ქ. კუპატაძე, ა. სვანიძე

ზოგადი ბიოქიმიის ლაბორატორიული სახელმძღვანელო

თბილისი
2006

უაკ (UDC) 577. 1 (075. 8)
კ 91

სახელმძღვანელოში მოცემულია ზოგადი ბიოქიმიის ლაბორატორიული სამუშაოების ჩატარებისათვის საჭირო თეორიული მასალა, მეთოდები და წესები. თითოეული სამუშაოს დასაწყისში მოკლედ აღწერილია საჭირო ჭურჭელი, მასალა და რეაქტივები. აუცილებელ რეაგენტთა მომზადების წესები მოცემულია სახელმძღვანელოს ბოლოს არსებულ დანართში.

სახელმძღვანელო განკუთვნილია პედაგოგიური უნივერსიტეტის სტუდენტებისათვის, თუმცა მისი გამოყენება სხვა უნივერსიტეტის სტუდენტებისთვისაც ნაყოფიერი იქნება.

რეცენზენტები: ნ.სიდამონიძე-ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი.
ნ. თხილავა-ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატი.

რედაქტორი: რ.მაჩხოშვილი- ქიმიის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი.

© ქ. კუპატაძე, ა.სვანიძე

ISBN 99940-0-599-5

მეცნიერებათა აკადემიის ფიზიკის ინსტიტუტის
© გამომცემლობა "ითა".

წინასიტყვაობა

ზოგადი ბიოქიმია შეისწავლის ცოცხალი ორგანიზმების ქიმიურ შედგენილობას და მათში მიმდინარე ქიმიურ რეაქციებს, რომლებიც საფუძვლად უდევს ცოცხალი ორგანიზმის ცხოველქმედებას. ბიოქიმიის უმთავრესი ამოცანაა ცოცხალ უჯრედში მიმდინარე ქიმიური პროცესების მოლეკულურ დონეზე შესწავლა. ამისთვის კი აუცილებელია უჯრედებში არსებული მოლეკულების გამოყოფა, მათი სტრუქტურის დადგენა და იმ გარდაქმნათა შესწავლა, რასაც ისინი უჯრედში განიცდიან.

სახელმძღვანელო მოიცავს ლაბორატორიულ სამუშაოებს ზოგად ბიოქიმიაში. ის განკუთვნილია პედაგოგიური პროფილის სტუდენტებისთვის და შესაბამისად მასში შეტანილია შედარებით მარტივი ცდები. სამუშაოები ძირითადად ეხება ამინომჟავების, ცილების, ფერმენტების, ვიტამინების, ნახშირწყლების, ლიპიდების გამოყოფას, გასუფთავებას, ფიზიკურ და ქიმიურ თვისებებს, აღმომჩენ რეაქციებს, რაოდენობით განსაზღვრას.

თითოეულ სამუშაოს თან ახლავს მოკლე დახასიათება და აუცილებელი რეაქტივების და ჭურჭლის აღწერა. ზოგიერთ ცდაში მოცემულია შესაბამისი რეაქციების ქიმიური მექანიზმი.

სამუშაოების შესასრულებლად რეკომენდებულია მარტივი ბიოლოგიური მასალის გამოყენება: ცხოველების გაყინული და დაკონსერვებული ქსოვილები, ფიქსირებული მცენარეული მასალა, მიკროორგანიზმები (რომელთა გამოყვანა ადვილია ლაბორატორიის პირობებში), აბრეშუმისს ჭიის პარკი, ფქვილი, ზეთი, კვერცხი, რძე და ა.შ.

ვიმედოვნებთ, რომ მოცემული ლაბორატორიული სახელმძღვანელო ხელს შეუწყობს ზოგადი ბიოქიმიით დაინტერესებულ სტუდენტებს საჭირო ინფორმაციის მოძიებაში.

ავტორები

ამინომჟავები

1.1. ამინომჟავების გამოყოფისა და ურთიერთდაცილების მეთოდები

სხვადასხვა ბუნებრივი მასალიდან ამჟამად გამოყოფილია დაახლოებით 200 ამინომჟავა. იმ ამინომჟავების გარდა, რომლებიც მუდმივად და იშვიათად გვხვდება ცილებში, ცხოველური ორგანიზმებისა და მიკროორგანიზმების შემადგენლობაში და განსაკუთრებით მცენარეებში, აღმოჩენილია აგრეთვე მრავალი თავისუფალი ამინომჟავა. მათი გამოყოფის მეთოდები დამოკიდებულია იმაზე, თუ როგორ მდგომარეობაში იმყოფება ესა თუ ის ამინომჟავა. კერძოდ, თავისუფალი სახით, თუ ის არის ბმულ მდგომარეობაში (მაგალითად, ცილებში). ბიოლოგიური მასალიდან თავისუფალ ამინომჟავებს უმეტეს შემთხვევაში გამოყოფენ ეთანოლის ან მეთანოლის 75-80%-იანი ხსნარების მეშვეობით. მცენარეული ობიექტების შემთხვევაში შესაძლოა ზოგიერთი ცილა შეერიოს სპირტის ექსტრაქტს, რომელსაც დამატებით გამოლექავენ ან ხსნარის pH-ის ცვლილებით, ან ცილების დამლექი ნივთიერებების დამატებით.

ბიოლოგიური მასალიდან თავისუფალი ამინომჟავების ექსტრაგირებისათვის გამოიყენება სამქლორიანი ძმარმჟავას 5%-იანი წყალხსნარი, რაც ცილების ყველაზე ეფექტურ და საუკეთესო დამლექს წარმოადგენს. აღნიშნული მეთოდის უარყოფითი მხარე მდგომარეობს იმაში, რომ მიღებულ ხსნარში არსებული ამინომჟავების შემდგომი განსაზღვრა მოითხოვს ნარევში არსებული სამქლორიანი ძმარმჟავას მოცილებას, რაც საკმაოდ შრომატევად სამუშაოს წარმოადგენს. ბიოლოგიური მასალიდან ამინომჟავების გამოყოფისათვის გამოიყენება მრავალი სხვა ნივთიერება: წყალი, შემჟავებული აცეტონი, განზავებული ძმარმჟავა და სხვა.

თუ ამინომჟავა იმყოფება ბმულ მდგომარეობაში, მაშინ მისი გამოყოფა შესაძლებელია ცილის ჰიდროლიზის შემდეგ საკვლევი ნივთიერებების გაცხელებით მჟავებთან (20%-იანი HCl; 30%-იანი H_2SO_4), ან ფუძეებთან (5N-ის NaOH; 14%-იანი $Ba(OH)_2$), ან პრეპარატის ინკუბაციით ფერმენტებთან.

სამუშაოს ყველაზე რთულ და საპასუხისმგებლო ნაწილს წარმოადგენს ბუნებრივი ობიექტებიდან, კერძოდ ჰიდ-

როლიზატიდან ან გამონაწვლილიდან ცალკეული ინდივიდუალური ამინომჟავას გამოყოფა.

ამინომჟავების ფრაქციონირების მეთოდები, თითქმის სრულადაა შეცვლილი ახალი მარტივი და ეფექტური მეთოდით, კერძოდ, ამინომჟავების რთული ნარევებიდან მასში შემავალი ინდივიდუალური ამინომჟავების გამოყოფის ქრომატოგრაფიული მეთოდით.

ცდა 1. თავისუფალი ამინომჟავების გამოყოფა ბიოლოგიური მასალიდან.

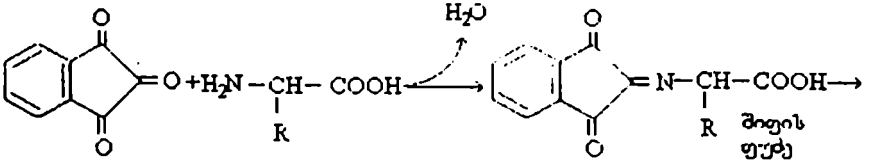
რეაქტივები და ჭურჭელი. აბრეშუმის ჭიის პარკები (ჰაერზე გამომშრალი); ფილტრის ქაღალდი; ფაიფურის როდინი; წყლის აბაზანა; ლაბორატორიული თერმომეტრი; მინის ძაბრი; ამოსაშრობი ფინჯანი; მინის წკირები; ქიმიური სინჯარები; გრადუირებული პიპეტები 1 მლ-ანი (2 ცალი); ეთილის სპირტი (75%-ანი); მარილმჟავა (1%-ანი); 95%-იან აცეტონში გახსნილი ნინჰიდრინი (1%-ანი).

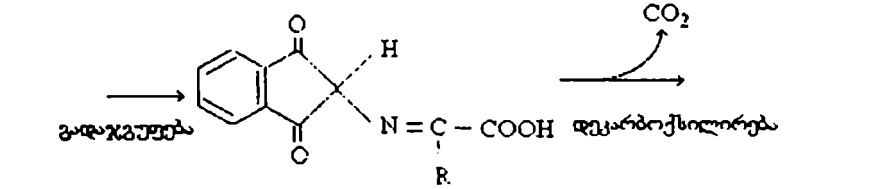
1 გ დაფქვილ ბიოლოგიურ მასალას ათავსებენ როდინში, ამატებენ 10 მლ 75%-იან ეთილის სპირტს (სპირტს წინასწარ აცხელებენ წყლის აბაზანაზე 60-70°C) და სრესენ 15 წუთის განმავლობაში. მიღებულ მასას ფილტრავენ დაკეცილ ფილტრის ქაღალდში. ფილტრატს აორთქლების მიზნით ათავსებენ წყლის აბაზანაზე პატარა ზომის ქიმიურ ჭიქაში. სპირტის ამოშრობის შემდეგ დარჩენილ მშრალ ნაშთს ამატებენ 1 მლ 1%-იან მარილმჟავას ხსნარს, მოურევენ მინის წკირით 10-15 წუთის განმავლობაში ფსკერზე გამოლექილი მშრალი მასის სრულ გახსნამდე.

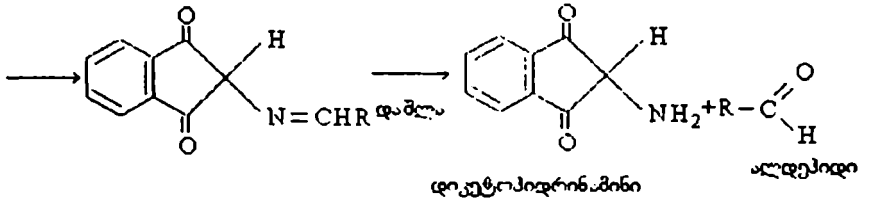
თავისუფალი ამინომჟავების არსებობის დადგენა მიღებულ ხსნარში შეიძლება ნინჰიდრინის (ტრიკეტოჰიდრინდენი) რეაქციის მეშვეობით. ამისათვის მიღებული ხსნარის რამდენიმე წვეთს ათავსებენ სინჯარაში, ამატებენ გამოხდილ წყალს, რათა ხსნარის მოცულობა შეადგენდეს 2-3 მლ-ს, შემდეგ ამატებენ 3-4 წვეთ 1%-იან ნინჰიდრინის ხსნარს, რომელიც წინასწარ გახსნილია 95%-იან აცეტონში. სინჯარის შიგთავსს მოურევენ მინის წკირით და 5 წუთის განმავლობაში ათავსებენ 70°C-მდე გაცხელებულ წყლის აბაზანაზე. ხსნარი შეიფერება ინტენსიურ მოლურჯო-იისფრად, რაც ადასტურებს ხსნარში α-ამინომჟავების არსებობას.

ამინომჟავასა და ნინჰიდრინის ურთიერთქმედებისას საწყის ეტაპზე წარმოიქმნება შიფის ფუძე, ხოლო შემდეგ იგი

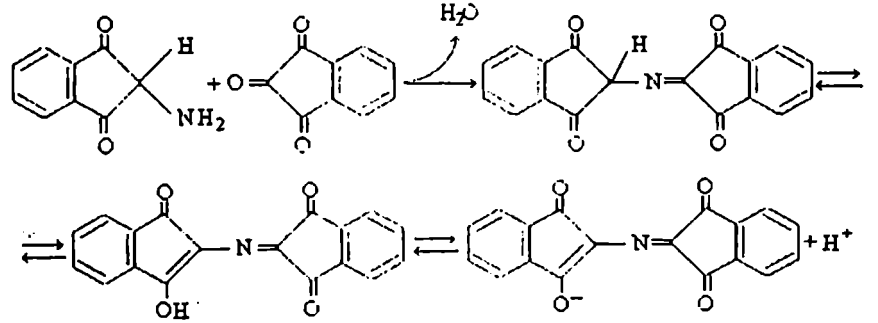
განიცდის გადაჯგუფებას, დეკარბოქსილირებას და დაშლის შედეგად მიიღება ალდეჰიდი და ამინოდიკეტოჰიდრინდენი:





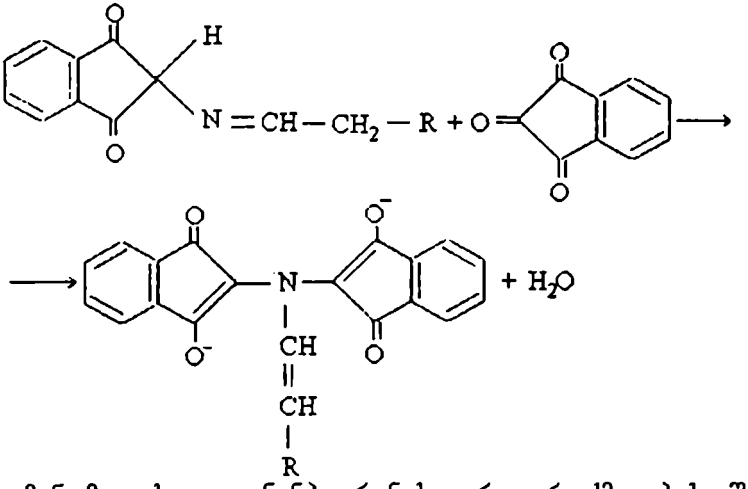


ამინოდიკეტოჰიდრინდენი ურთიერთქმედებს ნინჰიდრინის კიდევ ერთ მოლეკულასთან, წარმოქმნილი ნაერთი განიცდის ენოლიზაციას და გარდაიქმნება ფერადი ფორმის წარმოებულში, რომელსაც ეწოდა „რუემანის მოლურჯო-იისფერი". ეს პროცესი დაწვრილებით იქნა შესწავლილი 1910 წელს მკვლევარ რუემანის მიერ და წარმოქმნილ ნივთიერებას ეწოდა მისი სახელი.



რუემანის მოლურჯო-იისფერი

ორგანული გამხსნელის (აცეტონი, ეთანოლი, პირიდინი და სხვა) თანაობისას, რომლებიც გამოიყენებიან ნინჰიდრინის ხსნარის დასამზადებლად, მიმდინარეობს შემდეგი რეაქცია:



ამინომჟავასა და ნინჰიდრინის ურთიერთქმედების შედეგად წარმოქმნილი პროდუქტი შეიცავს რეაქციაში შესული საწყისი ამინომჟავას რადიკალს (R), რაც განაპირობებს რეაქციის შედეგად მიღებული ნაერთების სხვადასხვა შეფერილობას (ცისფერი, წითელი და ა. შ.)

ამჟამად ნინჰიდრინის რეაქცია ფართოდ გამოიყენება ცალკეული ამინომჟავების აღმოსაჩენად და აგრეთვე მათი რაოდენობითი განსაზღვრის მიზნით.

---

* სამუშაოსათვის გამოიყენება გამხმარი მწერები, მაგალითად აბრეშუმის ჭია, რომელიც წარმოადგენს აბრეშუმის ჭიის პარკის წარმოების ნარჩენს და შეიცავს თავისუფალ ამინომჟავებს გაცილებით მეტი რაოდენობით ვიდრე ცხოველური წარმოშობის სხვა ობიექტი. სხვა მასალის გამოყენების შემთხვევაში (ცხოველური ქსოვილები, რომლებიც ფიქსირდებიან ეთანოლში გაცხელებით და შემდგომი გაფხვიერებით), თავისუფალი ამინომჟავას ექსტრაქციისათვის საჭიროა მასის გაზრდა 2-3-ჯერ, ან ქრომატოგრაფირებამდე მშრალი ნაშთის გასახსნელად 1%-იანი HCl-ის რაოდენობის 2-3-ჯერ შემცირება.

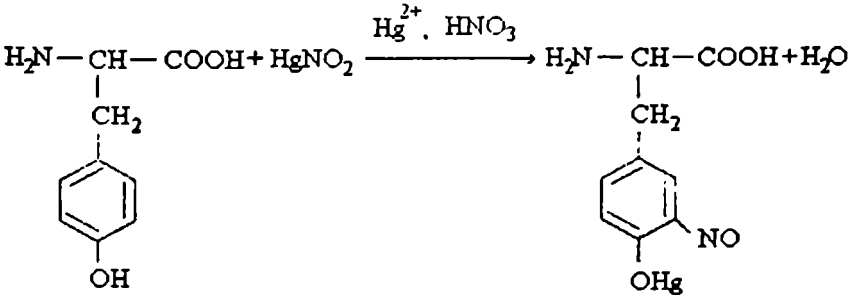
1. 2. ამინომჟავების აღმომჩენი თვისებითი რეაქციები

ამინომჟავების ორგანული რადიკალები განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან, რაც იძლევა იმის საშუალებას, რომ ამინომჟავების უმეტესი ნაწილის აღმოსაჩენად გამოიყენება ფერადი რეაქციები. მრავალი მათგანი ხასიათდება საკმაო მგრძნობელობით, უდიდესი სპეციფიურობით, რაც შესაძლებელს ხდის რთულ ნარევებში, ბიოლოგიურ სითხეებში, ცილების ჰიდროლიზატებში და ა. შ. აღმოჩენილ იქნას ამა თუ იმ ამინომჟავას უმცირესი რაოდენობაც კი. (ზოგი ფერადი რეაქცია გამოიყენება ამინომჟავების რაოდენობითი განსაზღვრისათვის).

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; ლაბორატორიული თერმომეტრი; აბაზანა ყინულით; სინჯარების დამჭერი; საზომი ცილინდრები – 10 მლ; საზომი პიპეტები 1 და 5 მლ; ქიმიური მინის სინჯარები; თიროზინი (ფხვნილი); გოგირდმჟავა (2,5%-ნი); მილონის რეაქტივი (იხ. დანართი); არგინინი; (0,01%-ანი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%). α-ნაფტოლი (0,2%-ანი, სპირტში); ჰიპობრომიდი (იხ. დანართი); შარდოვანა (40%-ანი); სულფანილის მჟავა (1%-ანი) მარილმჟავაში (5%-ანში); კალიუმის ნიტრიტი (0,5%-ანი); ჰისტიდინი (0,01%-ანი); ნატრიუმის კარბონატი (10%-ანი); ტრიპტოფანი (0,005%-ანი); გლიოქსილის მჟავა (იხ. დანართი); სპილენძის სულფატი (0,04M); გოგირდმჟავა (კონც.); პროლინი (0,01%-ანი); ნინჰიდრინი (1%-ანი) აცეტონში (95%-ანში); პროლინი (0,01%-ანი) ყინულოვან ძმარმჟავაში; იზატინი (0,003%-ანი) ყინულოვან ძმარმჟავაში; გლიცინი (0,01%-ანი); ახლადგადადენილი o-ფტალის დიალდეჰიდის წყალხსნარი (2გ o-ფტალის დიალდეჰიდს ხსნიან 300 მლ გამოხდილ წყალში და წყალხსნარს გადადენიან); მეთიონინი (0,02%-ანი); ნატრიუმის ნიტროპრუსიდი (10%-ანი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (14,3N); მარილმჟავასა (d=1,19) და ფოსფორმჟავას (85%-ანი) ნარევი 9:1.

ცდა 1 თიროზინის აღმომჩენი ფერადი რეაქცია (მილონის რეაქცია). სინჯარაში ათავსებენ თიროზინის რამდენიმე კრისტალს, ამატებენ 5 მლ 2,5%-იან გოგირდმჟავას ხსნარს და მოურევენ კრისტალების სრულ გახსნამდე. შემდეგ ამატებენ 1 მლ მილონის რეაქტივს, შეანჯღრევენ და რამდენიმე წუთის განმავლობაში აყოვნებენ ოთახის ტემპერატურის პირობებში. ხსნარი იძენს მოწითალო ხორცის ფერს. შეფერილობის წარმოქმნის დასაჩქარებლად ხსნარი შეიძლება ოდნავ შევათბოთ.

მილონის რეაქტივი წარმოადგენს ნარევს, რომელიც შეიცავს კონცენტრირებულ აზოტმჟავაში გახსნილი ვერცხლისწყლის (I) და (II) ნიტრატებსა და ნიტრიტებს. მილონის რეაქტივი ურთიერთქმედებს თიროზინის მოლეკულაში (რადიკალში) არსებულ ფენოლის ბირთვთან და წარმოიქმნება ნიტროთიროზინი, რომლის ვერცხლისწყლის ნაერთი წითლადაა შეფერილი:

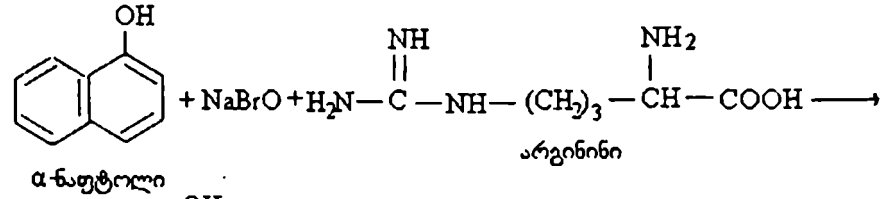


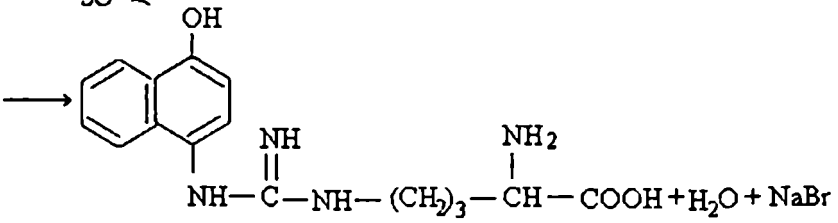
თიროზინი

ნიტროაზოთიროზინის ვერცხლისწყლის ნაერთი (ნიტროთიროზინი)

ცდა 2. არგინინის აღმომჩენი ფერადი რეაქცია (საკაგუჩის რეაქცია). სინჯარაში ასხამენ 2 მლ არგინინის 0,01%-იან ხსნარს, ამატებენ მას ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 10%-ნი ხსნარის 2 მლ-ს და 0,2%-ანი α-ნაფტოლის სპირტხსნარის რამდენიმე წვეთს. კარგად მორევის შემდეგ ამატებენ 0,5 მლ ჰიპობრომიდის ხსნარს და ხელახლა მოურევენ. მაშინვე ამატებენ 1 მლ შარდოვანას 40%-იან ხსნარს, რომელიც წარმოქმნილ მოწითალო-ნარინჯისფერს შეფერილობას უნარჩუნებს მდგრადობას.

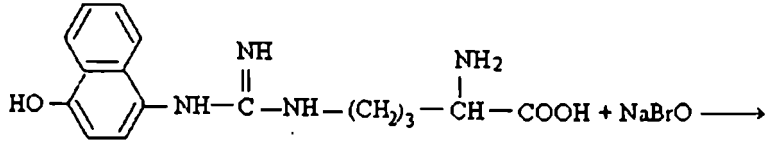
რიგი გამოკვლევების საფუძველზე შედგენილ იქნა სქემა, რომლის თანახმად α-ნაფტოლი დამჟანგველის თანაობისას ურთიერთქმედებს არგინინის მოლეკულაში არსებულ გუანიდინის ჯგუფთან:

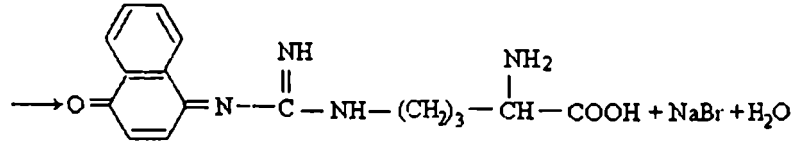




ნაფტილარგინინი

ნაფტილარგინინის შემდგომი დაჟანგვის შედეგად წარმოიქმნება ქინონიმინის ტიპის ნაერთი:



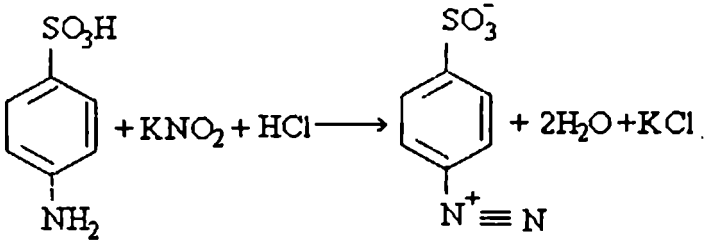


რადგან ქინონიმინების წარმოებულნი (მოცემულ შემთხვევაში ნაფტოლქინონიმინი), რომელთა იმინოჯგუფის წყალბადი ჩანაცვლებულია ალკილის ან არილის რადიკალით, ყოველთვის მოყვითალო-მოწითალო ფერისაა, როგორც ჩანს, საკაგუჩის რეაქციის ჩატარებისას ხსნარის ნარინჯისფერ-მოწითალო ფერი ნაფტოქინონიმინის წარმოებულის წარმოქმნით აიხსნება. არ არის გამორიცხული აგრეთვე უფრო რთული აღნაგობის ნაერთის წარმოქმნა გუანიდინის ნაშთის დარჩენილი NH-ჯგუფების და α-ნაფტოლის ბენზოლის ბირთვის შემდგომი დაჟანგვის ხარჯზე.

ცდა 3. ჰისტიდინის აღმომჩენი ფერადი რეაქცია (პაულის რეაქცია). 5%-იან მარილმჟავაში გახსნილი 1%-ანი სულფანილის მჟავას ხსნარის 1 მლ-ს ამატებენ კალიუმის ნიტრიტის 0,5%-ანი ხსნარის 2 მლ-ს, შეანჯღრევენ და მა-

შინვე ამატებენ ჯერ ჰისტიდინის 0,01%-იანი ხსნარის 2 მლ-ს, მორევის შემდეგ ნატრიუმის კარბონატის 10%-იანი ხსნარის 6 მლ-ს. ხსნარი იძენს მოწითალო ალუბლისფერს.

