჰომოპოლისაქარიდია.

პოლისაქარიდებს და საერთოდ ნახშირწყლებს უდიდესი მნიშვნელობა აქვს, როგორც მცენარეული, ასევე ცხოველური და მიკროორგანიზმები ნორმალური ზრდა-განვითარებისათვის.

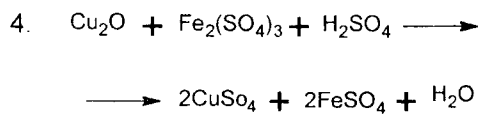
1.1.. აღმდგენელი შაქრების რაოდენობრივი განსაზღვრა ბერტრანის მეთოდით

აღმდგენელი შაქრები ტუტე არეში ფელინგის ხსნართან ურთიერთქმედებისას სპილენძის ჟანგს აღა-დგენენ ქვეჟანგამდე. ინდიკატორია ფელინგის ხსნარი, რომელიც კარგავს მოლურჯო შეფერილობას, როდესაც CuO მთლიანად Cu_2O-ში გადავა, შაქრები კი ამ დროს გამოყოფილი ჟანგბადით იჟანგებიან; სპილენძის ქვეჟანგის ნალექს ფილტრავენ, ხსნიან რკინა (III) -ის სულფატში ან რკინაამონიუმის შაბის ხსნარში და მიღებულ რკინის ქვეჟანგს ტიტრავენ 0,1 N $KMnO_4$-ით. დახარჯული პერმანგანატის მიხედვით ანგარიშობენ მის ექვივალენტური რაოდენობით რკინა(II)-ის სულფატს, ხოლო აქედან კი შესაბამისი რაოდენობით სპილენძს. სპილენძის შესაბამისი შაქრის რაოდენობას პოულობენ ბერტრანის ცხრილში. ამ დროს წარიმართება შემდეგი გარდაქმნები:

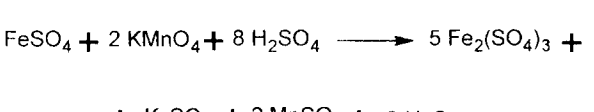




მიღებული სპილენძის ქვეჟანგი იხსნება და $CuSO_4$-მდე იჟანგება, რკინა კი ქვეჟანგამდე აღდგება:



წარმოქმნილი $FeSO_4$, რომელიც დაჟანგული სპილენძის ექვივალენტურია, იტიტრება პერმანგანატით. ამ დროს რკინა იჟანგება:



გატიტვრაზე დახარჯული პერმანგანატის რაოდენობის მიხედვით გამოთვლიან ჯერ სპილენძის ქვეჟანგის რაოდენობას, ხოლო შემდეგ შაქრის შემცველობას ხსნარში.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. $CuSO_4 \cdot H_2O$ – 40 %-იანი ხსნარი.

2. სეგნეტის მარილის ტუტე ხსნარი (200გ სეგნეტის მარილს და 150გ ნატრიუმის ტუტეს ცალ-ცალკე ხსნიან 300-400 მლ წყალში, შემდეგ ორივე ხსნარი გადააქვთ 1 ლ-იან საზომ კოლბაში და შეავსებენ ჭდემდე).

3. $Fe_2(SO_4)_3 \cdot 9H_2O$ (50გ რკინა (III) -ის სულფატს ხსნიან 200გ გოგირდმჟავაში. გახსნის დასაჩქარებლად ნარევს აცხელებენ ადუღებამდე ან აყოვნებენ 1-3 დღე ოთახის ტემპერატურაზე, დროგამოშვებით ურევენ და თან უმატებენ მცირე რაოდენობით წყალს. კარგად გახსნის შემდეგ შეავსებენ გამოხდილი წყლით ჭდემდე).

4. $KMnO_4$ – 0,1 N-ის ხსნარი.

5. Na_2SO_4 – ნაჯერი ხსნარი.

6. $(CH_3CO_2)_2Pb$ – 10 %-იანი ხსნარი.

წყლის აბაზანა, 100 მლ- და 1 ლ-იანი საზომი კოლბები, ერლენმეიერის კოლბები –100 მლ-იანი, ბიურეტები, ძაბრები, ბუნზენის კოლბა, ალინის მილი.

გამონაწვლილვის მომზადება: 10 გ საკვლევი მასალა გადააქვთ ფაიფურის როდინში, სრესენ და კარგად ურევენ ბარშტეინის რეაქტივთან, რომელიც შედგება 15 მლ 6 %-იანი $CuSO_4$-ის და 15 მლ 1,25 %-იანი NaOH-ის ხსნარებისაგან (ბარშტეინის რეაქტივის საშუალებით საკვლევი მასალიდან ხდება ცილების დალექვა, ასევე ფერმენტთა ინაქტივირება), შემდეგ ნარევი როდინიდან გადააქვთ კოლბაში, როდინში დარჩენილ ნივთიერებას დაახლოებით 70 მლ წყლით იმავე კოლბაში ჩარეცხავენ (ისე რომ კოლბაში საერთო მოცულობა, საკვლევი მასალის მოცულობის გამოკლებით, დაახლოებით 100 მლ იყოს). კოლბის შიგთავსს ცილების უკეთ დალექვის მიზნით 20 წთ-ის განმავლობაში ათავსებენ თერმოსტატში 45-50°C-ზე. კოლბაში მოთავსებულ ნარევს აციკებენ ოთახის ტემპერატურაზე, მიყავთ გარკვეულ მოცულობამდე და ფილტრავენ მშრალ ფილტრში. მიღებულ ფილტრატში საზღვრავენ აღმდგენელ შაქრებს.

ანალიზის მსვლელობა

პიპეტის ან ბიურეტის საშუალებით იღებენ 20 მლ გაუფერულებულ საკვლევ ხსნარს (მასში შაქრის რაოდენობა არ უნდა იყოს 100 მგ-ზე მეტი და 10 მგ-ზე ნაკლები), გადააქვთ 150-200 მლ-იან კონუსურ კოლბაში, უმატებენ 20-20 მლ სპილენძის სულფატის და სეგნეტის მარილის ტუტე ხსნარს, მიღებულ ნარევს ადუღებენ ზუსტად სამი წუთის განმავლობაში. საჭიროა ხსნარს ბოლომდე შერჩეს მკაფიო, სუფთა ლურჯი ფერი. დუღილის შედეგად წარმოიქმნება Cu_2O-ს წითელი ფერის ნალექი, რომლის განსაზღვრა ხდება მოცულობითი მეთოდით, რისთვისაც სუსპენზიას ფილტრავენ წყლის ტუმბოში, მინის ფილტრზე (№4). ნალექის რაოდენობრივად გადატანის მიზნით კოლბას რამდენჯერმე გამოავლებენ ცხელ წყალს და ფილტრავენ. სპილენძის ქვეჟანგი ადვილად იჟანგება ჰაერის ჟანგბადით, ამიტომ როგორც გაფილტვრის პროცესში, ასევე შემდგომაც მაქსიმალურად უნდა ვერიდოთ მის დაყოვნებას ჰაერზე. კერძოდ, გაფილტვრის პროცესში ნალექის ზედაპირი ყოველთვის დაფარული უნდა იყოს წყლით.

შოტის ფილტრს ხსნიან ბუნზენის კოლბას, ფილტრატს გადაღვრიან და სწრაფად გამოავლებენ ორ-სამჯერ გამოხდილ წყალს, მოურგებენ ისევ სპილენძის ქვეჟანგიან შოტის ფილტრს და ნალექს თანდათანობით ხსნიან რკინა(III)-ის სულფატის გოგირდმჟავა ხსნარის 20 მლ-ში. მიღებულ ხსნარს აყოვნებენ, სანამ ნალექი სრულად არ გაიხსნება. მიღებული ხსნარი ოდენობრივად გადააქვთ ერლენმეიერის კოლბაში და თბილ ხსნარს ტიტრავენ 0,01 N $KMnO_4$-ის ხსნარით სუსტ ვარდისფერ შეფერვამდე, რომელიც 20-30 წმ-ის განმავლობაში არ უნდა გაქრეს.

ვინაიდან რეაქტივები ყოველთვის არ არის სუფთა,

ამიტომ ატარებენ საკონტროლო ცდას, რისთვისაც საკვლევი ხსნარის ნაცვლად იღებენ 10 მლ წყალს, უმატებენ რეაქტივებს იგივე თანმიმდევრობით და ტიტრავენ 0,01 N $KMnO_4$-ით. საკვლევ ხსნარზე დახარჯული პერმანგანატის რაოდენობას გამოაკლებენ საკონტროლო ცდაზე დახარჯული ხსნარის რაოდენობას.

გატიტვრაზე დახარჯული პერმანგანატის რაოდენობის მიხედვით გამოთვლიან ჯერ ქვეჟანგის რაოდენობას, ხოლო შემდეგ შაქრის შემცველობას ხსნარში. მოყვანილი განტოლებებიდან ჩანს, რომ სპილენძის ყოველ 2 ატომს, რკინის ორი ატომი შეესაბამება, ხოლო 10 ატომ რკინას – პერმანგანატის ორი მოლეკულა. ამიტომ, ცხადია 10 ატომ რკინას (635,5 მგ) შეესაბამება 2,01 მგ სპილენძი ან რაც იგივეა 1 მლ 0,01 N $KMnO_4$-ის ხსნარი შეესაბამება 0,636 მგ Cu -ს.

საკვლევი ხსნარის გატიტვრაზე დახარჯული პერმანგანატის 0,01 N ხსნარის რაოდენობას გამოაკლებენ საკონტროლო ცდაზე დახარჯული ხსნარის რაოდენობას და გაამრავლებენ 0,636. ამით საზღვრავენ სპილენძის რაოდენობას, ხოლო Cu-ის რაოდენობის მიხედვით ცხრილში პოულობენ გლუკოზის შემცველობას. შაქრის რაოდენობა უნდა გადაიანგარიშონ საანალიზოდ აღებული ნიმუშის მასაზე.

1 მლ C შეესაბამება 0,636 მგ Cu

ვთქვათ გატიტვრაზე დაიხარჯა

11,8 მლ 0,01 N $KMnO_4$ – X მგ Cu

X= 0,75 მგ Cu

ბერტრანის ცხრილში 0,75 მგ არ არის, ამიტომ

1,1 მგ Cu შეესაბამება 0,50 მგ გლუკოზა

0,75 მგ – X მგ

X=0,34 მგ გლუკოზა

განზავება= 20 . 50 . 10 / 250 . 100 = 0,4

სადაც 20 გ – ნიმუშის წონაკია, 250 – პირველი ექსტრაქტის მოცულობა, 50 – 250–დან აღებული ხსნარის მოცულობაა, 100 მლ – 50 მლ ხსნარი შევსებულია 100 მლ-მდე განზავების მიზნით, 10 მლ – საანალიზოდ აღებული ხსნარის მოცულობაა.

0,4-ში არის 0,34 მგ გლუკოზა

20 – X

X=6,8მგ.

20 – 6,8

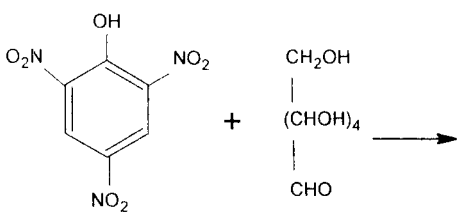
100 – X%

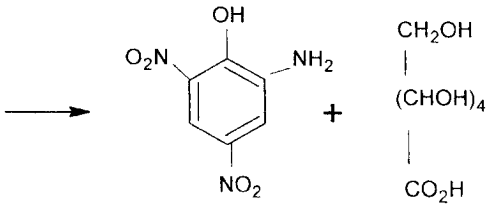
X% გლუკ. = 34 %

*ბერტრანის ცხრილი შაქრების განსაზღვრისათვის თან ერთვის სახელმძღვანელოს.

1.2. აღმდგენელი შაქრების განსაზღვრა ფოტოკოლორიმეტრული მეთოდით

აღმდგენელი შაქრები პიკრინის მჟავასთან ურთიერთქმედებს შემდეგი სქემით:





პიკრამინის მჟავა

პიკრამინის მჟავას აღდგენის პროდუქტი შეფერილია წითლად.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. პიკრინის მჟავას ნაჯერი ხსნარი.
2. $Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$ – 20%-ხსნარი.
3. გლუკოზის სტანდარტული ხსნარები.

დანაყოფებიანი სინჯარები, საზომი კოლბები, პიპეტები.

ანალიზურ სასწორზე იღებენ მშრალი ბიომასის წონაკს 1-2 გ-ს. მას წინასწარ დაამუშავებენ შესაბამისი გამხსნელით პიგმენტების მოსაცილებლად (ამ გამხსნელში პიგმენტები არ უნდა იხსნებოდეს). მაგ., მწვანე ფოთოლს ქლოროფილის მოსაცილებლად რეცხავენ ქლოროფორმით.

ბიომასიდან დაბალმოლეკულური შაქრების გამოწვლილვას ახდენენ 75%-იანი ეთანოლით. ამ მიზნით წონაკს ათავსებენ ფაიფურის როდინში და გულდასმით გასრესენ 10-15 მლ გამხსნელთან. მიღებულ მასას რაოდენობრივად გადაიტანენ ცენტრიფუგის სინჯარაში და აცენტრიფუგებენ 10 წთ-ის განმავლობაში (10000 g), ხსნარს გადმოწურავენ, ნალექს დაამატებენ ახალ რაოდენობა გამხსნელს, მინის წკირით კარგად აურევენ და კვლავ დააცენტრიფუგებენ. ამგვარ გამოწვლილვას იმეორებენ მანამდე, ვიდრე ექსტრაქტი

უარყოფით რეაქციას არ მოგვცემს შაქრებზე (რეაქცია პიკრინის მჟავასთან). გაერთიანებული ექსტრაქტები გადააქვთ 100 მლ-იან საზომ კოლბაში და შეავსებენ გამოხდილი წყლით. მასში შაქრის შემცველობას შემდეგნაირად განსაზღვრავენ: საკვლევი ხსნარის 1 მლ-ს (თუ შაქრის შემცველობა ნიმუშში დაბალია, შესაბამისად ზრდიან რაოდენობას) უმატებენ პიკრინის მჟავას ნაჯერი ხსნარის 2 მლ-ს და ნატრიუმის კარბონატის 20%-იანი ხსნარის 1 მლ-ს. ნარევს აცხელებენ 30 წთ 100° C-ზე (წყლის აბაზანაზე). გაცივების შემდეგ ხსნარს განაზავებენ 10 მლ-მდე და ზომავენ მიღებული წითელი ფერის ხსნარის ოპტიკურ სიმკვრივეს 455 ნმ-ზე. ამ მეთოდით აღმდგენელი შაქრების განსაზღვრისას ამ უკანასკნელის რაოდენობა 1 მლ საკვლევ ნიმუშში უნდა იყოს 0,2-3 მგ-მდე.

საკალიბრო მრუდის აგება

ანალიზის დაწყებამდე საჭიროა საკალიბრო მრუდის აგება. ამისათვის წინასწარ ამზადებენ აღმდგენელი შაქრის ცნობილი კონცენტრაციის ხსნარს.

4,5000 გ გლუკოზას (ზუსტ წონაკს) შეავსებენ 1 ლ-მდე გამოხდილი წყლით. იღებენ 14 ცალ 200 მლ-იან საზომ კოლბას, ნომრავენ და თითოეულში ათავსებენ საწყისი ხსნარის შემდეგ მოცულობის ხსნარს: 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175 მლ-ს და შეავსებენ წყლით ჭდემდე. კოლბებში შაქრის შემცველობა შესაბამისად იქნება: 0,1125; 0,225; 0,450; 0,675; 0,900; 1,125; 1,350; 1,575; 1,800; 2,025; 2,250; 2,8125; 3,375; 3, 937. ხოლო საწყის ხსნარში გლუკოზის კონცენტრაცია იქნება 4,5 მგ/ლ.

თითოეული კოლბიდან იღებენ 1 მლ ხსნარს, უმატებენ პიკრინის მჟავას ნაჯერი ხსნარის 2 მლ-ს და ნატრიუმის

LIBRARY
STATE AGRARIAN UNIVERSITY

კარბონატის 20%-იანი ხსნარის 1 მლ-ს. ნარევს აცხელებენ 30 წთ 100° C-ზე (წყლის აბაზანა). გაცივების შემდეგ ხსნარს განაზავებენ 10 მლ-მდე და ზომავენ მიღებული წითელი ფერის ხსნარის ოპტიკურ სიმკვრივეს 455 ნმ-ზე. მიღებული შედეგების მიხედვით აგებენ საკალიბრო მრუდს.

აღმდგენელი შაქრების ზემოქმედებით პიკრინის მჟავას აღდგენა პიკრამინის მჟავამდე ნაკლებ სპეციფიურია. პიკრინის მჟავას აღადგენს აგრეთვე –SH ჯგუფებიც. ამიტომ ანალიზის დაწყებამდე საჭიროა საკვლევი ხსნარს მოვაშოროთ ცილები, რისთვისაც მას დაამუშავებენ ტყვიის აცეტატის ხსნარით (იხ. აღმდგენელი შაქრების განსაზღვრა ბერტრანის მეთოდით).

1.3. საქაროზას განსაზღვრა

საქაროზას განსაზღვრას ახდენენ ბერტრანის მეთოდით, მაგრამ რადგან იგი ფელინგის სითხეს არ აღადგენს, ამიტომ ატარებენ ჯერ მის ჰიდროლიზს მინერალური მჟავას ზემოქმედებით და შემდეგ საზღვრავენ წარმოქმნილი მონოსაქარიდების რაოდენობას ბერტრანის მეთოდით.

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \longrightarrow 2C_6H_{12}O_6$$

საქაროზა გლუკოზა + ფრუქტოზა

საქაროზას განსაზღვრისათვის საჭიროა ბერტრანის მეთოდში გამოყენებული ყველა ჭურჭელი და რეაქტივი, გარდა ამისა აუცილებელია:

1. საზომი კოლბები – 50 მლ-იანი.
2. თერმომეტრები.
3. NaOH – 4%-იანი.

4. HCl – (ρ=1,19g/sm^3).

5. მეთილწითელი.

საკვლევი ხსნარის 25 მლ-ს ათავსებენ 50 მლ-იან საზომ კოლბაში. მეორე საზომ კოლბაში (50 მლ-იანში) ათავსებენ იგივე რაოდენობით წყალს (საკონტროლოდ) და ჩაუშვებენ მასში თერმომეტრს. ორივე კოლბას ათავსებენ წყლის აბაზანაზე, რომლის ტემპერატურა დაახლოებით 80^0 C -ია. როდესაც საკონტროლო კოლბაში ტემპერატურა 67-70^0 C მიაღწევს, საკვლევ ხსნარს დაუმატებენ 1,5 მლ მარილმჟავას. ამ დროს მჟავას კონცენტრაცია კოლბაში 2%-ია. ჰიდროლიზს ახდენენ 6 წთ-ის განმავლობაში 67-70^0C-ზე.

ჰიდროლიზის დამთავრების შემდეგ, კოლბას საკვლევი ხსნარით სწრაფად აცივებენ ონკანის წყლით და უმატებენ რამდენიმე წვეთ მეთილწითელს. შემდეგ ნიმუშს ანეიტრალებენ 4%-იანი NaOH-ის ხსნარით, ფრთხილი დამატების პირობებში, რომლის დროსაც ხსნარის წითელი შეფერილობა გადავა ოქროსფერყვითელში. ამის შემდეგ კოლბას გამოხდილი წყლით შეავსებენ ჭდემდე და შაქრების რაოდენობას ხაზღვრავენ ბერტრანის მეთოდით. ამ დროს ისაზღვრება აღმდგენელი შაქრები და საქაროზა.

საქაროზას განსაზღვრისათვის შაქრების ჯამურ რაოდენობას გამოაკლებენ აღმდგენელი შაქრების რაოდენობას. რადგან საქაროზას (მოლური მასა 342) ჰიდროლიზისას წარმოიქმნება ჰექსოზის ორი მოლეკულა (მოლური მასა 180X2=360), საქაროზის განსაზღვრისას მიღებულ შედეგს გაამრავლებენ 0,95-ზე (342:360 =0,95).

გაანგარიშებისას მხედველობაში იღებენ იმას, რომ ჯამური შაქრების განსაზღვრისას ხსნარი ორჯერ იქნა განზავებული (25 მლ განზავდა 50 მლ-მდე).

1.4. სახამებლის განსაზღვრა

სახამებლის გამოწვლილვას ბიომასიდან ახდენენ ქლორის მჟავით ($HClO_4$), მაგრამ ქლორის მჟავა სხვა პოლისაქარიდებსაც წვლილავს, ამიტომ გამონაწვლილიდან სახამებელს ლექავენ იოდით,იოდსახამებლის კომპლექსის სახით. ასეთ უხსნად კომპლექსს იოდი სხვა პოლისაქარიდებთან არ იძლევა. წარმოქმნილ იოდსახამებლის კომპლექსს დაშლიან და სახამებელს აჰიდროლიზებენ გლუკოზამდე. გლუკოზას კი განსაზღვრავენ რაოდენობრივად.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. კვარცის სილა – (წინასწარ მუფელის ღუმელში გამომწვარი).

2. $HClO_4$ – 72%-იანი ხსნარი.

3. NaCl – 20%-იანი წყალხსნარი.

4. I_2-ის ხსნარი KI-ში; 7,5 გ იოდი და 7,5 გ KI-ის ნარევს სრესენ როდინში 10-15 მლ წყალთან ერთად, რაოდენობრივად გადაიტანენ 250 -მლ-იან საზომ კოლბაში, შეავსებენ წყლით ჭდემდე, კარგად შეანჯღრევენ და ფილტრავენ.

5. NaCl-ის სპირტხსნარი: 350 მლ ეთანოლი, 80 მლ გამოხდილი წყალი და 50 მლ NaCl-ის 20%-იანი წყალხსნარი შეაქვთ 500 მლ-იან საზომ კოლბაში, შეავსებენ გამოხდილი წყლით ჭდემდე და ფილტრავენ.

6. NaOH-ის 0,25 N სპირტხსნარი: 350 მლ ეთანოლს, 100 მლ გამოხდილ წყალს და 25 მლ 5N NaOH-ის წყალხსნარს 500 მლ-იან საზომ კოლბაში მოათავსებენ, შეავსებენ წყლით ჭდემდე და ფილტრავენ.