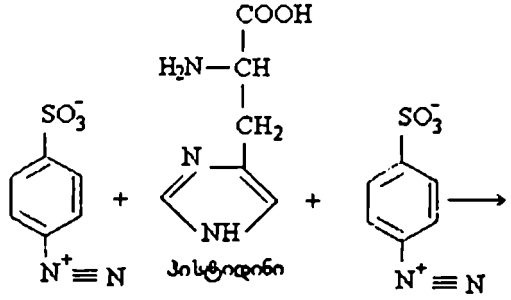
სულფანილის მჟავასა და კალიუმის ნიტრიტის ურთიერთქმედებისას მიმდინარეობს დიაზოტირების რეაქცია, რის შედეგადაც წარმოიქმნება დიაზობენზოსულფანოლის მჟავა:

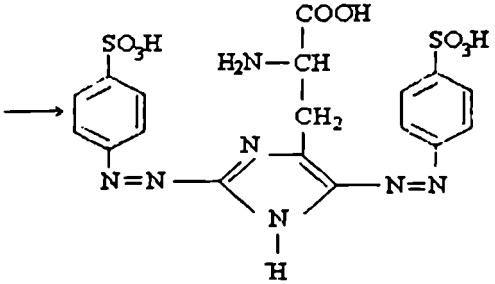


სულფანილის მჟავა

n-სულფობენზოლდიაზონიუმი (დიაზობენზოლსულფანოლის მჟავა)

წარმოქმნილი დიაზობენზოსულფანოლის მჟავა ურთიერთქმედებს ჰისტიდინთან და წარმოიქმნება მოწითალო-ალუბლისფერი ნივთიერება:

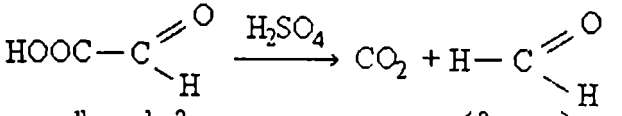




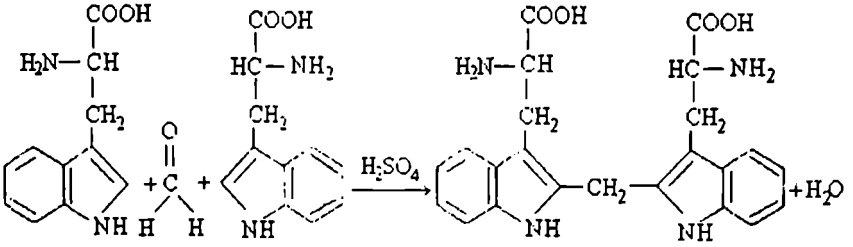
2,5-ბის-n-სულფობენზოდიაზოჰისტიდინი

ცდა 4. ტრიპტოფანის აღმომჩენი ფერადი რეაქცია (ჰოპკინს-კოლეს რეაქცია). სინჯარაში ასხამენ 1 მლ ტრიპტოფანის 0,005%-იან ხსნარს, ამატებენ ტოლი მოცულობის გლიოქსილის მჟავას (იხ. დანართი), 0,04 M სპილენძის(II) სულფატის ხსნარის 10 წვეთს და 2-3 მლ გოგირდმჟავას. გოგირდმჟავას დამატებისას სინჯარას აცივებენ ონკანის გამდინარე ცივი წყლით ან ათავსებენ ყინულიან აბაზანაში. 10 წუთის განმავლობაში სინჯარას აყოვნებენ ოთახის ტემპერატურაზე და მხოლოდ ამის შემდეგ ათავსებენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე 5 წუთის განმავლობაში. ხსნარი შეიფერება მოლურჯო-იისფერად.

კონცენტრირებული გოგირდმჟავასა და გლიოქსილის მჟავას ურთიერთქმედების შედეგად გამოყოფილი ფორმალდეჰიდი ურთიერთქმედებს ტრიპტოფანთან (კონდენსაციის რეაქცია):

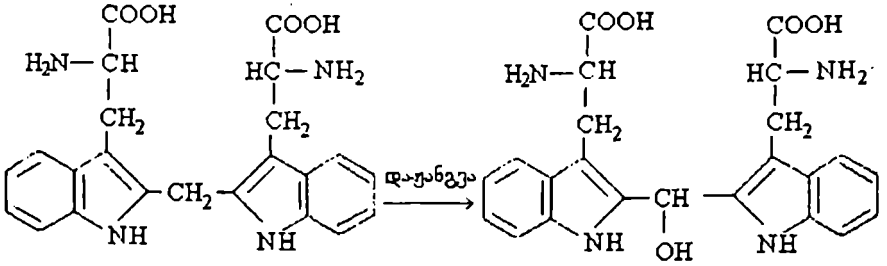


გლიოქსილის მჟავა ფორმალდეჰიდი



ბის-2-ტრიპტოფანილმეთანი

კონდენსაციის პროდუქტი იჟანგება და წარმოიქმნება ბის-2-ტრიპტოფანილკარბინოლი:



ბის-2-ტრიპტოფანილკარბინოლი

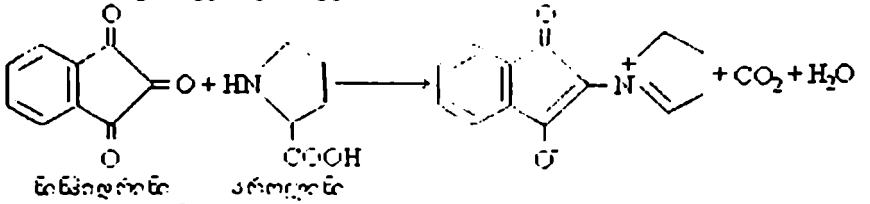
მიღებული ნივთიერება მინერალური მჟავების თანაობისას წარმოქმნის მოლურჯო-იისფერ მარილს.

ცდა 5. მეთიონინის აღმომჩენი ფერადი - რეაქცია (მაკკარტისა და სალივანის მიხედვით). 5 მლ 0,02%-იან მეთიონინის ხსნარს ამატებენ ჯერ 1 მლ 14,3 N ნატრიუმის ჰიდროქსიდის ხსნარს, ხსნარის დამატებას აწარმოებენ ინტენსიური მორევით, შემდეგ ამატებენ 10%-იანი ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის 10%-იან ახლადდამზადებულ ხსნარს (0,3 მლ-ს). ნარევს აცხელებენ 10 წუთის განმავლობაში წყლის აბაზანაზე (35^0-40^{0}C). შემდეგ სინჯარას ათავსებენ ყინულის აბაზანაზე 2 წუთის განმავლობაში და მორევის პირობებში ამატებენ 5 მლ მარილმჟავასა და ფოსფორმჟავას ნარევს. ნარევს შეანჯღრევენ 1 წუთის განმავლობაში და 10 წუთით აცივებენ წყლით (18-20^{0}C). ხსნარი შეიფერება მოწითალო-იისფრად.

ცდა 6. გლიცინის აღმომჩენი ფერადი რეაქცია (ციმერმანის რეაქცია). 2 მლ გლიცინის 0,01%-იან ხსნარს, რომლის pH=8,0-საც მიაღწევენ 10%-იანი ტუტის ხსნარის დამატებით, ამატებენ 0,5 მლ o-ფტალის დიალდეჰიდის წყალხსნარს. ნარევი სწრაფად შეიფერება და ღებულობს ღია მწვანე ფერს. რამდენიმე წუთის შემდეგ გამოილექება მწვანე ფერის ნალექი.

ცდა 7. პროლინის აღმომჩენი ფერადი რეაქცია. ამინომჟავების არსებობის დადგენა შესაძლებელია ორი ყველაზე გავრცელებული რეაგენტის მეშვეობით. კერძოდ, ნინჰიდრინით და იზატინით. პროლინთან ამ ნივთიერებების ურთიერთქმედება ხასიათდება თავისებურებებით.

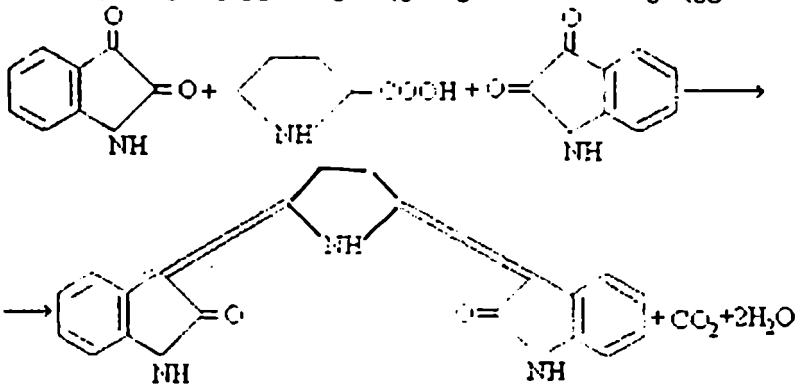
სამუშაო 1. პროლინის და ნინჰიდრინის ურთიერთქმედების ფერადი რეაქცია. 3 მლ პროლინის 0,01%-ან ხსნარს ასხამენ სინჯარაში, ამატებენ 95%-იან აცეტონში გახსნილი ნინჰიდრინის 1%-იან ხსნარს. სინჯარის შემცველობას მოურევენ და აცხელებენ წყლის აბაზანაზე 5 წუთის განმავლობაში (70°C). პროლინისა და ნინჰიდრინის ურთიერთქმედებისას მიმდინარე კონდენსაციის რეაქციის შედეგად ხსნარი იძენს ყვითელ ფერს:



სამუშაო 2. პროლინსა და იზატინს შორის მიმდინარე ფერადი რეაქცია. სინჯარაში შეურევენ ყინულოვან ძმარმჟავაში გახსნილი პროლინის 0,01%-იან ხსნარს და ყინულოვან ძმარმჟავაში გახსნილ იზატინის 0,03% ხსნარს (ამწოვი კარადა).

მიღებული ხსნარი მაშინვე ლურჯად იფერება.

მიმდინარე რეაქცია შეიძლება გამოისახოს შემდეგნაირად:



1. 3. ამინომჟავების თვისებები

ამინომჟავების მთელი რიგი ფიზიკური და ქიმიური თვისებები (ხსნადობა, მარილების წარმოქმნა, ამინოჯგუფებისა და კარბოქსილის ჯგუფების აღმომჩენი რეაქციები) შეისწავლება ორგანული ქიმიის პრაქტიკუმზე. ამიტომ აქ განვიხილავთ მხოლოდ ერთ ქიმიურ რეაქციას, ამინომჟავების ურთიერთქმედებას შაქრებთან, რომელიც საინტერესოა ბიოქიმიური თვალსაზრისით და წარმოადგენს ცოცხალ ბუნებაში მიმდინარე რეაქციის პროტოტიპს.

ცდა 1. არგინინისა და ფრუქტოზას ურთიერთქმედება

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; ლაკმუსის ქაღალდი; ქიმიური სინჯარები; 2,5%-იან ბორისმჟავაში გახსნილი 5%-იანი ფრუქტოზა; ბორის მჟავა (2,5%-ანი); არგინინი (3%-ანი).

სინჯარაში ათავსებენ 2 მლ. ბორის მჟავას 2,5%-იან ხსნარში გახსნილ ფრუქტოზას 5%-იან ხსნარს და ამატებენ 2 მლ. არგინინის 3%-იან ხსნარს. მეორე სინჯარაში ათავსებენ ზემოთ მოცემულ ფრუქტოზას ხსნარის 2 მლ და ამატებენ 2 მლ გამოხდილ წყალს. მესამე სინჯარაში ათავსებენ 2 მლ არგინინის 3%-იან ხსნარს და 2 მლ ბორის მჟავას 2,5%-იან ხსნარს.

სინჯარებს რამდენიმე წუთით ათავსებენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე. ჩაინიშნავენ ყოველ სინჯარაში ფერის შეცვლის დაწყების დროს და ფერის ინტენსივობას.

არგინინის α-ამინოჯგუფი და δ-გუანიდინის დაჯგუფება ურთიერთქმედებს ფრუქტოზას მოლეკულის კარბონილის ჯგუფის ჟანგბადთან. იმ სინჯარაში, რომელშიც მოთავსებული იყო არგინინისა და ფრუქტოზას ნარევი, ხსნარი ღებულობს რუხ წითელ ფერს. რეაქციას აწარმოებენ ბორის მჟავას თანაობისას, რათა არ მოხდეს ფრუქტოზას გაჯირჯვება, რაც შენიღბავს შაქარსა და ამინს შორის მიმდინარე რეაქციას.

1. 4. ამინომჟავების რაოდენობითი განსაზღვრა

ამინომჟავების რაოდენობითი განსაზღვრის მრავალი მეთოდი არსებობს. რიგ შემთხვევაში ერთობლივად საზღვრავენ ცილების ჰიდროლიზატში, ან ბიოლოგიური მასალიდან გამოყოფილ ექსტრაქტებში არსებულ ამინომჟავებს.

თუ ნინჰიდრინისა და ამინომჟავათა ნარევის ფერის სიმკვრივეს გაზომავენ სპეციალურ ხელსაწყოში — კალორიმეტრში და შეადარებენ ცნობილ ამინომჟავათა და ნინჰიდრინის ნარევის შერევისას წარმოქმნილ ფერთა სიმკვრივეს, შესაძლებელი ხდება საკვლევ სინჯში არსებული ამინომჟავების რაოდენობის გამოთვლა.

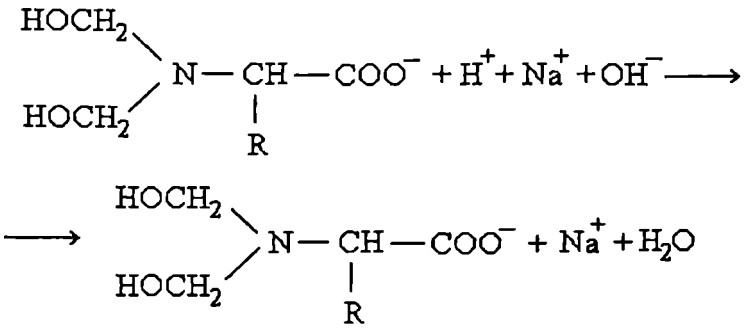
არსებობს ამ მეთოდის მეორე ვარიანტი, რომელიც მდგომარეობს იმაში, რომ ადგენენ ნახშირბადის დიოქსიდის რაოდენობას, რომელიც გამოიყოფა ამინომჟავებისა და ნინჰიდრინის ურთიერთქმედების შედეგად.

გამოყოფილი ნახშირბადის(IV) ოქსიდს ბოჭავენ ზუსტად განსაზღვრული მოცულობის ბარიუმის ჰიდროქსიდის ხსნარით, რომელსაც შემდეგ ტიტრავენ მარილმჟავას ხსნარით, რათა განსაზღვრონ ბარიუმის ჰიდროქსიდის ის რაოდენობა, რომელიც არ შევიდა რეაქციაში ნახშირბადის(IV) ოქსიდთან.

ბარიუმის ჰიდროქსიდის მოცულობების სხვაობის მიხედვით გამოითვლიან ბარიუმის ჰიდროქსიდის რაოდენობას, რომელიც ნახშირბადის(IV) ოქსიდთან შევიდა რეაქციაში, ხოლო მიღებული მონაცემის მეშვეობით ადგენენ კარბოქსილის ჯგუფთა რაოდენობას, შემდეგ კი ამინომჟავების შემცველობას.

ამინომჟავების კარბოქსილის ჯგუფების რაოდენობის დადგენა შესაძლებელია მათი გატიტვრით სპირტის არეში. ვინაიდან ასეთ არეში ამინომჟავები არ განიცდიან დისოციაციას, მოქმედებენ როგორც კარბონმჟავები და მათი გატიტვრა შესაძლებელია ტუტის სპირტხსნარით.

შემუშავებულია აგრეთვე მეთოდი, რომლის მეშვეობით შესაძლებელია ამინომჟავების წყალხსნარების გატიტვრა. იმისათვის, რომ ამ მეთოდის გამოყენებისას ბლოკირებულ იქნეს ამინოჯგუფების დისოციაცია, ამინომჟავებს ამატებენ ფორმალინის ხსნარს, რის შედეგადაც წარმოქმნილი N-დიოქსიმეთილ-ამინომჟავები განიცდიან დისოციაციას და იტიტრებიან, როგორც ჩვეულებრივი კარბონმჟავები.



განხილული მეთოდი ცნობილია ფორმოლური გატიტვრის სახელწოდებით. ამინომჟავების საერთო შემცველობას ხშირად საზღვრავენ ამინოჯგუფების მიხედვითაც. საკმაოდ დიდხანს α-ამინური აზოტის განსაზღვრისათვის გამოიყენებდნენ გაზომეტრულ მეთოდს. მჟავა არეში აზოტოვან მჟავასთან 5 წუთის განმავლობაში ურთიერთქმედების შედეგად მიმდინარეობს დეზამინირების რეაქცია, რის შედეგადაც გამოიყოფა თავისუფალი აზოტი. აზოტის რაოდენობას ზომავენ გაზომეტრული მილის მეშვეობით და იმის გათვალისწინებით, რომ გამოყოფილი აზოტის ნახევარს გამოყოფს ამინომჟავა, ხოლო მეორე ნახევარს ნიტრიტი, გამოითვლიან α-ამინოჯგუფების საერთო კონცენტრაციას ე. ი. ამინომჟავების კონცენტრაციას.

განსაზღვრას აწარმოებენ სპეციალურ ხელსაწყოში, რომელიც ვან-სლაიკის მიერ იყო შემოთავაზებული და ამიტომ მას ეწოდება ვან-სლაიკის მეთოდი, თუმცა ბოლო დროს α-ამინური აზოტის განსაზღვრისათვის გამოიყენება ე. წ. სპილენძის მეთოდი. ამ მეთოდის არსი მდგომარეობს იმაში, რომ α-ამინომჟავები წარმოქმნიან ხსნად კომპლექსნაერთებს სპილენძის(II) იონებთან, რომელთაც შემდეგ იოდომეტრული მეთოდით საზღვრავენ.

ცილების ჰიდროლიზატებში და ბუნებრივ ექსტრაქტებში ამინომჟავების რაოდენობითი განსაზღვრისას ფართოდ გამოიყენებენ ფერად რეაქციებს. ცილებში შემავალი ამინომჟავების უმეტესი ნაწილისათვის ამჟამად ცნობილია ერთი ან რამდენიმე ფერადი რეაქცია, რაც უზრუნველყოფს მოცემული ინდივიდუალური ამინომჟავას განსაზღვრას სხვა დანარჩენი ამინომჟავების თანაობისას. მათ რიცხვს მიეკუთვნება მილონის

რეაქცია (თიროზინის აღმომჩენი), საკაგუჩის რეაქცია (არგინინის აღმომჩენი) და ჰოპკინს-კოლეს რეაქცია (ტრიპტოფანის აღმომჩენი). თუმცა უმეტეს შემთხვევაში ინდივიდუალური ფერადი რეაქციები სპეციფიურნი არ არიან. მაგალითად, საკაგუჩის რეაქცია ახასიათებს გუანიდინის ზოგიერთ წარმოებულს, ხოლო ჰოპკინს-კოლეს რეაქცია — ინდოლის რიგ წარმოებულს. ამიტომ ამინომჟავების რაოდენობით განსაზღვრა ფერადი რეაქციების მეშვეობით ყოველთვის არ არის სანდო.

ამჟამად, ამ მიზნისათვის გამოიყენება ქრომატოგრაფიული მეთოდი, რაც ცალკეული ინდივიდუალური ამინომჟავას მიღებისა და მისი რაოდენობითი განსაზღვრის საშუალებას იძლევა.

ცდა 1. ამინური აზოტის განსაზღვრა სპილენძის მეთოდით

რეაქტივები და ჭურჭელი. ქაღალდის ფილტრები; საზომი კოლბები 25 მლ (2 ცალი); პიპეტები; 1,2 და 10 მლ; სწორი ბიურეტები ონკანით 25 ან 50 მლ; ძაბრები; კონუსირებული კოლბები 100 მლ (4 ცალი); საზომი ცილინდრი ცხვირიანი 10 მლ; სპილენძის (II) ქლორიდის ხსნარი (27,3 გ 1 ლ ხსნარში); ნატრიუმის ფოსფატის ხსნარი (ხსნარის 1 ლ-ში 68,5 გ $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ ან 64,5 გ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ ხსნიან 500 მლ გამოხდილ წყალში, საიდანაც დულილით მოცილებულია CO_2, ამატებენ 7,2 გ NaOH-ს და გამოხდილი წყლით შეავსებენ 1 ლიტრამდე; ბორატის ბუფერული ხსნარი (28,6 გ ნატრიუმის ტეტრაბორატს ხსნიან 750 მლ წყალში, ამატებენ 50 მლ მარილმჟავას 1N ხსნარს და შეავსებენ წყლით 1ლ-მდე (pH=8,8); სპილენძის ფოსფატის სუსპენზია (სპილენძის (II) ქლორიდის 1 მოცულობას შეურევენ ნატრიუმის ფოსფატის ორ მოცულობას და ამატებენ მას ბორატის ბუფერის ორ მოცულობას; სუსპენზიას ამზადებენ უშუალოდ საშუშაოს დაწყების წინ საჭირო მოცულობითი ოდენობით); თიმოლფტალეინი (0,25%-ნი ეთილის სპირტში (50%-ში); 0,1N $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ ხსნარი, რომლის ტიტრი დგინდება 0,01N კალიუმის იოდატის ზუსტი ხსნარის მეშვეობით); სახამებელი (1%-ანი); კალიუმის იოდიდი (10%-ანი); ძმარმჟავა (კონც.); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (0,5N); გლიცინი (1%-ანი).

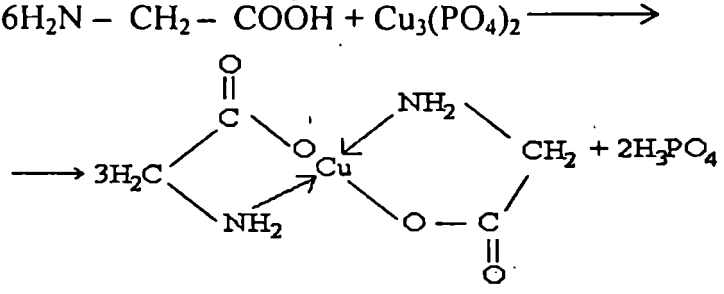
25 მლ-იან საზომ კოლბაში ათავსებენ 2 მლ საკვლევ ხსნარს (1%-იანი გლიცინი), 2 წვეთ თიმოლფტალეინს და წვეთწვეთობი დაამატებენ 0,5N ნატრიუმის ტუტეს ცისფერი

ხსნარის მიღებამდე. ხსნარს (pH=10,2) შემდეგ ამატებენ 10 მლ სპილენძის ფოსფატის სუსპენზიას და მოურევენ. თუ სპილენძის ფოსფატი სრულად შედის რეაქციაში, ადგილი აქვს წარმოქმნილი ნალექის სწრაფ გახსნას, ამიტომ კიდევ ამატებენ 5 მლ სუსპენზიას. ხსნარის მოცულობას შეავსებენ წყლით კოლბის დანაყოფამდე, მრავალჯერ შეანჯღრევენ. სპილენძის ფოსფატის ჭარბი რაოდენობის მოცილების მიზნით გაფილტრავენ ორმაგი ფილტრის ქაღალდში. ფილტრატი უნდა იყოს გამჭვირვალე, რაც მრავალჯერადი გაფილტვრის შედეგად მიიღწევა. ფილტრატიდან პიპეტით ამოიღებენ 10-10 მლ სინჯს და ასხამენ ცალ-ცალკე ორ კონუსურ კოლბაში, შეამჟავებენ 0,4 მლ კონცენტრირებული ძმარმჟავას ხსნარით, ამატებენ 6-8 მლ კალიუმის იოდიდის 10%-იან ხსნარს და გამოყოფილ იოდს ტიტრავენ 0,01N ჰიპოსულფიტის ხსნარით.

ახლადდამზადებული სახამებელის 1-2 მლ-ს (20-40 წვეთი) ამატებენ საკვლევი ხსნარის ყოველ 100 მლ-ზე მაშინ, როდესაც ხსნარი მოყვითალო-ჩალისფერს იძენს. გატიტვრას წყვეტენ მაშინვე, როგორც კი წარმოქმნილი ლურჯი ფერი გაქრება.

საჭიროა აგრეთვე ჩატარდეს საკონტროლო განსაზღვრა, რისთვისაც გლიცინის ნაცვლად იღებენ იგივე მოცულობის წყალს, ხოლო ცდის დანარჩენი მსვლელობა იგივეა, რაც გლიცინის შემთხვევაში. საკონტროლო ხსნარზე დახარჯული ჰიპოსულფიტის რაოდენობას გამოაკლებენ საკვლევ ხსნარზე დახარჯული ჰიპოსულფიტის რაოდენობას.

სპილენძის ხერხით ამინური აზოტის განსაზღვრის პროცესის ქიმიზმი შემდეგში მდგომარეობს: გლიცინი ან სხვა ამინომჟავას ნატრიუმის მარილი ურთიერთქმედებს სპილენძის ფოსფატის სუსპენზიასთან და წარმოიქმნება გლიცინის ან სხვა ამინომჟავას სპილენძის კომპლექსური მარილი, რომელიც ლურჯი ფერისაა:



ფოსფორმჟავა უკავშირდება ბორატის ბუფერს და რეაქცია ბოლომდე მიმდინარეობს.

ჭარბი სპილენძის ფოსფატის მოცილების შემდეგ ფილტრატში რჩება მხოლოდ ამინომჟავების სპილენძის მარილები (გარდა ცისტეინისა, რადგან ცისტეინის სპილენძის მარილი უხსნადია) და აქედან გამომდინარე, ფილტარტში გადასული სპილენძის რაოდენობის დადგენით შესაძლებელია ამინომჟავების შემცველობის განსაზღვრა.

ფილტრატს ამატებენ კონცენტრირებულ ძმარმჟავას, რომელიც სპილენძის მარილიდან გამოაძევებს უფრო სუსტ ამინომჟავას:

$$(H_2N-CH_2-COO)_2Cu + 2CH_3COOH \rightarrow 2H_2N-CH_2-$$
$$-COOH + (CH_3COO)_2Cu$$

მჟავა არეში კალიუმის იოდიდთან წარმოიქმნება იოდწყალბადმჟავა, იგი აღადგენს სპილენძს, რომლის დაჟანგულობის ხარისხია (+2), წარმოიქმნება სპილენძის (I) უხსნადი იოდიდი და თავისუფალი იოდი:

$$2(CH_3COO)_2Cu + 4HI \rightarrow 2CuI + 4CH_3COOH + I_2$$

სუსტ მჟავა არეში ეს პროცესი ბოლომდე მიმდინარეობს სპილენძის იოდიდის უხსნადობის გამო. ამგვარად, გამოყოფილი თავისუფალი იოდის რაოდენობა ამინომჟავა-სპილენძის მარილების ექვივალენტურია.

თავისუფალი იოდის კონცენტრაციას საზღვრავენ გამოყოფილი იოდის გატიტვრით ჰიპოსულფიტის ხსნარით:

$$2Na_2S_2O_3 + I_2 \rightarrow Na_2S_4O_6 + 2NaI$$

ჰიპოსულფიტი ნატრიუმის ტეტრათიონატი

რეაქციის განტოლების შესაბამისად 1 გ-ატომი იოდი შეესაბამება 1 გ-ატომ სპილენძს, რომელიც თავისთავად 2გ-ატომი ამინური აზოტის ანუ 28 გ ამინური აზოტის ექვივალენტურია. მეორეს მხრივ, 1 გ-ატომი იოდი ურთიერთქმედებს 1გ-ექვივალენტ ჰიპოსულფიტთან, ე. ი. ჰიპოსულფიტის 1 გ-ექვივალენტი შეესაბამება 28 გ ამინურ აზოტს. აქედან კი 0,01N ჰიპოსულფიტის ხსნარის 1 მლ. შეესაბამება 0,28 მგ ამინურ აზოტს.

გატიტვრაზე დახარჯული 0,01N ჰიპოსულფიტის რაოდენობისა და 0,28 მგ-ის ნამრავლი (მინუს კონტროლი) იძ-

ლევა საკვლევ ხსნარში (10 მლ) ამინური აზოტის მილიგრამების რაოდენობას.

ამის შემდეგ აწარმოებენ გადათვლას კოლბაში არსებული საკვლევი ხსნარის მოცულობაზე და ადარებენ განსაზღვრული ამინური აზოტის რაოდენობას იმას, რასაც უნდა შეიცავდეს 2 მლ გლიცინის საკვლევი ხსნარი.

ცილები და მათი მიმოცვლა

2. 1. ცილების გამოყოფა, გასუფთავება და ფრაქციონირება

ცილების გამოყოფის და გასუფთავების მრავალი მეთოდი არსებობს — ექსტრაქცია, გამომარილება, ფრაქციონირება სპირტების მეშვეობით, ელექტროფორეზი, ქრომატოგრაფია, გელფილტრაცია, დიალიზი, ელექტროდიალიზი, კრისტალიზაცია. ქვემოთ განვიხილავთ რამდენიმე მარტივ მეთოდს.