7. HCl – 0,7 N.

8.. Na_2CO_3-ის 20%-იანი ხსნარი.

ცენტრიფუგა, ცენტრიფუგის სინჯარები, მინის წკირები, წყლის აბაზანა.

სინჯარაში (ზომით 200X25 მმ) ათავსებენ 500 მგ-მდე კარგად დაქუცმაცებულ მცენარეულ მასალას, უმატებენ წინასწარ გარეცხილ და მუფელის ღუმელში გამომწვარ 200 მგ კვარცის სილას, 4 მლ გამოხდილ წყალს და კარგად აურევენ მინის წკირით. წკირს ტოვებენ სინჯარაში და ათავსებენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე 30 წთ-ის განმავლობაში სახამებლის კლეისტერიზაციისათვის, თან წკირით ურევენ. შემდეგ სინჯარას აცივებენ ოთახის ტემპერატურამდე, ათავსებენ 25°C -იან წყლის აბაზანაზე და სახამებლის ექსტრაქციის მიზნით სინჯარაში განუწყვეტელი მორევის პირობებში უმატებენ 3 მლ 72%-იან ქლორის მჟავას. შემდეგ 1 წთ კარგად ურევენ და ბიომასას სინჯარის კედლებზე მინის წკირით გასრესენ. სინჯარას რამდენიმე წუთით დგამენ 20-25°C -იან წყლის აბაზანაზე და კარგად მოურევენ. შემდეგ სინჯარაში უმატებენ 15 მლ წყალს, კარგად მოურევენ და რაოდენობრივად გადააქვთ ცენტრიფუგის სინჯარაში მინიმალური რაოდენობა წყლით. აცენტრიფუგებენ სრულ დალექვამდე. ნალექზედა სითხეს ფრთხილად გადაიტანენ იმავე საზომ კოლბაში და ექსტრაქციას იმეორებენ კიდევ ორჯერ. ბოლოს საზომ კოლბას შეავსებენ 50 მლ-მდე და კარგად შეანჯღრევენ. 10 მლ ექსტრაქტს (იოდ-სახამებლის კომპლექსის დასალექად) ათავსებენ ცენტრიფუგის სინჯარაში, უმატებენ 5 მლ 20%-იან NaCl-ის ხსნარს, 2 მლ იოდის ხსნარს კალიუმის იოდიდში და კარგად მოურევენ. აყოვნებენ 20 წთ-ის განმავლობაში, შემდეგ აცენტრიფუგებენ. ამ დროს დაილექება იოდ-სახამებლის კომპლექსი. ნალექზედა სითხეს ფრთხილად გადაღვრიან ისე, რომ ნალექი არ გადაჰყვეს. ნალექს რეცხავენ, ამისათვის მას უმატებენ 5 მლ NaCl-ის სპირტხსნარს და ნარევს ფრთხილად მოურევენ. ხანმოკლე დაყოვნების შემდეგ სინჯარის შიგთავსს აცენტრიფუგებენ

და ნალექზედა სითხეს კვლავ გადაღვრიან. სახამებელ-იოდის კომპლექსს ხსნიან 2 მლ 0,25 N NaOH-ის სპირტ-ხსნარში და სინჯარას ფრთხილად ანჯღრევენ ვიდრე არ გაქრება ლურჯი შეფერვა. მასას კვლავ აცენტრიფუგებენ, სითხეს გადაღვრიან, ნალექს გარეცხავენ 5 მლ NaCl-ის სპირტხსნარით, აცენტრიფუგებენ და სითხეს კვლავ გადა-ღვრიან. მიღებული ნალექი წარმოადგენს თავისუფალ სახამებელს, რომელსაც ჰიდროლიზის მიზნით, ცენტრიფუგის სინჯარაში ჩაამატებენ 2 მლ 0,7 N HCl-ს, სინჯარას დაახურავენ მინის საცობს და ათავსებენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე 3 სთ-ის განმავლობაში. ჰიდროლიზის დასრუ-ლების შემდეგ სინჯარას აცივებენ ოთახის ტემპერატურაზე, წვეთობით უმატებენ 20%-იან Na_2CO_3--ის ხსნარს გაზის ბუშტების გამოყოფის შეწყვეტამდე, რაოდენობრივად გადაიტანენ 50 მლ-იან საზომ კოლბაში, შეავსებენ ჭდემდე, კარგად შეანჯღრევენ და 1 მლ-ში საზღვრავენ გლუკოზის შემცველობას პიკრინის მჟავით (იხ. ზემოთ). სახამებლის რაოდენობას გამოთვლიან ფორმულით:

$X\% = 100 \cdot 250 \cdot 0,9 \cdot b/a$

a – აღებული ნიმუშის მასაა (მგ-ში).

b – 1 მლ-ში არსებული გლუკოზის რაოდენობაა მგ/მლ-ში.

0,9 – ჰიდროლიზის შედეგად სახამებლიდან გლუკოზის წარმოქმნის კოეფიციენტია.

1.5. საქაროზას ოპტიკური აქტივობის განსაზღვრა პოლარიმეტრული მეთოდით

საქაროზა და მისი ჰიდროლიზის პროდუქტები ოპტიკურად აქტიური ნაერთებია, ე. ი. მათ უნარი აქვთ შეცვალონ მათში გამავალი პოლარიზებული სხივის პოლარიზაციის სიბრტყის მდებარეობა.

ოპტიკურად აქტიური ნივთიერების მიერ პოლარიზაციის სიბრტყის გადახრის კუთხე α – პირდაპირპროპორციულია აღებული ნივთიერების კონცენტრაციისა, სითხის ფენის სისქისა (d), რომელშიც გადის დაპოლარებული სხივი და ოპტიკურად აქტიური ნივთიერების კონცენტრაციისა (c). ამრიგად,

$$\alpha = abc$$

a – პროპორციულობის კოეფიციენტია, რომელსაც პოლარიზაციის მუდმივა ანუ კუთრი ბრუნვა ეწოდება. იგი დამოკიდებულია ნივთიერების ბუნებაზე, ტალღის სიგრძეზე, ტემპერატურასა და გამხსნელის ბუნებაზე. კუთრი ბრუნვა ტოლია ერთი დეციმეტრი სისქის ისეთი ხსნარის ბრუნვის კუთხისა, რომელიც შეიცავს 1 გ ნივთიერებას 1 მლ-ში 20^0 C-ზე, ტალღის გარკვეული სიგრძის გამოყენებისას. თუ ვიცით ბრუნვის კუთხე, კუთრი ბრუნვა და ხსნარის ფენის სისქე, ადვილად ვიპოვით ხსნარის კონცენტრაციას.

საქაროზას წყალხსნარებში პოლარიზაციის სიბრტყის კუთრი ბრუნვა მუდმივია და შეიძლება გამოყენებული იქნეს შაქრის კონცენტრაციის დასადგენად.

საქაროზა პოლარიზაციის სიბრტყეს აბრუნებს მარჯვნივ (α=66,55^0), ხოლო ინვერსიის პროდუქტის ნარევი – მარცხნივ, ვინაიდან გლუკოზა აბრუნებს მარჯვნივ ($\alpha_{ჯ}$=52,5^0), ხოლო ფრუქტოზა – მარცხნივ და უფრო ძლიერად, ვიდრე გლუკოზა

($\alpha_{ᲒᲐᲜ}$=91,9^0). ამიტომ ინვერსიის პროცესში პოლარიზაციის სიბრტყის ბრუნვის კუთხე მცირდება, გაუტოლდება ნულს და შემდეგ ხდება უარყოფითი. რეაქციის დასასრულისთვის ბრუნვის კუთხე უკვე აღარ იცვლება.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. საქაროზა – 20%-იანი წყალხსნარი.
2. 6 N HCl.

50 მლ-იანი საზომი კოლბა, პიპეტები, პოლარიმეტრი, წყლის თერმოსტატი.

10 გ საქაროზას ათავსებენ 50-მლ-იან საზომ კოლბაში და შეავსებენ ჭდემდე. თუ ხსნარი აიმღვრა, მას გაფილტრავენ. მიღებული ხსნარიდან აიღებენ 25 მლ-ს, ათავსებენ კოლბაში, ამატებენ 25 მლ 6 N HCl-ს, მოურევენ და ათავსებენ წყლის თერმოსტატში 40^0 C-ზე, 3-3,5 სთ-ის განმავლობაში. დარჩენილი საქაროზას ხსნარს (25მლ-ს) ასევე დაუმატებენ 25 მლ 6 N HCl -ს (რეაქციის დასაწყისად ითვლება საქაროზისა და მჟავას შერევის მომენტი). ჩაინიშნავენ დროს. სარეაქციო ხსნარს კარგად აურევენ და სწრაფად გადაიტანენ პოლარიმეტრის კიუვეტაში, რომელსაც წინასწარ გამოვლებული უნდა ჰქონდეს მცირე რაოდენობით საკვლევი ხსნარი (კიუვეტის ავსებისას მასში არ უნდა დარჩეს ჰაერის ბუშტი), სწრაფად აითვლიან ბრუნვის კუთხეს.

თერმოსტატში მოთავსებულ ხსნარს გააცივებენ ოთახის ტემპერატურაზე და ამავე წესით აითვლიან ბრუნვის კუთხეს. მიღებულ შედეგებს შეადარებენ ერთმანეთს.

1.6. წყალხსნარებში გლუკოზის რაოდენობის განსაზღვრა პოლარიმეტრული მეთოდით

მეთოდს საფუძვლად უდევს ოპტიკურად აქტიური ნივთიერების პოლარიზაციის სიბრტყის ბრუნვის კუთხის დამოკიდებულება ამ ხსნარის კონცენტრაციაზე.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. გლუკოზა.

ქიმიური ჭიქები, 50 მლ-იანი საზომი კოლბები, პოლარიმეტრი.

მცირე ზომის ქიმიურ ჭიქებში წონიან 2, 4, 6, 8, 10, 12 გ გლუკოზას. უმატებენ მცირე რაოდენობით წყალს და მიღებული ხსნარები რაოდენობრივად გადდაქვთ 50 მლ-იან საზომ კოლბებში. შეავსებენ წყლით ჭდემდე და კარგად შეანჯღრევენ. აითვლიან თითოეული ხსნარის ბრუნვის კუთხეს და მიღებული შედეგების საფუძველზე ააგებენ საკალიბრო მრუდს: ბრუნვის კუთხეს გადაზომავენ ორდინატთა ღერძზე, ხოლო გლუკოზის კონცენტრაციას ხსნარში (გ/ლ-ში) აბსცისთა ღერძზე. უცნობ ხსნარში ზომავენ ბრუნვის კუთხეს და საკალიბრო მრუდის საშუალებით პოულობენ მასში გლუკოზის რაოდენობას.

2. პექტინის საერთო რაოდენობის განსაზღვრა კალციუმპექტანის სახით

პექტინები ნახშირწყლური ბუნების მქონე მაღალმოლეკულური პოლისაქარიდებია. ისინი ფართოდაა გავრცელებული მცენარეთა ნაყოფში (ვაშლი, მსხალი, ალუბალი, ლიმონი და სხვა.), ძირხვენებში (ჭარხალი, სტაფილო), აგრეთვე მცენარეთა ღეროებში, ბოსტნეულში, ღვინოებში და სხვა. პექტინს დიდი გამოყენება აქვს კვების მრეწველობაში, საკონსერვო და ფარმაცევტულ წარმოებაში.

მეთოდს საფუძვლად უდევს მცენარეული საკვლევი მასალიდან, პექტინნივთიერებათა საერთო რაოდენობის გამოწვლილვა განზავებული მარილმჟავას და ლიმონმჟავას ხსნარებით. მიღებული გამონაწვლილვიდან $CaCl_2$-ის დამატებით გამოილექება კალციუმპექტატი, რომელსაც ფილტრავენ, რეცხავენ, აშრობენ, წონიან და შესაბამის კოეფიციენტზე გადამრავლებით, ანგარიშობენ პექტინმჟავას საერთო რაოდენობას.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. HCl 1/30 N -ის ხსნარი.
2. ლიმონმჟავა ამონიუმის 1%-იანი ხსნარი.
3. NaOH -ის 0,4%-იანი ხსნარი.
4. CH_3COOH - N ხსნარი.
5. $CaCl_2$-ის 11,1%-იანი და 0,5%-იანი ხსნარი.
6. ინდიკატორი მეთილნარინჯი.

ფაიფურის როდინი, ფილტრის ქაღალდები, ბინის წკირები, 250 მლ-იანი საზომი კოლბები, 200-250 მლ-იანი კონუსური კოლბები, ბიუქსები კალციუმპექტატის გასაშრობად, 50-100 მლ-იანი პიპეტები, თერმოსტატი, ჩამრეცხე კოლბა.

საანალიზოდ იღებენ გაფხვიერებული მინის თანაო-ბისას კარგად დაქუცმაცებულ მცენარეულ, ნედლ მასალას (ისე რომ მიღებულ მიღებული გამონახსნარიდან აღებულ სინჯში კალციუმპექტატის რაოდენობა არ აღემატებოდეს 0,032 გ-ს), გადააქვთ 200-300 მლ-იან კონუსურ კოლბაში, უმატებენ 50 მლ $1/_{30}$ N -ის HCl-ს. კოლბას უერთებენ უკუმაცივარს, დგამენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე და აწარმოებენ გამოწვლილვას 30 წთ-ის განმავლობაში. მასას ცხლადვე ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში, ნალექს ფილტრის ქაღალდზე (მჟავას მოსაცილებლად) რამდენჯერმე რეცხავენ ცხელი წყლით. ფილტრატს ცალკე ინახავენ, ხოლო ფილტრი ნალექიანად გადააქვთ იმავე კოლბაში, სადაც ტარდებოდა გამოწვლილვა, უმატებენ 100 მლ ლიმონმჟავაამონიუმის 1%-იან ხსნარს, არგებენ უკუმაცივარს და კვლავ დგამენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე და აწარმოებენ გამოწვლილვას 30 წთ-ის განმავლობაში. გამონახსნარს გაფილტვრით აცილებენ ნალექს, რეცხავენ ცხელი წყლით, პირველ გამონაწვლილს ანეიტრალებენ 0,1 N-ის NaOH-ით ინდიკატორ მეთილნარინჯის თანაობისას, ნარინჯისფერ შეფერვამდე. შემდეგ ორივე გამონაწვლილი გადააქვთ 250 მლ-იან საზომ კოლბაში და გამოხდილი წყლით შეავსებენ ჭდემდე, კარგად შეანჯღრევენ. განზავების გათვალისწინებით, პიპეტით იღებენ 50 მლ ხსნარს; უმატებენ 50 მლ 0,4%-იან NaOH-ის ხსნარს და აყოვნებენ ოთახის ტემპერატურაზე მეორე დღემდე. მეორე დღეს შეამჟავებენ 50 მლ 1N CH_3COOH -ით, 5 წთ-ის შემდეგ უმატებენ 50 მლ 11,1%-იან $CaCl_2$-ს და აყოვნებენ სიცივეში 1 სთ-ის განმავლობაში, ოთახის ტემპერატურაზე პექტატის დასალექად. მიღებული ღრუბლისებური ნალექი სითხის ზედაპირზე მოექცევა.

შემდეგ კალციუმპექტატს ფილტრავენ წინასწარ კარად

გამომშრალ და უცვლელ წონამდე მიყვანილ მცირე ზომის ფილტრის ქაღალდში. ნალექი უდანაკარგოდ გადააქვთ (ცივი $CaCl_2$-ის დახმარებით) ფილტრზე, ფილტრს რამდენჯერმე რეცხავენ იმავე ხსნარით, შემდეგ ცივი წყლით ქლორის ბოლომდე მოსაშორებლად (Cl-ზე რეაქციას ამოწმებენ ვერცხლის ნიტრატით).

ბოლოს მარილების მოსაშორებლად რამდენჯერმე ჩარეცხავენ ცხელი გამოხდილი წყლით.

ფილტრი ნალექიანად გადააქვთ ბიუქსში და აშრობენ თერმოსტატში 100-105^0 C, უცვლელ წონამდე, რისთვისაც საჭიროა დაახლოებით 10-12 სთ.

საბოლოო წონას გამოაკლებენ ფილტრის წონას და ღებულობენ კალციუმპექტატის წონას.

პექტინმჟავას რაოდენობის განსაზღვრისათვის, კალციუმპექტატის მასას ამრავლებენ 0,9235-ზე.

გამოანგარიშება ხდება შემდეგნაირად:

მაგ. ანალიზისათვის აღებული იყო 0,4936 გ წვრილად დაფხვნილი მანდარინის მშრალი კანი.

გამოწვლილვისთვის დაიხარჯა 100 მლ $1/_{30}$ N -ის HCl-ის, აგრეთვე 100 მლ 1%-იანი ლიმონმჟავაამონიუმის ხსნარი. გამონაწვლილების ნარევი მიყვანილი იქნა 250 მლ-მდე, აქედან აღებული იქნა 2 პარალელური ნიმუში.

50-50 მლ გამონახსნარი შესაპნული იქნა 0,4%-იან NaOH-ის ხსნარით. შემდეგ შემჟავებული იყო მარილმჟავით და დალექილი $CaCl_2$– ით.

ნალექის მასა გამოშრობის შემდეგ

1. 0,0204 გ.

2. 0,0203 გ.

აქედან ანგარიშობენ კალციუმპექტატის რაოდენობას:

50 მლ – 0,0204 გ კალციუმპექტატს

250 მლ – X

X=0,1020 გ კალციუმპექტატი

0,1020 X 0,9235 = 0,0942 გ პექტინმჟავა.

პექტინმჟავას შემცველობას ანგარიშობენ %-ით მშრალ ნივთიერებაზე

0,4936 – 0,0942

100 – X X= 19,08%.

ე.ი. მანდარინის კანში აღმოჩნდა 19,08 % პექტინმჟავა.

3. ცილები

ყოველი მცენარეული და ცხოველური ქსოვილი, უჯრედი, ბიოლოგიური სითხე შეიცავს ცილებს. ცილა ბუნებრივი მაღალმოლეკულური ნაერთი ანუ ბიოპოლიმერია, რომლის სტრუქტურულ ერთეულს ამინომჟავური ნაშთები წარმოადგენს. პირობითად ცილებს მიეკუთვნება ის ნაერთები, რომელთა მოლეკულაში ასზე მეტი ამინომჟავური ნაშთია.

მაკრომოლეკულის ფორმის მიხედვით ცილები შეიძლება დავყოთ ორ ჯგუფად: გლობულარულ (სფერულ, ელიფსოიდურ ან თითისტარისებურ) და ფიბრიალურ (ძაფისებურ) ცილებად. გლობულარულ ცილებს მიეკუთვნება წყალში და მარილთა სუსტ ხსნარებში ხსნადი ცილები, მაგ. სისხლის შრატის ალბუმინი, რძისა და კვერცხის ცილის ალბუმინი, ჰემოგლობინი და ა.შ. ფიბრიალური ცილები კი წყალში უხსნადი ცილებია, მაგ. თმის ცილა კერატინი, კუნთის ცილა მიოზინი, შემაერთებელი ქსოვილის ცილა კოლაგენი და ა.შ.

ქიმიური შედგენილობის მიხედვით ცილებს ყოფენ ორ ძირითად ჯგუფად: მარტივ და რთულ ცილებად, პროტეინებად და პროტეიდებად. მარტივი ცილები, ანუ პროტეინები ეწოდება ისეთ ნაერთებს, რომელთა ჰიდროლიზის შედეგად წარმოიქმნება მხოლოდ ამინომჟავათა ნარევი, ხოლო პროტეიდების, ანუ რთული ცილების ჰიდროლიზის შედეგად მიიღება როგორც ამინომჟავები, ასევე სხვა არაცილოვანი ორგანული და არაორგანული ნაერთები. ამ არაცილოვან ნაერთებს პროსთეტული ჯგუფი ეწოდება.

მარტივი ცილებიდან აღსანიშნავია:

1. წყალში ხსნადი ალბუმინები, მათი გამოლექვა ნარევიდან ხდება ამონიუმის სულფატის 65%-იანი ხსნარით. გაცხელებით ალბუმინი იკვრება. მაგალითად, რძის

ადუღებისას ალბუმინი კანივით გადაეკვრება რძეს.

2. წყალში უხსნადი ცილებია - გლობულინები. იხსნება მხოლოდ მარილთა განზავებულ ხსნარებში. მათი გამოლექვა ხდება ამონიუმის სულფატის 50%-იანი ხსნარით.

3. წყალში და მარილთა წყალხსნარებში უხსნადი ცილებია - კერატინები. მაგალითად, თმა, ფრჩხილები, ჩლიქები სხვა წარმონაქმნები კერატინებია.

რთული ცილებია:

1. ფოსფოპროტეიდები, რომელთა შედგენილობაში ცილის გარდა შედის ფოსფორმჟავას ნაშთი. მაგალითად, კაზეინი.

2. ნუკლეოპროტეიდები, რომლებიც ცილის გარდა შეიცავს ნუკლეინის მჟავებს.

3. ქრომოპროტეიდები, რომლებიც ცილის გარდა შეიცავს პიგმენტებს. მაგალითად, ჰემოგლობინი.

4. გლიკოპროტეიდები, რომლებიც ცილის გარდა შეიცავს ნახშირწყლებს.

5. ლიპოპროტეიდები,რომლებიც ცილის გარდა შეიცავს ცხიმებს, ლეციტინებს, კეფალინებს.

ცილის ფიზიოლოგიური ზემოქმედება დამოკიდებულია მის სივრცულ აღნაგობაზე. ცილებში გვხვდება ოთხი სტრუქტურული დონე, რომლებსაც პირველად, მეორეულ, მესამეულ და მეოთხეულ სტრუქტურებს უწოდებენ.

ცილის პირველადი სტრუქტურა გვიჩვენებს ამინომჟავათა ნაშთების თანმიმდევრობას მოცემული ცილის პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში.

ცილის მეორეული სტრუქტურა გვიჩვენებს პოლიპეპტიდური ჯაჭვის კონფორმაციას, ანუ -NH- და -CO- ჯგუფებს შორის დამყარებული წყალბადური ბმების ხარჯზე პოლიპეპტიდური ჯაჭვის დახვევის ხერხს სივრცეში.