ცდა 1. ფიბროინის გამოყოფა აბრეშუმის ჭიის პარკიდან. *რეაქტივები და ჭურჭელი.* საშრობი კარადა; ქიმიური მინის მაღალი ჭიქები 100 მლ; ქიმიური სინჯარები; საათის მინა; მინის წკირები; აბრეშუმის ჭიის პარკი; კარბონატულ-ჰიდროკარბონატული ბუფერული ნარევი; სპილენძის სულფატი (1%-იანი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-იანი).

აბრეშუმის ჭიის პარკი აგებულია უწყვეტი ძაფისგან, რომლის სიგრძე დაახლოებით 1 კმ-ის ტოლია. ძაფის შიდა ნაწილი შედგება ფიბროინისგან, რომელიც ფიბრილურ ცილას წარმოადგენს, ხოლო ზედაპირი აგებულია ცილა-სერიცინისგან, რომლის მეშვეობით ხორციელდება ძაფის ცალკეული ნაწილების ურთიერთშეწებება, რის შედეგად პარკი ინარჩუნებს მისთვის დამახასიათებელ ფორმას. ფიბროინისგან განსხვავებით სერიცინი კარგად იხსნება წყალში, განსაკუთრებით კი სუსტ ტუტის ხსნარებში. ამიტომ ფიბროინის გამოყოფა სუფთა სახით შეიძლება ადვილად განხორციელდეს. კერძოდ, აბრეშუმის ჭიის პარკის გაცხელების შედეგად მიმდინარეობს სერიცინის გახსნა და ჩამოცილება.

აბრეშუმის ჭიის პარკს წონიან ანალიზურ სასწორზე (პარკიდან წინასწარ უნდა იქნეს ამოღებული ჭია) და ათავსებენ 100 მლ-იან ჭიქაში, რომელსაც ამატებენ 50 მლ კარბონატ-ჰიდროკარბონატულ ბუფერულ ხსნარს (ნატრიუმის კარბონატისა და ჰიდროკარბონატის 0,5M ხსნარების ტოლი მოცულობების ნარევი).

ჭიქის შემცველობას ადუღებენ 30 წუთის განმავლობაში. სითხის ნაწილი გადააქვთ სინჯარაში და ბიურეტის სინჯის მეშვეობით ადგენენ ხსნარში არსებული ცილა-სერიცინის არსებობას. დანარჩენ სითხეს გადაწურავენ და გადაასხამენ. ფიბ-

როინს ჩარეცხავენ გამოხდილი ცხელი წყლით სამჯერ, ათავსებენ საათის მინაზე და გამოაშრობენ საშრობ კარადაში (60°C). გაცივების შემდეგ ფიბროინს წონიან ანალიზურ სასწორზე. გამოითვლიან ფიბროინისა და სერიცინის პროცენტულ შემცველობას აღებულ ნიმუშში.

ცდა 2. კრისტალური ალბუმინის გამოყოფა კვერცხის ცილიდან.

რეაქტივები და ჭურჭელი. საზომი ცილინდრები 50 მლ და 100 მლ; მინის ძაბრები; მინის წკირები; ბუნზენის კოლბა (კოლბა, რომელშიც ხსნარი იფილტრება ვაკუუმის ქვეშ) ბიუხნერის ძაბრით; ქიმიური ლაბორატორიული ჭიქა 50 მლ; ფილტრის ქაღალდი; უნივერსალური ინდიკატორის ქაღალდი; ორი ახალი კვერცხი; ამონიუმის სულფატი (ნაჯერი); ამონიუმის სულფატი (ფხვნილი); ძმარმჟავა (4%-ანი).

ქათმის ორი კვერცხის ცილას ათავსებენ 100 მლ-იან, მილესილსაცობიან საზომ ცილინდრში. ამატებენ წინასწარ დამზადებული ტოლი მოცულობის ამონიუმის სულფატის ნაჯერ ხსნარს (1 ლ წყალს აცხელებენ წყლის აბაზანაზე და მასში ხსნიან 757 გ მარილს), მოარგებენ საცობს და შეანჯღრევენ.

ამონიუმის სულფატით ნაწილობრივი გაჯერების შედეგად გამოილექება გლობულინები, რომელსაც ფილტრავენ დაკეცილ ფილტრის ქაღალდში. გაფილტვრას აწარმოებენ ნაკლები მოცულობის საზომ ცილინდრში. გამჭვირვალე ფილტრატს ამატებენ ამონიუმის სულფატის ფხვნილს (ვარაუდით ყოველ 100 მლ ხსნარზე 13,5 გ მარილი), მოურევენ მინის წკირით მარილის კრისტალების სრულ გახსნამდე. სრული გახსნის შედეგად მიიღება ამონიუმის სულფატის 70%-იანი ხსნარი, რომელშიც გამოილექება ალბუმინი. ფილტრავენ ბიუხნერის ძაბრში. ნალექს ფრთხილად მოაცილებენ ფილტრს, ათავსებენ 50 მლ-იან ქიმიურ ჭიქაში და ამატებენ მცირე რაოდენობით წყალს. მიღებულ ხსნარს წვეთობით, მორევის პირობებში ამატებენ 4%-იანი ძმარმჟავას ხსნარს და მიღებული ხსნარის pH-ს საზღვრავენ უნივერსალური ქაღალდის ინდიკატორის მეშვეობით. როგორც კი ხსნარის pH მიაღწევს 4,7-4,8, ხსნარს თანდათან ამატებენ ამონიუმის სულფატის ნაჯერ ხსნარს, ჭიქის განუწყვეტელი შენჯღრევით. ამონიუმის სულფატის დამატებას შეწყვეტენ მაშინვე, როგორც კი ხსნარი შეიმღვრევა. ჭიქას აფარებენ სუფთა მინას

და ათავსებენ მაცივარში. მეორე დღეს ან უფრო მოგვიანებით შეიმჩნევა კვერცხის ალბუმინის გამოკრისტალება.

ცდა 3. ალბუმინებისა და გლობულინების ურთიერთდაცილება გამომარილებისა და დიალიზის მეთოდით

რეაქტივები და ჭურჭელი. ფაიფურის როდინი; მინის ძაბრი; ლაბორატორიული მინის ჭიქა – 1ლ; კოლოდიენის პარკი დიალიზისათვის; დოლბანდის ნაჭერი; ქაღალდის ფილტრები; ნატრიუმის ქლორიდი (10%-ანი); ვერცხლის ნიტრატი (1%-ანი); ამონიუმის სულფატი; ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი); სპილენძის სულფატი (1%-ანი); ამონიუმის სულფატი (ნაჯერი); კუნთოვანი ქსოვილი.

ალბუმინები და გლობულინები ყველაზე გავრცელებული ბუნებრივი ცილებია. ჩვეულებრივად ეს ცილები ერთად გვხვდება და მათი ურთიერთდაცილების მეთოდს საფუძვლად უდევს მათი განსხვავებული ხსნადობა წყალში და გამომარილების განსხვავებული უნარი სხვადასხვა მინერალური მარილების მოქმედებისას.

ალბუმინები წყალში ხსნადი ცილებია და იხსნებიან აგრეთვე მარილების ნაჯერ ხსნარებში (ილექებიან მხოლოდ 50%-ზე ზევით გაჯერებულ მარილწყალხსნარში), გლობულინები კი იხსნებიან მარილთა საშუალო კონცენტრაციის ხსნარებში (8-15%). უფრო მეტი ან ნაკლები კონცენტრაციების შემცველ მარილთა წყალხსნარში გლობულინების ხსნადობა მცირდება.

ცილის მარილხსნარის გამონაწვლილის მიღება. 10 გ კუნთის ქსოვილს აქუცმაცებენ (ატარებენ ხორცის საკეპ მანქანაში), ათავსებენ როდინში, ამატებენ მას 40-50 მლ. ნატრიუმის ქლორიდის 10%-იან ხსნარს და დააყოვნებენ 10-15 წუთის განმავლობაში. წარმოიქმნება ერთგვაროვანი მასა, რომელსაც ფილტრავენ ორმაგ დოლბანდში. ფილტრატის პირველი წვეთები მღვრიეა, მას კვლავ აბრუნებენ ფილტრში და ფილტრავენ გამჭვირვალე ფილტრატის მიღებამდე. გაფილტვრა ნელა მიმდინარეობს. მიიღება 15-20 მლ მოვარდისფერო-წითელი ფერის ხსნარი. მიღებული ფილტრატი წარმოადგენს ცილის მარილხსნარის გამონაწვლილს, შეიცავს გლობულინებს და ალბუმინებს, რომელთა ურთიერთდაცილება შესაძლებელია დიალიზის ან გამომარილების მეთოდით.

კუნთოვანი ქსოვილის მარილის გამონაწვლილის დიალიზი. დიალიზის მეთოდს საფუძვლად უდევს ის, რომ ცილის მსხვილი ნაწილაკები ვერ გადადიან ნახევრადგამტარ მემბრანაში (ხელოვნური კოლოიდური ან ცილოვანი მემბრანები და ბუნებრივი ცხოველური ან მცენარეული აპკი) მაშინ, როცა სხვა მოლეკულები და იონები იოლად გააღწევენ აღნიშნულ მემბრანებში. დიალიზის მეთოდს გამოიყენებენ მაღალმოლეკულური ნაერთების ხსნარების გასაწმენდად სხვა მარილებისა და ნივთიერებებისაგან. ცილის ხსნარს, რომელიც ასეთი მეთოდით არის გაწმენდილი, დიალიზური ეწოდება.

ხელსაწყოებს, რომლებსაც გამოიყენებენ დიალიზისათვის დიალიზატორები ეწოდებათ. უმარტივეს დიალიზატორს წარმოადგენს ცელოფანის ან კოლოდიენის პარკი, რომელსაც ათავსებენ გამოხდილი წყლით სავსე ჭიქაში. სრული და სწრაფი დიალიზისათვის ჭიქაში ატარებენ გამდინარე წყალს ან ხშირად ცვლიან მას.

დიალიზატორის დამზადება. გამოჭრიან მრგვალი ფორმის 9-12 სმ დიამეტრის ცელოფანს, რომლის კიდეების დაკეცვით მიიღებენ პარკს. მის ხვრელში ათავსებენ მინის მილს (სიგრძე 5-10 სმ, დიამეტრი 0,5-0,8 სმ) ისე, რომ მილის ზედა ბოლო ამოწეულია პარკიდან 2-3 სმ-ით, ხოლო პარკში ჩაშვებული ბოლო კი პარკის 1/3 ნაწილში უნდა იყოს მოთავსებული. პარკს მჭიდროდ დაამაგრებენ მილზე მსხვილი ძაფით. სამუშაოს დაწყებამდე დიალიზატორს ავსებენ გამოხდილ წყლით, დამჭერის მეშვეობით ჩაუშვებენ წყლიან ჭიქაში. პარკი არ უნდა ეხებოდეს ჭიქის კედლებსა და ფსკერს. სამუშაოს დაწყების წინ პარკიდან წყალს გადმოასხავენ.

დიალიზატორში ათავსებენ ძაბრს, უმატებენ ცილის მარილხსნარის გამონაწვლილის ფილტრატს (10 მლ-ს) და პარკს ათავსებენ ლიტრიან ჭიქაში, რომელშიც გამოხდილი წაყლია. 5-10 წუთის შემდეგ ჭიქიდან ამოიღებენ წყალს პიპეტით და ამოწმებენ ქლორიონების არსებობას Ag^+ ნიტრატის ხსნარით, ხოლო ცილის არსებობის დასადგენად ატარებენ ბიურეტის და მილონის რეაქციებს. ჭიქაში წყალს ცვლიან და აგრძელებენ დიალიზს, დროდადრო ამოწმებენ ქლორიონების და ცილების არსებობას წყალში და წყალს ცვლიან ყოველ 5-10 წუთში. 1,5-2 საათის შემდეგ ქლორიონთა რაოდენობა წყალში მცირდება, რაც მიუთითებს დიალიზის დასრულებაზე. დიალიზატორიდან მარილი თითქმის სრულად გადავიდა გამხსნელში, ანუ მოხდა მარილის თითქმის სრული დიფუზია.

პარკში მოთავსებული გამჭვირვალე ფილტრატი თანდათან შეიმღვრევა, რაც გამოწვეულია წყალში უხსნადი გლობულინების გამოლექვით. პარკს ამოიღებენ ჭიქიდან და მის შემცველობას ფილტრავენ. ფილტრის ქაღალდზე რჩება გლობულინები, ხოლო ფილტრატში გადადიან ალბუმინები. ბიურეტის რეაქციის ჩატარებით ადასტურებენ ორივე ცილის არსებობას ფილტრატში და ნალექში.

ალბუმინების დასალექად ფილტრატს ამატებენ ამონიუმის სულფატის ფხვნილს ხსნარის გაჯერებამდე. ასეთ პირობებში გამოილექება ალბუმინები, რასაც ფილტრავენ ფილტრის ქაღალდში. ამონიუმის სულფატით სრული გაჯერების შედეგად ხსნარში ცილა აღარ რჩება, რასაც ადასტურებენ ბიურეტის რეაქციის მეშვეობით.

კუნთის ქსოვილის ცილების გამომარილება. ცილების მარილხსნარის გამონაწვლილში ალბუმინებისა და გლობულინების ურთიერთდაცილება შესაძლებელია აგრეთვე გამომარილების მეთოდით, რომლის საფუძველს წარმოადგენს ცილების უნარი გამოილექონ სხვადასხვა კონცენტრაციის მარილთა წყალხსნარებში. კუნთის ქსოვილიდან მიღებულ ცილის მარილხსნარის გამონაწვლილს ამატებენ ამონიუმის სულფატის ნაჯერი ხსნარის ტოლ მოცულობას. გამოილექებიან გლობულინები. ხსნარს გადაფილტრავენ და ფილტრატს აჯერებენ ამონიუმის სულფატით. გამოილექება ალბუმინები.

2. 2. ცილების თვისებითი რეაქციები

ცილების აღმომჩენ თვისებით მეთოდებს საფუძვლად უდევს ორი ტიპის რეაქცია: ა) ცილის მოლეკულაში არსებული პეპტიდური ჯგუფების აღმოჩენა ბ) ამინომჟავების რადიკალების აღმოჩენა.

პირველი ტიპის რეაქციის მაგალითს წარმოადგენს ბიურეტის რეაქცია. მეორე ტიპის რეაქციების მაგალითებს წარმოადგენენ ამინომჟავების რადიკალების აღმომჩენი მრავალი ფერადი რეაქციები, რასაც წინა სამუშაოში უკვე გავეცანით. ხოლო დანარჩენ რეაქციებს, ქვემოთ განვიხილავთ. ასევე გავეცნობით ცილების ხსნარების დამზადებას თვისებითი რეაქციების ჩასატარებლად.

მეორე ტიპის ფერად რეაქციათა ბუნებიდან გამომდინარე შესაძლებელია ცილის შედგენილობაზე ზოგადად მსჯელობა.

რეაქტივები და ჭურჭელი. შემანჯღრეველი; ცენტრიფუგა; წყლის აბაზანა; ლაბორატორიული თერმომეტრი; მადუღარები; ფილტრის ქაღალდი; დოლბანდი; კონუსური კოლბები 250 მლ-ანი; ქიმიური სინჯარები; გრადუირებული პიპეტი – 10 მლ; ლაბორატორიული ქიმიური ჭიქები 100 მლ და 250 მლ; მინის ძაბრები; ლაკმუსის ქაღალდი; ახალი კვერცხი; საქონლის ახალი ხორცი; რძე; პურის ფქვილი; აბრეშუმის ჭიის პარკი; ნატრიუმის ქლორიდი (10%-ანი); ამონიუმის სულფატი (ნაჯერი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი და 30%-ანი); სპილენძის სულფატი (1%-ანი); 95%-იან აცეტონში გახსნილი 1%-იანი ნინჰიდრინი; α-ნაფტოლი (0,2%-იანი სპირტხსნარი); ნატრიუმის ჰიპობრომიდი (იხ. დანართი) მილონის რეაქტივი (იხ. დანართი); ყინულოვანი ძმარმჟავა; გოგირდმჟავა, მარილმჟავა, აზოტმჟავა (კონც.); ჟელატინი (ხსნარი); გლიოქსილის მჟავა (იხ. დანართი); ფორმალდეჰიდი (2,5%-ანი); ნატრიუმის ნიტრიტი (0,05%-ანი და 0,5%-ანი); სულფანილის მჟავა (1%-ანი); ნატრიუმის კარბონატი (10%-ანი); მარილმჟავა (5%-ანი); ნატრიუმის ნიტროპრუსიდი (5%-ანი); ამიაკი (კონც.); ნატრიუმის პლუმბიტის ხსნარი (1 მლ ტყვიის აცეტატს წვეთობით ამატებენ ტუტის ხსნარს, წარმოქმნილი ნალექის – ტყვიის ჰიდროქსიდის სრულ გახსნამდე); პიკრინმჟავა (გაჯერებადი); ტრის-გლიცინის ბუფერი (pH=8,6); (ტრის-გლიცინის ბუფერის (pH=8,6) დასამზადებლად იღებენ 6,0 გ ტრიოქსიმეთილამინომეთანს (ტრის) და 28,8 გ გლიცინს, ხსნიან წყალში და მოცულობას შეავსებენ 1 ლ-მდე გამოხდილი წყლით); ნატრიუმის კარბონატი.

ქათმის კვერცხის განუზავებელი ცილა. სამი კვერცხის გულს მოაცილებენ ცილას. თუ ჩავთვლით, რომ კვერცხის ცილის მასა საშუალოდ 33 გ-ის. ტოლია (გული – 19 გ). მიიღება დაახლოებით 100 მლ. ქათმის კვერცხის ცილის განუზავებელი ხსნარი. ეს ხსნარი შეიცავს დაახლოებით 88% წყალს, 1% ნახშირწყლებს და 0,5% მინერალურ ნივთიერებებს; დანარჩენი კი ცილაა. ამგვარად, მიღებული ქათმის კვერცხის განუზავებელი ცილა წარმოადგენს დაახლოებით ცილის 10%-იან ხსნარს.

კვერცხის ალბუმინის განზავებული ხსნარი. ქათმის ერთი კვერცხის გულს მოაცილებენ ცილას. ცილას კარგად ათქვეფენ და ათავსებენ კოლბაში, შეანჯღრევენ და შენჯღრევისას ამატებენ 10-ჯერ მეტი მოცულობით გამოხდილ წყალს. მიღებულ ხსნარს ფილტრავენ ძაბრში ჩაფენილ ორმაგ დოლბანდში. კვერცხის ალბუმინი გაიფილტრება, ხოლო გლობულინი რჩება ნალექში. გამომდინარე იქიდან, რომ ქათმის კვერცხის ცილაში ალბუმინის კონცენტრაცია დაახლოებით 6%-ის

ტოლია, მიღებული განზავებული ხსნარი წარმოადგენს ალბუმინის 0,5%-იან ხსნარს.

ხორცის ცილა. ჭიქაში ათავსებენ ხორცის მანქანაში გატარებულ 40-50 გ დაკეპილ უცხიმო ხორცს, ამატებენ 80-100 მლ ნატრიუმის ქლორიდის 10%-იან ხსნარს, ნარევს აყოვნებენ 15-20 წუთის განმავლობაში და ხშირად მოურევენ. ფილტრავენ დაკეცილ ფილტრის ქაღალდში ან ორმაგ დოლბანდში. ფილტრატი ძირითადად შეიცავს კუნთის ალბუმინს და გლობულინს.

რძის ცილა. 50 მლ ახალ რძეს ამატებენ ამონიუმის სულფიტის ნაჯერი ხსნარის ტოლ მოცულობას. გამოილექება გლობულინები და კაზეინი. დაკეცილი ქაღალდის ფილტრში ფილტრავენ ალბუმინებს.

მცენარეული ალბუმინი. 25 გ პურის ფქვილს ამატებენ 100 მლ გამოხდილ წყალს და ნარევს ანჯღრევენ 1 საათის განმავლობაში. მიღებულ ნარევს ათავსებენ ცენტრიფუგაში და ცენტრიფუგირების შემდეგ გადაფილტრავენ დაკეცილ ფილტრის ქაღალდში. გამჭვირვალე ფილტრატი შეიცავს ძირითადად ხორბლის მარცვლების ალბუმინებს.

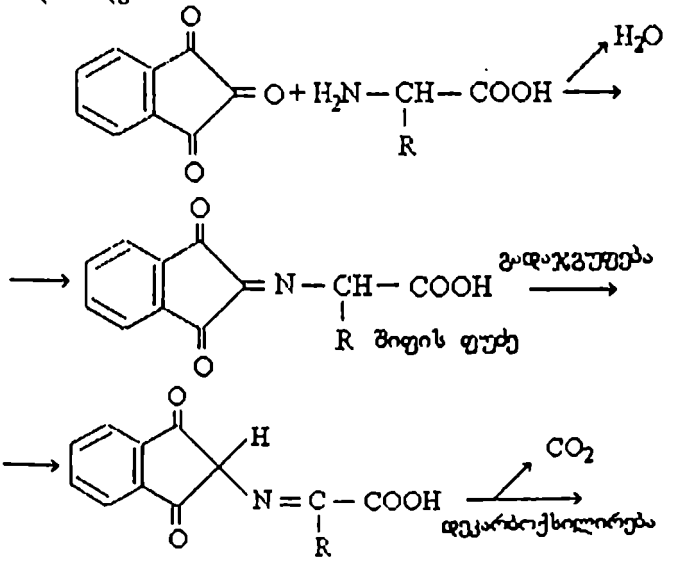
აბრეშუმის ჭიის პარკის შემადგენლობაში შემავალი ცილები. 10 გ აბრეშუმის ჭიის პარკს დასრესენ როდინში, აცივებენ მშრალი ყინულისა და აცეტონის ნარევით ან თხევადი აზოტით. ჰომოგენატს ამატებენ 10 მლ ტრის-გლიცინის ბუფერს (pH=8,6) და აგრძელებენ სრესას კიდევ 10 წუთის განმავლობაში. ექსტრაქტი გადააქვთ ცენტრიფუგის გაცივებულ სინჯარებში და აცენტრიფუგირებენ 20 წუთის განმავლობაში 15000g (ტემპერატურა - 4^0 – 0^0C). ნალექის ზედაპირზე დაგროვილი სითხე შეიცავს დაახლოებით 0,75% ცილას. მისი განზავებით 2-3 ჯერ, მიიღება ხსნარი, რომელიც შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ცხოველური ქსოვილების შემცველი ცილების ფრაქციონირების ცდის ჩასატარებლად.

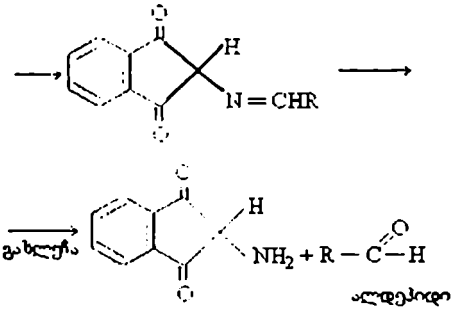
ცდა 1. ცილის მოლეკულებში პეპტიდური ჯგუფების აღმოჩენა (ბიურეტის რეაქცია). განზავებული ცილის ხსნარის 1-2 მლ-ს, მორევის პირობებში, ამატებენ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 30%-იან ხსნარს ორმაგი მოცულობის ოდენობით და 2-3 წვეთ სპილენძის სულფატის 1%-იან ხსნარს. ხსნარი შეიფერება და იძენს მოწითალო-იასამნის ფერს. ცილის მცირე რაოდენობის შემთხვევაში რეაქციის მგრძნობელობა შეიძლება გაიზარდოს, თუ საკვლევ ხსნარს დაემატება

სპილენძის სულფატის 1%-იანი ხსნარის 1 მლ. დაფენების შემდეგ ორი ფენის ზღვარზე წარმოიქმნება იასამნისფერი რგოლი, რაც მეტყველებს პეპტიდური ჯგუფის (–CO–NH–) არსებობაზე.

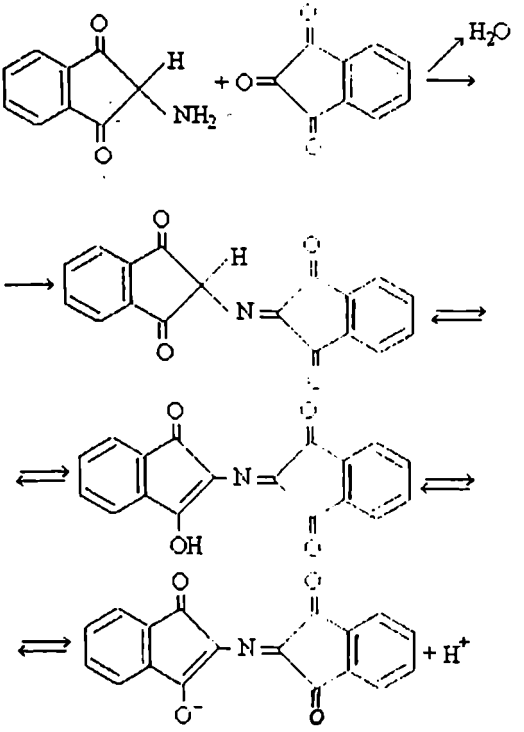
ცდა 2. ნინჰიდრინის რეაქცია. განზავებული ცილის 2-3 მლ ხსნარს ამატებენ 3-4 წვეთ აცეტონის 95%-იან ხსნარში გახსნილ ნინჰიდრინის 1%-იან ხსნარს. მოურევენ და რამდენიმე წუთით ათავსებენ წყლის აბაზანაზე (70°C). ხსნარი შეიფერება მოლურჯო-იისფრად, რაც მეტყველებს იმაზედ, რომ საკვლევი სინჯი შეიცავს α-ამინომჟავებს.

პირველ ეტაპზე ამინომჟავასა და ნინჰიდრინის ურთიერთქმედების შედეგად წარმოიქმნება შიფის ფუძე, რომელიც განიცდის შემდგომ გადაჯგუფებას, დეკარბოქსილირებას და იხლიჩება, რის შედეგადაც მიიღება ალდეჰიდი და ამინოდიკეტოჰიდრინდენი.



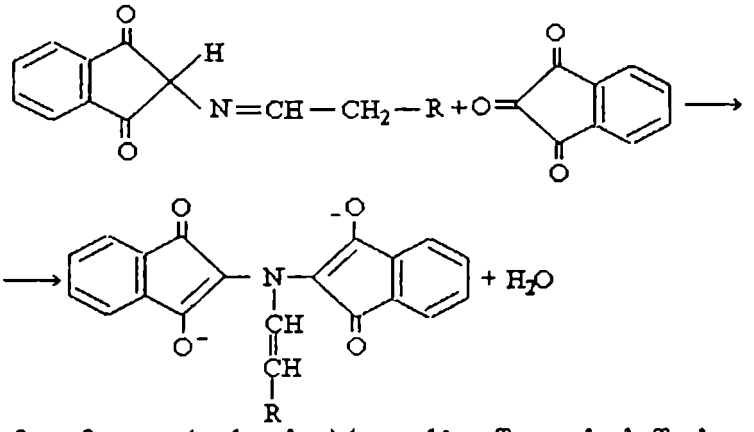


ამინოდიკეტოჰიდრინდენი კონდენსირდება ნინჰიდრინის კიდევ ერთ მოლეკულასთან, წარმოქმნილი ნაერთი ენოლიზაციის შედეგად შეიფერება და მას ეწოდება „რუემანის ლურჯი-იისფერი", იმ მკვლევარის სახელი, ვის მიერაც იყო რეაქცია შესწავლილი 1910 წელს.



რუემანის ლურჯი-იისფერი.

ორგანული გამხსნლების თანაობისას (აცეტონი, ეთანოლი, პირიდინი და სხვა), რომელთაც გამოიყენებენ ნინჰიდრინის ხსნარის დასამზადებლად, მიმდინარეობს რეაქცია:



მოცემული რეაქციის პროდუქტი შეიცავს საწყისი ამინომჟავას რადიკალს (R), რაც განპირობებულია ამინომჟავებისა და ნინჰიდრინს შორის მიმდინარე რეაქციის შედეგად მიღებული განსხვავებული შეფერილობის მქონე (წითელი, ცისფერი და ა. შ.) ნაერთების წარმოქმნით.