ერთი ან ერთმანეთთან დაკავშირებული რამდენიმე

პოლიპეპტიდური ჯაჭვის გარკვეული სივრცითი ორიენტაციის შედეგად წარმოქმნილ სტრუქტურას ცილის მესამეული სტრუქტურა ეწოდება. ამ სტრუქტურის ხარჯზე ცილის გრძელი პოლიპეპტიდური ჯაჭვი სივრცეში კომპაქტურ აღნაგობას ღებულობს.

მესამეული სტრუქტურა ცილის სივრცული ორგანიზაციის უმაღლესი ფორმაა, თუმცა რიგ მაკრომოლეკულებს აქვს ერთმანეთთან შეერთების და უფრო მსხვილი აგრეგატების წარმოქმნის უნარი. ასეთი ოლიგომერული წარმონაქმნის სივრცით სტრუქტურას, სადაც მონომერებად მესამეული სტრუქტურის მქონე პოლიპეპტიდების მაკრომოლეკულები გვევლინება, მეოთხეული სტრუქტურა ეწოდება.

ცილები, ამინომჟავების მსგავსად, ამფოტერული ნივთიერებებია. ზოგიერთი მათგანი იხსნება წყალში და წარმოქმნის კოლოიდურ ხსნარს, რომელიც ოპტიკურად აქტიურია და პოლარიზაციის სიბრტყეს აბრუნებს მარცხნივ (–).

ცილები ორგანიზმში, ძირითადად, შემდეგ ფუნქცას ასრულებენ:

1. შეადგენს პლასტიკურ მასალას, რისგანაც აგებულია უჯრედები და ქსოვილები. ამ მხრივ მათი შეცვლა არ შეიძლება არც ნახშირწყლებით და არც ცხიმებით. ცილები პროტოპლაზმის ძირითადი მასაა, პროტოპლაზმის ცილებთან კი დაკავშირებულია ცოცხალ უჯრედში მიმდინარე სხვადასხვა ბიოქიმიური პროცესები.

2. მონაწილეობს ყველა ფერმენტისა და ჰორმონის აღნაგობაში.

3. უჯრედის ბირთვის რთული ცილები (ნუკლეოპროტეიდები) დიდ როლს ასრულებენ ზრდისა და გამრავლების პროცესებში, ნივთიერებათა შიდაუჯრედულ ცვლაში.

4. მონაწილეობს ტუტე-მჟავური წონასწორობის შენარჩუნებაში.

ცხიმებისა და ნახშირწყლების მსგავსად ცილების გამოყენება შეიძლება ენერგიის მისაღებად. ორგანიზმი მისთვის აუცილებელი ენერგიის დაახლოებით 12%-ს ცილების დაშლის შედეგად ღებულობს.

3.1. თვისებითი რეაქციები ცილებსა და ამინომჟავებზე

ცილებს ახასიათებთ რამდენიმე ფერადი რეაქცია. ეს რეაქციები საშუალებას იძლევა დავადგინოთ ცილის შემადგენლობაში შემავალი ზოგიერთი ამინომჟავას ქიმიური ბუნება. ამ რეაქციებს ეფუძნება აგრეთვე ცილებისა და ამინომჟავების რაოდენობრივი განსაზღვრის მეთოდებიც.

3.1.1. ბიურეტის რეაქცია

ტუტე არეში სპილენძის მარილების თანაობისას ცილები იძლევიან იისფერ ან მოლურჯო-იისფერ შეფერვას. ეს რეაქცია გამოწვეულია ცილის მოლეკულაში -CO-NH- ან -$CH_2 \cdot NH_2$ ჯგუფის არსებობით. აღნიშნულ რეაქციას იძლევა ყველა ცილა, პოლიპეპტიდები, ამინომჟავები: სერინი, ტრეონინი, ჰისტიდინი, ასპარაგინი.

ბიურეტის კომპლექსის შეფერვა დამოკიდებულია სპილენძის იონების კონცენტრაციაზე და იმ ნივთიერების სტრუქტურაზე, რომელთანაც კოორდინირდება ეს იონი.

რეაქტივები:

1. 0,5გ საკვლევი ნივთიერება (ან ცილის 1%-იანი ხსნარი)
2. NaOH – 10%-იანი ხსნარი.

3. $CuSO_4$ – 1%-იანი ხსნარი.

0,5 გ საკვლევ ნივთიერებას, ან 5 წვეთ ცილის ხსნარს ათავსებენ მშრალ სინჯარაში და უმატებენ NaOH-ის 10%-იან ხსნარს ჭარბი რაოდენობით, შემდეგ წვეთწვეთობით (2-3 წვეთი) უმატებენ $CuSO_4$-ის 1%-იან ხსნარს და კარგად შეანჯღრევენ. სინჯარის შიგთავსი მოლურჯო იისფრად შეიფერება.

* დიდი რაოდენობით $CuSO_4$-ის დამატება მიზანშეწონილი არ არის,რადგან წარმოქმნილი $Cu(OH)_2$ ლურჯი ნალექი ხელს უშლის ბიურეტის კომპლექსის შეფერილობის აღქმას. რეაქციამ სახელწოდება მიიღო ნივთიერება ბიურეტიდან

$$H_2N\text{-}CO\text{-}NH\text{-}CO\text{-}NH_2$$

3.1.2. ნინჰიდრინის რეაქცია

ნინჰიდრინი (ტრიკეტოჰიდრინდენი) ცილებთან, პეპტიდებთან და ამინომჟავებთან იძლევა ჯერ ვარდისფერ და შემდეგ ლურჯ შეფერვას. ეს რეაქცია საკმაოდ მგრძნობიარეა და გამოწვეულია ცილის მოლეკულაში კარბოქსილის ჯგუფისა და α-ამინომჟავების არსებობით.

რეაქტივები:

1. ცილის 1%-იანი ხსნარი.
2. ნინჰიდრინი – 0,1%-იანი წყალხსნარი.

5 წვეთ ცილის ხსნარს უმატებენ 1-2 მლ ნინჰიდრინის ხსნარს და ადუღებენ 1-2 წუთის განმავლობაში. წარმოიქმნება მოვარდისფრო-იისფერი შეფერილობა, რომელიც შემდეგ მოლურჯო-იისფერში გადადის.

*** ეს რეაქცია არ არის მკაცრად სპეციფიკური, რადგან იგი დამახასიათებელია ზოგიერთი ამინებისა და ამინომჟავებისათვის.**

3.1.3. ქსანტოპროტეინის რეაქცია

ქსანტოპროტეინის რეაქცია გამოწვეულია ცილაში ზოგიერთი არომატული და ჰეტეროციკლური ამინომჟავების (თიროზინი, ტრიპტოფანი, ფენილალანინი) არსებობით. ეს ამინომჟავები კონცენტრირებულ აზოტმჟავასთან ურთიერთქმედებისას წარმოქმნის ყვითელი ფერის ნიტრონაწარმებს, რომლებიც ტუტის მოქმედებით გადადის ქინოიდური სტრუქტურის ნარინჯისფერ მარილებში.

რეაქტივები:

1. 1გ საკვლევი ნივთიერება ან ცილის 1%-იანი ხსნარი
2. HNO_3 –კონცენტრირებული
3. NaOH -- 10%-იანი ხსნარი

ცილის 2-3 მლ-ს ან 1გ საკვლევ ნივთიერებას წვეთ-წვეთობით უმატებენ HNO_3-ის კონცენტრირებულ ხსნარს, ოთხი ნალექის წარმოქმნის შეწყვეტამდე და ფრთხილად ადუღებენ. ცილა აიჯრება მჟავას მოქმედებით და გაცხელებისას ყვითლად შეიფერება. სარეაქციო ნარევს აცივებენ და წვეთობით უმატებენ NaOH-ის 10 %-იან ხსნარს ნარინჯისფერი დინიტროთიროზინის Na-ის მარილის წარმოქმნამდე.

* რეაქციას სახელწოდება პირველად მულდერმა მისცა, ბერძნულად "ქსანთოს" ნიშნავს ყვითელს, ამიტომ ამ რეაქციას ქსანტოპროტეინის რეაქციას უწოდებენ.

3.1.4. მილონის რეაქცია (თიროზინის აღმოჩენა)

მილონის რეაქტივი წარმოადგენს Hg^{2+}-ის და Hg^{+}-ის ნიტრატებისა და ნიტრიტების ნარევს აზოტმჟავაში. მისი მოქმედებით ცილასთან ჩნდება ჯერ თეთრი ნალექი, რომელიც გაცხელებით წითელ შეფერილობაში გადადის. ცილა რომელიც თიროზინს არ შეიცავს, მილონის რეაქტივთან შეფერილობას არ იძლევა;

რეაქტივები:

1. მშრალი ცილა ან ცილის 1%-იანი ხსნარი
2. მილონის რეაქტივი.

სინჯარაში ათავსებენ 4-6 წვეთ ცილის ხსნარს (ან მშრალ ცილას) და უმატებენ 1-2 წვეთ მილონის რეაქტივს. წარმოიქმნება ცილის თეთრი ნალექი (ცილის დალექვა მძიმე მეტალის მარილით), სინჯარას ფრთხილად შეათბობენ. ნიტროთიროზინის ვერცხლისწყლის მარილის წარმოქმნის გამო ნალექი აგურისფერ-წითელი გახდება.

ჭარბი რეაქტივის დამატება არ არის სასურველი, რადგან ის შეიცავს აზოტმჟავას, რომელიც ცილასთან ურთიერთქმედებისას ყვითელ შეფერილობას წარმოქმნის (ქსანტოპროტეინის რეაქცია) და ამიტომ მოხდება მილონის რეაქტივით წარმოქმნილი წითელი ფერის შენიღბვა.

მილონის რეაქტივის მომზადება

40 გ ვერცხლისწყალს ჯერ ხსნიან 57 მლ კონც. აზოტმჟავაში, შემდეგ კი ფრთხილად გააცხელებენ წყლის აბაზანაზე. წარმოქმნილ ხსნარს განაზავებენ 2-ჯერ მეტი მოცულობა წყლით, დააყოვნებენ და ნალექიდან გადაწურავენ.

3.2. ცილების ფრაქციონირება, ალბუმინის გამოყოფა

ალბუმინის გამოყოფას საფეძვლად უდევს მისი გამომარილება ამონიუმის სულფატით.

გამომარილებისას ცილა თითქმის არ კარგავს მის-თვის დამახასიათებელ ფიზიკო-ქიმიურ და ბიოლოგიურ თვისებებს. ამ გზით მიღებული ცილა ხასიათდება წყალში ხსნადობით და ისეთივე ფერმენტული, იმუნური, ანტიგენური და ბიოლოგიური თვისებებით, რაც თავიდან ჰქონდა.

გამომარილება საფუძვლად უდევს ცილების ფრაქციონირებასაც. მაგ. გლობულინების და ალბუმინების ნარევიდან, ამონიუმის სულფატის მცირე რაოდენობით მიმატებისას, პირველ რიგში გლობულინები ილექება-(როგორც შედარებით მაღალმოლეკულური ნაერთი), ხოლო შემდეგ ამონიუმის სულფატის ჭარბი რაოდენო-ბის მიმატებისას – შედარებით დაბალმოლეკულური ალბუმინები.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. კვერცხის ცილა.
2. $(NH_4)_2SO_4$ – ნაჯერი ხსნარი (720 გ მარილი 1 ლ წყალში).
3. $(NH_4)_2SO_4$ – მყარი.
4. ძმარმჟავა – 4%-იანი ხსნარი.
5. ინდიკატორი – ბრომკრეზოლის მწვანე.

საზომი ცილინდრები, მინის ძაბრები, ქიმიური ჭიქე-ბი, მინის წკირები, ფილტრის ქაღალდები.

კვერცხის ცილას ფრთხილად აცილებენ გულს, ათავსებენ საზომ ცილინდრში და წვრილი ჭავლით უმატებენ იმავე მოცულობის ამონიუმის სულფატის ნაჯერ ხსნარს. ამ დროს გამოიყოფა დიდი რაოდენობით გლობულინები.

ხსნარს ფილტრავენ, ზომავენ ფილტრატის მოცულობას და უმატებენ გაფხვიერებულ – $(NH_4)_2SO_4$-ს (ფილტრატის თითოეულ მილილიტრზე უნდა მოდიოდეს 0,144გ მარილი). ხსნარს ხანგრძლივად ურევენ მინის წკირით კრისტალების სრულ გახსნამდე. ამ დროს წარმოიქმნება ამონიუმის სულფატის 70%-იანი სნარი, რომლის საშუალებითაც გამოილექება ალბუმინი. ამ უკანასკნელს ფილტრავენ ბუხნერის ძაბრში.

გამოყოფილი ალბუმინის ნალექს ხსნიან მცირე რაოდენობით ცივ წყალში, ხსნარის PH მიჰყავთ 4,7-მდე 4%-იანი ძმარმჟავას ხსნარის თანდათანობით მიმატებით (ინდიკატორი ბრომკრეზოლის მწვანე ან -უნივერსალური ქაღალდი; PH 4,7 – ესაა ალბუმინის იზოელექტრული წერტილი. ამ დროს მისი ხსნადობა მინიმალურია). წარმოქმნილი სიმღვრივის მოცილებას ახდენენ გაფილტვრით. ხსნარს უმატებენ მცირე რაოდენობით ამონიუმის სულფატის ნაჯერ ხსნარს, მინის წკირით განუწყვეტელი მორევის პირობებში, სიმღვრივის წარმოქმნის მომენტამდე. 1-2 დღე-ღამის შემდეგ გამოიყოფა ალბუმინის კრისტალები, რომელთა შენახვა შეიძლება ამონიუმის სულფატის ნაჯერ ხსნარში.

3.2.1. ცილის ჰიდროლიზი

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. ალბუმინი.
2. HCl – 6N ხსნარი.
3. Na_2CO_3 – მყარი.
4. იზოპროპილის სპირტი – 10%-იანი წყალხსნარი.

შლიფიანი მრგვალძირა კოლბა, უკუმაცივარი, ვაკუუმ-ექსიკატორი.

50 მლ-იან კოლბაში, რომელსაც მორგებული აქვს

მიხეხილბოლოიანი უკუმაცივარი, ათავსებენ 20 მგ მშრალ ცილას (მაგ. კვერცხის ალბუმინს), უმატებენ 20 მლ 6 N HCl ისე, რომ ცილის ფხვნილი მთლიანად დაიფაროს მჟავით. კოლბას აცხელებენ მორევის გარეშე ცილის სრულ გახსნამდე, შემდეგ კი აგრძელებენ გაცხელებას 20 საათის განმავლობაში მდუღარე მარილწყლის აბაზანაზე. ამ დროს ცილა ჰიდროლიზდება. ჰიდროლიზატს ააორთქლებენ მშრალ ნაშთამდე, 35^0 C-ზე ვაკუუმში, მარილმჟავას მოცილების მიზნით. ჰიდროლიზის შედეგად კოლბაში დაგვრჩება ამინომჟავების ჰიდროქლორიდების ნარევი. ამ ნარევს ერთი ღამით ტოვებენ ვაკუუმ-ექსიკატორში ნატრიუმის კარბონატზე. შემდეგ ჰიდროლიზატს ხსნიან თბილ წყალში, ფილტრავენ და კვლავ ამოაშრობენ ვაკუუმში. მიღებულ ამინომჟავათა ნარევს ხსნიან 2 მლ 10%-იან იზოპროპილის სპირტის წყალხსნარში.

3.2.2. ცილის ამინომჟავური შედგენილობის განსაზღვრა ქაღალდის ქრომატოგრაფიის მეთოდით

ამინომჟავათა დაყოფისა და განსაზღვრის ერთ-ერთ მეთოდს წარმოადგენს განაწილებითი ქრომატოგრაფია. ამისათვის ცილის ჰიდროლიზატის წვეთი დააქვთ ქრომატოგრაფიული ქაღალდის ვიწრო ზოლზე, რომლის ბოლოსაც ჩაუშვებენ შესაბამის ორგანულ გამხსნელში (ან გამხსნელთა გარკვეული თანაფარდობის ნარევში). გამხსნელი შეიწოვება ქაღალდით და კაპილარული ძალების საშუალებით გადაადგილდება ქრომატოგრაფიულ ქაღალდზე და თან წარიტაცებს მასზე დატანილ ამინომჟავებს. ქაღალდზე ამინომჟავათა გადაადგილების სიჩქარე დამოკიდებულია მათ

სტრუქტურაზე და უნარზე, გაიხსნას და განაწილდეს მოძრავ და უძრავ ფაზას შორის. მოძრავ ფაზად გამოიყენება მაგ. წყლით გაჯერებული ფენოლი, ბუთილის ან ამილის სპირტი და სხვა. უძრავ ფაზად ამ შემთხვევაში გვევლინება წყალი, რომლის ორთქლითაც გაჯერებულია ქრომატოგრაფიული ქაღალდი, თუმცა გარეგნულად ქაღალდი მშრალი რჩება. რაც უფრო მცირეა ამინომჟავების ხსნადობა წყალში და მეტია მათი ხსნადობა მოძრავ ფაზაში, მით უფრო სწრაფად იმოძრავებს იგი. ამინომჟავების განლაგება ქაღალდზე შეიძლება აღმოვაჩინოთ სხვადასხვა ფერადი რეაქციებით. მაგ. რეაქციით ნინჰიდრინთან: ამ მიზნით ქრომატოგრამას აშრობენ და პულვერიზატორით შეასხურებენ ნინჰიდრინის 0,5%-იან ხსნარს (სპირტში ან აცეტონში). ქრომატოგრამას ათავსებენ საშრობ კარადაში. ამ დროს ქრომატოგრამაზე გამოჩნდება სხვადასხვა შეფერილობის (ლურჯი, იისფერი, ნარინჯისფერი) ლაქები,რომლებიც შეესაბამება ცალკეულ ამინომჟავებს. ქრომატოგრამაზე ცალკეული ამინომჟავების გადაადგილების სიჩქარე განისაზღვრება R_f განაწილების კოეფიციენტით, $R_f = a / b$, სადაც a – არის მანძილი (მმ-ში) ამინომჟავის დატანის წერტილიდან (სტარტის ხაზიდან) მისი ლაქის ცენტრამდე, ხოლო b – დატანის წერტილიდან ფრონტის ხაზამდე (გამხსნელის მიერ განვლილი მანძილი).

განაწილების კოეფიციენტის მნიშვნელობები მხოლოდ საორიენტაციოა, რადგან ის დამოკიდებულია ქაღალდის ტიპზე, ტემპერატურაზე, რეაქციის მუავიანობაზე, ნივთიერებებში არსებულ მინარევებზე და სხვა ფაქტორებზე.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. ცილის ჰიდროლიზატის ხსნარი.
2. ნ – ბუთილის სპირტი.

3. ყინულოვანი ძმარმჟავა.

4. გამოხდილი წყალი.

5. ნინჰიდრინის 0,5%-იანი ხსნარი აცეტონში, ან სპირტში.

ქრომატოგრაფიული ქაღალდი, ქრომატოგრაფიული ქილა, ნავი, გამყოფი ძაბრი, პულვერიზატორი.

გამხსნელთა სისტემის მომზადება

იღებენ ნ-ბუთანოლს, ყინულოვან ძმარმჟავას და წყალს მოცულობითი თანაფარდობით 15:3:7. ნაჯერი ხსნარის მოსამზადებლად ნარევი გადააქვთ გამყოფ ძაბრში, ძლიერ შეანჯღრევენ და მიღებულ ემულსიას აყოვნებენ 24 საათის განმავლობაში. გამხსნელთა ნარევი ორ ფენად გაიყოფა. ზედა ფენა – ესაა წყლითა და ძმარმჟავით გაჯერებული ნ-ბუტანოლი, რომელსაც იყენებენ ამინომჟავების დასაყოფად. ქვედა ფენას ჩაუშვებენ კოლბაში, ხოლო ზედა ფენას ჩაასხამენ ქრომატოგრაფიულ ნავში პიპეტით, ისე რომ შეივსოს ნავის 2/3. დარჩენილ გამხსნელს პიპეტით ფრთხილად ჩაასხამენ ქილაში, რომელიც მასში ქმნის გამხსნელის მაღალ კონცენტრაციას. ამის შემდეგ ქილას ჰერმეტულად დაახურავენ სახურავს. დროთა განმავლობაში გამხსნელს შეიწოვეს ქაღალდი ნავიდან და გადაადგილდება ქაღალდის ფორების და კაპილარების საშუალებით ზევიდან ქვევით. ქრომატოგრაფიის ამ სახეს დაღმავალი ქრომატოგრაფია ეწოდება.

ქაღალდზე გამხსნელის მოძრაობის სიჩქარე დამოკიდებულია გამხსნელის ბუნებაზე, ქაღალდის ტიპზე, ასევე ტემპერატურაზე (რაც მეტია ტემპერატურა, მით უფრო სწრაფად მოძრაობს გამხსნელი) შესაბამისად ქრომატოგრაფიის პროცესის ხანგრძლივობა, ზემოთ ჩამოთვლილი პირობებიდან გამომდინარე სხვადასხვაა. ქრომატოგრაფიული პროცესი უნდა შეწყდეს მაშინ, როდესაც გამხსნელის ფრონტის ხაზი

ქრომატოგრაფიული ქაღალდის ბოლოს მიუახლოვდება.

ქრომატოგრაფიის პროცესის დამთავრების შემდეგ ქაღალდს ფრთხილად ამოიღებენ ქილიდან და ამწოვ კარადაში გააშრობენ, რის შემდეგაც ქრომატოგრამას პულვერიზატორით შეასხურებენ ნინჰიდრინის 0,5%-იან ხსნარს აცეტონში ისე, რომ მთელი ქაღალდი დასველდეს. აცეტონის აორთქლების შემდეგ ქრომატოგრამას ათავსებენ საშრობ კარადაში 70^0 C-ზე. ქრომატოგრამაზე ამინომჟავები ასეთი თანმიმდევრობით ლაგდება:

1. ცისტინი და ცისტეინი.
2. ლიზინი.
3. ჰისტიდინი.
4. არგინინი.
5. ასპარაგინის მჟავა.
6. გლუტამინის მჟავა და ტრეონინი.
7. ალანინი.
8. პროლინი.

3.3. რძისაგან კაზეინისა და თიროზინის გამოყოფა

კაზეინი რძის ცილაა. იგი ფოსფოპროტეიდია (ფოსფოპროტეიდები ეწოდება ისეთ ცილებს, რომლებიც ცილის გარდა შეიცავს ფოსფორმჟავას ნაშთს).

ფოსფოპროტეიდები წყალში უხსნადებია, მაგრამ იხსნებიან ტუტეებში, ხოლო შემჟავებით და გამომარილებით ილექებიან.

რძეში კაზეინი გახსნილია კალციუმის მარილის სახით. შემჟავებით კალციუმის მარილი იშლება და კაზეინი გამოილექება თავისუფალი სახით.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. რძე – 1 ლ.
2. ძმარმჟავა – 1%-იანი ხსნარი.
3. NaOH – 1%-იანი ხსნარი.
4. H_2SO_4.
5. ეთილის სპირტი.
6. ეთილის ესთერი.
7. $Ba(OH)_2$.
8. ინდიკატორი – ფენოლფთალეინის ქაღალდი.

საზომი კოლბა, ქსოვილი, ფაიფურის ჯამი, ქიმიური ჭიქები.

კაზეინის გამოყოფა: 1 ლ რძეს ანზავებენ 2 ლ გამოხდილი წყლით. ხსნარს დაამატებენ 1%-იანი ძმარმჟავას ხსნარს (6 მლ-ს). რძე აიჭრება. მიღებულ მასას გაფილტრავენ დოლბანდში, გაწურავენ და ჩარეცხავენ წყლით. მიღებულ ხაჭოს (რომელიც შეიცავს კაზეინსა და ცხიმს), მოათავსებენ ფაიფურის ჯამში, ამატებენ 1%-იან NaOH-ის ხსნარს მცირე ულუფობით და კარგად სრესენ. წარმოიქმნება სქელი ფაფისებური მასა, რომელსაც ანეიტრალებენ იმავე კონცენტრაციის NaOH-ის ხსნარით კარგი მორევის პირობებში (ინდიკატორი – ფენოლფტალეინი) და ოდნავ შეათბობენ. მიღებულ ხსნარს გადაიტანენ მაღალ ჭიქაში და დატოვებენ მეორე დღემდე.

მეორე დღეს თავზე მოგდებულ ცხიმს მოაცილებენ, ხოლო ხსნარს ცხიმის ნარჩენის მოსაცილებლად გაფილტრავენ რამდენჯერმე წმინდა ქსოვილში (ვიდრე არ მიიღებენ მხოლოდ ოდნავ შემღვრეულ ფილტრატს). ფილტრატს შეამჟავებენ 1%-იანი ძმარმჟავას ხსნარით (6-10 მლ). მიიღება კაზეინის ნალექი. ნალექიდან ხსნარს გადაწურავენ, გარეცხავენ, კიდევ ერთხელ გახსნიან ტუტეში და კვლავ დალექავენ ძმარმჟავით. ამგვარად მიღებულ კაზეინს გაწურავენ,

გასრესენ მცირე რაოდენობით სპირტში და მიღებულ მასას გაფილტრავენ ბუხნერის ძაბრში. გარეცხავენ ჯერ სპირტით, შემდეგ ესთერით. კაზეინს გააშრობენ ჰაერზე ან გოგირდმჟავიან ექსიკატორში.

მშრალი, უცხიმო კაზეინი თეთრი ამორფული ფხვნილია. გამოსავალი შეადგენს 20-25 გ-ს.

3.4. თიროზინის მიღება კაზეინიდან

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. კაზეინი.
2. H_2SO_4 – 25 %-იანი ხსნარი.
3. $Ba(OH)_2$.
4. ფენოლფთალეინის ხსნარი.
5. $CaCO_3$ (ან მარმარილოს ნატეხები).
6. მარილმჟავა.

მრგვალძირა კოლბა, ბურთულებიანი უკუმაცივარი, ფაიფურის ჯამი.

ნახევარლიტრიან მრგვალძირა კოლბაში, რომელსაც მორგებული აქვს ბურთულებიანი უკუმაცივარი, ათავსებენ გამოყოფილი კაზეინის მთელ ულუფას, უმატებენ მასით სამჯერ მეტი რაოდენობით გოგირდმჟავას 25%-იან ხსნარს და ადუღებენ 16 საათის განმავლობაში. მიიღება მუქი ფერის ხსნარი, რომელსაც უმატებენ $Ba(OH)_2$-ის ცხელ ნაჯერ ხსნარს, სუსტ ტუტე რეაქციამდე (სინჯი ფენოლფთალეინთან). ჭარბი Ba^{2+} იონების დასალექად ატარებენ CO_2-ს (CO_2-ის მისაღებად ვიურცის კოლბაში ათავსებენ $CaCO_3$-ს ან მარმარილოს ნატეხებს და საწვეთი ძაბრიდან უმატებენ მარილმჟავას) და კოლბის შიგთავს ფილტრავენ. $BaSO_4$-ის ნალექს

თიროზინიც მიჰყვება. მისი მოცილების მიზნით ნალექს ამატებენ 200 მლ წყალს და აცხელებენ ადუღებამდე. თიროზინი წყალში გაიხსნება. კვლავ ფილტრავენ, ნალექს ისევ ადუღებენ წყლის მცირე ულუფასთან ერთად, ისევ ფილტრავენ და რამდენჯერმე ჩარეცხავენ წყლით, ვიდრე ფილტრატი უარყოფით რეაქციას არ მოგვცემს მილონის რეაქტივთან, რაც იმის მაჩვენებელია რომ თიროზინი მთლიანად ფილტრატშია გადასული.

ფილტრატის ყველა ულუფას ერთად აგროვებენ და ფაიფურის ჯამიდან ააორთქლებენ. კრისტალების გამოყოფის შემდეგ ხსნარს გააცივებენ და გაფილტრავენ. ფილტრატს კვლავ ააორთქლებენ. როცა კრისტალები გაჩნდება ხსნარში, კვლავ გააცივებენ და გაფილტრავენ. ასე იმეორებენ ორჯერ-სამჯერ.

თიროზინის კრისტალებს ერთად აგროვებენ და ცხელი წყლიდან გამოაკრისტალებენ გააქტიურებულ ნახშირთან ერთად.

თიროზინის გამოსავლიანობაა 0,8-1 გ ლღობის ტემპერატურაა 314-316^0 C.

კაზეინის ჰიდროლიზის პროცესში თიროზინთან ერთად წარმოიქმნება ლეიცინი, გლუტამინის მჟავა, პროლინი, სერინი და სხვა ამინომჟავები, რომლებიც ხსნარში დარჩება.

3.5. ცილის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით

მეთოდის საშუალებით შესაძლებელია ცილის განსაზღვრა ხსნარებში, სადაც მისი რაოდენობა მხოლოდ ათეული მიკროგრამია.

ცილის გამოყოფა მცენარეული მასალიდან (მარცვლეულიდან)

მარცვლეულს წმინდად ფქვავენ. 3-10 გ ფქვილს (ცილის შემცველობის მიხედვით) ათავსებენ კონუსურ კოლბაში, ასხამენ 50-100 მლ ბორატის ბუფერს (PH-10,0). კოლბას ათავსებენ მექანიკურ სანჯღრეველაზე 1 საათის განმავლობაში, შემდეგ კი აყოვნებენ 15-18 საათს მაცივარში 0°C-ზე. კოლბის შიგთავსს აცენტრიფუგებენ 5-10 წთ (3000-4000 ბრუნი წუთში). სითხის ფენას გადაწურავენ 500 მლ-იან საზომ კოლბაში. ცენტრიფუგის სინჯარაში დარჩენილი ნალექი ხელახლა მთლიანად გადააქვთ საექსტრაქციო კოლბაში, უმატებენ 50-60 მლ ბუფერს, ანჯღრევენ 30-40 წთ და კვლავ აცენტრიფუგებენ. ცენტრიფუგატი ისევ გადააქვთ იმავე საზომ კოლბაში, ხოლო ნალექის ასეთ ექსტრაქციას იმეორებენ 4-5-ჯერ, ვიდრე ცენტრიფუგატი ფოლინის რეაქტივთან ცილაზე უარყოფით რეაქციას არ მოგვცემს. საზომ კოლბაში მოთავსებულ ხსნარს შეავსებენ 500 მლ-მდე. თუ ცილა არ გაიხსნება აღნიშნულ ბუფერში, მაშინ ასეთი ცილის ამოსაწვლილად იყენებენ დამატებით ექსტრაქციას სხვა გამხსნელებით. მაგ. ორგანულ გამხსნელთა წყალხსნარებით (აცეტონის, დიოქსანის, ეთანოლის, იზოპროპანოლის და სხვათა წყალხსნარები).

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. ბორატის ბუფერი (PH-9,97): 12,404 გ ბორის მჟავას გახსნიან 100 მლ 1 N NaOH-ში და გამოხდილი წყლით შეავსებენ 1ლ-მდე. PH-9,97 ხსნარის მოსამზადებლად იღებენ ბორატის და 1 N NaOH-ის ხსნარს თანაფარდობით – 6:4.

2. ფოლინის რეაქტივი: 1,5 ლ-იან კოლბაში, რომელსაც მორგებული აქვს უკუმაცივარი, ათავსებენ 100 გ ნატრიუმის

ვოლფრამატს (1 N $Na_2Wo_4 \cdot 2H_2O$), ხსნიან 700 მლ გამოხდილ წყალში. ხსნარს უმატებენ 50 მლ 80%-იან H_3PO_4 და 100 მლ კონც. მარილმჟავას. მიღებულ ხსნარს ნელა ადუღებენ უკუმაცივრით 10 სთ-ის განმავლობაში. გაცივების შემდეგ უმატებენ 150 გ Li_2SO_4-ს, 50 მლ გამოხდილ წყალს, 4-6 წვეთ ბრომიან წყალს და ისევ ადუღებენ ამწოვ კარადაში 15 წთ-ის განმავლობაში უკუმაცივრის გარეშე, ჭარბი ბრომის მოსაცილებლად. გაცივების შემდეგ ხსნარი გადააქვთ ლიტრიან საზომ კოლბაში, შეავსებენ ჭდემდე და ფილტრავენ მინის ფილტრში. მიღებულ რეაქტივს ინახავენ მუქ ჭურჭელში. მიღებული ხსნარი უნდა იყოს ყვითელი ფერის. მწვანე ფერის წარმოქმნა რეაქტივის უსუფთაობაზე მიუთითებს. უფრო ხშირად უსუფთაობის მიზეზია მარილმჟავა. ფოლინის რეაქტივის კონცენტრაციის დასადგენად რეაქტივს ტიტრავენ 1 N-ის ტუტით და გამოთვლიან მის მჟავიანობას. ხმარების წინ ფოლინის რეაქტივს ისე განაზავებენ, რომ მისი მჟავიანობა 1 N მარილმჟავას მჟავიანობას შეესაბამებოდეს (ხმარების წინ რეაქტივი შეიძლება განზავდეს გამოხდილი წყლით 1 : 1).

3. რეაქტივი ა) – 2%-იანი Na_2CO_3-ის ხსნარი 0,1 N NaOH-ში.

4. რეაქტივი ბ) – 0,5 %-იანი $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ხსნარი 1%-იან $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4CH_2O$ (სეგნეტის მარილი) ხსნარში.

რეაქტივი გ) ესა არის ა) და ბ) რეაქტივების ნარევი, თანაფარდობით 50 : 1, რომელსაც ამზადებენ ხმარების წინ.

საზომი კოლბები (500, 200, 100 მლ-იანი), მინის წკირები, ძაბრები, ცენტრიფუგა, ცენტრიფუგის სინჯარები, 1,5 ლ-იანი მრგვალძირა კოლბა, უკუმაცივარი.

საკალიბრო მრუდის აგება

საკალიბრო მრუდის ასაგებად წინასწარ მზადდება

ცილის ცნობილი კონცენტრაციის ხსნარები (სასურველია ის ცილა, რომლის განსაზღვრასაც ვაპირებთ).

200 მგ ცილას ხსნიან 200 მლ-მდე გამოხდილ წყალში (იყენებენ 200 მლ-იან საზომ კოლბას), მიიღება ცილის ხსნარი სადაც ცილის კონცენტრაციაა 1 მგ/მლ.

საწყისი ხსნარიდან აიღებენ 75, 50, 25, 15, 10, 5, 3, 1 მლ-ს და თითოეულს განაზავებენ 100 მლ-მდე. შესაბამისად მიღებულ ხსნარებში ცილის კონცენტრაცია იქნება: 1,000; 0,750; 0,500; 0,250; 0,150; 0,100; 0,050; 0,030; 0,010 მგ/მლ-ში.

მიღებული სტანდარტული ხსნარებიდან იღებენ 1 მლ-ს და უმატებენ 2,5 მლ რეაქტივ "გ"-ს, კარგად შეანჯღრევენ და აყოვნებენ 10 წთ ოთახის ტემპერატურაზე. შემდეგ დაუმატებენ 0,2 მლ ფოლინის რეაქტივს (განზავებულს 1:1-ზე), ენერგიულად შეანჯღრევენ და ათავსებენ 30 წთ წყლის აბაზანაზე (37°C-ზე). მიიღება ლურჯი ფერის ხსნარი,რომლის ოპტიკური სიმკვრივე განისაზღვრება 750 ნმ-ზე. მიღებული შედეგების მიხედვით ააგებენ ოპტიკური სიმკვრივის ცილის რაოდენობრივ შემცველობაზე დამოკიდებულების გრაფიკს (საკალიბრო მრუდს).

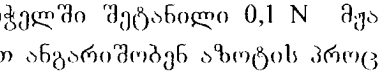
ასევე განისაზღვრება ცილის რაოდენობრივი შემცველობა საკვლევი ნიმუშიდან დამზადებულ ექსტრაქტში.

მრუდის დახმარებით პოულობენ საკვლევ ობიექტში ცილის რაოდენობას.

3.6. აზოტის საერთო რაოდენობის განსაზღვრა კიელდალის მეთოდით

კონცენტრირებული გოგირდმჟავას მოქმედებით, ძლიერი გაცხელების პირობებში ადგილი აქვს ორგანული მჟავების

მინერალიზაციას. ამ დროს ამონიაკის სახით გამოყოფილი აზოტი იბოჭება გოგირდმჟავით:



$$R\text{-}CHNH_2COOH + H_2SO_4 = CO_2 + SO_2 + H_2O + NH_3$$

$$2NH_3 + H_2SO_4 = (NH_4)_2SO_4$$

მიღებულ ამონიუმის სულფატს შლიან ტუტის დამატებით და გამოყოფილ ამონიაკს ბოჭავენ 0,1 N მჟავას ხსნარით. მიმღებ ჭურჭელში შეტანილი 0,1 N მჟავას და მისი ნაშთის სხვაობით ანგარიშობენ აზოტის პროცენტულ შემცველობას საკვლევ მასალაში.

ცილებითა და სახამებლით მდიდარ, მაგრამ წყლისა და შაქრების მცირე რაოდენობით შემცველ კულტურებში (მარცვლოვნები, პარკოსნები, ცხიმზეთიანები და სხვა) აზოტს საზღვრავენ ჰაერმშრალ მასალაში, ხოლო ნახშირწყლების და წყლის დიდი რაოდენობით შემცველ მცენარეებში (კარტოფილი, კომბოსტო, ჭარხალი, აგრეთვე ნაყოფის მომცემ ბაღის კულტურებში და კენკროვნებში) აზოტს საზღვრავენ, როგორც მშრალ, ისე ნედლ მასალაში. ნედლი მასალის წონაკები სწრაფად იწვის. მშრალი ნივთიერება, მაგალითად კარტოფილი უფრო ძნელად იწვის და შემჩნეულია განსხვავება პარალელურ ცდებს შორის. აღნიშნული ჯგუფის მცენარეთა ნედლი მასალის წვის დასაწყისში ადგილი აქვს ძლიერ აქაფებას, რაც გამოწვეულია საკვლევ ნიმუშში წყლის დიდი რაოდენობის შემცველობით. წყლის აორთქლების შემდეგ ხდება შაქრის დანახშირება. ამიტომ, კოლბიდან სითხის ამოვარდნის თავიდან ასაცილებლად შიგთავსს უმატებენ 1 მლ ეთანოლს, რომელიც ამცირებს სითხის ზედაპირულ დაჭიმულობას.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. საკვლევი ბიომასა.
2. H_2SO_4 – ρ = 1,84 გ/სმ³
3. K_2SO_4.
4. $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ – 5%-იანი წყალხსნარი.
5. KOH – 30%.
6. H_2SO_4 – 0,01 N.
7. KOH – 0,01 N.

ინდიკატორის ქაღალდი, კიელდალის კოლბა, სინჯარა ბიომასის წონაკის ასაღებად, ლიბიხის მაცივარი, წვეთდამჭერი, მადუღარა წყლის ორთქლით გამოხდისათვის, ერლენმეიერის კოლბები.

0,02–0,05 გ ბიომასის წონაკს ათავსებენ კიელდალის კოლბაში, უმატებენ 3-4 მლ კონცენტრირებულ H_2SO_4-ს (ρ=1,84 გ/სმ³), 3 წვეთ 5%-იან $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ -ის ხსნარს, მცირე რაოდენობით K_2SO_4-ს. კოლბას დაახურავენ სპეციალურ მინის საცობს და აცხელებენ შიგთავსის სრულ გაუფერულებამდე (კოლბის გახურებას ტემპერატურის თანდათანობით გაზრდით აღწევენ). ამის შემდეგ კოლბას აცივებენ და საცობის მეშვეობით ერთის მხრივ უერთებენ მადუღარას, მეორე მხრივ წვეთდამჭერს, რომელიც თავის მხრივ უერთდება ლიბიხის მაცივარს. მაცივარი ჩაშვებულია მიმღებში, რომელშიც წინასწარ ათავსებენ 100 მლ 0,01 N H_2SO_4-ის ხსნარს. კიელდალის კოლბაში ფრთხილად ასხამენ KOH-ის 30%-იან ხსნარს ტუტე რეაქციამდე (ინდიკატორის ქაღალდს წინასწარ ათავსებენ კოლბაში), კოლბას სწრაფად დაუცავენ გაზგამყვანმილებიან საცობს, რათა არ დაიკარგოს ამ დროს გამოყოფილი NH_3. გამოყოფილი ამონიაკის შთანთქმა ხდება მიმღებში 0,01 N H_2SO_4-ის ხსნარით. გამოხდის დამთავრებას ადგენენ მაცივრიდან ჩამოდენილი

წვეთის ინდიკატორის ქაღალდზე დაწვეთებით (ლაკმუსის ქაღალდი არ უნდა გალურჯდეს), ან იმით, რომ გამოსახდელ კოლბაში ხსნარი ბიძგებით დაიწყებს დულილს.

მიმღებში დარჩენილი მჟავას რაოდენობას საზღვრავენ 0,01 N KOH-ით გატიტვრით. დახარჯული ტუტის რაოდენობა აკლდება 100-ს და ეს არის NH_4OH-თან რეაქციაში შესული 0,01 N მჟავას რაოდენობა (მლ-ში).

ნიმუშში აზოტის მასური წილი გამოითვლება ფორმულით:

$$\omega\%(N) = 100 \cdot 0{,}00014\ a/c$$

სადაც: 0,00014 – 1 მლ 0,01 N მჟავის შესაბამისი აზოტის რაოდენობაა მგ-ში; a – 0,01 N მჟავას მლ-ის რაოდენობაა, რომელიც დაიხარჯა ამონიაკის შთანთქმაზე; c – ნიმუშის წონაკი.

3.7. რიბონუკლეინის მჟავას გამოყოფა

მეთოდს საფუძვლად უდევს მცენარეული ქსოვილიდან ცილა-ნუკლეინის მჟავას კომპლექსის ექსტრაქცია NaOH-ის ხსნარით და ამ კომპლექსის შემდგომი დეპროტეინიზაცია წყლით გაჯერებული ფენოლით. PH 6-ზე დეპროტეინირდება რიბონუკლეოპროტეიდები, ხოლო PH 8,3-ზე კი – დეზოქსირიბონუკლეოპროტეიდები. ამრიგად, სხვადასხვა PH-ზე ცალ-ცალკე გამოიწვლილება **რნმ** და **დნმ**. გარდა ამისა ფენოლი თრგუნავს რიბო- და დეზოქსირიბონუკლეაზებს, ე.ი. **რნმ**-ის და **დნმ**-ის დამშლელ ფერმენტებს.

ნუკლეინის მჟავების დეპოლიმერიზაციის და სხვა გარდაქმნების თავიდან ასაცილებლად, საჭიროა ყველა სამუშაო ჩატარდეს დაბალ ტემპერატურაზე 0 – (-3)^0 C -ზე.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. ხორბლის აღმონაცენები – 30 გ.
2. NaCl -ის 0,14 M ხსნარი.
3. წყლით გაჯერებული ფენოლი.
4. NaCl-ის 4M ხსნარი.
5. მეთანოლი – 96%-იანი.

ფაიფურის როდინი, დოლბანდი, ცენტრიფუგა, კოლბები.

დაახლოებით 30 გ ხორბლის 10–12 დღიან აღმონაცენებს ათავსებენ ფაიფურის როდინში, უმატებენ 30 მლ 0,14 M NaCl-ის ხსნარს და კარგად მოსრესენ. სუსპენზიას ფილტრავენ ოთხპირ დოლბანდში, ფილტრატს უმატებენ თანაბარი რაოდენობით ახლად გადადენილ, წყლით გაჯერებულ ფენოლს, რომლის PH=5 (ახლადგადადენილ თბილ ფენოლის 10 მლ-ს, რომელიც ამ პირობებში თხევადია, უმატებენ 25 მლ წყალს ოთახის ტემპერატურაზე და კარგად ანჯღრევენ. გაჯერებისას წარმოიქმნება სიმღვრივე, რომელიც შენჯღრევით აღარ გაქრება).