ამჟამად ნინჰიდრინის რეაქცია ფართოდ გამოიყენება ცალკეული ამინომჟავების აღმოსაჩენად და მათი რაოდენობითი განსაზღვრისათვის.

ცდა 3. ქსანტოპროტეინის რეაქცია. 1 მლ ცილის ხსნარს ამატებენ კონცენტრირებული აზოტმჟავას 5-6 წვეთს თეთრი ფერის ნალექის ან მღვრიე, აჭრილი ცილის წარმოქმნამდე. გაცხელებისას ხსნარი და ნალექი ყვითლად შეიფერება, ნალექი კი სრულად იხსნება.

მჟავა რეაქციის მქონე ნარევს აცივებენ და ფრთხილად, შეუნჯღრევლად, წვეთობით ამატებენ ამონიუმის ჰიდროქსიდის კონცენტრირებულ ხსნარს ჭარბი რაოდენობით, ან ამატებენ ტუტეს, ტუტე რეაქციამდე.

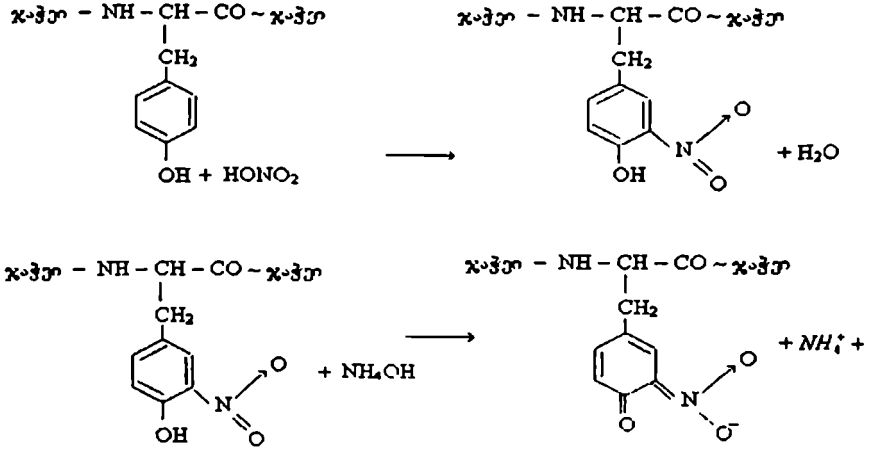
თავდაპირველად წარმოიქმნება ნალექი, რომელიც წარმოადგენს მჟავა ალბუმინატს, სწრაფად იხსნება და ხსნარი შეიფერება ნარინჯისფრად.

ქსანტოპროტეინის რეაქცია ახასიათებთ იმ ცილებს, რომლებიც შეიცავენ არომატული ამინომჟავების ნაშთებს (ფენილალანინი, თიროზინი და ტრიპტოფანი).

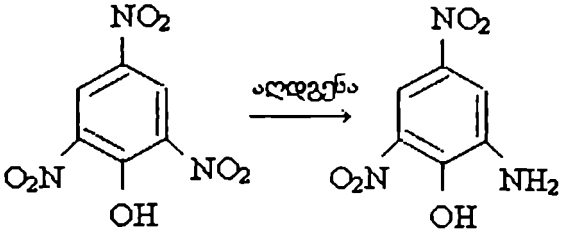
ქსანტოპროტეინის რეაქცია არ ახასიათებს, მაგალითად, ჟელატინს, რომელიც არ შეიცავს არომატული ამინომჟავების ნაშთებს.

არომატული ამინომჟავების რადიკალების ნიტრირების რეაქციის შედეგად წარმოიქმნება ყვითელი ფერის ნიტრონაერთები. ტუტე არეში ყვითელი ფერი გადადის ნარინჯისფერში, რასაც განაპირობებს ქრომოფორული ჯგუფის წარმოქმნა.

განვიხილოთ თიროზინის რადიკალის მიხედვით ქსანტოპროტეინის რეაქციის მექანიზმი.

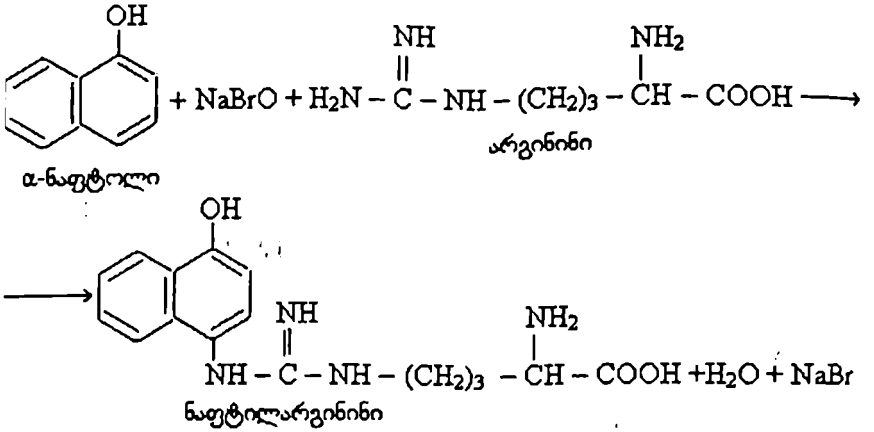


ცდა 4. რეაქცია პიკრინმჟავასთან. 2 მლ ცილის განზავებულ ხსნარს ამატებენ 0,5 გ ნატრიუმის კარბონატს, ამატებენ 1 მლ პიკრინმჟავას ნაჯერ წყალხსნარს, მოურევენ და აცხელებენ სპირტქურაზე რამდენიმე წუთის განმავლობაში. ხსნარის ყვითელი ფერი თანდათან წითელ ფერში გადადის, რაც განპირობებულია პიკრინმჟავას აღდგენით, რის შედეგადაც წარმოიქმნება პიკრამინის მჟავა

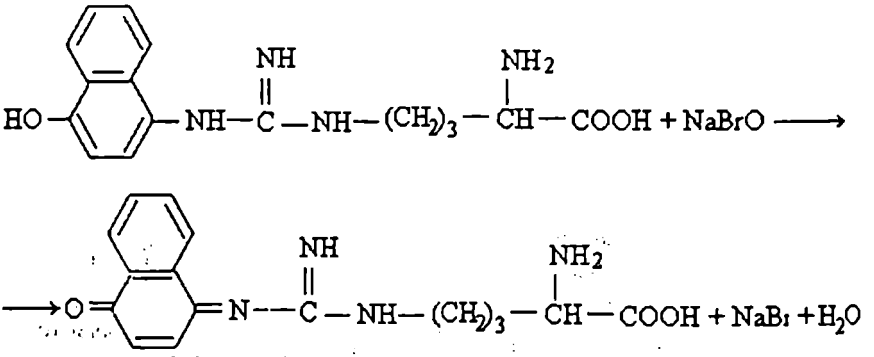


ფიქრობენ, რომ პიკრინმჟავას აღდგენა და პიკრამინის მჟავად გარდაქმნა ხორციელდება დიკეტოპიპერაზინული დაჯგუფების ხარჯზე, რომელთა წარმოქმნა შესაძლებელია იმ ამინომჟავების კონდენსაციის შედეგად, რომლებიც ტუტე არეში დუღილის დროს გამონთავისუფლდებიან ცილის მოლეკულებიდან და აგრეთვე ცილებში არსებული HS-ჯგუფების ხარჯზე. ამასთანავე პიკრინმჟავას აღდგენა შეიძლება მოხდეს ამინომჟავების, მონოსაქარიდების და ზოგიერთ ცილაში შემავალი ნორმალური ინგრედიანტების სახით (ცნობილია, რომ მრავალ ცილაში აღმოჩენილია ნახშირწყლები). ამიტომ ცილის აღმომჩენი მოცემული რეაქცია ნაკლებად სპეციფიკურია.

ცდა 5. საკაგუჩის რეაქცია. 2-3 მლ ცილის განზავებულ ხსნარისა და 1 მლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 10%-იან ხსნარის ნარევს სწრაფად, მორევის პირობებში, ამატებენ α-ნაფტოლის 0,2%-იან სპირტხსნარის რამდენიმე წვეთს და ნატრიუმის ჰიპობრომიდის ხსნარის 0,5 მლ-ს. ხსნარი მოწითალო-ნარინჯისფრად შეიფერება. ხსნარის შეფერილობას განაპირობებს ცილის მოლეკულაში არსებული არგინინის რადიკალის შემცველი გუანიდინის ჯგუფისა და α-ნაფტოლის ურთიერთქმედება მჟავა არეში. რეაქციის მექანიზმი შემდეგია: დამჟანგავის თანაობისას α-ნაფტოლი უერთდება ჯერ არგინინის შემცველი გუანიდინის ჯგუფს:



ნაფტილარგინინის შემდგომი დაჟანგვის შედეგად წარმოიქმნება ქინონიმინის ტიპის ნაერთი:



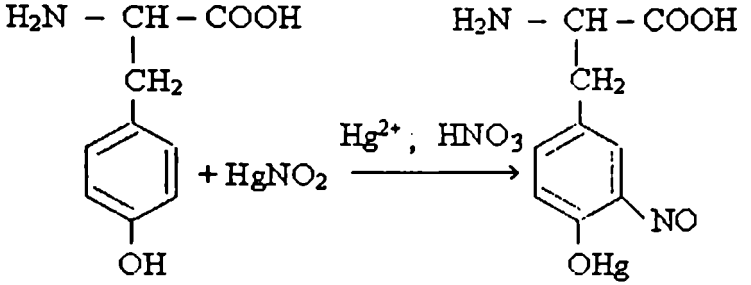
საკაგუჩის რეაქციის მიმდინარეობისას ხსნარის მოყვითალო-წითელი ფერის წარმოქმნა აიხსნება ნაფტოქინონიმინის წარმოებულის წარმოქმნით, რადგან ქინონიმინის წარმოებული (მოცემულ შემთხვევაში ნაფტოქინონიმინი), რომლის იმინოჯგუფის წყალბადი ჩანაცვლებულია ალკილის და არილის რადიკალით ყოველთვის მოყვითალო-წითელი ფერის არის. არ არის გამორიცხული აგრეთვე უფერო რთული ნაერთის წარმოქმნის ალბათობა გუანიდინის ნაშთის დარჩენილი NH-ჯგუფებისა და α-ნაფტოლის ბენზოლის ბირთვის დაჟანგვის ხარჯზე.

ცდა 6. მილონის რეაქცია. 0,5-1 მლ განუზავებელ კვერცხის ცილას ამატებენ ორმაგი მოცულობის მილონის რე-

აქტივს. ცილა აიჭრება მილონის რეაქტივში შემავალი ვერცხლისწყლის მარილების და აზოტმჟავას მოქმედების შედეგად და წარმოიქმნება თეთრი ფერის ნალექი. სინჯარის შემცველობას აცხელებენ სპირტქურაზე. ნალექი შეიფერება მოწითალო-აგურისფრად.

მილონის რეაქცია დამახასიათებელია ყველა იმ ცილისათვის, რომელიც შეიცავს თიროზინის ნაშთს.

რეაქცია მიმდინარეობის შემდეგი სახით



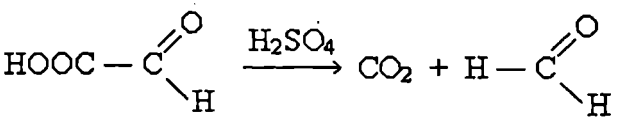
თიროზინი

ნიტროაზოთიროზინის ვერცხლისწყლის ნაერთი.

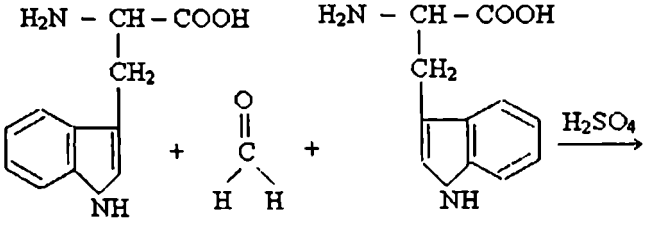
ცდა 7. ადამკევიჩის რეაქცია. სინჯარაში ათავსებენ განუზავებელი ცილის რამდენიმე წვეთს, 2 მლ ყინულოვან ძმარმჟავას და მცირე რაოდენობით გლიოქსილის მჟავას. ნარევს ოდნავ შეათბობენ მანამდე, სანამ არ გაიხსნება წარმოქმნილი ნალექი. სინჯარაში არსებულ ნარევს გააცივებენ და დახრილ მდგომარეობაში ფრთხილად, ნელ-ნელა ამატებენ 1 მლ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავას, რომელიც სინჯარის კედელზე უნდა ჩაედინებოდეს, რათა სითხეების შერევა არ მოხდეს.

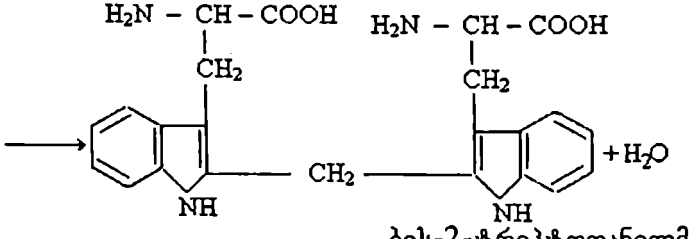
დაყოვნებისას ორი სითხის შეხების ზღვარზე წარმოიქმნება მოწითალო-იისფერი რგოლი. შეფერილობა წარმოიქმნება ტრიპტოფანსა და გლიოქსილის მჟავას ურთიერთქმედების შედეგად. ამ უკანასკნელს ყოველთვის შეიცავს ძმარმჟავა მინარევის სახით.

განხილული რეაქცია ახასიათებს ამინომჟავა ტრიპტოფანს, კერძოდ ამ რეაქციის მსვლელობისას ტრიპტოფანი განიცდის კონდენსაციას ფორმალდეჰიდთან, რომელიც გამოიყოფა გლიოქსილის მჟავადან მასზე კონცენტრირებული გოგირდმჟავას მოქმედების შედეგად:



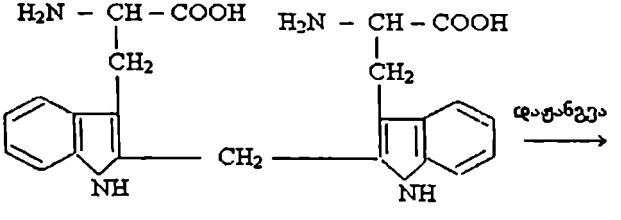
გლიოქსილის მჟავა ფორმალდეჰიდი

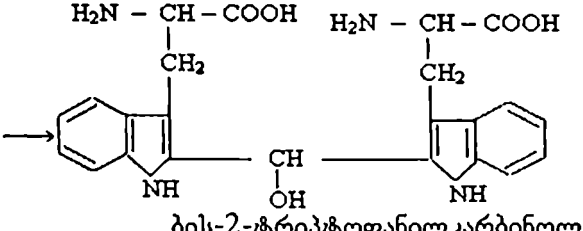




ბის-2-ტრიპტოფანილმეთანი

კონდენსაციის პროდუქტი იჟანგება და წარმოიქმნება ბის-2-ტრიპტოფანილკარბინოლი:





ბის-2-ტრიპტოფანილკარბინოლი

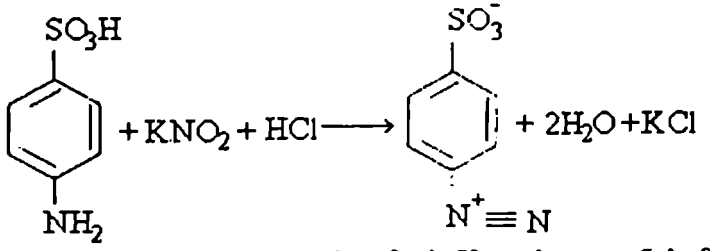
უკანასკნელი პროდუქტი მინერალური მჟავების თანაობისას წარმოქმნის მოლურჯო-მოიისფროდ შეფერილ მარილებს.

ცდა 8. ვუაზენეს რეაქცია. 2 მლ ცილის განზავებულ ხსნარს სინჯარაში ამატებენ ერთ წვეთ ფორმალდეჰიდის 2,5%-იან ხსნარს. შეანჯღრევენ და ამატებენ 6 მლ კონცენტრირებულ სუფთა მარილმჟავას (სიმკვრივე არა ნაკლები 1,175), კვლავ მოურევენ. 10 წუთის შემდეგ ამატებენ შენჯღრევისას 10 წვეთ ნატრიუმის ნიტრიტის 0,5%-იან ხსნარს. ხსნარი შეიფერება მოლურჯო-იისფრად.

ვუაზენეს რეაქცია ახასიათებს აგრეთვე იმ ცილებს, რომლებიც შეიცავენ ტრიპტოფანს. რეაქციის ქიმიზმი ჰოპკინს-კოლეს რეაქციის აღწერილი მექანიზმის ანალოგიურია, ორივე შემთხვევაში მიმდინარეობს კონდენსაცია ტრიპტოფანსა და ფორმალდეჰიდს შორის.

ცდა 9. პაულის რეაქცია. 5%-იან მარილმჟავას ხსნარში გახსნილ სულფანილის მჟავას 1%-იანი ხსნარის 1 მლ-ს ამატებენ 2 მლ კალიუმის ნიტრიტის 0,5%-იან ხსნარს, შეანჯღრევენ და სწრაფად ამატებენ ჯერ 2 მლ განზავებული ცილის ხსნარს, მოურევენ და ამატებენ 6 მლ ნატრიუმის კარბონატის 10%-იან ხსნარს. მორევის შემდეგ ხსნარი მოწითალო-ალუბლისფრად შეიფერება.

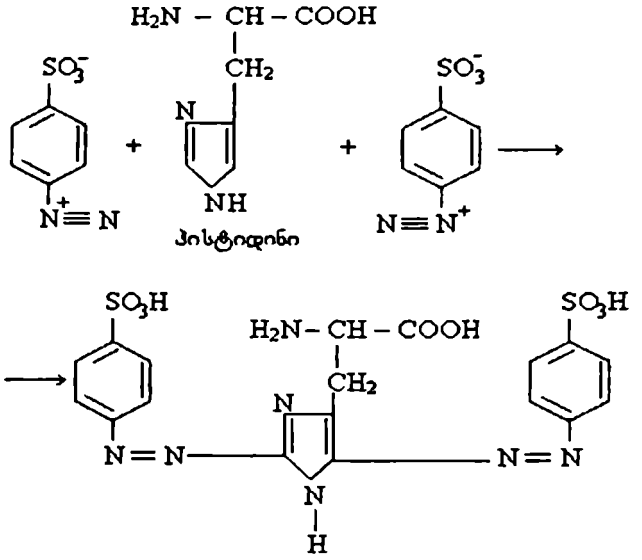
ხსნარის შეფერილობას განაპირობებს ცილის მოლეკულაში არსებული ჰისტიდინისა და თიროზინის ნაშთების არსებობა. აღნიშნული ამინომჟავების რადიკალები ურთიერთქმედებენ დიაზობენზოლსულფონის მჟავასთან. ჰისტიდინის რადიკალსა და დიაზობენზოლსულფონის მჟავას რეაქცია შემდეგნაირად გამოისახება:



სულფანილის მჟავა (დიაზობენზოლსულფონის მჟავა

n-სულფობენზოლდიაზონიუმი.

მოცემული ნაერთის ჰისტიდინთან ურთიერთქმედების შედეგად წარმოიქმნება ალუბლისფერი-მოწითალო ფერის ნაერთი:



2,5-ბის-n-სულფობენზოლაზოჰისტიდინი.

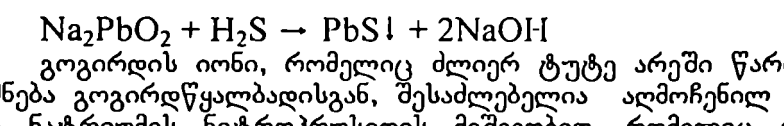
ცდა 10. ნიტროპრუსიდული რეაქცია. 3 მლ განზავებული ცილის ხსნარს ასხავენ სინჯარაში, ამატებენ ამონიუმის სულფატის ნაჯერი ხსნარის ტოლ მოცულობას და 2-3 წვეთ ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის 5%-იან ხსნარს. ტუტე არის შესაქმნელად საკვლევ ხსნარს ამატებენ ამიაკის ძლიერი ხსნარის რამდენიმე წვეთს. თუ ცილა შეიცავს ცისტეინს, მაშინ რეაქციის მიმდინარეობის შედეგად წარმოიქმნება ალისფერი შეფერილობა.

ცდა 11. „სუსტადბმული გოგირდის“ აღმომჩენი რეაქცია. სინჯარაში ათავსებენ 0,5-1,0 მლ განუზავებელ ცილას, ამატებენ კონცენტრირებულ ტუტეს ორმაგი მოცულობის ოდენობით, ნარევს ფრთხილად ადუღებენ (საჭიროა სიფრთხილე, რადგან შესაძლებელია სინჯარიდან სითხის ამოფრქვევა!). რეაქციის მსვლელობისას გამოიყოფა ამიაკი. რასაც ადასტურებს ამიაკისთვის დამახასიათებელი სუნი და აგრეთვე წინასწარ დასველებული ლაკმუსის ქაღალდის გალურჯება. გამოილექება აგრეთვე უმნიშვნელო ნალექი, რომელიც ადუღებისას სწრაფად იხსნება.

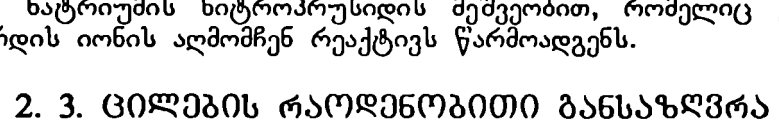
ცხელ ტუტე ხსნარს ანაწილებენ ორ სინჯარაში: პირველი სინჯარის შემცველობას ამატებენ ნატრიუმის პლუმბიტის ხსნარს და სინჯარის შემცველობა რუხი ყვითელი ან შავი

ფერის შეფერილობას ღებულობს. მეორე სინჯარას ამატებენ ახლადდამზადებულ განსხვავებულ ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის ხსნარს 2-3 წვეთის ოდენობით, რის შედეგადაც ხსნარი მოწითალო-იისფრად შეიფერება.

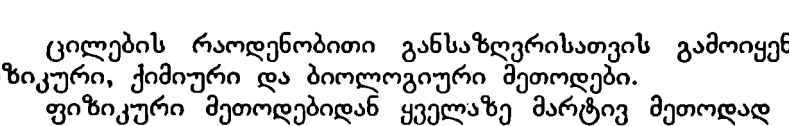
ტუტეების მოქმედების შედეგად ცილები განიცდიან ნაწილობრივ ჰიდროლიზს პეპტიდური ჯგუფების გახლეჩის ხარჯზე, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ტუტე ალბუმინატები. ამასთან, ადგილი აქვს ამინოჯგუფების გარკვეული ნაწილის ჩამოცილებას (დეზამინირების რეაქცია) ამიაკის სახით. იმ შემთხვევაში, თუ ცილის მოლეკულა შეიცავს გოგირდშემცველ ამინომჟავებს (ცისტეინი, ცისტინი), მათ თანდათან ჩამოცილდება გოგირდი 2 დაჟანგულობის ხარისხის იონის სახით. მისი აღმოჩენა შესაძლებელია მძიმე ლითონთა იონების მეშვეობით, მაგალითად ტყვიის იონების მეშვეობით, რომლებიც გოგირდის იონთან ურთიერთქმედების შედეგად წარმოქმნიან შავი ფერის უხსნად ტყვიის სულფიდს:



$$Pb(NO_3)_2 + 2NaOH \rightarrow Pb(OH)_2 + 2NaNO_3$$



$$Pb(OH)_2 + 2NaOH \rightarrow Na_2PbO_2 + 2H_2O$$



$$Na_2PbO_2 + H_2S \rightarrow PbS\downarrow + 2NaOH$$

გოგირდის იონი, რომელიც ძლიერ ტუტე არეში წარმოიქმნება გოგირდწყალბადისგან, შესაძლებელია აღმოჩენილ იქნეს ნატრიუმის ნიტროპრუსიდის მეშვეობით, რომელიც გოგირდის იონის აღმომჩენ რეაქტივს წარმოადგენს.

2. 3. ცილების რაოდენობითი განსაზღვრა

ცილების რაოდენობითი განსაზღვრისათვის გამოიყენება ფიზიკური, ქიმიური და ბიოლოგიური მეთოდები.

ფიზიკური მეთოდებიდან ყველაზე მარტივ მეთოდად შეიძლება ჩაითვალოს სუფთა ცილის აწონვა, მაგრამ ცილები ძალზე ჰიგროსკოპულია და მათი შემადგენლობიდან წყლის გამოყოფა ანუ ცილისა და წყლის ურთიერთდაცილება იმდენად რთულია, რომ ცილების რაოდენობითი განსაზღვრისათვის ეს მეთოდი ძალზე იშვიათად გამოიყენება. გარდა ამისა საკვლევი პრეპარატიდან ცილის სრულად გამოყოფა პრაქტიკულად შეუძლებელია.

ცილების რაოდენობითი განსაზღვრის ფიზიკური მეთოდებიდან ყველაზე მეტი გავრცელება ჰპოვა სამმა მეთოდმა: რეფრაქტომეტრული (ცილების ხსნარების გარდატეხის მაჩ-

ვენებლის მიხედვით), სპექტროფოტომეტრული და პოლაროგრაფული მეთოდი (ცილის შემცველ სისტემაში გატარებული დენის ძალისა და დენის ძაბვას შორის დამოკიდებულების გამომსახველი მრუდების მიხედვით), პიკნომეტრული მეთოდი (ცილების ხსნარების სიმკვრივის მიხედვით) იშვიათად გამოიყენება.

ცილების რაოდენობითი განსაზღვრისათვის მრავალი ქიმიური მეთოდი არსებობს. ქიმიური მეთოდებიდან ცილის რაოდენობითი განსაზღვრის ყველაზე მარტივ მეთოდს წარმოადგენს საერთო აზოტის ან ცილის შემცველი აზოტის რაოდენობითი განსაზღვრა (ცილის დალექვის შემდეგ აზოტშემცველი ხსნადი ნივთიერებების ჩამოცილება). საერთო აზოტის პროცენტულ რაოდენობას ამრავლებენ 6,25 კოეფიციენტზე და (აზოტის შემცველობა ცილაში საშუალოდ — 16%, აქედან 100:16=6,25) ღებულობენ ნედლი პროტეინის შემცველობას. ცილის რაოდენობითი განსაზღვრა შეიძლება ანალიზური მეთოდის გამოყენებით, კერძოდ ცილოვანი აზოტის რაოდენობას ამრავლებენ 6,25 კოეფიციენტზე. განხილული მეთოდები წარმოადგენენ პირობით მეთოდებს, რადგან მათი გამოყენება არ იძლევა აბსოლუტურ შედეგებს.

ცილის ქიმიური მეთოდით განსაზღვრის ორი სხვა მეთოდი ეფუძნება იგივე პრინციპს: ლითონის შემცველობის მიხედვით და ამა თუ იმ ამინომჟავას შემცველობის დადგენის მიხედვით. მაგალითად, ჰემოგლობინი შეიცავს 0,34% რკინას. თუ საკვლევი პრეპარატი, რომელშიც ჰემოგლობინის რაოდენობა უნდა იქნეს დადგენილი არ შეიცავს რკინის შემცველ სხვა ნივთიერებას, მაშინ საკვლევ ნივთიერებაში რკინის შემცველობის განსაზღვრა ჰემოგლობინის შემცველობის განსაზღვრის საშუალებას იძლევა.