სუსპენზიას ანჯღრევენ 30 წთ-ის განმავლობაში, შემდეგ აცენტრიფუგირებენ. ამ დროს მექანიკური მინარევები ილექება სინჯარის ფსკერზე. სინჯარაში შეიმჩნევა ორი ფენა: ქვედა – წყლით გაჯერებული ფენოლი და ზედა ფენოლით გაჯერებული წყალი. ქვედა ფენაში გამოიყოფა დეპროტეინიზაციის შედეგად გამოთავისუფლებული ცილები, ხოლო ზედა ფენაში კი – თავისუფალი ნუკლეინის მჟავები. წყლის ფენას ფრთხილად აცილებენ პიპეტით, უმატებენ თანაბარ მოცულობა ფენოლის ხსნარს და ისევ ანჯღრევენ ინტერფაზაში ნალექის სრულ გაქრობამდე. ამ დროს წყალში არსებული ცილების ნარჩენები მთლიანად გადადის ფენოლის ფენაში. მიღებული წყალხსნარიდან ნუკლეინის მჟავებს

ლექავენ 2-ჯერ მეტი მოცულობა ცივი მეთილის სპირტით. ნარევს აყოვნებენ და წარმოქმნილ ნალექს გამოყოფენ ცენტრიფუგირებით.

მიღებული ნუკლეინის მჟავების ნალექს ხსნიან მცირე რაოდენობის 0,14 M NaCl-ში და უმატებენ თანაბარი რაოდენობით NaCl-ის 4 M ხსნარს. მიღებულ ხსნარს აყოვნებენ 1 დღე-ღამის განმავლობაში, დაბალ ტემპერატურაზე, შედეგად გამოილექება მაღალმოლეკულური **რნმ**, ხსნარში დარჩება დაბალმოლეკულური **რნმ** და **დნმ**. ნალექს აცილებენ ცენტრიფუგირებით და ხსნიან 0,14 M NaCl-ის ხსნარში.

PH=6 გაჯერებული ფენოლის მისაღებად 100 მლ წყლით გაჯერებულ ფენოლს უმატებენ 0,4 მლ 1 N KOH-ის ხსნარს.

4. ფერმენტები

ფერმენტები ცილოვანი ბუნების ბიოკატალიზატორებია, რომელებიც აჩქარებენ ქიმიურ რეაქციათა მსვლელობას. ისინი წარმოიქმნებიან მხოლოდ ცოცხალ ორგანიზმებში, ხასიათდებიან მაღალი აქტივობით და სპეციფიკურობით. ფერმენტთა კატალიზური აქტივობა ბევრად აღემატება არაორგანულ კატალიზატორთა აქტივობას.

ფერმენტთა აქტივობას ახასიათებენ მისი "ბრუნვის რიცხვით", იგი წარმოადგენს სიდიდეს, რომელიც გვიჩვენებს გარდაქმნილი სუბსტრატის მოლების რიცხვს, ერთი მოლი ფერმენტით, ერთ წუთში.

შედგენილობის მიხედვით ფერმენტები იყოფა ორ ჯგუფად: ერთ და ორკომპონენტიან ფერმენტებად. ფერმენტები, რომლებიც შედგება მხოლოდ ცილოვანი ნაწილისაგან, ერთკომპონენტიანი, ხოლო ფერმენტი, რომელიც შედგება როგორც ცილოვანი, ისე არაცილოვანი ნაწილისაგან – ორკომპონენტიანი ეწოდება. ორკომპონენტიან ფერმენტებში არაცილოვან ნაწილს პროსთეტული ჯგუფი, აგონი ანუ კოფერმენტი ეწოდება; ხოლო ცილოვან ნაწილს – ფერონი.

ფერმენტთა თანამედროვე კლასიფიკაციას საფუძვლად უდევს იმ რეაქციათა ტიპი, რომლებსაც აკატალიზებს ესა თუ ის ფერმენტი. ამ პრინციპით ფერმენტები იყოფა ექვს კლასად:

1. ოქსიდორედუქტაზები (მუანგავ-აღმდგენი ფერმენტები). ამ ჯგუფს მიეკუთვნება ისეთი ფერმენტები, რომლებიც აწარმოებენ წყალბადის ატომებისა და ელექტრონების გადატანის კატალიზს. ესენია: დეჰიდროგენაზები, ოქსიდაზები, პეროქსიდაზები, კატალაზები. ფერმენტთა ეს ჯგუფი აწარმოებს სუნთქვისა და დუღილის დროს მიმდინარე ჟანგვა-აღდგენითი რეაქციების კატალიზს.

2. ტრანსფერაზები (გადამტანი ფერმენტები). ისინი აწარმოებენ მთელი ატომური დაჯგუფებების, მაგალითად ფოსფორმჟავას ნაშთის, ამინო და მეთილ ჯგუფების, მონოსაქარიდებისა და ამინომჟავათა ნაშთების ერთი ნაერთიდან მეორეზე გადატანის კატალიზს.

3. ჰიდროლაზები. ამ ჯგუფს მიეკუთვნება ის ფერმენტები, რომლებიც იწვევს წყლის მონაწილეობით სხვადასხვა რთული ორგანული ნაერთების უფრო მარტივ ნაერთებად დაშლის კატალიზს.

4. ლიაზები. აღნიშნული ტიპის ფერმენტები ახორციელებს სუბსტრატებიდან რომელიმე ჯგუფის (ან ჯგუფების) არაჰიდროლიზური მოხლეჩვის რეაქციათა კატალიზს.

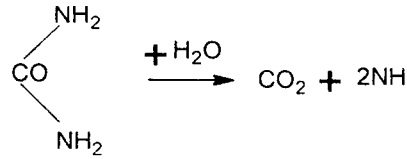
5. იზომერაზები. ამ ფერმენტთა საშუალებით წარმოებს ორგანულ ნაერთთა იზომერიზაციის რეაქციების კატალიზი.

6. ლიგაზები (სინთეტაზები). ამ ჯგუფს წარმოადგენენ ის ფერმენტები, რომლებიც იწვევს ორი მოლეკულის შეერთების კატალიზს, რაც დაკავშირებულია ატფ-ში და ნუკლეოზიდტრიფოსფატებში პიროფოსფატური ბმის გახლეჩვასთან.

ფერმენტთა ეს ექვსი ჯგუფი თავის მხრივ იყოფა ქვეკლასებად და უფრო პატარა ჯგუფებად.

4.1. ურეაზას აქტივობის განსაზღვრა გამოყოფილი ამონიაკის მიხედვით

ურეაზა ერთკომპონენტიანი ფერმენტია. იგი ხასიათდება მოქმედების მკაცრი სპეციფიკურობით: იწვევს მხოლოდ და მხოლოდ შარდოვანას ჰიდროლიზური დაშლის რეაქციის კატალიზს, რომლის შედეგადაც წარმოიქმნება ამონიაკი და ნახშირორჟანგი:



შარდოვანა

ურეაზას აქტივობა განისაზღვრება გამოყოფილი ამონიაკის რაოდენობის მიხედვით.

ცხოველებში აზოტოვანი ცვლის საბოლოო პროდუქტი შარდოვანაა, რომელიც ცხოველურ ორგანიზმში ამ ფერმენტის არარებობის გამო დაშლას არ განიცდის. მცენარეებში კი, ძლიერ მოქმედი ურეაზას არსებობის გამო, შარდოვანა სწრაფად იშლება, ამიტომ შარდოვანას აღმოჩენა მცენარეებში შესაძლებელი გახდა მხოლოდ სპეციალური მეთოდის დამუშავების შედეგად.

საჭირო რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. შარდოვანას 0,5%-იანი ხსნარი.
2. H_2SO_4 – 0,1 N ხსნარი.
3. KOH – 0,1 N-იანი ხსნარი.
4. K_2CO_3 – ნაჯერი ხსნარი.
5. H_2SO_4 – კონცენტრირებული.
6. ფენოლფტალეინის სპირტხსნარი.

კონუსური კოლბები, სპეციალური მოწყობილობა ურეაზას განსაზღვრისათვის.

წონიან 2 გ ურეაზას შემცველ პრეპარატს, ამატებენ 20 მლ შარდოვანას 0,5%-იან ხსნარს, 2-3 წვეთ ფენოლფტალეინს და აყოვნებენ ოთახის ტემპერატურაზე 30 წთ-ის განმავლობაში.

პარალელურად ატარებენ საკონტროლო ცდას: იღებენ 2 გ ურეაზას შემცველ პრეპარატს, უმატებენ 20 მლ გამოხდილ წყალს და ადუღებენ რამდენიმე წუთის განმავლობაში აზბესტის ბადეზე. გაცივების შემდეგ უმატებენ შარდოვანას 0,5%-იანი ხსნარის 20 მლ-ს და 2-3 წვეთ ფენოლფტალეინს. საცდელ კოლბაში ხსნარი შეიფერება წითლად, ხოლო საკონტროლოში კი შეიფერვას ადგილი არ ექნება.

საცდელ ნიმუშში წარმოქმნილი ამონიაკის რაოდენობის განსაზღვრისათვის მას გამოხდიან ფოლინის მეთოდით.

ფოლინის მეთოდით გამოსახდელი ხელსაწყო შედგება სამი, ე.წ. დრექსელისაგან. პირველში ჩასხმულია კონცენტრირებული გოგირდმჟავა, რომელიც ათავისუფლებს მასში გავლილ ჰაერს ამონიაკისაგან. მეორე ჭურჭელში ჩასხმულია საკვლევი ხსნარი, რომელიც შეიცავს ამონიაკს, შარდოვანას ნაშთს და ურეაზას. მესამე ჭურჭელში, რომელიც წყლის ტუმბოსთანაა მიერთებული, ასხია 40 მლ 0,1 N გოგირდმჟავა. პირველ ჭურჭელში გამავალი ჰაერი მეორე ჭურჭლიდან იტაცებს წარმოქმნილ ამონიაკს, რომელიც მესამე ჭურჭელში იბოჭება იქ არსებული გაგირდმჟავას ცნობილი კონცენტრაციის მქონე ხსნარით. ჰაერის გატარება გრძელდება 1-2 სთ. ცდის დასასრულს ფერმენტის მოქმედების შესაჩერებლად მეორე ჭურჭელში ყოველ 20 მლ საკვლევ ხსნარზე უმატებენ 40 მლ K_2CO_3 -ის ნაჯერ ხსნარს. შემდეგ მესამე ჭურჭელს ხსნიან საცობს, საცობში გამავალ მილს, როგორც გარედან, ისე შიგნიდან ჩარეცხავენ გამოხდილი წყლით იმავე სითხეში და მასში არსებულ ჭარბ გოგირდმჟავას ტიტრავენ 0,1 N KOH-ის ხსნარით, ინდიკატორ მეთილწითელის გამოყენებით.

მაგალითად, თუ ამონიაკის შესაბოჭად აღებული 40 მლ 0,1 N გოგირდმჟავას გატიტვრაზე დაიხარჯა 17 მლ

0,1 N -ის ტუტე, ეს იმას ნიშნავს, რომ გამოყოფილი ამონიაკის შესაბოჭად დახარჯულა 23 მლ 0,1 N H_2SO_4.

შებოჭილი 0,1 N H_2SO_4-ის ყოველ მლ-ს შეესაბამება 1,7 მგ აზოტი. ამონიაკის რაოდენობის მიხედვით მსჯელობენ ურეაზას აქტივობაზე. ურეაზას აქტივობის ერთეულად მიღებულია მისი ის რაოდენობა, რომელსაც შეუძლია 37°C-ზე და PH=7-ზე 5 წთ-ში შარდოვანასგან წარმოქმნას 1 მგ ამონიაკალური აზოტი.

ურეაზას შემცველი პრეპარატის მიღება

წმინდად დაფქულ სოიოს ფქვილს უმატებენ ორ მოცულობა საექსტრაქციო ბენზინს, კარგად აურევენ მინის წკირით და ტოვებენ ოთახის ტემპერატურაზე 2-3 სთ-ის განმავლობაში. შემდეგ ბენზინს გადმოწურავენ და უმატებენ მის ახალ ულუფას. ამ პროცედურას იმეორებენ რამდენჯერმე. ბოლოს მიღებულ მასას აშრობენ და ფქვავენ. მიღებულ ფქვილს დარჩენილი ცხიმის მოსაშორებლად უმატებენ პეტროლეინეთერს და აყოვნებენ რამდენიმე საათს, შემდეგ ფილტრავენ, ფილტრზე დარჩენილ მასას კარგად რეცხავენ პეტროლეინესთერით და აშრობენ ჯერ ოთახის ტემპერატურაზე, შემდეგ 30-40°C-ზე. მიღებული პრეპარატი შეიცავს აქტიურ ურეაზას და დიდხანს ინახება მილესილსაცობიან ქილაში.

4.2. კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა გაზომეტრული მეთოდით

კატალაზა ორკომპონენტიანი ფერმენტია, რომელიც შედგება ცილოვანი კომპლექსისა და აქტიური პროსტეტული ჯგუფის – ჰემატინისაგან. იგი შლის უჯრედისათვის საწამლავ ნივთიერებას – წყალბადის ზეჟანგს, წყლად და ჟანგბადად.

კატალაზა ფართოდაა გავრცელებული მცენარეებში. მცენარეული მასალის შრობა დაკავშირებულია კატალაზას მნიშვნელოვან ინაქტივაციასთან. მისი ტემპერატურული ოპტიმუმი 0-10^{0}C-ის ფარგლებშია. ოპტიმალური PH= 7. მეთოდის პრინციპი მდგომარეობს მცენარის სხვადასხვა ორგანოების დამუშავების შედეგად მიღებულ გამონაწვლილში ან ფერმენტულ ხსნარში, წყალბადის ზეჟანგის დამატების შედეგად გამოყოფილი ჟანგბადის რაოდენობის განსაზღვრაში.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. წყალბადის ზეჟანგი – 3 ან 4%-იანი ხსნარი (ანალიზამდე 10-12 საათით ადრე საჭიროა ამ ხსნარის განეიტრალება. ამ მიზნით ყოველ 100 მლ ხსნარში ყრიან 1 გ $CaCO_3$-ს და კარგად ურევენ).
2. $CaCO_3$ – მყარი.
3. მინის ფხვნილი.
4. H_2SO_4 – 5%-იანი ხსნარი.

ხელსაწყო კატალაზას განსაზღვრისათვის, 100 და 20 მლ-იანი საზომი კოლბები, ფაიფურის როდინი, პიპეტები, ჭიქები, წამმზომი, თერმომეტრი, პინცეტი.

გამონაწვლილის მომზადება თესლიდან.

ჭიქაში ან სინჯარაში (0,01 გ სიზუსტით) წონიან 1 გ ახლად დაქუცმაცებულ თესლს. გადააქვთ ფაიფურის როდინში, ამატებენ 0,5 გ $CaCO_3$ -ს, მცირე რაოდენობით დაფხვნილ მინას და 5-10 მლ გამოხდილ წყალს. წონაკს გულმოდგინედ სრესენ და განიერყელიანი ძაბრით ოდენობრივად გადააქვთ 100 მლ-იან საზომ კოლბაში. კოლბას შეავსებენ წყლით ჭდემდე, კარგად შეანჯღრევენ და აყოვნებენ 3 სთ-ის განმავლობაში.

ფერმენტის განსაზღვრა

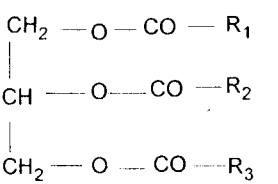
იღებენ 10 მლ ნიმუშს და გადააქვთ სქელკედლიან სარეაქციო კოლბაში (ნიმუშს წინასწარ შეანჯღრევენ), ამატებენ 10 მლ წყალს. ცალკე მცირე ზომის ჭიქაში (3,2X1) ასხამენ 5 მლ ცნობილი კონცენტრაციის წყალბადის ზეჟანგის ხსნარს და ჭიქას პიპეტით დგამენ კოლბაში, რომელშიაც ჩასხმულია ფერმენტული ხსნარი. კოლბას კარგად უცობენ საცობს გაზგამტარი მილით, რომელიც თავის მხრივ ხელსაწყოს გამზომ ბიურეტს უერთდება. ამოწმებენ და ადგენენ ხელსაწყოს ჰერმეტულობასა და ხსნარის დონეს მასში, სითხის მენისკს ნულზე აყენებენ და ბრუნვითი მოძრაობით გადმოაპირქვავებენ წყალბადის ზეჟანგიან ჭიქას. ჩართავენ წამზომს, 15 წამის განმავლობაში კოლბას ანჯღრევენ მსუბუქი, წრიული მოძრაობით. კოლბას ათავსებენ 20^0 C -ზე წყლის აბაზანაში (ხსნარს, ძლიერი აქაფების შემთხვევაში უმატებენ 1-2 წვეთ ტოლუოლს). გამოყოფილი წყალბადის რაოდენობას საზღვრავენ 3, 6, 9, 12, 15 წუთის ინტერვალით.

5. ლიპიდები

ლიპიდები ეწოდება მცენარეული და ცხოველური წარმოშობის ცხიმებს და ცხიმისმაგვარი ნივთიერებებს, რომლებიც თავიანთი ფიზიკურ-ქიმიური თვისებებით ერთმანეთთან ახლოს არიან, მაგრამ განსხვავდებიან ბიოქიმიური როლით ორგანიზმში. ლიპიდები ექსტრაგირდება ცხოველური,მცენარეული და მიკროორგანიზმებიდან ისეთი პოლარული გამხსნელებით, როგორიცაა ქლოროფორმი, ეთერი (დიეთილის ეთერი), აცეტონი ან ბენზოლი.

ლიპიდები იყოფა ორ ჯგუფად: ცხიმებად და ცხიმისმაგვარ ნივთიერებებად, ე.წ. ლიპოიდებად. ლიპოიდებს მიეკუთვნება ფოსფატიდები, კაროტინოიდები, სტერინები და სხვა ნივთიერებები.

ცხიმები ცხიმოვანი მჟავების და გლიცერინის რთული ეთერიებია. მათ გლიცერიდებსაც უწოდებენ. ისინი დიდი რაოდენობითაა მრავალი მცენარის თესლში, ნაყოფებში.

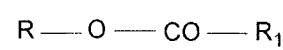


ცხიმების ფიზიკურ და ქიმიურ თვისებებს მასში შემავალი ცხიმოვანი მჟავების ბუნება განსაზღვრავს, რადგან გლიცერინი ყველა ცხიმისთვის მუდმივი კომპონენტია. განასხვავებენ მცენარეულ და ცხოველურ ცხიმებს. თუ ცხიმი (შესაბამისი ცხიმოვანი მჟავა) დიდი რაოდენობით ორმაგ ბმებს შეიცავს, მას თხევადი კონსისტენცია ექნება და მას ზეთებს უწოდებენ. ხოლო თუ

ცხიმში შემავალი ცხიმოვანი მჟავები ჯერად ბმებს შეიცავს, ცხიმი მყარია. როგორც წესი ცხოველური ცხიმი მყარია, ხოლო მცენარეული – თხევადი.

ცხიმებში შემავალი, გავრცელებული უჯერი მჟავებია: ოლეინის (შეიცავს 18 ნახშირბადატომს და ერთ ორმაგ ბმას), ლინოლის (შეიცავს 18 ნახშირბადატომს და ორ ორმაგ ბმას) და ლინოლენის (შეიცავს 18 ნახშირბადატომს და სამ ორმაგ ბმას) მჟავები. ნაჯერი ცხიმოვანი მჟავებიდან ყველაზე გავრცელებულია პალმიტინის (შეიცავს 16 ნახშირბადატომს), ლაურინის (შეიცავს 12 ნახშირბადატომს) და სტეარინის (შეიცავს 18 ნახშირბადატომს) მჟავები. თუ ცხიმის მოლეკულაში გლიცერინთან მიერთებულია ერთიდაიგივე ცხიმოვანი მჟავას სამი ნაშთი, მაშინ ცხიმი მარტივია, ხოლო თუ გლიცერინს სხვადასხვა ცხიმოვანი მჟავების მოლეკულები უკავშირდება, მაშინ შერეული ცხიმი მიიღება. ბუნებაში ძირითადად შერეული ცხიმებია გავრცელებული.

ცვილები ცხიმოვანი მჟავებისა და მაღალმოლეკულური სპირტების ესთერებია:



$$R — O — CO — R_1$$

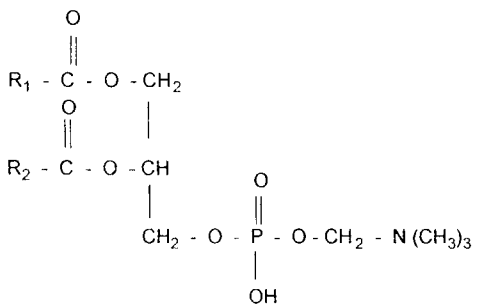
სადაც, R მაღალმოლეკულური სპირტის ნაშთია, R_1 – ცხიმოვანი მჟავას ნაშთი.

ცვილის მოლეკულაში შემავალი ცხიმოვანი მჟავების ნაშთი ნახშირბადატომთა წყვილ რიცხვს (C_{24}-დან C_{36}- მდე) შეიცავს. ხშირად ცვილი შეიცავს თავისუფალ ცხიმოვან მჟავებს, თავისუფალ სპირტებს, პარაფინულ ნახშირწყალბადებს და მაღალმოლეკულურ კეტონებს.

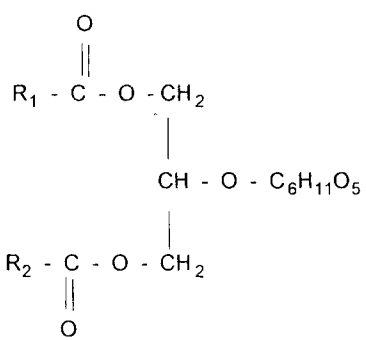
ცხიმები და ცვილები მარტივი ლიპიდებია, ხოლო

ფოსფოლიპიდები და გლიკოლიპიდები კი – რთული.

ფოსფოლიპიდები ისეთი ნაერთებია, რომელთა მოლეკულები, გარდა გლიცერინისა და ცხიმოვანი მჟავას ნაშთისა, შეიცავს ესთერული ბმით შეკავშირებულ ფოსფორმჟავას და აზოტოვან ფუძეს:



გლიკოლიპიდები გლიცერინთან გლიკოზიდური ბმით მიერთებულ რომელიმე შაქარს შეიცავს:



ლიპიდები ჰიდროლიზდება. მაგრამ გარდა ჰიდროლიზებადი ლიპიდებისა არსებობს არაჰიდროლიზებადი ლიპიდები, რომელსაც მიეკუთვნება სტეროიდები და ტერპენები.

სტეროიდებს მიეკუთვნება ქოლესტერინი, ნაღვლის მჟავები, ვიტამინი D, სასქესო ჰორმონები, თირკმელზედა ჯირკვლის ჰორმონები, ცხოველური და მცენარეული შხამები და სხვა. ამჟამად 20 000-მდე სტეროიდია ცნობილი, აქედან 100-ზე მეტი მედიცინაში გამოიყენება.

ტერპენი მცენარეული წარმოშობის ნივთიერებაა, რომელიც შედის ეთერზეთების შედგენილობაში და შეიცავს იზოპრენულ ჩონჩხს (C_5-ს).

იზოპრენული ერთეულის (C_5) რაოდენობის მიხედვით ტერპენები იყოფა:

1. ჰემიტერპენებად, რომლებიც შეიცავს C_5 ატომს.
2. მონოტერპენებად, რომლებიც შეიცავს C_{10} ატომს.
3. სექსვიტერპენებად, რომლებიც შეიცავს C_{15} ატომს.
4. დიტერპენებად, რომლებიც შეიცავს C_{20} ატომს.
5. ტრიტერპენებად, რომლებიც შეიცავს C_{30} ატომს.
6. ტეტრატერპენებად, რომლებიც შეიცავს C_{40} ატომს.
7. პოლიტერპენებად, რომლებიც შეიცავს C_{50} და მეტ ნახშირბადატომს.

5.1. ცხიმის გამოყოფა

პირველ რიგში აწარმოებენ მცენარეული მასალის გაუწყლოებას. ამ მიზნით საკვლევ ბიომასას აშრობენ ვაკუუმ-თერმოსტატში 40-50^0 C ნახშირორჟანგის ან აზოტის ნაკადის გატარებით. მასალის ჰაერზე გაშრობა არ შეიძლება, რადგან მცენარეული ცხიმის მოლეკულათა მჟავურ კომპონენტს ძირითადად უჯერი მჟავები წარმოადგენს, რომლებიც ჰაერზე ადვილად იჟანგებიან უჯერი ბმის ხარჯზე, რის შედეგადაც იზრდება ცხიმის მასა და იცვლება მისი თვისებები. მიღებულ

მასის გარკვეული რაოდენობა გადააქვთ სოქსლეტის აპარატში და ახდენენ "ნედლი ცხიმის" გამოწვლილვას რომელიმე ორგანული გამხსნელით. ცხიმი კარგად იხსნება ნახშირწყალბადებში, მარტივ ეთერებში, კეტონებში და სხვა ორგანულ გამხსნელებში. რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის ახდენენ ცხიმის სრულ ექსტრაქციას ორგანული გამხსნელით. ამ დროს ცხიმთან ერთად ხდება თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავების, პიგმენტების, ეთერ-ზეთების და სხვა ლიპიდების გამოწვლილვაც. რადგან მიღებულ პრეპარატში ჭარბობს ცხიმები, ამიტომ მას ნედლ ცხიმს უწოდებენ.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. საკვლევი მცენარეული ნიმუში 10-17 გ.
2. აბსოლიტური ეთერი.

სოქსლეტის აპარატი, წყლის აბაზანა, ლიბიხის მაცივარი.

10-15 გ-ს მშრალ ბიომასას (0,005 გ-ს სიზუსტით აღებულს) ათავსებენ ფილტრის ქაღალდისაგან დამზადებულ ჰილზაში. ჰილზაში შიგნით ბამბის პატარა ნაჭერს ჩადებენ, ჩაყრიან საკვლევ მასალას და თავზე ისევ ბამბას აფენენ. ჰილზის ნაპირებს ჩაკეცავენ და ათავსებენ სოქსლეტის აპარატის ექსტრაქტორში.

სოქსლეტის აპარატი შედგება სამი ნაწილისაგან: კოლბის, ექსტრაქტორის და უკუმაცივრისაგან. ანალიზის დაწყების წინ კოლბას აშრობენ და ზუსტად წონიან ანალიზურ სასწორზე. გამოწონილ კოლბაში ასხამენ მისი მოცულობის 2/3–3/4 გამხსნელს, ამ შემთხვევაში დიეთილის ესთერს. კოლბას მოარგებენ ექსტრაქტორს, ამ უკანასკნელს უკუმაცივარს. კოლბას აცხელებენ წყლის აბაზანაზე (წყლის ტემპერატურა არ უნდა აღემატებოდეს 40-50^0 C-ს). ექსტრაქ-

ციის ხანგრძლივობა დამოკიდებულია ნიმუშში ცხიმის შემ-ცველობაზე. გამხსნელის დუღილისას ორთქლი ექსტრაქ-ტორის გვერდითი (მსხვილი) მილით აღწევს უკუმაცივარს. აქ ის კონდენსირდება და წვეთობით გროვდება ექსტრაქ-ტორში, სადაც მოთავსებულია ნიმუში, რომლისგანაც ხდება ნედლი ცხიმის გამოწვლილვა. როდესაც გამხსნელი მიაღწევს ექსტრაქტორის გარკვეულ დონეს, გამონაწვლილვი ექსტრაქ-ტორის მეორე (წვრილი) მილით ბრუნდება კოლბაში. ამ პროცესს სიფონირებას უწოდებენ. გამოწვლილვა გრძელდება მანამ, სანამ ექსტრაქტორიდან ჩამონადენი რამდენიმე წვეთი ფილტრის ქაღალდზე ცხიმის ლაქას აღარ დატოვებს,წინა-აღმდეგ შემთხვევაში ექსტრაქციას გააგრძელებენ.

ცხიმის გამოწვლილვის შემდეგ კოლბას მოაცილებენ ექსტრაქტორს, კოლბას მოარგებენ მაცივარს და ესთერს გადადენიან. ცხიმიან კოლბას აშრობენ მუდმივ მასამდე ვაკუუმ-თერმოსტატში ნახშირორჟანგის ან აზოტის არეში 60-70^0 C -ზე.

ცხიმის რაოდენობას გამოითვლიან ფორმულით:

$$X = a.100 / H (100 - y)$$

სადაც X – საანალიზო ნიმუშში ცხიმის მასური წილია %-ში.

a – ნედლი ცხიმის მასაა გ-ში.

H – საანალიზო ნიმუშის მასაა გ-ში.

y – საანალიზო ნიმუშში წყლის შემცველობაა %-ში, რომლის განსაზღვრისათვის ალუმინის ან მინის ბიუქსში ცალკე აიღებენ 1-2 გ საანალიზოდ გამომშრალ საკვლევ ნიმუშს და აშრობენ ვაკუუმ-თერმოსტატში CO_2-ის ან N_2-ის არეში მუდმივ მასამდე. ნიმუშს კვლავ აწონიან (ანალიზურ სასწორზე) და მასის შემცირებით გამოთვლიან მასში ტენის შემცველობას %-ში.

ესთერის გაწმენდა და გაშრობა.

ესთერი შეიძლება შეიცავდეს წყალს, სპირტს, აცეტონს, ანალიზისთვის კი საჭიროა აბსოლიტური ესთერი. ამიტომ ანალიზის დაწყებამდე საჭიროა მისი გამოხდა. ამისათვის 200 მლ ესთერი გადააქვთ 500 მლ-იან გამყოფ ძაბრში, უმატებენ 50 მლ წყალს ან ნატრიუმის ტუტის 5%-იან ხსნარს, ენერგიულად ანჯღრევენ, დროდადრო ონკანიდან გამოუშვებენ ესთერის ორთქლს, ძაბრის ონკანიდან კი წყალს. ასე იმეორებენ 2-3 – ჯერ. სასურველია აღნიშნული პროცესი ჩატარდეს ცივ პირობებში, ასევე უნდა მოვერიდოთ ძაბრის ხელით გათბობას. აღნიშნული პროცედურის შემდეგ ესთერი თავისუფლდება სპირტისა და აცეტონისაგან. გაუწყლოების მიზნით კი ესთერი გადააქვთ მუქ ჭურჭელში, უმატებენ კალციუმის ოქსიდს (წინასწარ გამომწვარს) ჭარბად, ჭურჭელს თავს უცობენ კორპის საცობს კალციუმის ქლორიდიანი მილით. ნარევს აყოვნებენ 1-2 დღე-ღამის განმავლობაში, შემდეგ გამოხდიან. სრული გაუწყლოების მიზნით ესთერს უმატებენ ფილტრის ქაღალდით კარგად გამშრალ და გაგლინულ მეტალურ ნატრიუმს. კოლბას უცობენ საცობს კალციუმქლორიდიანი მილით და ეთერის ნარევში უმატებენ ფენოლფტალეინის ხსნარის 2-3 წვეთს და ტიტრავენ 0,1 N KOH -ის ხსნარით, მკვეთრ ვარდისფერ შეფერვამდე (შეფერვა არ უნდა ქრებოდეს 1 წთ-ის განმავლობაში).

მჟავური რიცხვი გამოითვლება ფორმულით:

$$X = a \cdot 5{,}61 / H$$

სადაც X – მჟავური რიცხვია.

a – გატიტვრაზე დახარჯული 0,1 N KOH -ის რაოდენობაა მლ-ში.

H – ცხიმის წონაკი გ-ში.

5,61 KOH –ის 0,1 ექვივალენტია.

* თუ გატიტვრის დროს სითხე აიმღვრა, საჭიროა მას დაემატოს ესთერის და სპირტის ნარევი, ისეთი რაოდენობით, რომ ცდის ბოლოს სპირტის რაოდენობა 40% –ზე ნაკლები არ იყოს.

5.1.1. ცხიმის მჟავური რიცხვის განსაზღვრა

მჟავური რიცხვი ეწოდება კალიუმის ჰიდროქიდის რაოდენობას მილიგრამობით, რომელიც საჭიროა ერთ გრამ ცხიმში შემავალი თავისუფალი ცხიმმჟავების გასანეიტრალებლად. ცხიმის დამძაღებისას მისი მჟავური რიცხვი იზრდება.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. სპირტის და ესთერის ნარევი 1:1.
2. ფენოლფტალეინის 1%-იანი სპირტხსნარი.
3. KOH – 0,1 N ხსნარი.
4. HCl – კონცენტრირებული.
5. მცენარეული ზეთი.

ერლენმეიერის კოლბები, ბიურეტი.

1 გ მცენარეულ ზეთს ხსნიან 10 მლ სპირტ-ესთერის ნარევში, უმატებენ ფენოლფთალეინს და ტიტრავენ 0,1 N KOH -ით.

მჟავური რიცხვი გამოითვლება ფორმულით:

$T = a \cdot 5,16 / H$

სადაც

X – მჟავური რიცხვია.

a – გატიტვრაზე დახარჯული 0,1 N KOH-ის რაოდენობა მლ-ში.

H – ცხიმის წონაკი გ-ში.

KOH-ის 0,1 ეკვივალენტია.

5.1.2. ცხიმის შესაპვნის რიცხვის განსაზღვრა.

შესაპვნის რიცხვი ეწოდება კალიუმის ჰიდროქსიდის რაოდენობას მილიგრამებში, რომელიც საჭიროა 1 გ ცხიმში შემავალი როგორც თავისუფალი, ისე შეკავშირებული ცხიმოვანი მჟავების გასანეიტრალებლად. შესაპვნის რიცხვი ახასიათებს ცხიმის შედგენილობაში შემავალი გლიცერიდების მოლეკულური მასის საშუალო სიდიდეს.

მეთოდის პრინციპი შემდეგში მდგომარეობს: ცხიმს ადუღებენ KOH-ის ხსნარის ჭარბ რაოდენობასთან, შედეგად ხდება მისი ჰიდროლიზი და გამოთავისუფლებული ცხიმოვანი მჟავები რეაქციაში შედის KOH-თან. ჭარბ ტუტეს ტიტრავენ მარილმჟავით და ცხიმოვანი მჟავების განეიტრალებაზე დახარჯული ტუტის რაოდენობის მიხედვით საზღვრავენ შესაპვნის რიცხვს.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. მცენარეული ზეთი.

2. KOH-ის 0,5 N-ის სპირტხსნარი (ლიტრიან კოლბაში ათავსებენ 30 გ KOH-ს, 10 მლ გამოხდილ წყალს, 0,5 გ ბარიუმის ტუტეს და 24 საათის შემდეგ კოლბას შეავსებენ 95 %-იანი ეთანოლით ჭდემდე).

3. HCl – 0,5 N ხსნარი.

4. ფენოლფთალეინის 1%-იანი სპირტხსნარი.

მრგვალძირა კოლბა, წყლის აბაზანა, უკუმაცივარი.

მშრალ, მრგვალძირა კოლბაში იღებენ დაახლოებით 1 გ ცხიმს (ზუსტი წონა), უმატებენ 25 მლ 0,5 N KOH-ის სპირტხსნარს, კოლბას მოარგებენ უკუმაცივარს და ადუღებენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე 2 სთ-ის განმავლობაში. გასაპვნა დამთავრებულად ითვლება, როდესაც კოლბაში სითხე გამჭვირვალე გახდება.

პარალელურად ტარდება საკონტროლო ცდა.

ამისათვის მეორე კოლბაში ათავსებენ 2 მლ წყალს, უმატებენ 25 მლ 0,5 N KOH -ის სპირტხსნარს და ადუღებენ წყლის აბაზანაზე.

შესაპვნის დამთავრების შემდეგ, როგორც საკონტროლო, ისე საანალიზო კოლბაში მოთავსებულ ხსნარს ამატებენ რამდენიმე წვეთ ფენოლფთალეინს და ტიტრავენ 0,5 N HCl -ით.

გასაპვნის რიცხვს გამოთვლიან ფორმულით:

$X = (a-b) \cdot T_1 \cdot 28,56 \cdot T_2 / H$

სადაც – X– შესაპვნის რიცხვია.

a – საკონტროლო ნიმუშის გატიტვრაზე დახარჯული 5 N HCl – ის რაოდენობა მლ-ში.

b – საცდელი ნიმუშის გატიტვრაზე დახარჯული 5 N HCl – ის რაოდენობა მლ-ში.

T_1 – HCl -ის ტიტრის შესწორება.

T_2 – KOH-ის ტიტრის შესწორება.

28,56 – 1 ლ ხსნარში არსებული KOH-ის

რაოდენობა.

H – ცხიმის მასა.

ზუსტი ნორმალობის ხსნარების გამოყენებისას

$$T_1 = T_2 = 1.$$

5.1.3. ცხიმის იოდის რიცხვის განსაზღვრა.

იოდის რიცხვი არის იოდის რაოდენობა გრამებში, რომელსაც შეიერთებს 100 გ ცხიმი. იოდის რიცხვი ახასიათებს ცხიმის შემადგენლობაში შემავალი ცხიმოვანი მჟავების უჯერობის ხარისხს. რაც მაღალია იოდის რიცხვი,

მით უფრო თხევადია და მით სწრაფად იჟანგება იგი.

ცხიმში იოდის რიცხვის განსაზღვრას საფუძვლად უდევს, ცხიმმჟავებში ორმაგ და სამმაგ ბმებთან იოდის მიერთების უნარი.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. მცენარეული ზეთი.
2. ქლოროფორმი.
3. იოდი – 0,1 N-ის სპირტხსნარი.
4. ნატრიუმის თიოსულფატი ($Na_2S_2O_3$) – 0,1 N ხსნარი.
5. სახამებელი – 1%-იანი ხსნარი.

შლიფიანი კონუსური კოლბები, ბიურეტები.

შლიფიან კონუსურ კოლბაში ათავსებენ 0,1 გ მცენარეულ ზეთს, უმატებენ 10 მლ ქლოროფორმს, ფრთხილად შეანჯღრევენ ზეთის სრულ გახსნამდე. შემდეგ უმატებენ ზუსტად 25 მლ 0,1 N -ის იოდის სპირტხსნარს. კოლბას სწრაფად ახურავენ, კარგად შეანჯღრევენ და დააყოვნებენ ბნელ ადგილას 2 სთ-ის გამნმავლობაში. დაყოვნების შემდეგ რაქციაში იოდი იტიტრება 0,1 N -იანი $Na_2S_2O_3$ -ით მანამ, სანამ ხსნარი სუსტ ყვითელ შეფერვას არ მიიღებს, შემდეგ დაამატებენ სახამებელის 1%-იანი ხსნარის რამდენიმე წვეთს და აგრძელებენ გატიტვრას ლურჯი ფერის გაუფერულებამდე.

იოდის რიცხვს გამოთვლიან ფორმულით:

$X = (a-b) \cdot 0,0127 \cdot 100 / c$

სადაც:

X -იოდის რიცხვია

a – იოდის ხსნარის რაოდენობა მლ-ში.

b – გატიტვრაზე დახარჯული თიოსულფატის რაოდენობაა მლ-ში.

c – ცხიმის წონაკი.

0.0127 – ეს არის 0,1 N იოდის ხსნარის 1 მლ-ში არსებული იოდის რაოდენობა გ-ში, ანუ იოდის ტიტრი.

5.2. L-მენთოლის გამოყოფა ბაღის პიტნიდან

მენთოლი ბაღის პიტნის *(Mentha piperita)* ეთერზეთების ძირითადი შემადგენელია წილია. იგი წარმოადგენს მონოციკლურ ტერპენოიდულ სპირტს. ის ოდითგანვე ცნობილია, როგორც ძლიერი პიტნის გემოს მქონე ნივთიერება, რომელიც გამაცივებელი მოქმედებით ხასიათდება.

მენთოლს იყენებენ სადეზინფექციოდ და ადგილობრივი ანესთეზიისათვის, ასევე კვების და პარფიუმერულ წარმოებაში.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. ბაღი პიტნის მშრალი ფოთლები – 250 გ.
2. კალიუმის ჰიდროქსიდი – 0,5 გ.
3. ბორის მჟავა – 5 გ.
4. H_2SO_4 - კონცენტრირებული.
5. ეთანოლი.
6. ნატრიუმის კარბონატის (სოდის) ნაჯერი ხსნარი.
7. პეტროლეინესთერი.

კონუსური და მრგვალძირა კოლბები, გამაცხელებელი, წყლის მადუღარა, ვაკუუმტუმბო, გამყოფი ძაბრი.

პიტნის ფოთლებს ათავსებენ 5ლ-იან კოლბაში, რომელიც ელექტროქურაზეა მოთავსებული და ეთერზეთების გადასადენად მიმართავენ წყლის ორთქლით გამოხდას. როდესაც კოლბის ფსკერზე კონდენსირდება წყლის მცირე რაოდენობა, ჩართავენ ქურას და კოლბას ფუთავენ აზბესტის ქსოვილით. როდესაც მიმღებში ეთერზეთის მოცულობა აღარ შეიცვლება, წყვეტენ გამოხდას, ზეთს გამოყოფენ და წონიან. გამოსავალი უნდა შეადგენდეს 2%-ს.

ზეთს ხსნიან 25 მლ სპირტში, ამატებენ 0,5 გ კალიუმის ტუტეს, ნარევს ადუღებენ 30 წთ. შემდეგ თითქმის სრულად

გადადენიან სპირტს, ნალექს ამატებენ 6-7 მლ წყალს და იმავე რაოდენობით ეთილიესთერს. ნარევი გადააქვთ გამყოფ ძაბრში. ესთერულ ფენას რეცხავენ გამოხდილი წყლით, ნარეცხი წყლების ნეიტრალურ რეაქციამდე, გამოყოფილ ფენას აშრობენ ნატრიუმის სულფატზე.

გამხსნელის გადადენის შემდეგ ზეთი გადააქვთ კლაიზენის კოლბაში, რომელიც ჰაერის მაცივართანაა მიერთებული. ზეთს ამატებენ ბორმჟავას (1 გ-ს 10 გ ზეთზე) და უერთებენ ვაკუუმტუმბოს. კოლბას ათავსებენ წყლის აბაზანაზე. ამ დროს გადაიდენება წყალი, რომელიც წარმოიქმნება მენთოლის და ბორმჟავას შორის ესთერიფიკაციის რეაქციის შედეგად. შემდეგ წყლის აბაზანას ცვლიან ზეთის აბაზანით და ნელ-ნელა ზრდიან ტემპერატურას 200^0-მდე. ამ დროს გადაიდენება მენთოლის ყველა თანამდევი პროდუქტი (ლიმონენი, α–პინენი, ფენალდრენი, მენთონი), ხოლო ძნელად აქროლადი ბორმჟავა მეთილიესთერი რჩება გამოსახდელ კოლბაში.

კლაიზენის კოლბიდან ნალექი გადააქვთ 100 მლ-იან მრგვალძირა კოლბაში, მოავლებენ მცირე რაოდენობით სპირტს, რათა კედლებზე არ დარჩეს ნალექი, ამატებენ 2 მლ სოდის ნაჯერ ხსნარს და გამოხდიან წყლის ორთქლით. ამ დროს მენთოლი გადადის დისტილატში. გამყარებამდე დისტილატიდან მენთოლს და წყალს აცალკევებენ გამყოფი ძაბრის საშუალებით, გადააქვთ კონუსურ კოლბაში და აცივებენ. მყარ მენთოლს გადააკრისტალებენ პეტროლეინ-ესთერიდან.

გამოსავალი შეადგენს 50-70%-ს ეთერზეთზე გადაანგარიშებით.

ფერადი რეაქცია მენთოლზე: მენთოლის ნაჯერი ხსნარის 1 მლ-ს, ამატებენ ვანილინის 1%-იანი ხსნარის და გოგირდმჟავას კონცენტრირებულ ხსნარის თითო მლ-ს. შერევისას წარმოიქმნება ლურჯ-იისფერი შეფერვა.

6. ვიტამინები

ორგანიზმებში, გარდა ფერმენტებისა, მოპოვება ორგანული კატალიზატორების კიდევ ერთი ჯგუფი, ურომლისოდაც შეუძლებელია მათში ბიოქიმიური პროცესების ნორმალურად წარმართვა. ისინი შედარებით დაბალმოლეკულური ნაერთებია, რომლებიც ხშირ შემთხვევაში მჭიდროდაა დაკავშირებული ფერმენტებთან და ეხმარებიან მათ თავიანთი "მისიის" შესრულებაში, ნაერთთა ამ ჯგუფს ვიტამინები ეწოდებათ, რაც სიტყვასიტყვით "სიცოცხლისათვის აუცილებელ ამინს ნიშნავს", თუმცა ყველა ვიტამინი არ შეიცავს ამინის ჯგუფს.