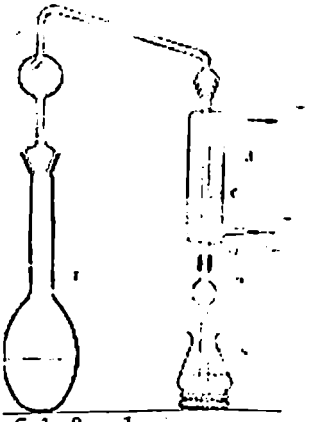
ანალოგიურად მსჯელობენ, თუ საკვლევ ნივთიერებაში განსაზღვრავენ რომელიმე ამინომჟავას, რომლის წილი ცილაში კარგადაა ცნობილი. ორივე მეთოდს გამოიყენებენ მხოლოდ ცალკეულ შემთხვევებში.

ცილების რაოდენობითი განსაზღვრის ყველაზე გავრცელებულ ქიმიურ მეთოდს წარმოადგენს კოლორიმეტრული მეთოდი. ეს მეთოდი ეფუძნება ცილებისა და სხვადასხვა სპეციფიური რეაგენტების ურთიერთქმედების შედეგად მიღებული ფერადი რეაქციების ინტენსიურობის გაზომვას. ცილის კონცენტრაციის გამოსათვლელად ამ შემთხვევაში აგებენ გრაფიკს.

ცილების რაოდენობითი განსაზღვრის ბიოლოგიური მეთოდები გამოიყენება მხოლოდ იმ ცილების შემთხვევაში, რომელთაც ახასიათებთ ფერმენტული ან ჰორმონალური აქტიურობა. საკვლევი ნივთიერების ბიოლოგიური აქტიურობის განსაზღვრა იძლევა საშუალებას შეიქმნას წარმოდგენა მასში არსებულ ცილაზე, რომელიც მოცემული აქტიურობით გამოირჩევა. ეს მეთოდი, ასევე. არ იძლევა აბსოლუტურ შედეგებს.

ცდა 1. საერთო აზოტის განსაზღვრა კელდალის მეთოდით.

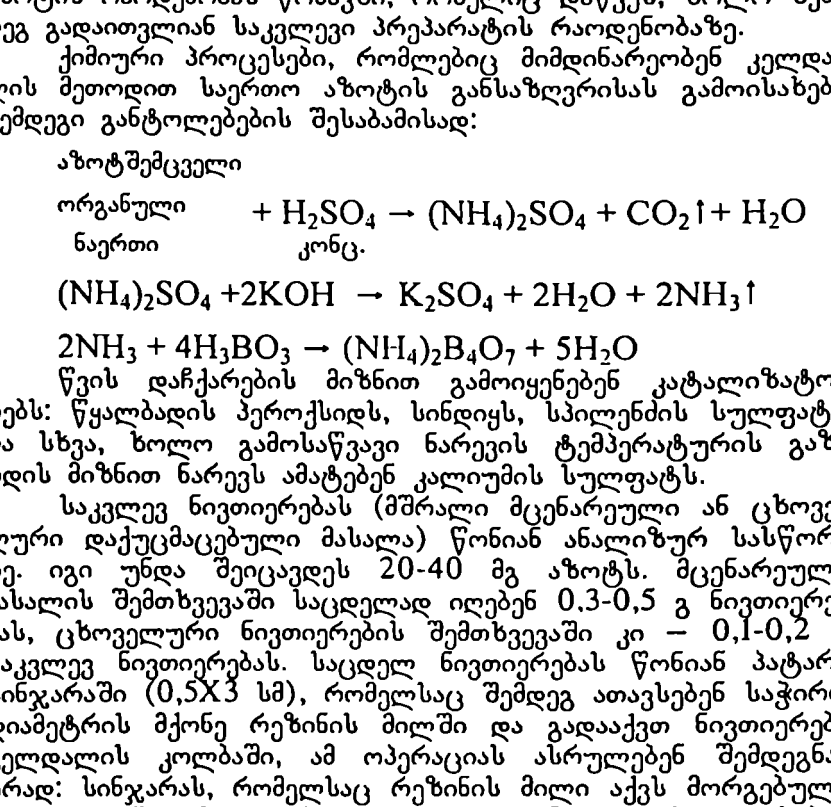
რეაქტივები და ჭურჭელი. სინჯარები (0,5X3 სმ) ნივთიერების ასაწონად; კაუჩუკის მილი; რომლის დიამტერია 0,5 სმ; კელდალის კოლბები 100 და 500 მლ; წვეთების დამჭერი; ლაბორატორიული მაცივარი, მინის სწორი მილი; კონუსისებური კოლბა 250 მლ; მადუღარები; ბიურეტები სწორი, ონკანებით 50 მლ; მინის ძაბრი; საზომი ცილინდრი 50 მლ; გოგირდმჟავა (კონც.); სპილენძის სულფატი; კალიუმის სულფატი; ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (33%-ანი); ბორის მჟავა (2,5%-ანი); მარილმჟავა (1/14 N); შერეული ინდიკატორი (იხ. დანართი)



ნახაზი 1.
1 — კელდალის კოლბა (0,5) ლ.
2 — კელდალის საცობი
3 — ლიებიხის მაცივარი
4 — დამცველი პიპეტი
5 — მიმღები კოლბა

საერთო აზოტის განსაზღვრისას ორგანულ ნივთიერებას წვავენ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავაში (ნივთიერების მინერალიზაცია). ორგანული ნივთიერება იშლება. რის შედეგადაც წარმოიქმნება ნახშიროჟანგი და წყალი. აზოტი ამ დროს წარმოქმნის ამიაკს, ურთიერთქმედებს გოგირდმჟავასთან, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ამონიუმის მარილი. წვის შემდეგ ამონიუმის მარილს შლიან ტუტის დამატებით, ხოლო გამოყოფილ ამიაკს შთანთქავენ ბორის მჟავათი. ამონიუმის ტეტრაბორატს ტიტრავენ მარილმჟავას ხსნარით და გამოითვლიან აზოტის რაოდენობას წონაკში, რომელიც დაწვეს, ხოლო შემდეგ გადაითვლიან საკვლევი პრეპარატის რაოდენობაზე.

ქიმიური პროცესები, რომლებიც მიმდინარეობენ კელდალის მეთოდით საერთო აზოტის განსაზღვრისას გამოისახება შემდეგი განტოლებების შესაბამისად:



აზოტშემცველი

ორგანული + H_2SO_4 → $(NH_4)_2SO_4 + CO_2\uparrow + H_2O$

ნაერთი კონც.

$(NH_4)_2SO_4 + 2KOH \rightarrow K_2SO_4 + 2H_2O + 2NH_3\uparrow$

$2NH_3 + 4H_3BO_3 \rightarrow (NH_4)_2B_4O_7 + 5H_2O$

წვის დაჩქარების მიზნით გამოიყენებენ კატალიზატორებს: წყალბადის პეროქსიდს, სინდიყს, სპილენძის სულფატს და სხვა, ხოლო გამოსაწვავი ნარევის ტემპერატურის გაზრდის მიზნით ნარევს ამატებენ კალიუმის სულფატს.

საკვლევ ნივთიერებას (მშრალი მცენარეული ან ცხოველური დაქუცმაცებული მასალა) წონიან ანალიზურ სასწორზე. იგი უნდა შეიცავდეს 20-40 მგ აზოტს. მცენარეული მასალის შემთხვევაში საცდელად იღებენ 0,3-0,5 გ ნივთიერებას, ცხოველური ნივთიერების შემთხვევაში კი – 0,1-0,2 გ საკვლევ ნივთიერებას. საცდელ ნივთიერებას წონიან პატარა სინჯარაში (0,5X3 სმ), რომელსაც შემდეგ ათავსებენ საჭირო დიამეტრის მქონე რეზინის მილში და გადააქვთ ნივთიერება კელდალის კოლბაში, ამ ოპერაციას ასრულებენ შემდეგნაირად: სინჯარას, რომელსაც რეზინის მილი აქვს მორგებული და რომელშიც მოთავსებულია საკვლევი ნივთიერება ათავსებენ თავდაყირა გადმობრუნებულ კელდალის კოლბაში ისე, რომ რეზინის მილიანი სინჯარა ეხებოდეს კოლბის ფსკერს და შემდეგ მთელ სისტემას გადმოაყირავებენ. ამის შემდეგ, კიდევ ერთხელ წონიან ცარიელ სინჯარას და მასათა სხვაობით ადგენენ საკვლევი ნივთიერების ზუსტ რაოდენობას.

წვას აწარმოებენ კელდალის კოლბაში, რომელშიც საკვლევ ნივთიერებას ამატებენ 10 მლ გოგირდმჟავას ხსნარს. ნარევს ამატებენ სპილენძის სულფატის კრისტალებს (კატალიზატორი) და 5 გ კალიუმის სულფატს (რომელიც უზრუნველყოფს ნივთიერების ტემპერატურის შემდგომ ზრდას ოპტიმალურ მნიშვნელობამდე). კოლბის შემცველობას მოურევენ (შეუნჯღრევლად), კოლბას ათავსებენ ასბესტირებულ ბადეზე დახრილ მდგომარეობაში და მოარგებენ მინის თავსახურს. წვას აწარმოებენ ამწოვ კარადაში. აცხელებენ ჯერ დაბალ ალზე. საკვლევი ნივთიერება ნახშირდება, გამოყოფილი გაზების (მათ შორის გოგირდის (IV) ოქსიდის) შედეგად ქაფდება. ძლიერი აქაფების შემთხვევაში კოლბა გადმოაქვთ ცეცხლიდან, რათა კოლბაში ქაფმა ძალიან არ აიწიოს. სითხეს ფრთხილად მოურევენ და ქაფის დალექვის შემდეგ ისევ აცხელებენ ბადეზე. აქაფების შეწყვეტის შემდეგ შეიძლება გაძლიერდეს სითხის გაცხელება და სუსტი დუღილიც. ძლიერი დუღილის შემთხვევაში შესაძლოა ამონიუმის სულფატის დაშლა, რის შედეგადაც იკარგება აზოტი. აუცილებელია სისტემატურად კოლბის ყელის შემოწმება, რათა იგი ყოველთვის ცივად დარჩეს.

ძლიერი დანახშირება და აქაფება ახასიათებთ ისეთ ნივთიერებებს, რომლებიც შეიცავენ დიდი რაოდენობით ნახშირწყლებს, ცხიმებს, ცილებს. ნიმუშები, რომლებიც შეიცავენ ნახშირბადის ატომებისაგან აგებულ მოკლე ჯაჭვებს, იჟანგებიან და არ წარმოქმნიან მასას, სითხე მხოლოდ მუქ-რუხ ან შავ შეფერილობას იღებს. აუცილებელია მიექცეს ყურადღება, რათა კელდალის კოლბის კედლებზე არ დარჩეს მუქი ფერის ნაწილაკები. გაცხელებას აწარმოებენ სანამ რუხი ფერი არ გაქრება და აგრძელებენ კიდევ 1-2 საათის განმავლობაში. შემდეგ კელდალის კოლბას მჭიდროდ მოარგებენ რეზინის საცობს.

ამიაკის მოსაცილებლად საჭიროა ნახაზზე გამოსახული ხელსაწყოს აწყობა, იგი შედგება: გადამდენი კოლბისგან (500 მლ), რომელიც დაკავშირებულია წვეთების დამჭერთან (2). დამჭერი შეერთებულია მაცივართან; ბურთულიან მილთან, რომელიც სითხის შეწოვას იცავს; მიმღები კოლბისგან (250 მლ), რომელშიც ცდის დაწყებამდე ასხავენ 50 მლ 2,5%-იან ბორის მჟავას ხსნარს.

კელდალის კოლბაში, რომელშიც წვა მიმდინარეობდა, სრული გაცივების შემდეგ ასხამენ 20-30 მლ წყალს, მოურევენ და ხსნარი გადააქვთ 500 მლ კელდალის კოლბაში. გამო-

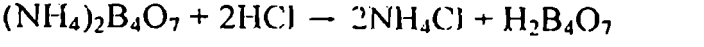
საწვავ კოლბას 4-5-ჯერ გამოაკლებენ 20-25 მლ წყალს და მას ამატებენ საკვლევ ხსნარს. სითხის საერთო მოცულობა უნდა შეადგენდეს დაახლოებით 150 მლ-ს. კოლბაში ათავსებენ რამდენიმე „მადუღარას" და ამატებენ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 33%-იან ხსნარს ისეთი რაოდენობით, რაც გაანეიტრალებს ცდაში გამოყენებულ გოგირდმჟავას ხსნარს და წარმოქმნის ძლიერ ტუტე არეს.

ტუტის რაოდენობის დასადგენად, ცდაში გამოსაყენებელი გოგირდმჟავას 1 მლ-ს განაზავებენ, რისთვისაც ამატებენ 15-20 მლ წყალს, ამატებენ 1-2 წვეთ ფენოლფტალეინს და გრადუირებული პიპეტიდან ტიტრავენ ტუტით მჟავას განეიტრალებამდე. გამოითვლიან ტუტის საჭირო მოცულობას, რომელიც გაანეიტრალებს 10 მლ მჟავას და ყოველ 10 მლ-ზე ამატებენ 10 მლ ტუტეს, რათა შეიქმნას ძლიერი ტუტე არე, რაც აუცილებელია ამონიუმის სულფატის დასაშლელად.

ტუტეს ასხამენ დახრილ კოლბაში, ფრთხილად, რათა არ შეერიოს ხსნარს და არ მოხდეს ამიაკის დაკარგვა. შემდეგ კოლბას მოარგებენ რეზინის საცობს გამტარით, ათავსებენ ბადეზე, ფრთხილად შეანჯღრევენ და აცხელებენ ადუღებამდე.

გამოყოფილი ამიაკი მაცივარის გავლით აღწევს მიმღებ კოლბას, რომელშიც მოთავსებულია ბორის მჟავას ხსნარი. ბურთულიანი მილის ბოლო მჟავაში უნდა იყოს ჩაშვებული. მას შემდეგ, როგორც კი ამიაკის ძირითადი მასა იქნება გადადენილი, მილს ამოიღებენ მჟავას ხსნარიდან და სითხე თავისუფლად ჩაედინება დამცავი პიპეტიდან. ეს მდგომარეობა იქმნება მაშინ, როდესაც მიმღებში დისტილატის დაახლოებით 30 მლ იქნება გადასული. გადადენის დასასრულს ამოწმებენ ლაკმუსის ქაღალდის მეშვეობით, ამისათვის ბურთულიან მილს ჩამოაცილებენ მაცივარს და მაცივრიდან გადმოდენილ წვეთებს ლაკმუსის ქაღალდით ამოწმებენ. ჩვეულებრივ გადადენა დასრულებულია მაშინ, როცა მიღებულია დაახლოებით 110 მლ სითხე. სამუშაოს დასრულებისას ბურთულიანი მილის დაბოლოებას ჩარეცხავენ წყლით.

ბორის მჟავას ხსნარში შთანთქმული ამიაკი წარმოქმნის მარილს — ამონიუმის ტეტრაბორატს, რომელიც, როგორც სუსტი მჟავას მარილი სრულად იტიტრება მარილმჟავათი. გატიტვრაზე დახარჯული მარილმჟავას ოდენობის შესაბამისად გამოითვლიან ამიაკის რაოდენობას. ბორის მჟავას (რადგანაც ის სუსტი მჟავაა) ჭარბი რაოდენობა არ მოქმედებს ინდიკატორის ფერის შეცვლაზე. გასატიტრად გამოიყენება მარილმჟავას $^1/_{14}$N ხსნარი:



$$(NH_4)_2B_4O_7 + 2HCl \rightarrow 2NH_4Cl + H_2B_4O_7$$

როგორც რეაქციის ტოლობიდან ჩანს NH_4^+ – ჯგუფისა და HCl მოლეკულათა თანაფარდობა 1:1 ტოლია. ე. ი. HCl-ის $^1/_{14}$N ხსნარის 1 მლ, რომელიც იხარჯება გატიტვრაზე, შეესაბამება აზოტის $^1/_{28}$ მოლის მეათასედ ნაწილს ე. ი. 1 მგ აზოტს.

მიმღებ კოლბაში ათავსებენ 10-15 წვეთ შერეულ ინდიკატორს მწვანე ფერის წარმოქმნამდე და ტიტრავენ ბიურეტიდან მარილმჟავას $^1/_{14}$N ხსნარით. სანამ ფერი შეიცვლება და წარმოიქმნება იისფერი. გატიტვრაზე დახარჯული მარილმჟავას მილილიტრების რაოდენობა შეესაბამება ხსნარში არსებული აზოტის მილიგრამების რაოდენობას. აზოტის განსაზღვრისას აყენებენ საკონტროლო ცდას რეაქტივებზე ე. ი. აღებულ რეაქტივებზე ატარებენ ყველა იმ ოპერაციას, რაც გამოიყენებოდა ცდაში. ცდის შედეგად მიღებული აზოტის რაოდენობას მილიგრამებში აკლებენ საკონტროლო ცდის შედეგად მიღებული აზოტის რაოდენობას. მონაცემების მიხედვით გამოითვლიან აზოტის პროცენტულ შემცვლობას საკვლევ ნივთიერებაში. მიღებულ ციფრს ამრავლებენ 6,25 და ღებულობენ საკვლევ პრეპარატში ნედლი პორტეინის ოდენობით შემცველობას.

2. 4. ცილების დალექვის რეაქციები

ცილები შეიცავენ სხვადასხვა ამინომჟავების რადიკალებს, ამიტომ ურთიერთქმედებენ მრავალ ნაერთებთან (მჟავებთან, ლითონთა იონებთან, სპირტებთან და ა. შ.), აგრეთვე კონკურენციას უწევენ მათ გამხსნელის (წყლის) მოლეკულების გამო. უმეტეს შემთხვევაში აღნიშნული პროცესების შედეგს წარმოადგენს ცილების გამოლექვა.

ცილების დალექვის რეაქციების ჩასატარებლად გამოიყენებენ წანასწარ დამზადებული ცილების ხსნარებს.

რეაქტივები და ჭურჭელი. ფილტრის ქაღალდი; ცილის ხსნარები; (იხ. სამუშაო: ცილის ხსნარების დამზადება); მინის ძაბრი; ქიმიური სინჯარები; ამონიუმის სულფატი (კრისტ. და ნაჯერი ხსნარი); ძმარმჟავა (1%-ანი და 10%-ანი); ნატრიუმის ქლორიდი (ნაჯერი ხსნარი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი); აზოტმჟავა, მარილმჟავა და ძმარმჟავა, გოგირდმჟავა (კონც.); სამქლორიანი ძმარმჟავა (5%-ანი); სულფოსალიცილის მჟავა (20%-ანი); სპი-

ლენძის სულფატი (5%-ანი); ტყვიის აცეტატი (5%-ანი); პიკრინმჟავა (ნაჯერი); ტანინი (10%-ანი); კალიუმის იოდიდში ვერცხლისწყლის იოდიდის ხსნარი (იხ. დანართი); მარილმჟავა (5%-ანი); კალიუმის ჰექსაციანო (III) – ფერატი (5%-ანი); ფენოლი (ნაჯერი); ფორმალინი; ეთილის სპირტი; ნატრიუმის ვოლფრამატი (10%-ანი); გოგირდმჟავა (0,66N).

ცდა 1. ცილების გამომარილება ამონიუმის სულფატით. სინჯარებში ათავსებენ 1-1,5 მლ ცილის ხსნარს, ამატებენ ტოლი მოცულობით ამონიუმის სულფატის ნაჯერ ხსნარს და ნარევს ოდნავ შეანჯღრევენ. ხსნარები შეიმღვრევა და გამოილექება გლობულინები.

მღვრიე ხსნარს ფილტრავენ ნაკეცი ფილტრის ქაღალდში. გამჭვირვალე ფილტრატის ერთ ნაწილს აცხელებენ ადუღებამდე და აკვირდებიან ალბუმინების შედედებას. ფილტრატის მეორე ნაწილს ამატებენ ფხვიერი ამონიუმის სულფატს ჭარბი რაოდენობით და ინტენსიურად მოურევენ მის სრულ გახსნამდე. ხსნარი შეიმღვრევა და წარმოიქმნება ფანტელები, რაც ალბუმინს წარმოადგენს (შეადარეთ საწყის ფილტრატს). ცილების დალექვა მარილებით წარმოადგენს შექცევად პროცესს და წყლის დამატებისას ცილები კვლავ იხსნებიან.

ცილების წყალხსნარებში მათი ნაწილაკები დამუხტული და ჰიდრატირებულია, რაც განაპირობებს ცილების ხსნარების მდგრადობას. მაღალი კონცენტრაციის მარილთა შემთხვევაში, რომელთა იონები აგრეთვე ჰიდრატირებულია, მიმდინარეობს ცილის მოლეკულების მიერ ჰიდრატირებული წყლის გარსის რღვევა და ცილის მოლეკულის ზედაპირზე მარილთა იონების ადსორბციის შედეგად ცილის მოლეკულა განიმუხტება. აღნიშნული ორი პროცესის შედეგად ცილების ხსნარები კარგავენ მდგრადობას, ცილის ნაწილაკები უერთდებიან ერთმანეთს, მსხვილდებიან და საბოლოოდ გამოილექებიან. ცდაში გამოყენებული ამონიუმის სულფატი ხასიათდება მკვეთრად გამოხატული გამომარილების უნარით და გამოლექავს ცილებს ნეიტრალურ არეში, ხოლო გაცილებით უკეთესად ცილების გამომარილება (მისი მეშვეობით) მიმდინარეობს სუსტ მჟავა არეში. სხვა მარილები, მაგალითად, ნატრიუმის ქლორიდი გამოლექავს ცილას სრულად, თუ ცილის ხსნარი ოდნავ არის შემჟავებული.

განხილული ცდა გვიჩვენებს, რომ სხვადასხვა ცილის გამომარილებისათვის შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ერთი და იგივე მარილის სხვადასხვა კონცენტრაციის ხსნარი. ე. ი.

ცილების გამომარილება შეიძლება ფრაქციებად: გლობულინები გამოილექებიან ხსნარის ამონიუმის სულფატით ნახევრადგაჯერების შემთხვევაში, ხოლო ალბუმინები გამოილექებიან ხსნარის მხოლოდ სრული გაჯერების დროს.

ცდა 2. ცილების შედედება გაცხელების შედეგად. ხუთ სინჯარაში ასხამენ 2-2 მლ-ის ოდენობით ცილის ხსნარს.

ა) პირველ სინჯარას აცხელებენ. ცილის ნალექი წარმოიქმნება ჯერ კიდევ ხსნარის ადუღებამდე.

ბ) მეორე სინჯარაში ცილის ხსნარს ამატებენ ძმარმჟავას 1%-იანი ხსნარის ერთ წვეთს და გააცხელებენ.

ცილის ფიფქისებური ნალექი სწრაფად და სრულად გამოილექება, რადგან შემჟავებისას ხსნარის pH მიუახლოვდა ცილის იზოელექტრულ წერტილს.

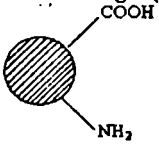
ვ) მესამე სინჯარაში მოთავსებულ ცილის ხსნარს ამატებენ ძმარმჟავას 10%-იანი ხსნარის 0,5 მლ-ს და აცხელებენ. ცილა არ გამოილექება ადუღების შედეგადაც კი.

გ) მეოთხე სინჯარაში ამატებენ ძმარმჟავას 10%-იანი ხსნარის 0,5 მლ-ს, ნატრიუმის ქლორიდის ნაჯერი ხსნარის რამდენიმე წვეთს და აცხელებენ. ცილა გამოილექება.

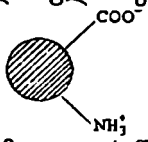
დ) მეხუთე სინჯარაში ცილის ხსნარს ამატებენ 0,5 მლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდს და აცხელებენ. ადუღების შედეგადაც კი ცილა არ გამოილექება.

გაცხელებისას თითქმის ყველა ცილა გამოილექება და განიცდის შედედებას (გამონაკლისია ჟელატინი, რომელიც გაცხელებისას არ დედდება). განსაკუთრებით ადვილად და უფრო სრულად ხდება ცილის გამოლექვა სუსტ მჟავა არეში, იზოელექტრული წერტილის ახლოს. ნეიტრალურ და ძლიერ მჟავა არეში ცილების გამოლექვა ცუდად მიმდინარეობს, ხოლო ტუტე არეში საერთოდ არ შეინიშნება.

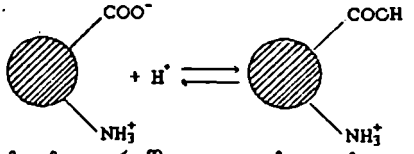
ცილები, როგორც ამფოტერული ელექტროლიტები დისოცირდებიან, როგორც მჟავები და როგორც ფუძეები. ცილის მოლეკულა, რომელიც ამინოჯგუფებისა და კარბოქსილის ჯგუფების ტოლ რაოდენობას შეიცავს პირობითად შეიძლება გამოისახოს შემდეგნაირად:



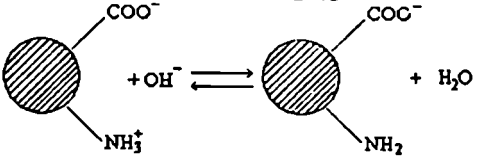
წყლის არეში, განსაკუთრებით იზოელექტრული წერტილის ახლოს, ცილის მოლეკულები წარმოდგენილნი არიან ბიპოლარული ნეიტრალური იონის სახით:



მჟავა არეში ცილის მოლეკულის დისოციაცია კარბოქსილის ჯგუფების მიხედვით სუსტდება და ცილის მოლეკულა იძენს დადებით მუხტს (ცილა იმყოფება ხსნარში ადულების დროსაც კი).



ტუტე არეში ცილის დისოციაცია მცირდება დიამინომჟავების რადიკალების მიხედვით და ცილის მოლეკულა იძენს უარყოფით მუხტს, რის შედეგადაც რჩებიან ხსნარში მიუხედავად გაცხელებისა და ადულებისა.



ნეიტრალური მარილების (ნატრიუმის ქლორიდი, ამონიუმის სულფატი) დამატება ცილის ხსნარზე აჩქარებს ცილის შედედებას გაცხელებისას, რაც გამოწვეულია ცილოვანი ნაწილაკების დეჰიდრირების შედეგად. მაგრამ არსებობენ ნივთიერებები, რომლებიც ახდენენ ცილის სტაბილიზებას — პოლისაქარიდები, შაქრები, ალდეჰიდები და სხვა.

მარილებით გამოლექვისგან განსხვავებით ცილის შედედება გაცხელებისას — დენატურაცია — შეუქცევადი პროცესია.

ცდა 3. ცილების დალექვა კონცენტრირებული მინერალური მჟავებით. სამ მშრალ სინჯარაში ასხამენ 1-2 მლ კონცენტრირებულ მარილმჟავას, გოგირდმჟავას და აზოტმჟავას. ყოველ სინჯარაში დახრილ მდგომარეობაში პიპეტით, სინჯარის კედლებზე ჩაყოლებით ამატებენ 0,5 მლ საკვლევ ხსნარს, ისე რომ არ შეერიოს მჟავას. ორი სითხის შეხების ზედაპირზე წარმოიქმნება ცილის ამორფული თეთრი ფერის

ნალექი. შენჯღრევისას ნალექი, რომელიც აზოტმჟავას მოქმედებისას წარმოიქმნა მატულობს. ხოლო ნალექები, რომლებიც წარმოიქმნა მარილმჟავასა და გოგირდმჟავას მოქმედებისას მათი სიჭარბის შედეგად, იხსნებიან.

მინერალური მჟავები ვერ გამოლექავენ ჟელატინს.

კონცენტრირებული მინერალური მჟავების მოქმედების შედეგად ცილების გამოლექვა შეუქცევადი პროცესია. ეს დაკავშირებულია, როგორც ცილის მოლეკულის დეჰიდრატაციასთან, ასევე მის დენატურირებასთან.