ამჟამად ცნობილია 20-მდე ვიტამინი. ყველა ვიტამინის სინთეზების უნარი ცხოველურ ორგანიზმს არ გააჩნია, ამიტომ ის ამ ნივთიერებებს ძირითადად ღებულობს მცენარეული პროდუქტებიდან.

ვიტამინების ნაკლებობა იწვევს დაავადებას – ჰიპოვიტამინოზს, ხოლო საერთოდ არარსებობა – ავიტამინოზს. ვიტამინების ჭარბი რაოდენობაც იწვევს ნივთიერებათა ცვლის მოშლას, რასაც ჰიპერვიტამინოზი ეწოდება.

ვიტამინების ძლიერ განსხვავებული შედგენილობიდან გამომდინარე, მათი ქიმიური კლასიფიკაცია ვერ ხერხდება, ამიტომ მიმართავენ მათ კლასიფიკაციას წყალში ხსნადობის მიხედვით, ესენია: 1. წყალში ხსნადი და 2. ზეთში ხსნადი ვიტამინები.

წყალში ხსნადია B ჯგუფის ვიტამინები – თიამინი (B_1), რიბოფლავინი (B_2), ნიაცინი (B_5, PP), პანთოთენის მჟავა (B_3), პირიდოქსინი (B_6), ბიოტინი (H), ფოლის მჟავა (B_c), ციანოკობალამინი (B_{12}), აგრეთვე ვიტამინი C.

ზეთში ხსნადი ვიტამინებია: A, D, K, E ჯგუფის ვიტამინები.

6.1. C ვიტამინის რაოდენობრივი განსაზღვრა

C ვიტამინი ფართოდაა გავრცელებული მცენარეთა სამყაროში. ცხოველური პროდუქტები, რძისა და კვერცხის გარდა მას მცირე რაოდენობით შეიცავს. C ვიტამინით განსაკუთრებით მდიდარია ასკილი, ნედლი კაკალი, მოცხარი, კომბოსტო, წიწვოვანი მცენარეები, ციტრუსები და სხვა.

საკვებში ამ ვიტამინის ნაკლებობა იწვევს დაავადება ცინგას (სურავანდს) ანუ სკორბუტს.

C ვიტამინის რაოდენობრივ განსაზღვრას საფუძვლად უდევს მისი უნარი მჟავა არეში აღადგინოს ლურჯი ფერის ინდიკატორი 2,6-დიქლორფენოლინდოფენოლი. ამ დროს თვითონ ასკორბინმჟავა იჟანგება დეჰიდროასკორბინის მჟავად.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. HCl – 1%-იანი ხსნარი.
2. KIO_3 – 0,001 N ხსნარი.
3. KI.
4. მჟაუნმჟავა – 1%-იანიხსნარი.
5. სახამებელი – 1%-იანი ხსნარი.
6. ინდიკატორი – 2,6-დიქლორფენოლინდოფენოლი (200 გ საღებავს ხსნიან 1 ლ გამოხდილ წყალში,ფილტრავენ და უმატებენ მცირე რაოდენობით $NaHCO_3$-ს. საღებავის ტიტრს ასკორბინის მჟავას მიხედვით ადგენენ უშუალოდ ცდის წინ).

ფაიფურის როდინი,კონუსური კოლბები,პიპეტები,საზომი კოლბები.

2-10 გ (ასკორბინმჟავას შემცველობის მიხედვით) მცენარეულ ნიმუშს ათავსებენ ფაიფურის როდინში, უმატებენ 5 მლ 1%-იან მარილმჟავას, კვარცის ქვიშას და სრესენ.

სრესვის პროცესში კვლავ უმატებენ 15 მლ 1%-იან მარილმჟავას და ნარევი მთლიანად გადააქვთ 100 მლ-იან საზომ კოლბაში.როდინს მოავლებენ 1%-იან მჟაუნმჟავას ხსნარს და ამავე ხსნარით შეავსებენ საზომ კოლბას ჭდემდე. მიღებულ ნარევს შეანჯღრევენ და ფილტრავენ.

5-10 მლ ფილტრატი გადააქვთ კონუსურ კოლბაში და ტიტრავენ 2,6-დიქლორფენოლინდოფენოლის ხსნარით ღია წითელ შეფერილობამდე, რომელიც არ უნდა ქრებოდეს 30 წმ-ის განმავლობაში. პარალელურად აწარმოებენ გამოყენებული ხსნარების ნარევის საკონტროლო გატიტვრას.

ვიტამინ C -ს რაოდენობას გამოთვლიან ფორმულით:

$X = (a - b) . T . 100 / c$

სადაც,

X – ასკორბინმჟავას რაოდენობაა (მგ-ში)100 გ საკვლევ ნიმუშში.

a – ექსტრაქტის გატიტვრაზე დახარჯული საღებავის რაოდენობაა მლ-ში.

b – საკონტროლო გატიტვრაზე დახარჯული საღებავის რაოდენობაა მლ-ში.

T –საღებავის ტიტრი ასკორბინის მჟავაზე.

c – ექსტრაქტის ანალიზისათვის აღებული რაოდენობის შესაბამისი მცენარეული ნიმუშის წონაკი.

2,6-დიქლორფენოლინდოფენოლის (საღებავის) ტიტრს ასკორბინმჟავაზე ადგენენ შემდეგნაირად:

50 მლ-იან კოლბაში, 2%-იან გოგირდმჟავაში ხსნიან რამდენიმე კრისტალ საღებავს. მიღებული ხსნარიდან 5-5 მლ გადააქვთ ორ კონუსურ კოლბაში, უმატებენ KI-ის რამდენიმე კრისტალს (5-10 მგ), 5 წვეთ 1%-იან სახამებელს და ტიტრავენ ერთ კოლბას ინდიკატორით, მეორეს – ზუსტად 0.001 N KIO_3 -ის ხსნარით.

საღებავის ტიტრს ანგარიშობენ ფორმულით:

$T = 0,088\ a / b$, სადაც

T –ასკორბინმჟავას რაოდენობაა, რომელიც შეესაბამება 1 მლ საღებავის ხსნარს.

a – ასკორბინის მჟავას გატიტვრაზე დახარჯული 0,001 N KIO_3 -ის რაოდენობა.

b – საღებავის ხსნარის რაოდენობა მლ-ში, რომელიც დაიხარჯა გატიტვრაზე.

0,088 – ასკორბინის მჟავას რაოდენობაა, რომელიც შეესაბამება 1 მლ 0,001 N KIO_3 -ის ხსნარს.

7. ალკალოიდები

ალკალოიდები მცენარეული წარმოშობის ფუძე თვისებების მქონე ორგანული ნაერთებია. ალკალოიდი ქართულად ნიშნავს მცენარეულ ტუტეს. მცენარეებში ალკალოიდთა უმრავლესობა ამინომჟავებისაგან წარმოიქმნება, ამიტომ ისინი მოლეკულაში შეიცავენ აზოტის ატომს და მათ ჭეშმარიტი ალკალოიდები ეწოდებათ. ხოლო ის ალკალოიდები, რომელთა შედგენილობაში არ შედის აზოტის ატომი – პროტოალკალოიდებად იწოდებიან.

ალკალოიდები ფიზიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებებია, რომლებიც ძლიერ მოქმედებას ახდენენ ნერვულ სისტემაზე, უმეტესობა ძლიერი შხამია, ზოგიერთი კი – ძლიერი ნარკოტიკი. ალკალოიდთა უმრავლესობას მედიცინაში სამკურნალო პრეპარატების დასამზადებლად იყენებენ.

ალკალოიდთა კლასიფიკაციას რამდენიმე პრინციპით ახდენენ:

1. ქიმიური კლასიფიკაცია.

2. ფილოგენეტიკური ნიშნის მიხედვით (იმ მცენარეების მიხედვით, სადაც მათი წარმოქმნა ხდება).

3. ფიზიოლოგიური ნიშნის მიხედვით, მაგალითად: ტკივილგამაყუჩებლები, სისხლძარღვთა გამაფართოებლები და სხვა.

ალკალოიდების სახელწოდებათა საწარმოებლად იყენებენ ალკალოიდშემცველი მცენარის სახელწოდებას, რომელსაც ემატება დაბოლოება "ინი". მაგ.: მცენარე *Ephedra sinica*-დან გამოყოფილ ალკალოიდს ეფედრინი ეწოდება; ქინაქინი შედის მცენარეში *Cichona SPP*.

ალკალოიდები გროვდება მცენარეთა განსაზღვრულ

ნაწილებში – ფოთლებში, თესლში, ფესვში ან ქერქში. მათი შემცველობა მცენარეებში დიდად არის დამოკიდებული გეოგრაფიულ ფაქტორებზე და წელიწადის დროზე. როგორც წესი ერთი სახის მცენარეში რამდენიმე ალკალოიდია, რომელთაც მსგავსი აღნაგობა აქვთ.

7.1. ალკალოიდების აღმოჩენა მცენარეში

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. საკვლევი ნიმუში.
2. NH_4OH – 10-15%-იანი ხსნარი.
3. დიქლორეთანი ან ქლოროფორმი.
4. H_2SO_4 – 10%-იანი ხსნარი.
5. ბერტრანის რეაქტივი (სილიციუმვოლფრამის მჟავა) 2%-იანი ხსნარი.

კონუსური კოლბები, ძაბრი, გამყოფი ძაბრი, საათის მინა.

5 გ ჰაერზე გამშრალ, დაქუცმაცებულ მცენარეულ მასალას ათავსებენ კონუსურ კოლბაში, უმატებენ 2-3 მლ 10-15%-იან ამონიუმის ჰიდროქსიდის ხსნარს, შეანჯღრევენ და 10-15 წთ-ის შემდეგ უმატებენ დიქლორეთანს ან ქლოროფორმს. კოლბის შიგთავსს ანჯღრევენ და ტოვებენ ერთი დღეღამის განმავლობაში, პერიოდული ნჯღრევის პირობებში. ექსტრაქტს ფილტრავენ ბამბის ფილტრში, მიღებული ფილტრატი გადააქვთ გამყოფ ძაბრში და უმატებენ ექსტრაქტის 1/10 მოცულობის ტოლ 10%-იან გოგირდმჟავას. ნარევს კარგად ანჯღრევენ, დააყოვნებენ ფენების სრულ გამოყოფამდე და ზედა, მჟავიან ფენას ცალკე ინახავენ (სწორედ ეს ფენა უნდა შეიცავდეს ალკალოიდს).

გამონაწვლილვის რამდენიმე წვეთი დააქვთ საათის

მინაზე, მის გვერდით დააწვეთებენ 2-3 წვეთ ბერტრანის რეაქტივს და წკირით შეახებენ საკვლევ ხსნარს. თუ ხსნარში ალკალოიდია, მაშინ ბერტრანის რეაქტივი ან შეიმღვრევა, ან წარმოიქმნის ნალექს. ნალექის ინტენსივობის მიხედვით მსჯელობენ მცენარეში ალკალოიდის შემცველობაზე.

მიღებულია შემდეგი აღნიშვნები:

ა) არ არის, არ შეიცავს – ბერტრანის რეაქტივის დამატებისას ხსნარი არ იმღვრევა;

ბ) "კვალი" – ხსნარი იმღვრევა ბერტრანის რეაქტივის ერთი წვეთის დამატებით;

გ) "+" ალკალოიდს შეიცავს – ნალექი გამოიყო ერთი წვეთი ბერტრანის რეაქტივის დამატებისას;

დ) "++" შეიცავს მნიშვნელოვანი რაოდენობით – გამოიყოფა ნალექი და წარმოიქმნება სიმღვრივე რეაქტივის მეორე წვეთის დამატებისას;

ე) "+++" შეიცავს დიდი რაოდენობით – წარმოიქმნება ხაჭოსებრი ნალექი.

7. 2. კოფეინის გამოყოფა ჩაიდან

კოფეინი პურინის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი ნაწარმია. იგი ჩაის ფოთლებში 3%-მდეა, ხოლო ყავის მარცვალში – 1,5%-ია. კოფეინი მიიღება ჩაის ფოთლიდან, ან ჩაის მტვრიდან. მისი მიღება სინთეზურადაც შეიძლება. ის გამოიყენება მედიცინაში საგულე საშუალებად.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. ჩაი ან ჩაის მტვერი – 50 გ.
2. მაგნიუმის ოქსიდი – 25 გ.
3. ქლოროფორმი – 150 მლ.
4. H_2SO_4 – განზავებული.
5. ინდიკატორი – კონგოწითელი.
6. ქლოროფორმი.

7. ტუტე – განზავებული.

ერლენმეიერის კოლბა, ჩვეულებრივი ძაბრი, გამყოფი ძაბრი, ფაიფურის ჯამი, წყლის აბაზანაზე გამოსახდელი მოწყობილობა, ბამბა.

50 გ დაქუცმაცებულ მცენარეულ საკვლევ მასალას ათავსებენ 500 მლ-იან ერლენმეიერის კოლბაში. უმატებენ 25 გ მაგნიუმის ოქსიდს, რომელსაც წინასწარ ხსნიან 150 მლ გამოხდილ წყალში. ნარევს ადუღებენ 10-15 წთ. მიღებულ ექსტრაქტს გადაწურავენ დეკანტაციით, გაფილტრავენ ბამბის ფენაში. დარჩენილ ნალექს კიდევ ორჯერ გამოწვლილავენ 150-150 მლ გამოხდილი წყლით. წყლიან ექსტრაქტებს გააერთიანებენ და უმატებენ 25 მლ განზავებულ გოგირდმჟავას (მჟავე არე მოწმდება კონგოწითელით). შემჟავებულ ექსტრაქტს ათავსებენ ფაიფურის ჯამზე და ააორთქლებენ სითხის 2/3-ს. ხსნარს ცხლადვე ფილტრავენ და მიღებულ ფილტრატს 5-ჯერ ამოწვლილავენ 30-30 მლ ქლოროფორმით.

ქლოროფორმიან ექსტრაქტს რეცხავენ ჯერ განზავებული ტუტის ხსნარით, შემდეგ კი – იმავე მოცულობა წყლით. გამხსნელს გადადენიან წყლის აბაზანაზე, მიღებულ კოფეინს გადააკრისტალებენ 8-10 მლ ცხელი წყლიდან. მიიღება თეთრი, წვრილი, აბრეშუმისმაგვარი კრისტალები, გამოსავლით 0,8-1 გ, ლღობის ტემპერატურით 234^{0}C .

7.2.1. კოფეინის სუბლიმირება მშრალი ჩაიდან

მცირე რაოდენობით გაფხვიერებულ ჩაის ათავსებენ ფაიფურის ჯამში (უმჯობესია სპეციალური, სუბლიმაციისათვის განკუთვნილი ჭურჭელი). ზევიდან აფარებენ საათის მინას და ფრთხილად აცხელებენ. საათის მინაზე დაეფინება კოფეინის გრძელი, ოდნავ შეფერილი ნემსისებური კრისტალები.

8. ფენოლური ნაერთები

ფენოლები მიეკუთვნებიან მეორეული წარმოშობის ნაერთებს, რომელთა მოლეკულაშიც ბენზოლის ბირთვთან დაკავშირებულია ჰიდროქსილის ერთი ან რამდენიმე ჯგუფი.

ეს ნაერთები ხასიათდებიან მაღალი რეაქციისუნარიანობით, რაც მათში ჰიდროქსილის ჯგუფების არსებობითაა განპირობებული. ეს ჯგუფი (ან ჯგუფები) მოლეკულას სპეციფიკურ თვისებებს სძენს, რაც პირველ რიგში გამოიხატება წყალბადური ბმების წარმოქმნის უნარით.

მცენარეებში ფენოლური ნაერთების ფუნქცია ბოლომდე გაურკვეველია. ამ ნაერთთა მრავალფეროვან აღნაგობას და მრავალრიცხოვნობას თან სდევს მათი ფუნქციური მრავალფეროვნებაც. მათი უმრავლესობა პირდაპირ და ირიბად მონაწილეობას ღებულობს მცენარეთა სამყაროს ცხოველებთან და მიკროორგანიზმებთან ეკოლოგიურ დაკავშირებაში.

არსებული მონაცემების მიხედვით, ფენოლების ფუნქცია პირობითად შეიძლება ორ პუნქტად ჩამოვაყალიბოთ:

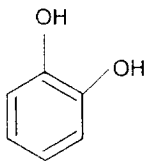
1. ფართო სპექტრის ფუნქციები, რომელსაც ასრულებენ ე.წ. სტანდარტული ფენოლური ნაერთები (ანუ მარტივი აღნაგობის ფენოლები, რომლებიც პრაქტიკულად ყველა მცენარეშია);

2. სპეციფიკური ფუნქციები, რომელიც დამახასიათებელია არასტანდარტული, სპეციფიკური ფენოლებისათვის.

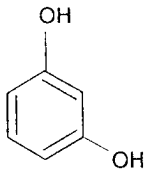
<u>C_6-ტიპის ფენოლები</u>

ამ ტიპის ნაერთებს მიეკუთვნება ფენოლი (ჰიდროქსიბენზოლი) და მისი ნაწარმები: პიროკატეხინი, რეზორცინი,

გვაიაკოლი, ფლოროგლუცინი; ასევე ჰიდროქინონის და პ-ბენზოქინონის ნაწარმები: უბიქინონები, პლასტოქინონები და ტოკოფეროლები.

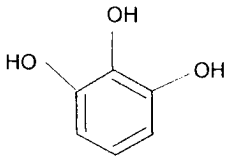


პიროკატექინი

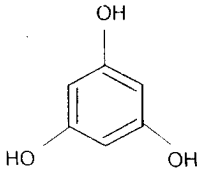


რეზორცინი

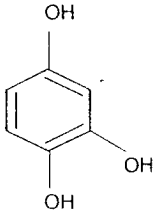
ჰიდროქინონი



პიროგალოლი



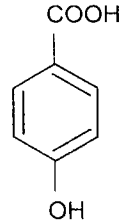
ფლოროგლუცინი

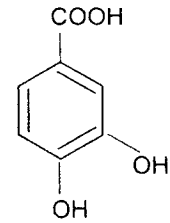


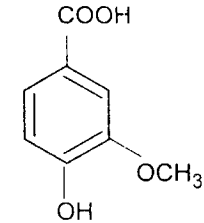
ჰიდროქსიჰიდროქინონი

<u>C_6-C_1 ტიპის ფენოლები</u>

ოქსიბენზოის მჟავას ნაწარმებიდან ყველაზე გავრცელებულია პ-ოქსიბენზოის, პროტოკატეხინის და ვანილინის მჟავები:







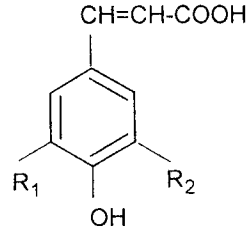
პ-ოქსიბენზოის მჟავა | პროტოკატეხინის მჟავა | ვანილინის მჟავა

ასევე ხშირად გვხვდება გალის და გენციზინის მჟავები; უფრო იშვიათად - სალიცილის, იასამნის და ო-პიროკატეხინის მჟავები.

მცენარის ქსოვილებში, გალის მჟავას გარდა, ყველა სხვა ოქსიბენზოის მჟავები ძირითადად გვხვდება ხსნადი ან უხსნადი კონიუგატების სახით.

C_6-C_3 ტიპის ფენოლები (ფენილპროპანოიდები)

ამ ტიპის ნაერთებს მიეკუთვნება ოქსიდარიჩინის მჟავა და მისი ნაწარმები. ისინი მცენარეებში ფართოდაა გავრცელებული და წარმოადგენენ სხვა ფენოლური ნაერთების ბიოენერგეტიკულ წინამორბედებს.

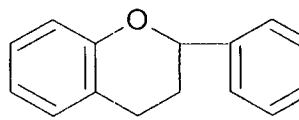


R_1=R_2=H - პ-ოქსიდარიჩინის მჟავა (პ-კუმარის მჟავა)

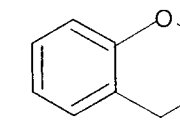
R_1=H; R_2=OH - ყავის მჟავა
R_1=H; R_2=OCH_3 - ფერულის მჟავა
R_1=R_2=OCH_3 - სინაპის მჟავა

<u>C_6-C_3-C_6 ტიპის ფენოლები</u> (ფლავონოიდები)

ფლავონოიდები ეწოდება მრავალრიცხოვან ფენოლურ ნაერთთა ჯგუფს, რომელთა მოლეკულაშიც გვაქვს ორი ბენზოლის ბირთვი, რომლებიც ერთმანეთთან სამნახშირბადული ფრაგმენტითაა დაკავშირებული. მათი უმრავლესობა განიხილება, როგორც ქრომანის და ფლავანის ნაწარმები.



ფლავანი



ქრომანი

ფლავონოიდების კლასიფიკაციას (სამნახშირბადული ფრაგმენტის დაჟანგვის ხარისხიდან გამომდინარე) ახდენენ 10 ძირითად კლასად: კატეხინები, ლეიკოანტოციანები,ფლავანონები, დიჰიდროჰალკონები, ჰალკონები, ანტოციანიდინები, დიჰიდროფლავონონები, ფლავონები, ფლავონონები და აურონები.

კატეხინებს, ლეიკოანტოციანებს, ფლავონონებს და ფლავონოლებს შეფერილობა არ გააჩნიათ, ყველა დანარჩენი კი შეფერილი ნაერთებია. ინტენსიური შეფერვით ხასიათდებიან ანტოციანიდინები, კერძოდ მათი გლიკოზიდები (ანტოციანები), რომლებიც ძირითადად განაპირობებენ ყვავილების და ნაყოფების შეფერილობას.

იზოფლავონოიდები და ნეოფლავონოიდები

იზოფლავონოიდებიც იყოფა რამდენიმე ჯგუფად: იზოფლავანები, იზოფლავანონები, იზოფლავონები, პტეროკარპანები და როტენოიდები.

სტილბენები

სტილბენები C_6-C_2-C_6 ტიპის მცირერიცხოვან ფენოლურ ნაერთთა ჯგუფია.

ბენზოქინონები, ნაფტოქინონები და ანტრაქინონები

ქინოიდურ პიგმენტებს მიეკუთვნება ნაფტოქინონები, ანტრაქინონები და პ-ბენზოქინონის ნაწარმები.

ფენოლურ ნაერთებს მიეკუთვნება აგრეთვე: ბენზოფენონები, ქსანტონები, ქრომონები, ბეტაციანინები, დიმერული ფენოლური ნაერთები და პოლიმერული ფენოლური ნაერთები (მთრიმლავი ნივთიერებები, ლიგნინები და მელანინები).

8.1. ფლავონოიდების აღმოჩენა

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. ეთილის სპირტი – 35%-იანი.
2. HCl – კონცენტრირებული.
3. Zn-ის მტვერი.

25-30 მლ-იანი კონუსური კოლბები, წყლის აბაზანა, სინჯარები, პიპეტები.

25-30 მლ-იან კოლბაში ათავსებენ 1 გ ჰაერზე გამშრალ ან ნედლ, დაქუცმაცებულ საკვლევ მასალას, უმატებენ 10 მლ 35%-იან ეთანოლს, გააცხელებენ წყლის აბაზანაზე

ადუღებამდე. კოლბას რამდენჯერმე შეანჯღრევენ, დაუცობენ საცობს, დატოვებენ 3-4 სთ-ის განმავლობაში (ან მთელი ღამით). დროდადრო კოლბის შიგთავსს შეანჯღრევენ. სპირტ-ხსნარს გადმოწურავენ, აკონცენტრირებენ 2 მლ-მდე წყლის აბაზანაზე (ან როტაციულ ამაორთქლებელზე), მიღებულ კონცენტრატს თანაბრად გაანაწილებენ ორ სინჯარაში. თითოეულს დაუმატებენ 3–3 წვეთ კონც. მარილმჟავას, ხოლო ერთ-ერთ სინჯარაში – 30–50 მგ თუთიის მტვერს. ორივე სინჯარას ადუღებენ წყლის აბაზანაზე და ტოვებენ მასში 5-10 წთ. თუ საკვლევი ნიმუში ფლავონოიდს შეიცავს, თუთიის მტვრიან სინჯარაში სითხე წითლად ან ნარინჯისფერ-წითლად შეიფერება ანტოციანიდების წარმოქმნის გამო.

შეფერვის ინტენსიურობის შესაფასებლად შემოღებულია სამბალიანი სისტემა:

1) "+" სუსტი – რომელიც გაჩნდა აღდგენიდან 5-10 წუთის შემდეგ.

2) "++" სუსტი – რომელიც წყლის აბაზანაზე გაცხელებისთანავე შეიმჩნია.

3) "+++" ინტენსიურ ალუბლისფერ-წითელი – რომელიც წარმოიქმნა წყლის აბაზანაზე გაცხელებისთანავე. დაყოვნებისას კი შეფერვა უფრო ინტენსიური ხდება.

8.2. კატეხინების მიღება ჩაიდან

ჩაის მთრიმლავი ნივთიერებებია რამოდენიმე კატეხინი და მათი ესთერები გალის მჟავასთან. ძირითადი შემადგენელი კომპონენტებია: L-ეპიკატეხინი, L-გალოკატეხინი და მათი ესთერები გალის მჟავასთან.

ჩაის კატეხინები არაჰიდროლიზებად მთრიმლავ ნივ-

თიერებებს მიეკუთვნება. განზავებულ მჟავებთან გაცხელებისას ისინი უხსნად, ადვილადლღობად ნივთიერებებად გარდაიქმნებიან, ახასიათებთ P-ვიტამინური აქტივობა, ხელს უწყობენ კაპილარების გამაგრებას და ასევე ასკორბინმჟავას (ვიტამინ C) დაგროვებას ორგანიზმში.

რეაქტივები და ჭურჭელი:

1. მწვანე ჩაი – 100გ
2. ეთილაცეტატი – 60 მლ
3. ტყვიის აცეტატი
4. რკინის ქლორიდის ხსნარი
5. ვანილინის ხსნარი მარილმჟავაში

კონუსური კოლბები, წყლის აბაზანა, დოლბანდი, ფაიფურის ძაბრი.

საანალიზო ნიმუშს ათავსებენ 500 მლ-იან კონუსურ კოლბაში, ამატებენ 300 მლ ცხელ წყალს და აცხელებენ 1სთ-ის განმავლობაში, წყლის აბაზანაზე. ნარევს ფილტრავენ ფაიფურის ძაბრში. ნალექს განმეორებით ამუშავებენ ცხელი წყლით. მიღებულ ექსტრაქტს აერთიანებენ და ამატებენ ტყვიის აცეტატს, ტყვიის ტანატის სრულ დალექვამდე. მიღებულ მუქ ნარევს ფილტრავენ, რეცხავენ გამოხდილი წყლით, ამუშავებენ 1%-იანი გოგირდმჟავას ხსნარით მჟავა რეაქციამდე.

ნარევს ფილტრავენ, ნალექს რეცხავენ 20-20 მლ ეთილაცეტატით 3-ჯერ. ეთილაცეტატს გადადენიან წყლის აბაზანაზე და ნალექს გააშრობენ. მიღებულ ტანინს აქუცმაცებენ და წონიან. გამოსავალი შეადგენს 3-4 გ-ს.

მწვანე ჩაიდან მიღებული ტანინი წარმოადგენს ამორფულ ფხვნილს, რომელიც ადვილად იხსნება წყალში და სპირტში.

თვისებითი რეაქციები ტანინზე

მიღებული ტანინის ნაწილს ხსნიან წყალში და ანაწილებენ სამ სინჯარაში და ატარებენ კატეხინების რიგის ნაერთებისათვის დამახასიათებელ თვისებით რეაქციებს.

1. რკინის ქლორიდი ტანინის წყალხსნართან მოშავო-მომწვანო შეფერვას იძლევა.

2. ვანილინის მარილმჟავაში ხსნართან ტანინი ჟოლოსფერ შეფერვას იძლევა.

3. გაცხელებულხსნართან კონცენტრირებული მარილმჟავა ფლობაფენის წითელ ნალექს წარმოქმნის.

მიღებული კატეხინების ნარევის შედგენილობა შესაძლებელია განისაზღვროს ქაღალდზე ორმხრივი ქრომატოგრაფიით. ამისათვის იღებენ ქრომატოგრაფიულ ქაღალდს ზომით 30X30 სმ-ზე და და წვეთობით დააქვთ ტანინის სპირტხსნარი, ქაღალდის მარჯვენა ქვედა კუთხეში. ქაღალდს ქვედა ბოლოთი ათავსებენ ქრომატოგრაფიის ჭურჭელში, რომელშიაც ასხია 2%-იანი ძმარმჟავას ხსნარი. ქრომატოგრაფიის დამთავრების შემდეგ ქრომატოგრამებს აშრობენ და ერთ-ერთს ასხურებენ 1%-იან რკინაამონიუმის შაბის ხსნარს და ცალკეული კატეხინისთვის საზღვრავენ R_f-ს. მეორე ქრომტოგრაფიულ ქაღალდს შეატრიალებენ 90^0-იანი კუთხით და ათავსებენ გამხსნელთა შემდეგ სისტემაში: ნ-ბუთანოლი : ძმარმჟავა : წყალი (40:12:29). გამუღავნების შემდეგ ორივე ქრომატოგრამას ადარებენ და საზღვრავენ R_f-ებს.

კატეხინი და ეპიკატეხინი რკინა(III)-ის მარილებთან ქა-

ღალდზე იძლევა მწვანე შეფერვას, ეპიკატეხინგალატი – ლურჯს.

კატეხინების R_f-ები ლიტერატურული მონაცემებით შემდეგია:

ა) პირველ გამხსნელში

კატეხინი	– 0,32
ეპიკატეხინი	– 0,30
ეპიკატეხინგალატი	– 0,25

ბ) მეორე გამხსნელში

კატეხინი	– 0,66
ეპიკატეხინი	– 0,56
ეპიკატეხინგალატი	– 0,7

9. ორგანული მჟავები

ორგანული მჟავები მცენარეებში მეორეული წარმოშობის ნივთიერებებს მიეკუთვნება. მცენარეთა უმრავლესობის წვენის მჟავა რეაქცია, მათში სწორედ ორგანული მჟავების შემცველობითაა გამოწვეული. ეს ნაერთები მცენარეებში მოიპოვება, როგორც თავისუფალი, ისე მათი მარილების ან ესთერების სახით. ესენია: ჭიანჭველ-, ძმარ-, ერბო-, რძემჟავა, მჟაუნმჟავა, მალონმჟავა, ღვინომჟავა, ლიმონმჟავა და ა.შ.

მცენარეებში შეიძლება ერთდროულად შედიოდეს 5-6 და მეტი ორგანული მჟავა, რომელთა ოდენობრივი განსაზღვრა საკმაოდ რთული და შრომატევადია. ჩვეულებრივ ორგანული მჟავების დაყოფისათვის მიმართავენ ქაღალდის ქრომატოგრაფიას.

მასალის მომზადება: გასუფთავებულ საანალიზო ფოთლებს აშრობენ საშრობ კარადაში, ან ახდენენ მათ ფიქსაციას მშრალი ორთქლით 7-10 წთ-ის განმავლობაში.

* ტუბერებს და მცენარეთა სხვა წვნიან ნაწილებს ჭრიან ნედლ მდგომარეობაში, შემდეგ ახდენენ ფიქსაციას მშრალი ორთქლით და აშრობენ.

მიღებულ მასალას ფქვავენ, ცრიან საცერში, ათავსებენ ბიუქსში და აშრობენ 105°C-ზე, 4 სთ-ის განმავლობაში.

ანალიზის მსვლელობა

0,5 გ მიღებული საანალიზო მასალა გადააქვთ ჭიქაში, ამატებენ 1 მლ 4N H_2SO_4-ს, 1 გ დაქუცმაცებულ აზბესტს და გულმოდგინედ ურევენ ერთგვაროვანი მასის მიღებამდე. მიღებული მასა წკირის დახმარებით გადააქვთ წინასწარ დამზადებულ ფილტრის ჰილზაში, ჭიქას ბამბით კარგად გამოწმენდენ და მასაც ჰილზაში ათავსებენ. ჰილზას

ათავსებენ სოქსლეტის აპარატის ექსტრაქტორში. წინასწარ გამშრალ და აწონილ კოლბაში ასხამენ 150-200 მლ აბსოლიტურ ესთერს, არგებენ ექსტრაქტორს და აწარმოებენ გამოხსნარებას 18 სთ-ის განმავლობაში.

გამოხსნარების დამთავრების შემდეგ ესთერიან გამონახსნარს უმატებენ 8-8 მლ წყალს, ნარევს შეანჯღრევენ და ესთერს გამოხდიან. დარჩენილ ხსნარს გადაიტანენ ფაიფური ჯამზე და ააორთქლებენ წყლის აბაზანაზე მცირე მოცულობამდე.

ქრომატოგრაფიული ანალიზი

ორგანულ მჟავათა დასაყოფად რეკომენდირებულია აღმავალი ქრომატოგრაფია. ამ მიზნით ქრომატოგრაფიული ქაღალდის ნაპირიდან 5 სმ-ის დაშორებით ავლებენ ხაზს (შავი, არაქიმიური ფანქრით). ქაღალდის კიდიდან 1,5 სმ-ის და ურთიერთ სამ-სამი სმ-ით დაშორებით, სვამენ 7-8 წერტილს, თითოეულ წერტილზე გადააქვთ მოწმეების 0,1 M წყალხსნარები 0,005 მლ-ის რაოდენობით.

ქაღალდის ერთ-ერთ წერტილში აწვეთებენ საკვლევ ხსნარს. ქაღალდს, გაშრობის შემდეგ, ათავსებენ ქრომატოგრაფიულ კამერაში, რომელშიც წინასწარ ჩასხმულია ნ-ბუთანოლი : ჭიანჭველმჟავა : წყლის ნარევი თანაფარდობით: 18 : 2 : 9.

ქრომატოგრაფირებას აწარმოებენ 24 სთ-ის განმავლობაში, ოთახის ტემპერატურაზე. შემდეგ ქრომატოგრამას აშრობენ ამწოვ კარადაში და ტოვებენ ერთი დამის განმავლობაში.

მეორე დღეს ქრომატოგრამას აშრობენ 2 სთ-ის განმავლობაში, 60-80^0 C-ზე ჭიანჭველმჟავას მოსაშორებლად, შემდეგ კი მჟავებს ამჟღავნებენ 0,05%-იანი ბრომფენოლლურჯის

სპირტხსნარით. ორგანული მჟავები ლურჯ ფონზე ყვითელ ლაქებად გამომჟღავნდება.

ლაქების გამომჟღავნების შემდეგ საზღვრავენ მჟავათა R_f-ს და მიღებულ სიდიდეებს ადარებენ მოწმეთა R_f-ს. მოწმის და საკვლევ მჟავათა R_f-ის დამთხვევა მათი იდენტურობის ერთ-ერთი მაჩვენებელია.

ბერტრანის ცხრილი შაქრების განსაზღვრისათვის

შაქრი მგ-ობით	Cu მგ-ობით მითითებული მონოსაქარიდის შემთხვევაში				შაქრი მგ-ობით	Cu მგ-ობით მითითებული მონოსაქარიდის შემთხვევაში			
	გლუკოზა	ფრუქტოზა	მალტოზა (უწყლო)	ლაქტოზა (უწყლო)		გლუკოზა	ფრუქტოზა	მალტოზა (უწყლო)	ლაქტოზა (უწყლო)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10	20,4	19,3	11,2	14,4	56	105,8	101,5	61	76,2
18	36,2	34,2	20,0	25,6	64	119,6	115,0	70,0	86,5
19	38,1	36,0	21,1	26,9	65	121,3	116,6	71,1	87,7
20	40,1	37,9	22,2	28,4	66	123	118,3	72,2	89,0
21	42,0	39,7	23,3	29,8	67	124,7	120,0	73,3	90,3
22	43,9	41,6	24,4	31,1	68	126,4	121,7	74,3	91,6
23	45,8	43,4	25,5	32,5	69	128,1	123,3	75,4	92,8
24	47,7	45,2	26,6	33,9	70	129,8	125,0	76,5	94,1
25	49,6	47,0	27,7	35,2	71	131,4	126,6	77,6	95,4
26	51,5	48,9	28,9	36,6	72	133,1	128,3	78,6	96,6
27	53,4	50,7	30,0	38,0	73	134,7	130,0	79,7	97,9
28	55,3	52,5	31,1	39,4	74	136,3	131,5	80,8	99,1
29	57,2	54,4	32,2	40,7	75	137,9	133,1	81,8	100,4
30	59,1	56,2	33,3	42,1	76	139,6	134,8	82,9	101,7
31	60,9	58,0	34,4	43,4	77	141,2	134,4	84,0	102,9
32	62,8	59,7	35,5	44,8	78	142,8	138,0	85,1	104,2
33	64,6	61,5	36,5	46,1	79	144,5	139,7	86,1	105,4
34	66,5	63,3	37,6	47,4	80	146,1	141,3	87,2	106,7
35	68,3	65,0	38,7	48,7	81	147,7	142,9	88,3	107,9
36	70,1	66,8	39,8	50,1	82	149,3	144,6	89,4	109,2
37	72,0	68,6	40,9	51,4	83	150,9	146,2	90,4	110,4
38	73,8	70,4	41,9	52,7	84	152,5	147,8	91,5	111,7
39	75,7	72,1	43,0	54,1	85	154,0	149,4	92,6	112,9
40	77,5	73,9	44,1	55,4	86	155,6	151,1	93,7	114,1
41	79,3	75,6	45,2	56,7	87	157,2	152,7	94,8	115,4
42	81,1	77,4	46,3	58,0	88	158,8	154,3	95,8	116,6
43	82,9	79,1	47,4	59,3	89	160,4	156,0	96,9	117,9
44	84,7	80,8	48,5	60,6	90	162,0	157,6	98,0	119,1

ზომა მგ-ობით	Cu მგ-ობით მითითებული მინისაქარიდის შემთხვევაში				ზომა მგ-ობით	Cu მგ-ობით მითითებული მინისაქარიდის შემთხვევაში			
	გლუკოზა	გალაქტოზა	მანტოზა (ეწყვლი)	ლაქტოზა (ეწყვლი)		გლუკოზა	გალაქტოზა	მანტოზა (ეწყვლი)	ლაქტოზა (ეწყვლი)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
45	86,4	82,5	49,5	61,9	91	163,6	159,2	99,0	120,3
46	88,2	84,3	50,6	63,3	92	165,2	160,8	100,1	121,6
47	90,0	86,0	51,7	64,6	93	166,7	162,4	101,1	122,8
49	93,6	87,5	53,9	67,2	94	168,3	164,0	102,2	124,0
50	95,4	91,2	55,0	68,5	95	169,8	165,6	103,2	125,2
38	73,8	70,4	41,9	52,7	84	152,5	147,8	91,5	111,7
39	75,7	72,1	43,0	54,1	85	154,0	149,4	92,6	112,9
40	77,5	73,9	44,1	55,4	86	155,6	151,1	93,7	114,1
41	79,3	75,6	45,2	56,7	87	157,2	152,7	94,8	115,4
42	81,1	77,4	46,3	58,0	88	158,8	154,3	95,8	116,6
43	82,9	79,1	47,4	59,3	89	160,4	156,0	96,9	117,9
44	84,7	80,8	48,5	60,6	90	162,0	157,6	98,0	119,1
45	86,4	82,5	49,5	61,9	91	163,6	159,2	99,0	120,3
46	88,2	84,3	50,6	63,3	92	165,2	160,8	100,1	121,6
47	90,0	86,0	51,7	64,6	93	166,7	162,4	101,1	122,8
49	93,6	87,5	53,9	67,2	94	168,3	164,0	102,2	124,0
50	95,4	91,2	55,0	68,5	95	169,8	165,6	103,2	125,2
51	97,1	92,9	56,1	69,8	96	171,4	167,2	104,2	126,5
52	98,9	94,6	57,1	71,1	97	173,1	168,8	105,3	127,7
53	100,6	96,3	58,2	72,4	98	174,6	170,4	106,3	128,9

გამოყენებული ლიტერატურა

1. ს. ადამია, დ. წაქაძე, რ. კუბლაშვილი. ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების ქიმია. თბ., 2005 წ.

2. ვ. კრეტოვიჩი. მცენარეთა ბიოქიმიის საფუძვლები. თბ., 1971 წ.

3. ქ. დგებუაძე. მცენარეთა ბიოქიმიის პრაქტიკუმი. თბ., 1975 წ.

4. რ. კუბლაშვილი, დ. წაქაძე, შ. სამსონია. ლაბორატორიული პრაქტიკუმი ბუნებრივ ნაერთთა ქიმიაში. თბ., 1998 წ.

5. Дэвении Г., Гергей Я. Аминокислоты, пептиды и белки. М., 1976.

6. Гринштейн Дж., Виниц М. Химия аминокислот и пептидов. М., 1965.

7. Практикум по химии углеводов. Под. ред. Жданова Ю.А. М., 1973.

8. Филипович Ю.Б., Эгорова Т.А., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. М., 1975.

9. Б.П. Плешков. Практикум по биохимии растений. М., 1968.

10. Г.В. Лазуревский, И.В. Терентева, А.А. Шамшурина. Практические работы по химии природных соединений. М., 1966.

11. М. Запрометов. Фенольные соединения. М., 1993.

შ ი ნ ა ა რ ს ი

1. ნახშირწყლები 3

1.1. აღმდგენელი შაქრების რაოდენობრივი განსაზღვრა ბერტრანის მეთოდით 10

1.2. აღმდგენელი შაქრების განსაზღვრა ფოტოკოლორიმეტრული მეთოდით 15

1.3. საქაროზას განსაზღვრა 18

1.4. სახამებლის განსაზღვრა 20

1.5. საქაროზას ოპტიკური აქტივობის განსაზღვრა პოლარიმეტრული მეთოდით 23

1.6. წყალხსნარებში გლუკოზის რაოდენობის განსაზღვრა პოლარიმეტრული მეთოდით 25

2. პექტინის საერთო რაოდენობის განსაზღვრა კალციუმპექტანის სახით 26

3. ცილები 30

3.1. თვისებითი რეაქციები ცილებსა და ამინომჟავებზე 33

3.1.1. ბიურეტის რეაქცია 33

3.1.2. ნინჰიდრინის რეაქცია 34

3.1.3. ქსანტოპროტეინის რეაქცია 35

3.1.4. მილონის რეაქცია (თიროზინის აღმოჩენა) 36

3.2. ცილების ფრაქციონირება, ალბუმინის აღმოჩენა 37

3.2.1. ცილის ჰიდროლიზი 38

3.2.2. ცილის ამინომჟავური შედგენილობის განსაზღვრა ქაღალდის ქრომატოგრაფიის მეთოდით 39
3.3. რძისაგან კაზეინისა და თიროზინის გამოყოფა 42
3.4. თიროზინის მიღება კაზეინიდან 44
3.5. ცილის განსაზღვრა ლოურის მეთოდით 45
3.6. აზოტის საერთო რაოდენობის განსაზღვრა კიელდალის მეთოდით 48
3.7. რიბონუკლეინის მჟავას გამოყოფა 51
4. ფერმენტები 54
4.1. ურეაზას აქტივობის განსაზღვრა გამოყოფილი ამონიაკის მიხედვით 55
4.2 კატალაზას აქტივობის განსაზღვრა გაზომეტრული მეთოდით 59
5. ლიპიდები 61
5.1. ცხიმის გამოყოფა 64
5.1.1. ცხიმის მჟავური რიცხვის განსაზღვრა 68
5.1.2 ცხიმის შესაპვნის რიცხვის განსაზღვრა 69
5.1.3. ცხიმის იოდის რიცხვის განსაზღვრა 70
5.2. L-მენთოლის გამოყოფა ბაღის პიტნიდან 72
6. ვიტამინები 74
6.1. C-ვიტამინის რაოდენობრივი განსაზღვრა 75
7. ალკალოიდები 78
7.1. ალკალოიდების აღმოჩენა მცენარეში 79
7.2. კოფეინის გამოყოფა ჩაიდან 80

7.2.1. კოფეინის სუბლიმირება მშრალი ჩაიდან 81

8. ფენოლური ნაერთები 82

8.1. ფლავონოიდების აღმოჩენა 86

8.2. კატეხინების მიღება ჩაიდან 87

9. ორგანული მჟავები 91

ბერტრანის ცხრილი შაქრების
განსაზღვრისათვის 95

ლიტერატურა 96