ცდა 4. ცილების გამოლექვა ორგანული მჟავებით. ორ სინჯარაში ასხამენ 2-3 მლ ცილის ხსნარს. ერთ-ერთ მათგანს ამატებენ სამქლორიანი ძმარმჟავას 5%-ანი ხსნარის რამდენიმე წვეთს, ხოლო მეორეს — სულფოსალიცილის მჟავას 20%-იანი ხსნარის რამდენიმე წვეთს. ორივე შემთხვევაში ცილა გამოილექება.

სულფოსალიცილის მჟავა და სამქლორიანი ძმარმჟავა ცილის მიმართ ძალზე მგრძნობიარე სპეციფიურ რეაქტივებს წარმოადგენენ. სამქლორიანი ძმარმჟავა გამოლექავს მხოლოდ ცილას და არ გამოლექავს ცილის დაშლის პროდუქტებს და ამინომჟავებს, ამიტომ ამ მჟავას გამოიყენებენ ბიოლოგიური მასალიდან მხოლოდ ცილების სრული მოცილების მიზნით. ასეთ პირობებში ცილის დაშლის პროდუქტები ხსნარში რჩება.

ცდა 5. ცილების დალექვა მძიმე ლითონების მარილებით. ორ სინჯარაში ასხამენ 1-1,5 მლ საკვლევი ცილის ხსნარს, ნელ-ნელა, წვეთობით და შენჯღრევით ერთ-ერთ მათგანს ამატებენ სპილენძის სულფატის ხსნარს, მეორეს — ტყვიის აცეტატის ხსნარს. მცირედ ხსნადი მარილისებური ნაერთის წარმოქმნის შედეგად გამოილექება ფიფქისებური ნალექი (სპილენძის სულფატთან ურთიერთქმედების შედეგად — ცისფერი), ტყვიის მარილთან — თეთრი ფერის). ჭარბად აღებული რეაქტივის შემთხვევაში ადგილი აქვს ნალექის გახსნას.

მძიმე ლითონთა მარილები (Hg, Ag, Cu, Pb და სხვა) წარმოქმნიან ცილებთან უხსნად ნალექს და ცილის დალექვა ამ შემთხვევაში შეუქცევადი პროცესია. ამიტომ, მაგალითად ვერცხლისწყლის მარილით მოწამლვის შედეგად (სულემა) ცილებს გამოიყენებენ ამ საწამლავების გასაუვნებელყოფად. მაგრამ ზოგიერთი ასეთი ნალექი (მაგალითად, სპილენძის,

ტყვიის, თუთიის მარილებთან) იხსნება ჭარბი დამლექის შემთხვევაში, რაც გამოწვეულია იონების ადსორბციით ცილის მოლეკულების ზედაპირზე: ამ პროცესის შედეგად ცილის ნაწილაკები იმუხტებიან და ხელახლა იხსნებიან. დენატურირებული ცილების ნალექთა გახსნას მძიმე ლითონთა მარილების ჭარბი რაოდენობის შემთხვევაში, ადსორბციული პეპტიზაცია ეწოდება.

ცდა 6. ცილების დალექვა ალკალოიდური რეაქტივებით. ალკალოიდები წარმოადგენენ აზოტოვან ფუძეებს, რომელთა მოლეკულები შეიცავენ აზოტშემცველ სხვადასხვა ჰეტეროციკლებს. ცილის მოლეკულები შეიცავენ ზოგიერთ ჰეტეროციკლს — იმიდაზოლური, პიროლიდინური და სხვა, რომლებიც ზოგიერთი ამინომჟავას შემადგენლობაში შედიან. ამიტომ ცილებს აღმოაჩენენ ალკალოიდებისთვის დამახასიათებელი სხვადასხვა რეაქციის მეშვეობით.

ოთხ სინჯარაში ასხამენ 1-1,5 მლ ცილის ხსნარს. ცილის ხსნარს შეამჟავებენ 1-2 წვეთი ძმარმჟავას ხსნარით. პირველ სინჯარას ამატებენ პიკრინმჟავას ნაჯერ ხსნარს: გამოიყოფა მოყვითალო ნალექი. მეორე სინჯარას ამატებენ 10%-იანი ტანინის ხსნარის რამდენიმე წვეთს; წარმოიქმნება ფიფქისებური ნალექი, რომელიც რეაქტივის ჭარბ რაოდენობაში იხსნება. მესამე სინჯარაში ამატებენ 5%-ინი მარილმჟავას ხსნარის რამდენიმე წვეთს და წვეთობით ამატებენ კალიუმის ჰექსაციანო (II) ფერატის 5%-იან ხსნარს, ყოველი წვეთის დამატებისას სინჯარას შეანჯღრევენ. გამოიყოფა ნალექი. მეოთხე სინჯარაში ასხამენ 1,5-2 მლ ცილის ხსნარს, ოდნავ შეამჟავებენ 5%-იანი მარილმჟავას ხსნარით და ამატებენ კალიუმის იოდიდში $K_2[HgI_4]$ გახსნილი ვერცხლისწყლის (II) იოდიდის ხსნარის რამდენიმე წვეთს. წარმოიქმნება ცილის ნალექი.

ცდა 7. ცილების დალექვა ფენოლით და ფორმალინით. ორ სინჯარაში, რომელშიც მოთავსებულია ცილის ხსნარის 1-2 მლ ამატებენ: პირველს — ფენოლის ნაჯერი წყალხსნარის ტოლ მოცულობას, მეორეს — ფორმალინის ტოლ მოცულობას. ორივე სინჯარაში ილექება ცილა. ფენოლის მოქმედების შედეგად ნალექი უფრო სწრაფად გამოილექება.

ცდა 8. ცილების დალექვა სპირტით. სინჯარაში ასხამენ 1-1,5 მლ ცილის ხსნარს და ამატებენ მცირე რაოდენობით კრისტალურ ნატრიუმის ქლორიდს. შემდეგ თანდათან ამატებენ 5-6 მლ ეთილის სპირტს. გამოილექება ფიფქისებური

ნალექი, რაც გამოწვეულია სპირტის დამატებისას ცილის მოლეკულების დეჰიდრატაციით.

ცდა 9. ცილის დალექვა ნატრიუმის ვოლფრამატით. სინჯარაში ასხამენ 3 მლ ცილის ხსნარს, ამატებენ 0,5 მლ 0,66N გოგირდმჟავას ხსნარს და მორევის შემდეგ ნატრიუმის ვოლფრამატის 10%-იანი ხსნარის 0,5 მლ-ს. გამოიყოფა ნალექი. ნატრიუმის ვოლფრამატი წარმოადგენს ცილის ერთ-ერთ საუკეთესო დამლექს. მას ხშირად გამოიყენებენ ლაბორატორიაში ბიოლოგიური ხსნარების და ექსტრაქტების დეპროტეინიზაციის მიზნით. თუმცა აღსანიშნავია, რომ იგი აგრეთვე გამოლექავს ამინომჟავების გარკვეულ რაოდენობასაც.

2. 5. ნუკლეოპროტეინები

ნუკლეოპროტეინები — რთული ცილებია, რომელთა პორსტეტულ ჯგუფს წარმოადგენს ნუკლეინის მჟავები — დნმ ან რნმ. ნუკლეოპროტეინების გამოყოფა სხვადასხვა მეთოდებითაა შესაძლებელი: 1. გამოყოფა გამოხდილი წყლით შემდგომი დალექვით. დამლექავად გამოიყენება ძმარმჟავა; 2. ტუტის სუსტი ხსნარით (0,2-0,4%) ექსტრაგირება და შემდეგ ძმარმჟავით დალექვა; 3. ნატრიუმის ქლორიდის საშუალო კონცენტრაციის ხსნარებით ექსტრაგირება, რომელშიც ნუკლეოპროტეინები გამოილექებიან ხსნარის მცირე განზავებისას; 4. სხვადასხვა ნუკლეოპროტეინების თანამიმდევრული გამოყოფა ჯერ ნატრიუმის ქლორიდის 0,15M ხსნარით, შემდეგ მისი 1M ხსნარით და ბოლოს ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 0,27%-იანი ხსნარით; 5. ულტრაცენტრიფუგირებით ცეზიუმის ქლორიდის ან საქაროზას სიმკვრივის გრადიენტში; 6. სეფადექსის გელში გაფილტვრით.

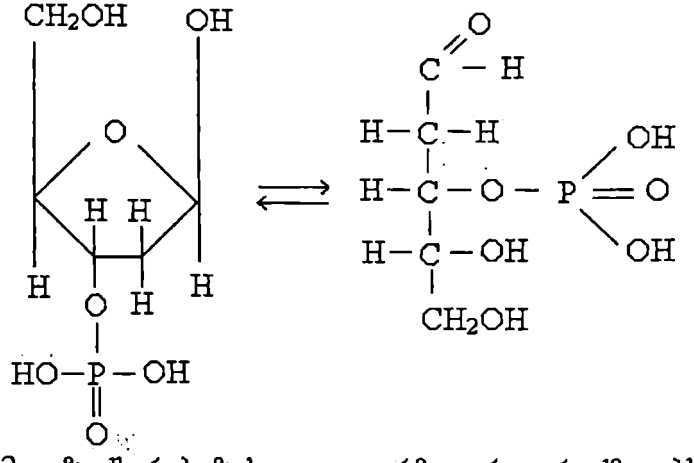
განვიხილავთ რამდენიმე მარტივ თვისებით რეაქციას.

ცდა 1. რეაქცია დიფენილამინთან. დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავას აღმოაჩენენ მისი ურთიერთქმედების მიხედვით დიფენილამინთან. კერძოდ, დიფენილამინის დეზოქსირიბოზასთან ურთიერთქმედებისას წარმოიქმნება ლურჯი შეფერილობა. რიბონუკლეინის მჟავა (ან რიბოზა), დნმ-ისაგან განსხვავებით აღნიშულ რეაქტივთან იძლევა მწვანე შეფერილობას.

სინჯარაში ათავსებენ დნმ-ის ნალექს მცირე რაოდენობით, ხსნიან 1-2 მლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 0,4%-იან ხსნარში. მიღებულ ხსნარს ამატებენ დიფენილამინის ხსნარის

ტოლ მოცულობას და ნარევს აცხელებენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე 10-15 წუთის განმავლობაში. წარმოიქმნება ლურჯი შეფერილობა. მეორე სინჯარაში აცხელებენ რიბოზისა და დიფენილამინის ხსნარს, რომელსაც ამატებენ 1-2 მლ ტუტის 0,4%-იან ხსნარს. ნარევი მწვანედ შეიფერება.

ცდა 2. რეაქცია ფუქსინგოგირდმჟავასთან. დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავა, სუსტი მჟავა ჰიდროლიზის შედეგად ფუქსინგოგირდმჟავასთან ურთიერთქმედებისას შეიფერება იისფერად. მჟავური ჰიდროლიზის დროს მიმდინარეობს პურინულ ფუძეებთან დაკავშირებული გლიკოზიდური ბმების გახლეჩა. წარმოიქმნება აპურინული დნმ, რომელსაც დეზოქსირიბოზას ღია ფორმა აქვს და შეიცავს თავისუფალ ალდეჰიდურ ჯგუფს:



2-დეზოქსირიბოზის ღია ფორმა ურთიერთქმედებს ფუქსინგოგირდმჟავასთან ალდეჰიდის ჯგუფის მიხედვით. რიბონუკლეინის მჟავაში არსებული რიბოზას გლიკოზიდური ბმები არ განიცდიან ჰიდროლიზს ისეთ პირობებში, რომელშიც ეს პროცესი დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავას შემთხვევაში მიმდინარეობს.

ცენტრიფუგის სინჯარაში ათავსებენ დეზოქსირიბონუკლეოპროტეიდის ან დეზოქსირიბონუკლეინის მჟავას მცირე რაოდენობას, ამატებენ მას მარილმჟავას 1N ხსნარის 2მლ-ს, რომელიც გაცხელებულია 60^0C-დე და სინჯარას ათავსებენ წყლის აბაზანაზე 10 წუთის განმავლობაში 60^0C – ტემპერატურის პირობებში. გაცივების შემდეგ ახდენენ ცენტრიფუ-

გირებას. გადმოაქცევენ მჟავას და ნალექს ამატებენ ფუქსინ-გოგირდმჟავას.

2. 6. გლიკოპროტეინები

გლიკოპროტეინები რთული ცილებია, რომლებშიც ცილოვან კომპონენტთან კოვალენტურად არის დაკავშირებული მონოსაქარიდებისა და მათი წარმოებულების შემცველი ოლიგოსაქარიდული კომპონენტები. ისინი ადამიანის ორგანიზმში მრავალფეროვან ფუნქციებს ასრულებენ. ქვემოთ განხილულია მათი აღმომჩენი მარტივი რეაქციები.

ცდა 1. კვერცხის ალბუმინებში ნახშირწყლის აღმომჩენი რეაქცია.

რეაქტივები და ჭურჭელი. მინის ქიმიური სინჯარები; ეთანოლში (96%-ანი) გახსნილი α-ნაფტოლი (0,1%-ანი); თიმოლი (1%-ანი) გახსნილი ეთანოლში (96%-ანი); გოგირდმჟავა (კონც.); კვერცხის ალბუმინის განზავებული ხსნარი (მომზადება იხ. წინა სამუშაოში).

ორ სინჯარაში ასხამენ 4-5 მლ კვერცხის ალბუმინის განზავებულ ხსნარს, ერთ-ერთ სინჯარას ამატებენ 0,5 მლ α-ნაფტოლის 1%-იან ხსნარს, მეორე სინჯარას იგივე რაოდენობის თიმოლის 1%-იან ხსნარს და მოურევენ. ორივე სინჯარაში ფრთხილად, სინჯარის კედლის გასწვრივ ამატებენ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავას. დაყოვნებისას ორი სითხის შეხების ზედაპირზე პირველ სინჯარაში წარმოიქმნება იისფერი, ხოლო მეორე სინჯარაში — წითელი რგოლი. ფერადი რგოლები წარმოიქმნება ფურფუროლის (წარმოიქმნება კონცენტრირებული გოგირდმჟავასა და ცილის ნახშირწყალს შორის მიმდინარე რეაქციის შედეგად), α-ნაფტოლის ან თიმოლის ურთიერთქმედების შედეგად.

2. 7. ქრომოპროტეინები

ქრომოპროტეინები წარმოადგენენ რთულ ცილებს, რომელთა პროსთეტული ჯგუფი წარმოადგენს ფერად ნაერთს. ქრომოპროტეინების რამდენიმე სახეობა არსებობს, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან პროსთეტული ჯგუფის შედგენილობით და აღნაგობით. ლაბორატორიული სამუშაოებისათვის ყველაზე ხელმისაწვდომია ქრომოპროტეიდები, რო-

მელთა პროსთეტულ ჯგუფს წარმოადგენენ პორფირინების წარმოებულნი. მათ მიეკუთვნება სისხლის ცილა — ჰემოგლობინი.

ცდა 1. კრისტალური ოქსიჰემოგლობინის მიღება

რეაქტივები და ჭურჭელი. მაცივარი; მიკროსკოპი; ცენტრიფუგა; მინის წკირი; ლაბორატორიული ჭიქა 100 მლ-იანი; მინის ძაბრი (დიამეტრი 6-8 სმ.); მიხეხილსაცობიანი ქილა 50 მლ; დანაყოფებიანი პიპეტი 1-2 მლ; მინის სინჯარები; სასაგნე და საფარი მინები; ახალი ან ოქსალატური სისხლი; დიეთილეთერი; ამონიუმის სულფატი (ნაჯერი); კალიუმის ოქსალატი (3%-ანი); ნატრიუმის ქლორიდი (0,9%-ანი); ეთანოლი; ყინულოვანი ძმარმჟავა ნატრიუმის ქლორიდით (100 გ მჟავაში 0,1 გ წმინდად დაფქვილი ნატრიუმის ქლორიდი).

ჰემოგლობინს გამოყოფენ ერითროციტებიდან ჰემოლიზის გზით, ე. ი. მათი დაშლით, რაც შეიძლება გამოწვეულ იქნეს გამოხდილი წყლის დამატებით, ეთერით ან ტოლუოლით დამუშავებით. სისხლის წყლით განზავებისას მცირდება პლაზმის ოსმოსური წნევა და წყალი იწყებს ერითროციტებში შეღწევას. ერითროციტები იბერებიან და სკდებიან, რაც იწვევს ერითროციტების შიგთავსის გარეთ გადმოსვლას. რადგან ჰემოლიზის დროს ჰემოგლობინი გადადის პლაზმაში, ამიტომ საჭიროა პლაზმის შემცველი ცილების ჩამოცილება. ამისათვის ცილებს ლექავენ ამონიუმის სულფატის ნაჯერი ხსნარით, რაც ხელს უწყობს, აგრეთვე, ჰემოგლობინის ნელ კრისტალიზაციას.

10 მლ სისხლს (კურდღელი, ძაღლი, ცხენი) ამატებენ 2 მლ წყლისა და ეთერის ნარევს (1:1) და მოურევენ სისხლის სრულ ჰემოლიზამდე. ჰემოლიზს ამოწმებენ მიკროსკოპის მეშვეობით. წითელ გამჭვირვალე სითხეს უწოდებენ ჰემოლიზირებულ ან ლაქის სისხლს. სითხეს ამატებენ ტოლ მოცულობა (12 მლ) ამონიუმის სულფატის ნაჯერ ხსნარს, მოურევენ და იმავე წუთს აცენტრიფუგირებენ ფილტრავენ გამოლექილი ცილების ჩამოცილების მიზნით. ფილტრატს ტოვებენ სიცივეში, დახურულ ჭურჭელში 24 საათის განმავლობაში. აღნიშნული დროის გავლის შემდეგ მიკროსკოპში ნათლად სჩანს ოქსიჰემოგლობინის წითელი ფერის პრიზმისებური ან ფირფიტისებური კრისტალები.

2. 8. ფოსფოპროტეინები

ფოსფოპროტეინები წარმოადგენენ რთულ ცილებს, რომელთა პროსთეტული ჯგუფია ფოსფორმჟავა. აღნიშნული ცილების მაგალითს წარმოადგენს რძის ცილა კაზეინი და კვერცხის გულისშემცველი ცილა ვიტელინი.

კაზეინოგენისთვის დამახასიათებელია მჟავა თვისებები და რძე მას კალციუმის ხსნადი მარილის სახით შეიცავს. სხვადასხვა გამოკვლევების შედეგად დადგენილია, რომ ფოსფორის რაოდენობა შეადგენს 0,79-0,88%-ს კაზეინი ჰეტეროგენული ცილაა. ელექტროფორეზის მეშვეობით იგი იყოფა სამ კომპონენტად: α-, β- და γ- კაზეინი.

ცდა 1. კაზეინის გამოყოფა რძიდან

რეაქტივები და ჭურჭელი. ქვიშის აბაზანა; მინის ჭიქა 200 მლ; მინის წკირი; მინის ძაბრი (დიამტერი 7-8სმ); როდინი (დიამეტრი 70 მმ); ლაბორატორიული სინჯარები (ცეცხლგამძლე მინის); დანაყოფებიანი პიპეტი 1 მლ; ფენოლფტალეინის ქაღალდი; ფილტრის ქაღალდი; მოხდილი რძე; ძმარმჟავა (0,1%-ანი); ნატრიუმის კარბონატი (0,1%-ანი); მეთანოლი; დიეთილის ეთერი; მეთილის სპირტის და ქლოროფორმის (1:1) ნარევი; გოგირდმჟავა (კონც.); აზოტმჟავა (კონც.); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (5N); გოგირდმჟავა (5N); ამონიუმის მოლიბდატი (იხ. დანართი).

კაზეინს უფრო ხშირად გამოყოფენ რძის შემჟავების გზით. მიაჩნიათ, რომ რძე კაზეინს შეიცავს კაზეინოგენის სახით, რომელიც გამოყოფის პროცესში გარდაიქმნება კაზეინად.

200 მლ ქიმიურ ჭიქაში ასხამენ 30 მლ მოხდილ რძეს, განაზავებენ 120 მლ წყლით და წვეთობით, მორევისას ამატებენ ძმარმჟავას 1%-იან ხსნარს კაზეინის გამოლექვის შეწყვეტამდე. საყურადღებოა ის, რომ ძმარმჟავას რაოდენობა არ იყოს ჭარბად აღებული, რადგან კაზეინი იხსნება ძმარმჟავაში. კაზეინს ფილტრავენ, ცხიმებისა და სხვა ნივთიერებების ჩამოცილების მიზნით ჩარეცხენ წყლით და ხსნიან ნატრიუმის კარბონატის 0,1%-იან ხსნარში. კაზეინი იხსნება, ცხიმი შეწონილ მდგომარეობაში რჩება. ნარევს ფილტრავენ სველ ფილტრის ქაღალდში, ცხიმები რჩებიან ფილტრის ქაღალდზე.

ფილტრატს, რომელიც შეიცავს კაზეინის ნატრიუმის მარილს კვლავ ამატებენ ძმარმჟავას 0,1%-იან ხსნარს კაზეინის დალექვის მიზნით.

კაზეინის ნალექს ფილტრავენ, წურავენ ფილტრის ქაღალდებს შორის შეძლებისდაგვარად გაშრობამდე, ათავსებენ როდინში, ამატებენ (15-20 მლ) სპირტს და სრესენ გაუწყლოვების მიზნით. შემდეგ ათავსებენ დიდ სინჯარაში და შეანჯღრევენ ცხიმის მოცილებისათვის, ჯერ ეთერის მეშვეობით, ხოლო შემდეგ მეთილის სპირტისა და ქლოროფორმის ნარევის (1:1) 15-20 მლ-ის დამატებით. მიღებული სუფთა კაზეინი ჰაერზე გამოშრობის შემდეგ წარმოადგენს თეთრი ფერის ფხვნილს, რომელსაც მჟავა თვისებები ახასიათებს. კაზეინს ათავსებენ როდინში, ამატებენ სოდის ხსნარს და სრესენ, რის შედეგადაც გამოიყოფა ნახშირბადის დიოქსიდი, ხოლო კაზეინი იხსნება და წარმოიქმნება კაზეინის ნატრიუმის მარილი.

ცდა2. კაზეინის იზოელექტრული წერტილის განსაზღვრა

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; მინის სინჯარები; სწორი ბიურეტები ონკანით – 10 და 50 მლ; პიპეტი 1 მლ-იანი ერთი დანაყოფით; საზომი კოლბა – 200 მლ; ძმარმჟავა (0,1N); კაზეინი; ნატრიუმის აცეტატი (0,1N).

ცილები წარმოადგენენ ამფოტერულ ელექტროლიტებს და დისოციაციის შედეგად წარმოქმნიან, როგორც დადებით ასევე უარყოფითად დამუხტულ ჯგუფებს.

pH-ის განსაზღვრისას შესაძლებელია იონიზირებული ჯგუფების ისეთი თანაფარდობა, როდესაც ცილის ხსნარი ყველაზე არამდგრადია და ცილა გამოილექება. ცილის ხსნარში წყალბადიონთა განსხვავებული კონცენტრაციის შემთხვევაში ცილის მდგომარეობის შესწავლისას პოულობენ არის pH-ის ისეთ მნიშვნელობას, რომელიც ცილის იზოელექტრულ წერტილს შეესაბამება.

სინჯარებში ბიურეტიდან ასხამენ 0,1N ძმარმჟავას ხსნარს შემდეგი რაოდენობით: პირველში –0,25 მლ; მეორეში –0,5 მლ; მესამეში – 1,0 მლ; მეოთხეში – 30 მლ და მეხუთეში – 4,0 მლ. მეორე ბიურეტიდან იგივე თანამიმდევრობით ყოველ სინჯარას ამატებენ: 8,75 მლ; 8,5 მლ; 7,0 მლ; და 5,0 მლ წყალს. ნატრიუმის აცეტატში გახსნილი კაზეინის დამატებისას მიღებულ ნარევებში pH-ის მნიშვნე-

ლობა იქნება: 5,3; 5.0; 4,7; 4.4 და 4,1 სინჯარების შესაბამისად.

კაზეინის 0,1%-იან ხსნარს ამზადებენ შემდეგნაირად: წყლის აბაზანაზე ოდნავი გაცხელებით 5მლ ნატრიუმის აცეტატის 0,1N ხსნარში ხსნიან 0,2 გ კაზეინს, და მიღებულ ხსნარს შეავსებენ იგივე კონცენტრაციის ნატრიუმის აცეტატის ხსნარით 200 მლ-დე. ყოველ სინჯარას პიპეტით ამატებენ კაზეინის ხსნარის 1 მლ-ს და აღნიშნავენ ხსნარის შემღვრევის ინტენსიურობას. იქ, სადაც მაქსიმალურად შეიმღვრა ხსნარი, მისი pH შეესაბამება ცილის იზოელექტრულ წერტილს (pH=4,7). მიღებული მონაცემი შეაქვთ სამუშაო რვეულში.

2. 9. ცილების მიმოცვლის საბოლოო პროდუქტები

შარდოვანას აღმომჩენი თვისებითი რეაქციები

ცდა 1. შარდოვანას დაშლა ნატრიუმის ჰიპობრომიდის მოქმედებით

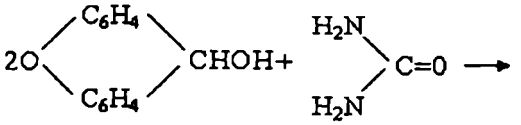
რეაქტივები და ჭურჭელი: მინის ქიმიური სინჯარები; შარდოვანა (5%-იანი და 0,1%-იანი); ნატრიუმის ჰიპობრომიდი (იხ. დანართი); ყინულოვანი ძმარმჟავა; ქსანტჰიდროლი (ნაჯერი) მეთანოლში (ამზადებენ გამოყენების წინ; ქსანტჰიდროლს ღებულობენ თუთიის მტვრით დიბენზო-γ-პირონის ტუტესპირტხსნარის აღდგენით).

შარდოვანას 5%-იანი ხსნარის 2-3 მლ-ს ამატებენ ნატრიუმის ჰიპობრომიდის ახლადდამზადებულ ხსნარს; შარდოვანა იშლება:

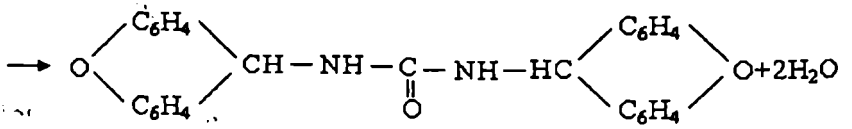
$$H_2N-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-NH_2 + 3NaBrO \rightarrow N_2 + CO_2 + 3NaBr + 2H_2O$$

მოცემული რეაქცია გამოიყენება შარდში შარდოვანას რაოდენობითი განსაზღვრისათვის.

ცდა 2. შარდოვანას ურთიერთქმედება ქსანტჰიდროლთან. შარდოვანას 0,1%-იანი ხსნარის 1 მლ ამატებენ 2 მლ ყინულოვან ძმარმჟავას და 0,5 მლ მეთანოლში გაჯერებულ ქსანტჰიდროლის ხსნარს. მორევისა და დაყოვნების შემდეგ გამოილექება დიქსანტილშარდოვანას კრისტალები.



ქსანტჰიდროლი



დიქსანტილშარდოვანა

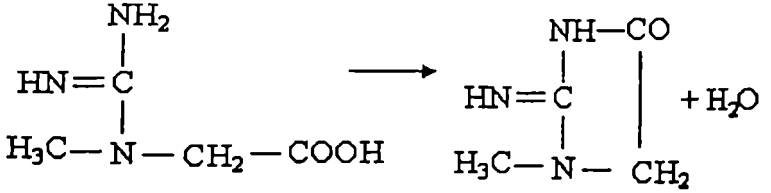
განხილული რეაქცია, აგრეთვე, წარმოადგენს შარდოვანას რაოდენობითი განსაზღვრის ერთ-ერთ მეთოდს.

ცდა 3. კრეატინის აღმოჩენა კუნთოვან ქსოვილში

რეაქტივები და ჭურჭელი: წყლის აბაზანა; ქიმიური სინჯარები; როდინი (დიამეტრი 110 მმ); მინის ძაბრი (დიამეტრი 5-7 სმ); ფილტრის ქაღალდი; ახლად დაქუცმაცებული კუნთები (ლაბორატორიული ცხოველების); სულფოსალიცილის მჟავა (20%-იანი); მარილმჟავა (10%-იანი); პიკრინმჟავა (ნაჯერი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (20%-იანი).

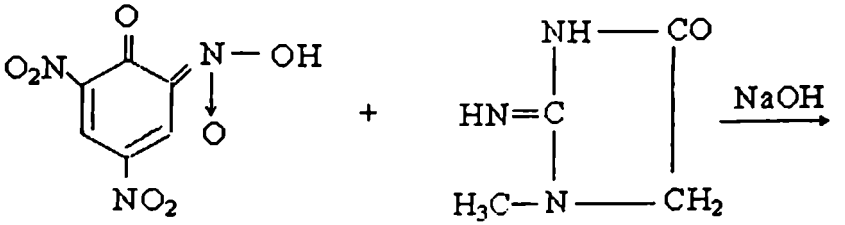
წვრილად დაჭრილ კუნთოვან ქსოვილს ათავსებენ როდინში, ამატებენ 5 მოცულობა გამოხდილ წყალს და სრესენ. მიღებული მასის 3–5 მლ გადააქვთ სინჯარაში და ამატებენ 20%-იანი სულფოსალიცილის მჟავას ტოლი მოცულობით. ცილა დაილექება. რამდენიმე წუთის დაყოვნების შემდეგ ნალექს ფილტრავენ, ფილტრატის ნაწილს ასხამენ სინჯარაში, ამატებენ ტოლ მოცულობა მარილმჟავას 10%-იან ხსნარს და აცხელებენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე 2 საათის განმავლობაში. აბაზანიდან ამოღებულ სინჯარაში ასხამენ 1-2 მლ პიკრინმჟავას გაჯერებულ ხსნარს და ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 20%-იანი ხსნარის 2-3 მლ-ს.

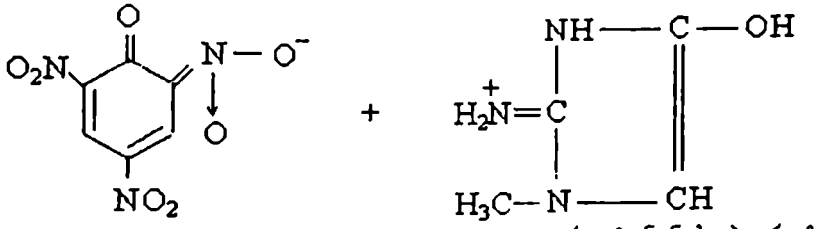
წყლის აბაზანაზე, გაცხელებისას კრეატინი გარდაიქმნება კრეატინინად:



კრეატინი კრეატინინი

ეს უკანასკნელი ურთიერთქმედებს პირკინმჟავას აციფორმასთან და წარმოიქმნება ჟოლოსფერი მარილი.





კრეატინინის პიკრატი.

ფერმენტები

ფერმენტები (ანუ ენზიმები) ეწოდებათ ცილოვანი ბუნების ბიოლოგიურ კატალიზატორებს, რომლებიც შედიან ცოცხალი ორგანიზმების ყოველი უჯრედის და ქსოვილის შემადგენელობაში და აჩქარებენ ცალკეულ ქიმიურ რეაქციას.

3. 1. ფერმენტული პრეპარატების მიღება

ფერმენტებს გამოყოფენ სხვადასხვა ცხოველური და მცენარეული ქსოვილებიდან, აგრეთვე მიკროორგანიზმებიდან. მხოლოდ ობის სოკოებიდან გამოყოფილია 80-მდე ფერმენტული სხვადასხვა პრეპარატი: ამილოლითური, პროტეოლითური და პექტოლითური.

რადგან ფერმენტები წარმოადგენენ ცილებს და ადვილად განიცდიან დენატურაციას, მათი გამოყოფისა და გასუფთავების ყველა პროცედურა უნდა ჩატარდეს რბილ პირობებში, კერძოდ, არა უმეტეს +40^{0}C ტემპერატურის პირობებში, უმჯობესია ცივ ოთახში, რადგან ფერმენტები ადვილად განიცდიან ინაქტივაციას. 5-ზე დაბალი და 9-ზე მაღალი pH-ის მნიშვნელობის პირობებში, მათი გამოყოფის პროცესის დროს და განსაკუთრებით გასუფთავებისას აუცილებელია წყალბადის მაჩვენებლის მკაცრი კონტროლი. თხევადი ქიმიური რეაქტივები, რომლებიც ფერმენტების შესწავლისას ექსპერიმენტებში გამოიყენებიან უნდა იყოს გადადენილი, ხოლო მშრალი ნივთიერებები — გადაკრისტალებული. გამომდინარე იქიდან, რომ ინდივიდუალური ფერმენტების გამოყოფის მეთოდები ძალზე რთულია. ხშირად სამუშაოს აწარმოებენ ე.წ. ფერმენტულ პრეპარატებთან, რომლებიც წარმოადგენენ ნაწილობრივ გასუფთავებულ ფერმენტებს. ჰომოგენიზირებული ბიოლოგიური მასალიდან ფერმენტული პრეპარატების გამონაწვლილის მიღებისას, რომელიც შესაბამის ფერმენტს შეიცავს, აწარმოებენ მის გაუწყლოებას ამა თუ იმ გზით. პრეპარატების გაუწყლოების ყველაზე გავრცელებულ ხერხს, როდესაც ერთდროულად ხდება ლიპიდების ჩამოცილებაც, წარმოადგენს აცეტონური ფხვნილების მიღება. ამისათვის ფერმენტის გამონაწვლილს ან ქსოვილის ჰომოგენატს ამუშავებენ (-20^{0}C-მდე) გაცივებული აცეტონით, რომელსაც ჭარბი რაოდენობით უნდა

იქნეს აღებული. აცეტონურ ფხვნილებს, რომლებიც აღნიშნული მეთოდით არის დამზადებული, ინახავენ ექსიკატორში $0^{0}C$ ტემპერატურის პირობებში. პრეპარატი ინარჩუნებს აქტიურობას ხანგრძლივი დროის განმავლობაში და საჭიროების შემთხვევაში შეიძლება მისი გამოყენება.

გაუწყლოების ერთ-ერთ მეთოდს მიეკუთვნება პრეპარატის ლიოფილიზაცია სპეციალურ ხელსაწყოებში და აგრეთვე ამ მიზნისათვის გამოიყენებენ სეფადექსს. ფერმენტების სუფთა პრეპარატების მისაღებად აგრეთვე გამოიყენებენ ისეთ ეფექტურ მეთოდებს, როგორიცაა ელექტროფორეზი, გელ-ფილტრაცია, იონმიმოცვლითი ქრომატოგრაფია და სხვა.

ცდა 1. პრეპარატ საქარაზას მიღება

რეაქტივები და ჭურჭელი: ცენტრიფუგა; თერმოსტატი; წყლის აბაზანა; ფაიფურის როდინი; მინის ფირფიტა; ქიმიური სინჯარები; საფუარი; კვარცის სილა; თიმოლი; აცეტონი; საქაროზა (5%-იანი); ფელინგის სითხე (იხ. დანართი).

როდინში ათავსებენ საფუარს, ამატებენ ქვიშას და სრესენ. გასრესილ მასას თხლად გაანაწილებენ მინაზე და აშრობენ მშრალი ჰაერის ნაკადში. გამშრალ საფუარს ისევ სრესენ და მიიღება ფხვნილი, რომელსაც მცირე ულუფებით ინტენსიური მორევით ამატებენ 200 მლ წყალს. შემდეგ, მიღებულ მასას ისევ გასრესენ როდინში და აცენტრიფუგირებენ 10 წუთის განმავლობაში (3000g), (ან ფილტრავენ ნაკეცი ფილტრის ქარალდში). გამჭვირვალე ფილტრატს ამოაშრობენ ვაკუუმში ($35^{0}C$), დაიყვანენ მცირე მოცულობამდე და ასხავენ $-20^{0}C$-მდე გაცივებულ აცეტონში, რომლის მოცულობა ხუთჯერ აღემატება ფილტრატის მოცულობას, მოურევენ და რამდენიმე წუთის შემდეგ აცენტრიფუგირებენ (3000g). წარმოქმნილ ნალექს აშრობენ $38^{0}C$ ტემპერატურაზე და გასრესენ როდინში. მიღებული პრეპარატი წარმოადგენს საქარაზას, რომელიც ხანგრძლივად ინარჩუნებს თავის თვისებებს. მიღებულ ფხვნილს ამატებენ ფილტრატის ქაღალდში გახვეულ თიმოლის კრისტალს, რომელიც ანტისეპტიკის როლს ასრულებს. საქარაზას აქტიურობის შესამოწმებლად ორ სინჯარაში ასხამენ (0,5 მლ თითოეულში) მიღებული პრეპარატის 0,01% წყალხსნარს და ათავსებენ წყლის აბაზანაზე 10-15 წუთის განმავლობაში $40^{0}C$ ტემპერატურაზე. აღნიშნული დროის გასვლის შემდეგ ორივე სინჯარას ამატებენ 2-2 მლ ფე-

ლინგის სითხეს, მოურევენ და აცხელებენ დულილის დაწყებამდე. საკონტროლო სინჯარაში (ფერმენტი ადულებისას დაიშალა) სპილენძის(I) ოქსიდის ნალექი არ წარმოიქმნება. სინჯარაში, რომელიც აქტიურ ფერმენტს შეიცავს წარმოიქმნება სპილენძის(I) ოქსიდის წითელი ფერის ნალექი, რაც მიუთითებს გლუკოზასა და ფრუქტოზას არსებობაზე, რომელთა მოქმედებისას მიმდინარეობს სპილენძის იონთა აღდგენა +2 დაჟანგულობის ხარისხიდან +1-მდე.

ცდა 2. პრეპარატ ურეაზას მიღება (კარბამიდა-მიდოჰიდროლაზა) სოიოს ფქვილიდან

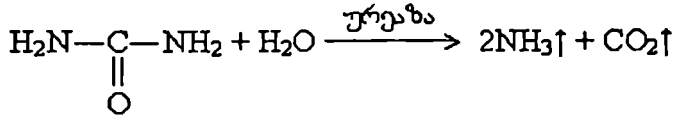
რეაქტივები და ჭურჭელი. ყავის საფქვავი; ბიუხნერის ძაბრი; ფაიფურის როდინი; კონუსური კოლბები 500 მლ-იანი; ბუნზენის კოლბა; რეზინის მილი მომჭერით; სოიოს მარცვლები; ეთერი; შარდოვანა (1%-იანი); ფენოლფტალეინი (1%-იანი სპირტით); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი); ნესლერის რეაქტივი (იხ. დანართი).

100 გ სოიოს მშრალ მარცვალს ჯერ ორჯერ ფქვავენ ყავის საფქვავში, ხოლო შემდეგ სრესენ როდინში. ფქვილს ჩაყრიან კონუსურ კოლბაში (500 მლ), ამატებენ 200 მლ პეტროლეინის ეთერს (ან დიეთილეთერს) გაუცხიმების მიზნით (კოლბას არ ახურავენ საცობს, მოარიდებენ ცეცხლს!) და შეანჯღრევენ. ნალექს მოაცილებენ ბიუხნერის ძაბრზე. ეთერით ექსტრაქციას იმეორებენ 5-6-ჯერ. გაუცხიმებულ ფქვილს გამოაშრობენ, გაანაწილებენ მინაზე თხელი ფენის სახით ან გადაიტანენ ფილტრის ქაღალდზე. გამომშრალი, გაუცხიმებელი ფქვილი გადააქვთ მიხეხილსაცობიან ქილაში და ინახავენ მშრალ ადგილას. მიღებული პროდუქტის გამოყენება შეიძლება ხანგრძლივი დროის განმავლობაში ურეაზას გამონაწვლილის მისაღებად.

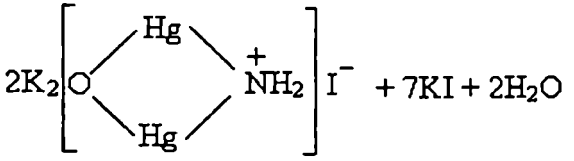
ურეაზას აქტიურობის შესამოწმებლად ამზადებენ პრეპარატის 0,01%-იან ხსნარს. სინჯარაში ასხავენ 1%-ანი შარდოვანას ხსნარის 5მლ-ს, ფენოლფტალეინის სპირტხსნარის 2-3 წვეთს და 1-2 მლ ურეაზას 0,01%-იან ხსნარს. სინჯარას ათავსებენ თერმოსტატში 30 წუთის განმავლობაში 38°C ტემპერატურაზე. პარალელურად ატარებენ იგივე ცდას ურეაზას ადულებულ ხსნარზე. პირველი სინჯარის ხსნარი შეიფერება მოწითალო-ჟოლოსფრად, რაც მიუთითებს, რომ ამიაკის წარმოქმნის შედეგად რეაქცია ტუტე არისკენ გადაიხარა. ამიაკი შეიძლება წარმოქმნას სხვა გზითაც. ამ მიზნით იმეორებენ ცდას და 38°C-ზე ინკუბაციის შემდეგ სარეაქციო

ნარევს ფრთხილად ამატებენ ტოლ მოცულობა ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 10%-იან ხსნარს. ამიაკის გამოყოფას ადგენენ სუნით, თავღია სინჯარასთან სველი ლაკმუსის ქაღალდის მიახლოებისას მისი გალურჯებით. და 2-3 წვეთ ნესლერის რეაქტივის დამატებისას რუხი ფერის ნალექის გამოყოფით.

შარდოვანას ჰიდროლიზის პროდუქტებს წარმოადგენს ნახშირბადის(IV) ოქსიდი და ამიაკი (კატალიზატორი ურეაზა).



ნესლერის რეაქტივით ამიაკის აღმოჩენის რეაქცია გამოისახება შემდეგი სქემით:



3. 2. ფერმენტების აღმოჩენი თვისებითი რეაქციები

ცდა 1. პეპსინის მოქმედების აღმოჩენა (პეპტიდ-პეპტიდოჰიდროლაზა)

რეაქტივები და ჭურჭელი. თერმოსტატი; წამზომი; პიპეტები 1 მლ და 5 მლ დანაყოფებიანი; ქიმიური სინჯარები; გაფილტრული კუჭის წვენი; რძეაცეტატური ნარევი, რომელიც შედგება ტოლი მოცულობით აღებული ახალი რძის 0,1M აცეტატური ბუფერისგან; აცეტატური ბუფერი (0,1M, pH=5).

სინჯარაში ასხამენ 5 მლ რძეაცეტატურ ნარევს და ათავსებენ თერმოსტატში 25^{0}C ტემპერატურაზე. სინჯარას გათბობის შემდეგ ამატებენ 0,1 მლ გაფილტრულ კუჭის წვენს და მოურევენ. როგორც კი სინჯარის კედლებზე წარმოიქმნება კაზეინის პირველი შედედებული ნაწილაკები, ჩართავენ წამზომს. აღნიშნული წუთი მიუთითებს ხსნადი კაზეინოგენის უხსნად კაზეინში გადასვლის დასრულების დროს.

რეაქცია მიმდინარეობს პროტეოლიტური ფერმენტის – პეპსინის მოქმედების შედეგად.

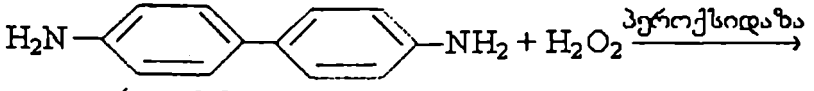
ცდა 2. პეროქსიდაზას აღმოჩენა პირშუშხაში

რეაქტივები და ჭურჭელი. ლაბორატორიული შტატივი სინჯარებით; პიპეტი 1 მლ ერთდანაყოფიანი (3 ცალი); პირშუშხას წყლიანი ექსტრაქტი (პირშუშხას ფესვს გახეხავენ სახეხზე და ათავსებენ მცირე რაოდენობის წყალში 1 საათის განმავლობაში, შემდეგ გადაფილტრავენ); გვაიაკის ფისი (5%-იანი სპირტხსნარი); წყალბადის ზეჟანგი (0,5%-ანი); ბენზიდინი; ნადი-ს რეაქტივი (იხ. დანართი).

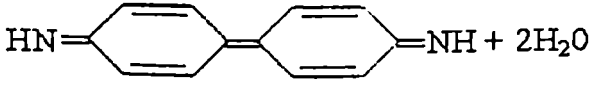
ა. თვისებითი რეაქცია გვაიაკის ფისთან. პირშუშხას ექსტრაქტის 1 მლ-ს ამატებენ 1-2 წვეთ ახლადდამზადებულ გვაიაკის 5%-ანი ხსნარის 1-2 წვეთს. ნარევს ამატებენ 0,5%-ანი წყალბადის პეროქსიდის 1-2 წვეთს და ხსნარი ლურჯად შეიფერება, რაც არ შეინიშნება ადუღებული პრეპარატის სინჯის დამატებისას.

ბ. თვისებითი რეაქცია ნადის რეაქტივთან. პირშუშხას ექსტრაქტის 1 მლ-ს ამატებენ 2-3 წვეთ ნადის რეაქტივს (ახლადდამზადებული) და შემდეგ კი წყალბადის პეროქსიდის 0,5%-ანი ხსნარის 1-2 წვეთს. წარმოიქმნება ინტენსიური ლურჯი შეფერილობა, რაც განპირობებულია ცისფერი ინდოფენოლის წარმოქმნით. გადადუღებული პრეპარატის გამოყენება იძლევა უარყოფით შედეგს.

გ. ბენზიდინის სინჯი. პირშუშხას წყლის ექსტრაქტის 1 მლ-ს ამატებენ ბენზიდინის სპირტხსნარის 5 წვეთს და წყალბადის პეროქსიდის 0,5%-ანი ხსნარის 2 წვეთს. წარმოიქმნება მუქი ლურჯი შეფერილობა, რაც გამოწვეულია ბენზიდინის დაჟანგვით და n, n´-დიიმინოდიფენილქინონის წარმოქმნით:



n,n´-დიამინოდიფენილი



n,n´-დიიმინოდიფენილქინონი

ცდა 3. ამილაზას აღმოჩენა ნერწყვში

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; ფაიფურის ფირფიტა; მინის ძაბრი; კონუსური კოლბა 100 მლ; საზომი ცილინდრი 50 მლ; მინის ჭიქები 2ც. 100 მლ-ანი; სახამებლის წებოვანა (1%-ანი); იოდი (1%) გახსნილი კალიუმის იოდიდში (3%-ში); ფელინგის სითხე (იხ. დანართი).

განზავებული ნერწყვის ხსნარის მომზადება. 1-3-ჯერ პირში გამოივლებენ წყალს საჭმლის ნაშთის მოცილების მიზნით. ცილინდრით ასხამენ 50 მლ წყალს, გამოივლებენ პირის ღრუში რამდენჯერმე 3-5 წუთის განმავლობაში და ჭიქაში დაგროვებულ სითხეს (50-60 მლ ოდენობით) ფილტრავენ ბამბაში და მიღებულ ფილტრატს გამოიყენებენ სამუშაოს ჩასატარებლად.

სახამებლის ჰიდროლიზი ნერწყვის ამილაზას მოქმედების შედეგად. ორ სინჯარაში ასხამენ 5-5 მლ სახამებლის ხსნარს. ერთ მათგანს ამატებენ 5 მლ წყალს, მეორეს — 5 მლ ნერწყვის ხსნარს. ორივე სინჯარაში ჩადებენ მინის წკირებს და ერთდროულად ათავსებენ წყლის აბაზანაზე 40°C ტემპერატურაზე, დააყოვნებენ ერთი წუთის განმავლობაში. დაყოვნების შემდეგ ყოველი ნარევიდან მინის წკირით ამოიღებენ თითო წვეთ სითხეს და ცალ-ცალკე შეურევენ იოდის წვეთს, რომელიც წინასწარ არის დაწვეთებული მინის ფირფიტაზე. სინჯის აღებას იმეორებენ ყოველი 2, 4, 6 და 8 წუთის შუალედით. სინჯები, რომლებიც ნერწყვის ხსნარიდან იყო ამოღებული იოდთან ღებულობენ სხვადასხვა შეფერილობას, კერძოდ, ლურჯი ფერი გადადის მოლურჯო-იისფერში, შემდეგ რუხ-წითელში, წითელში და ბოლოს ყვითლად შეიფერება. სინჯარაში დარჩენილ ნერწყვის ხსნარს ამატებენ 1-2 მლ ფელინგის სითხეს, ნარევს აცხელებენ ადუღებამდე, გამოილექება წითელი ფერის ნალექი — სპილენძის(I) ოქსიდი, რომელიც წარმოქმნილია მალტოზასა და დაბალმოლეკულური დექსტრინების მოქმედებით მიღებული სპილენძის(II) ჰიდროქსიდის აღდგენის შედეგად. საკონტროლო სინჯი იგივე პირობებში არ აღადგენს სპილენძის(II) ჰიდროქსიდს სპილენძის(I) ოქსიდად.

ცდა 4. ურეაზას აღმოჩენა სოიოს ფქვილში (კარბამიდ-ამიდოჰიდროლაზა)

რეაქტივები და ჭურჭელი. თერმოსტატი; 2 პიპეტი 1 დანაყოფით 2 მლ-ზე; სოიოს ფქვილი; შარდოვანა (1%-ანი); ფენოლფტალეინი (1%-ანი სპირტხსნარი).

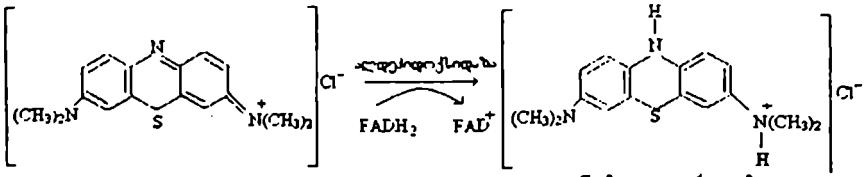
შარდოვანას 1%-ანი ხსნარის 2 მლ-ს ამატებენ 2 წვეთ ფენოლფტალეინს და 2 მლ ურეაზას ხსნარს (1:10). ნარევს მოურევენ და ათავსებენ თერმოსტატში 38°C ტემპერატურაზე 30 წუთის განმავლობაში. პარალელურად იგივე ცდას აყენებენ, რომელშიც გამოიყენებენ ურეაზას ადუღებულ ხსნარს. პირველი სინჯარის შემცველობა შეიფერება ჟოლოსფრად, ეს მიუთითებს, რომ ხსნარის pH-მა გადაინაცვლა ტუტე არეში, რაც გამოწვეულია ამიაკის წარმოქმნით.

ცდა 5. ალდეჰიდოქსიდაზას აღმოჩენა აუდუღარ რძეში

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; ლაბორატორიული თერმომეტრი; პიპეტი ერთი დანაყოფით, 1 მლ-ანი (3 ცალი), 5 მლ (2 ცალი); ძროხის რძე; ვაზელინის ზეთი; ფორმალდეჰიდი (0,4%-ანი); მეთილენის ლურჯი (0,01%-ანი).

სამ სინჯარაში ასხამენ 5-5 მლ ძროხის აუდუღარ რძეს, სინჯარებს დანომრავენ. ერთ სინჯარას ადუღებენ 2-3 წუთის განმავლობაში და აცივებენ. ადუღებულ სინჯს (№1) და აუდუღარ სინჯს (№2) ამატებენ 1-1 მლ ფორმალდეჰიდის 0,4% ხსნარს, ხოლო სინჯს (№3), რომელიც აგრეთვე აუდუღარია, ამატებენ 1 მლ წყალს. შემდეგ, სამივე სინჯარას ამატებენ მეთილენის ლურჯის 0,01%-იანი ხსნარის 1 მლ-ს. მოურევენ და სამივე სინჯარას ამატებენ 3-4 წვეთ ვაზელინის ზეთს, რათა ხსნარების ზედაპირს არ შეეხოს ჰაერის ჟანგბადი.

სამივე სინჯარას ათავსებენ წყლის აბაზანაზე, რომელიც 40°C ტემპერატურამდეა გაცხელებული. რამდენიმე წუთის შემდეგ აუდუღარი სინჯი, რომელშიც დამატებული იყო ფორმალინი, გაუფერულდება. გაუფერულება მიმდინარეობს იმ წყალბადატომთა ხარჯზე, რომლებიც ალდეჰიდოქსიდაზას მონაწილეობით ჩამოცილდებიან ფორმალდეჰიდს და ეს უკანასკნელი გარდაიქმნება ჭიანჭველმჟავად:



მეთილენის ლურჯი (დაჟანგული ფორმა)

მეთილენის ლურჯის აღდგენილი ფორმა (უფერო ნაერთი)

თუ მეთილენის ლურჯის გაუფერულებულ ხსნარს შეანჯღრევენ ჰაერზე, ხსნარი ისევ ლურჯ ფერს იძენს, რადგან აღდგენილი ფორმა (წყალბადის დონორი) გასცემს წყალბადს, რომელიც ჰაერის ჟანგბადს უერთდება და წარმოიქმნება წყალბადის ზეჟანგი:

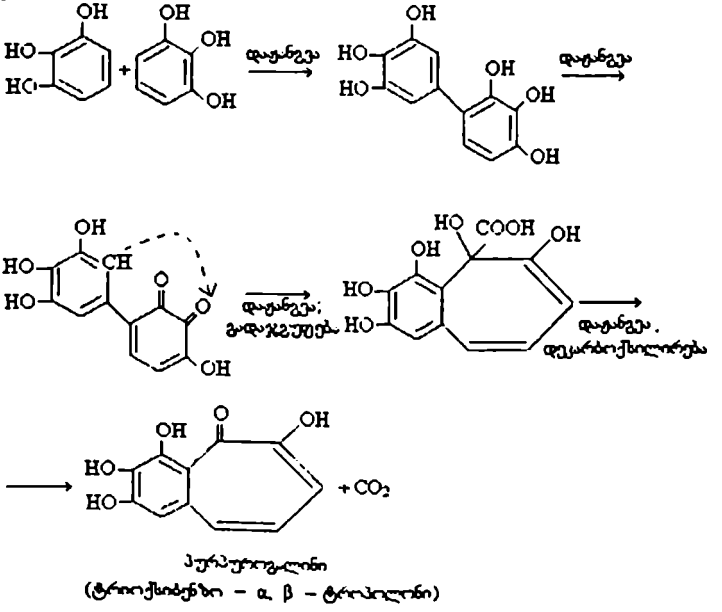
მეთილენის ლურჯი $\cdot H_2 + O_2 \rightarrow$ მლ $+ H_2O_2$

ადუღებულ სინჯში და აუდუღარ სინჯში (ფორმალდეფიდის გარეშე) მეთილენის ლურჯი არ უფერულდება, რადგან პირველ სინჯში ფერმენტი არ არის აქტიური, ხოლო მეორე სინჯი არ შეიცავს სუბსტრატს.

ცდა 6. პეროქსიდაზას აღმოჩენა კარტოფილში

რეაქტივები და ჭურჭელი. სახეხი; კარტოფილი; პიროგალოლი (1%-ანი); წყალბადის ზეჟანგი (2%-ანი).

სინჯარაში ათავსებენ სახეხზე გახეხილ კარტოფილს მცირე რაოდენობით, ამატებენ პიროგალოლის 1%-იან ხსნარს 1-2 მლ-ს და წყალბადის ზეჟანგის 2%-იანი ხსნარის 1-2 წვეთს. დაყოვნებისას გამოილექება რუხი ყვითელი ფერის პურპუროგალინის ნალექი. პურპუროგალინის წარმოქმნა გამოისახება შემდეგი სქემით:

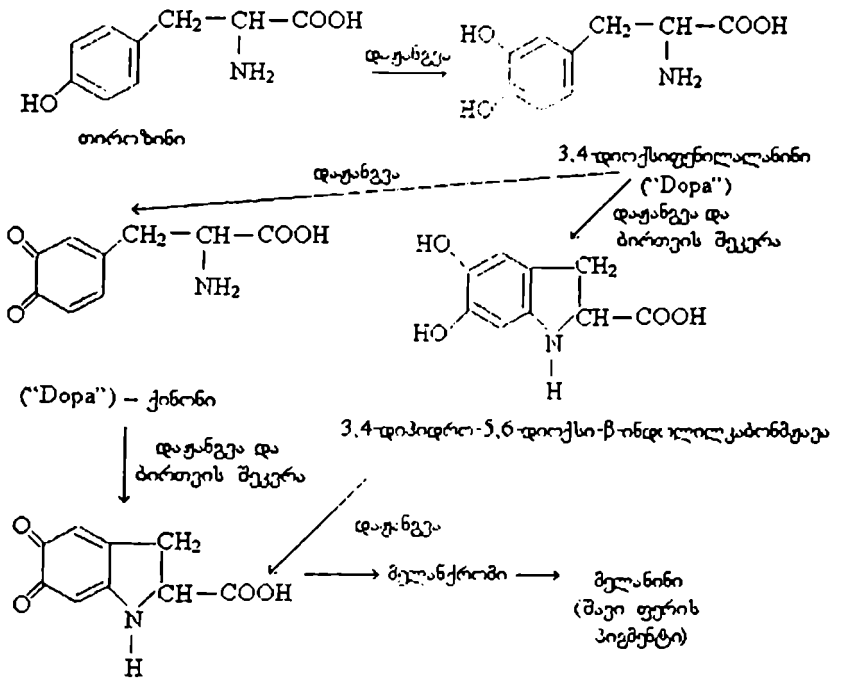


პურპუროგალინის წარმოქმნისას პიროგალოლის და რიგი შუალედური პროდუქტების მრავალჯერადი დეჰიდრირება (დაჟანგვა) ხორციელდება . პეროქსიდაზას მონაწილეობით, რომელიც ყოველთვის გადასცემს წყალბადის ჩამოცილებულ ატომებს წყალბადის ზეჟანგს.

ცდა 7. თიროზინაზას აღმოჩენა კარტოფილში

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; ბიუხნერის ძაბრი, რომლის გარე დიამეტრია 100 მმ; პიპეტი ერთი დანაყოფით 1 მლ; დოლბანდი; კარტოფილი (უმი); თიროზინი (ნაჯერი); სახეხი.

სახეხზე გახეხილ კარტოფილს წურავენ რამდენიმე ფენა დოლბანდში და მიღებულ ექსტრაქტს მაშინვე ფილტრავენ ბიუხნერის ძაბრზე. სინჯარაში ასხავენ 1 მლ ექსტრაქტს, 2-3 წვეთ თიროზინის ხსნარს, მოურევენ და სინჯარას ათავსებენ წყლის აბაზანაზე, რომელიც $40^{0}C$-დე არის გაცხელებული. დროდადრო სინჯარას შეანჯღრევენ, რათა მასში არსებული სითხე უკეთ შეეხოს ჰაერს. ნარევი იძენს მოვარდისფერო-წითელ ფერს, შემდეგ გადადის რუხ ფერში, ხოლო 1-2 საათის შემდეგ შავი ფერი წარმოიქმნება, რადგან თიროზინაზას (მონოფენოლოქსიდაზა) მოქმედების შედეგად თიროზინი წითლად შეფერილი შუალედური პროდუქტების მეშვეობით გარდაიქმნება შავი ფერის აზოტშემცველ პიგმენტ-მელანინად:



3. 3. ფერმენტების თვისებები

ფერმენტების და არაბიოლოგიური ბუნების კატალიზატორებს შორის ძირითადი სხვაობა მდგომარეობს იმაში, რომ ფერმენტები გამოირჩევიან განსაკუთრებულად მაღალი კატალიზური აქტიურობით და მოქმედების მკეთრად გამოხატული სპეციფიურობით, რაც განპირობებულია მათი აღნაგობის და მოქმედების მექანიზმის თავისებურებით.

ცდა 1. არაორგანული კატალიზატორებისა და ფერმენტების მოქმედების შედარება

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; ლაბორატორიული თერმომეტრი; შტატივი ლაბორატორიული სინჯარებით; პიპეტი ერთი დანაყოფიანი, 1 მლ (3 ცალი); სახამებელი (1%-ანი)

ნატრიუმის ქლორიდში (0,3%-ში), მარილმჟავა (10%-ანი); იოდი (0,3%-ანი) კალიუმის იოდიდში (3%-ში); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი); სპილენძის სულფატი (3%-ანი).

სამ სინჯარაში ასხამენ 5-5 მლ სახამებლის 1%-იან ხსნარს. პირველ სინჯარაში ამატებენ 1 მლ გამოხდილ წყალს, მეორეში – 1 მლ მარილმჟავას 10% ხსნარს, მესამეში – 1 მლ ნერწყვს (იხ. ამილაზას აღმოჩენა ნერწყვში).

პირველი და მესამე სინჯარებს მორევის შემდეგ ათავსებენ წყლის აბაზანაზე 38°C ტემპერატურაზე, ხოლო მეორე სინჯარას ათავსებენ მდუღარე აბაზანაზე. 15-20 წუთის შემდეგ ყველა სინჯარას ამოიღებენ აბაზანიდან, აცივებენ და თითოეული მათგანიდან იღებენ სინჯს სახამებლის და გლუკოზას შემცველობის დასადგენად: პირველს ადგენენ რეაქციით იოდთან, ხოლო მეორეს – ტრომერის რეაქციის მეშვეობით. თითოეული სინჯარიდან მინის წკირით იღებენ საკვლევი ხსნარის თითო წვეთს და აწვეთებენ ფაიფურის ფირფიტაზე, რომელზეც წინასწარ კალიუმის იოდიდში გახსნილი იოდის ხსნარია დაწვეთებული, წვეთებს შეურევენ. ფერის ინტენსიურობის შესაბამისად აკეთებენ დასკვნას სახამებელის ჰიდროლიზის ხარისხის შესახებ. გლუკოზას განსაზღვრისათვის ყოველი სინჯარიდან იღებენ 3 მლ საკვლევ ხსნარს, ამატებენ 1 მლ. ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 10%-იანი ხსნარს და სპილენძის სულფატის 1%-ნი ხსნარის რამდენიმე წვეთს. სითხის ზედა ფენას აცხელებენ ადუღებამდე. სპილენძის (I) ოქსიდის ყვითელი ფერის ან წითელი მეტალური სპილენძის ნალექის წარმოქმნა მიუთითებს გლუკოზას არსებობას. ცდის შედეგები შეაქვთ ცხრილში.

სინჯარის №	სუბსტრატი	კატალიზატორი	ინკუბაციის შემდეგ	
			სინჯი იოდთან	ტრომერის სინჯი
1	სახამებელი	–		
2	სახამებელი	მარილმჟავა		
3	სახამებელი	ნერწყვის ამილაზა		

ცდა 2. ფერმენტების მოქმედების სპეციფიურობა. ფერმენტების სპეციფიურობა – მათ უმნიშვნელოვანეს თვისებას წარმოადგენს. ფერმენტისა და სუბსტრატის ურთიერთქმედების სპეციფიურობის ძირითად მიზეზს წარმოადგენს ფერმენტის აქტიური ცენტრის და სუბსტრაქტის სტრუქტურის კომპლემენტარობა.

რეაქტივები და ჭურჭელი: ლაბორატორული თერმომეტრი; წყლის „აბაზანა"; პიპეტი 2 მლ-ანი 1 დანაყოფიანი (4 ცალი); ნერწყვის ხსნარი, განზავებული; საფუარის საქარაზას პრეპარატი (1%-ანი); ლერწმის შაქარი (2%-ანი); სპილენძის სულფატი (1%-ანი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი); იოდი (0,3%-ანი) კალიუმის იოდიდში (3%-ში); ფელინგის ხსნარი (იხ. დანართი).

ამილაზას მოქმედების სპეციფიურობა. დანომრავენ ოთხ სინჯარას. 1 და 2 სინჯარებში ასხამენ 2-2 მლ სახამებელს, ხოლო სინჯარებში 3 და 4 ათავსებენ 2-2 მლ საქაროზას ხსნარს. 1 და 3 სინჯარებში ასხამენ 0,5 მლ ნერწყვის ხსნარს, ხოლო 2 და 4 სინჯარებში 0,5-0,5 მლ საფუარის საქაროზას 1%-იან ხსნარს. სინჯარაში მოთავსებულ ხსნარებს მოურევენ და 10 წუთის განმავლობაში ათავსებენ 38-40^{0}C გაცხელებულ წყლის აბაზანაზე. გაცივების შემდეგ 1 და 2 სინჯარებში აწარმოებენ რეაქციებს სახამებელის, ხოლო 3-4 სინჯარებში გლუკოზას არსებობის დასადგენად. აწარმოებენ წინა ამოცანაში ჩატარებულ ცდებს. შესწავლილი ფერმენტების სპეციფიურობის შესახებ გამოაქვთ შესაბამისი დასკვნები.

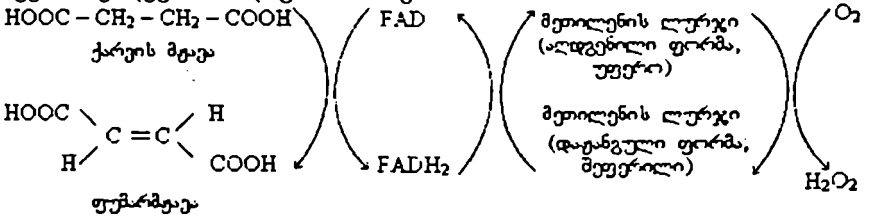
სუქცინატდეჰიდროგენაზას მოქმედების სპეციფიურობა.

რეაქტივები და ჭურჭელი: ლაბორატორიული თერმომეტრი; წყლის „აბაზანა"; პიპეტი, დანაყოფიანები 1 მლ-ანი (3 ცალი); კუნთის ფაფა; ქარვამჟავა (3%-ანი, ნეიტრალიზებული); ვაშლის მჟავა (3%-ანი, ნეიტრალიზებული); მეთილენის ლურჯი (0,02%-ანი).

სამ დანომრილ სინჯარაში ათავსებენ 3-4 მლ კუნთის ფაფას და ამატებენ: პირველს – 0,5 მლ ქარვამჟავას 3%-იან ხსნარს, მეორეს – 0,5 მლ ვაშლის მჟავას 3%-იან ხსნარს და მესამეს – 0,5 მლ წყალს. თითოეული სინჯარის შემცველობას ამატებენ 2-3 წვეთ მეთილენის ლურჯის 0,02% ხსნარს (ნარევის ფერი უნდა იქნეს ცისფერი). სინჯარების შემცველობას მოურევენ და ერთდროულად ათავსებენ მათ წყლის აბაზანაზე 37-40^{0}C ტემპერატურის პირობებში. 5-10 წუთის შემდეგ პირველ სინჯარაში მეთილენის ლურჯი

ფერი უფერულდება, ხოლო მეორე და მესამე სინჯარებში ფერი არ იცვლება. პირველ სინჯარას შეანჯღრევენ და ლურჯი შეფერილობა ისევ წარმოიქმნება, რაც გამოწვეულია იმით, რომ მეთილენის ლურჯის ლეიკოფუძე იჟანგება ჰაერის ჟანგბადით.

სუქცინატდეჰიდროგენაზა (ფლავოპროტეიდი) ჟანგავს ქარვამჟავას და წარმოიქმნება ფუმარმჟავა. წყალბადის შუალედური აქცეპტორის როლს ამ ცდაში ასრულებს მეთილენის ლურჯი, რომელიც შემდგომ (შენჯღრევისას) მიერთებულ წყალბადს გადასცემს ჰაერის ჟანგბადს. აღწერილი პროცესის სქემა შემდეგნაირად გამოისახება:

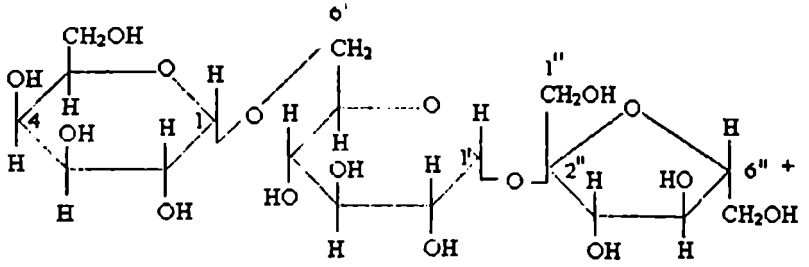


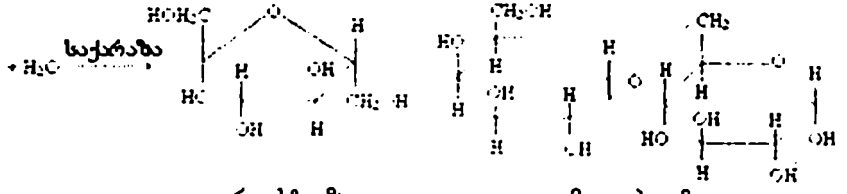
საქარაზას მოქმედების ჯგუფური სპეციფიურობა

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; ლაბორატორიული თერმომეტრი; პიპეტები 2 მლ (3 ცალი); 5 მლ (2 ცალი); სოიოს ფქვილი (1%-ანი); საფუარის საქარაზა; საქაროზა 1%-ანი; რაფინოზა (1%-ანი); ფელინგის სითხე. (იხ. დანართი).

ერთ სინჯარაში ასხამენ 2 მლ საქაროზას 1%-ან ხსნარს, მეორე სინჯარაში –2 მლ რაფინოზას 1%-ან ხსნარს. ორივე სინჯარას ამატებენ საფუარის საქარაზას 1%-იანი ხსნარის 1-1 მლ-ს. ყოველი სინჯარის შიგთავსს მოურევენ და ათავსებენ წყლის აბაზანაზე 35-40^{0}C ტემპერატურის პირობებში, 5-10 წუთის განმავლობაში. შემდეგ იკვლევენ ორივე სინჯარის შიგთავსს, რათა დადგენილ იქნეს აღდგენითი ნახშირწყლების არსებობა. ამისთვის ორივე სინჯარაში ასხავენ 3-3 მლ ფელინგის სითხეს, მოურევენ და აცხელებენ ადუღებამდე. ორივე სინჯარაში სინჯი ფელინგის სითხესთან დადებითია, რადგან საქარაზას და რაფინოზას მოლეკულებში β - გლუკოზიდური ბმა საქარაზას არსებობისას განიცდის ჰიდროლიზს. საქარაზას ჰიდროლიზი მიმდინარეობს შემდეგნაირად:

რაფინოზას ჰიდროლიზის განტოლება:





ფრუქტოზა მელიბიოზა

ურეაზას მოქმედების აბსოლუტური სპეციფიურობა.

რეაქტივები და ჭურჭელი. პიპეტები ერთი დანაყოფით 5 მლ-ანი (2 ცალი); სოიოს ფქვილი; ლაკმუსის წითელი ქაღალდი; შარდოვანა (5%-ანი); აცეტამიდი (5%-ანი).

ერთ სინჯარაში ასხამენ შარდოვანას 5%-იან ხსნარს, მეორეში აცეტამიდის 5%-იან ხსნარს. სინჯარაში მორევის პირობებში ამატებენ დაახლოებით 1g სოიოს ფქვილს და ათავსებენ წინასწარ დასველებულ წითელი ლაკმუსის ქაღალდს. რამდენიმე წუთის შემდეგ, შარდოვანას შემცველ სინჯარაში გამოყოფილი ამიაკის მოქმედების შედეგად ლაკმუსის ქაღალდი ლურჯდება. ამიაკის გამოყოფა შეიგრძნობა აგრეთვე სუნითაც. აცეტამიდის შემცველ სინჯარაში ლაკმუსის ქაღალდის ფერი არ იცვლება, რაც ადასტურებს ურეაზას მოქმედების სპეციფიურობას. ურეაზას მოქმედების შედეგად შარდოვანას ჰიდროლიზის რეაქცია გამოისახება შემდეგი განტოლებით:

$$H_2N-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-NH_2 + H_2O \xrightarrow{\text{ურეაზა}} 2NH_3\uparrow + CO_2\uparrow$$

3. 4. ფერმენტების თერმოლაბილურობა

ტემპერატურას, რომელიც ფერმენტული რეაქციის მაქსიმალურ სიჩქარეს შეესაბამება, ოპტიმალურს უწოდებენ (T ოპტ). ფერმენტთა უმრავლესობისათვის, რომელნიც გამოყოფილი არიან თბილსისხლიანი ცხოველებისაგან, იგი 37-40^{0}C ტოლია. როგორც წესი, ფერმენტული პროცესები არ მიმდინარეობენ 70^{0}C ტემპერატურაზე ზევით. სუბოპტიმალურ ტემპერატურაზე გადასვლისას ფერმენტული კატალიზის სიჩქარე მცირდება და 0^{0}C პირობებში მისი სიდიდე მინიმალურია.

ცდა 1. ტემპერატურის გავლენა ნერწყვის ამილაზას აქტიურობაზე

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; ლაბორატორიული თერმომეტრი; პიპეტები 1 მლ და 2 მლ; მინის წკირები; ფაიფურის ფირფიტა; განზავებული ნერწყვი; სახამებელი (1%-ანი); იოდი (0,3%-ანი) კალიუმის იოდიდში (3%-ში); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი); სპილენძის სულფატი (1%-ანი).

ოთხ დანომრილ სინჯარაში ასხამენ 1%-ანი სახამებლის ხსნარის 2-2 მლ-ს. პირველ სინჯარას ათავსებენ წყლის მდუღარე აბაზანაზე, მეორე სინჯარას წყლის აბაზანაზე 40^{0}C ტემპერატურის პირობებში, მესამე სინჯარას ტოვებენ ოთახის ტემპერატურის პირობებში, ხოლო მეოთხე სინჯარას ათავსებენ ყინულში. 10 წუთის შემდეგ, როდესაც თითოეული სინჯარის შემცველობა შესაბამის ტემპერატურას იძენს, ყოველ სინჯარაში ასხავენ 10-ჯერ განზავებული ნერწყვის 0,5 მლ-ს, მოურევენ მინის წკირით და იგივე პირობებში ტოვებენ. სახამებლის ჰიდროლიზის მსვლელობას ადგენენ იოდთან მოქმედების რეაქციის მიხედვით. ამისათვის ფაიფურის ფირფიტაზე აწვეთებენ კალიუმის იოდიდში გახსნილი იოდის ხსნარს და შეურევენ მათ ყოველი სინჯარიდან ამოღებული ნარევის წვეთებს, სინჯებს იღებენ ყოველი 1, 2, 4, 6, 8, 10, და 12 წუთის ინტერვალით.

თითოეულ სინჯარაში სახამებლის იოდთან შერევისას ფერის ცვალებადობის მიხედვით მსჯელობენ ჰიდროლიზის მიმდინარეობაზე. შედეგები შეაქვთ ცხრილში, რომელშიც სახამებლის რეაქციის დადებითი სინჯი აღინიშნება „ლ“ ასოთი

(ლურჯი ფერი), დადებითი სინჯი დექსტრინებზე აღინიშნება „წ“ (წითელი) ასოთი და უარყოფითი სინჯი - „ყ“ (ყვითელი) ასოთი.

სინჯარის ნომერი	ტემპერატურა სინჯარაში (^0C)	რეაქცია იოდთან დროის განმავლობაში (წუთი)						
		1	2	4	6	8	10	12
1	100							
2	40							
3	15-20							
4	0							

3. 5. აქტივატორებისა და ინჰიბიტორების მოქმედება ფერმენტების აქტიურობაზე

ფერმენტების აქტიურობაზე უდიდეს გავლენას ახდენს რიგი ნაერთების არსებობა. ზოგი მათგანი ზრდის ფერმენტის აქტიურობას (აქტივატორები), ზოგი, პირიქით, თრგუნავენ ამა თუ იმ რეაქციის მსვლელობას (ინჰიბიტორები). ქიმიურ ნაერთებს, რომლებიც მოქმედებენ როგორც აქტივატორები, მიეკუთვნებიან Na^+, Mn^{+2}, Co^{+2}, Mg^{-2} და სხვა იონები. ფერმენტების ინჰიბიტორებიდან ცნობილია ციანმჟავას მარილები- (თრგუნავენ ზოგიერთ „ჰემინურ“ ფერმენტებს), მონოიოდძმარმჟავა (აფერხებს სპირტულ და რძემჟავა დულილს), ფოსფორგანული ნაერთები, (ახდენენ ზოგიერთი ესტერაზების შეუქცევად ინაქტივაციას) და ა.შ.

ცდა 1. აქტივატორებისა და ინჰიბიტორების მოქმედება ნერწყვის ამილაზაზე

რეაქტივები და ჭურჭელი. თერმოსტატი 40^{0}C, სწორი ბიურეტები ონკანით 50 მლ-ანი (2 ცალი); ერთდანაყოფიანი პიპეტი 1 მლ-ანი (4 ცალი); ლაბორატორიული შტატივი 2 ცალი, სინჯარებით; განუზავებელი, გაფილტრული ნერწყვი; სახამებელი (0,5%-ანი); ნატრიუმის ქლორიდი (1%-ანი); სპილენძის სულფატი (1%-ანი); იოდი (0,3%-ანი) კალიუმის იოდიდში (3%-ში).

შტატივებში ათავსებენ სამ მწკრივად 36 სინჯარას, რომლებსაც ყოველ მწკრივში ნომრავენ. სინჯარაში ბიურეტიდან ასხამენ 1-1 მლ წყალს, ხოლო შემდეგ ყოველი მწკრივის პირველ სინჯარაში ათავსებენ 1-1 მლ გაფილტრულ განუზავებელ ნერწყვს. სინჯარების შემცველობას მოურევენ. შემდეგ ყოველ მწკრივში ნარევის 1 მლ პირველი სინჯარიდან გადააქვთ მეორე სინჯარაში, მოურევენ, ისევ ამოიღებენ ნარევის 1 მლ-ს და გადააქვთ მესამე სინჯარაში და ა. შ. ასე აგრძელებენ მე-12 სინჯარამდე, საიდანაც მორევის შემდეგ გადააქცევენ 1 მლ სითხეს.

პირველი რიგის ყველა სინჯარაში ამატებენ 1 მლ წყალს (საკონტროლო რიგი); მეორე მწკრივის სინჯარებში – ნატრიუმის ქლორიდის ხსნარს 1-1 მლ-ის ოდენობით, მესამე რიგის სინჯარებში – 1მლ სპილენძის სულფატის ხსნარს. შემდეგ ყველა სინჯარას ბიურეტიდან ამატებენ 2-2 მლ სახამებელის ხსნარს შემდეგი თანამიმდევრობით: ჯერ ყველა მწკრივის პირველ ნომრებში, შემდეგ, მეორე რიგი და ა.შ. სინჯარებში მოთავსებულ ნარევებს მოურევენ და შტატივებს სინჯარებიანად ათავსებენ თერმოსტატში 40^0C ტემპერატურის პირობებში 15 წუთის განმავლობაში. გაცივების შემდეგ ყოველ სინჯარაში ამატებენ კალიუმის იოდიდში გახსნილი იოდის ხსნარის თითო წვეთს და ყოველ მწკრივში აღნიშნავენ იმ სინჯარას, რომელშიც რეაქცია სახამებელზე უარყოფითია.

საკონტროლო სინჯის (რომელშიც რეაქცია იოდთან უარყოფითია), განზავების ხარისხს ყოფენ საკვლევი შესაბამისი სინჯების განზავების ხარისხზე და გამოითვლიან, თუ რამდენად უწყობენ ხელს ან ამუხრუჭებენ ნერწყვის ამილაზას მოქმედებას აქტივატორი (NaCl) ან ინჰიბიტორი ($CuS0_4$)

3. 6. ფერმენტების რაოდენობითი განსაზღვრა

ფერმენტების რაოდენობითი განსაზღვრის არსებული მეთოდების უმეტესობას საფუძვლად უდევს მათი აქტივობის განსაზღვრა მოქმედების ოპტიმალურ პირობებში. რადგან მთელ რიგ შემთხვევაში ფერმენტების რაოდენობის განსაზღვრა შეუძლებელია აბსოლუტურ სიდიდეებში (მილიგრამებში ან მოლებში), ამიტომ მას გამოსახავენ პირობით

ერთეულში. თუ ფერმენტის მოქმედების სუბსტარტი ცილა, პოლისაქარიდი ან სხვა ნივთიერებაა, რომელშიც ფერმენტი მოქმედებს ერთზე მეტ ბმაზე, მაშინ ფერმენტულ ერთეულს გამოსახავენ არა სუბსტრაქტის მიკრომოლებში, არამედ 1 წუთში რეაქციაში შესული ჯგუფების მიკროეკვივალენტებში.

ცდა 1. ამილაზას რაოდენობითი განსაზღვრა (ვოლგემუტის მეთოდი) მეთოდის საფუძველს წარმოადგენს ამილაზას ხსნარის განზავების იმ ზღვრის დადგენა, როდესაც სტანდარტულ პირობებში კვლავ მიმდინარეობს სახამებელის გარკვეული რაოდენობის დაშლა ერითროდექსტრინებამდე.

რეაქტივები და ჭურჭელი. თერმოსტატი 40°C; ლაბორატორიული შტატივი სინჯარებით; პიპეტები 1 მლ-ანი (4 ცალი), 2 მლ-ანი და 5 მლ-ანი; სოკოს ამილაზას პრეპარატი; სახამებელი (1%-ანი) ნატრიუმის ქლორიდში (1%-ში); გოგირდმჟავა (10%-ანი); იოდი (0,3%-ანი) კალიუმის იოდიდში (3%-ში).

0,2 გ სოკოს ამილაზას პრეპარატს მორევის პირობებში 5 წუთის განმავლობაში ამატებენ 50 მლ წინასწარ გაცხელებულ (37°C) წყალს, ინკუბაციისათვის ათავსებენ თერმოსტატში 2 საათის განმავლობაში (37°C) და პერიოდულად ანჯღრევენ. ფილტრავენ. ფილტრატს, რომელიც წარმოადგენს სოკოს ამილაზას გამონაწვლილს, გამოიყენებენ ცდისათვის. დანომრავენ 12 სინჯარას და ყოველ მათგანში ასხამენ 1-1 მლ წყალს. შემდეგ, №1 სინჯარაში ამატებენ 1 მლ სოკოს ამილაზას საკვლევ ხსნარს, შეანჯღრევენ. სინჯარა №1-დან იღებენ 1 მლ ხსნარს და ჩაასხამენ №2 სინჯარაში, რომელსაც აგრეთვე შეანჯღრევენ, შემდეგ, №2 სინჯარიდან ამოიღებენ 1 მლ ხსნარს და ჩაასხამენ №3 სინჯარაში, ისევ შეანჯღრევენ და №3 სინჯარიდან ამოღებულ ხსნარს ჩაასხამენ №4 სინჯარაში და ა.შ. ბოლო №12 სინჯარიდან ამოღებულ ხსნარს გადააქცევენ. ყოველ სინჯარაში ჩაამატებენ 2 მლ ხსნადი სახამებლის 1%-იან ხსნარს. ყველა სინჯარას ათავსებენ 30 წუთის განმავლობაში თერმოსტატში (37°C) შემდეგ, ამატებენ გოგირდმჟავას 10%-ანი ხსნარის 1 მლ-ს (ფერმენტის მოქმედების შესაჩერებლად) და კალიუმის იოდიდის ხსნარში გახსნილი იოდის 1-2 წვეთს. დაკვირვების შედეგები შეაქვთ ცხრილში, სადაც ლურჯ შეფერილობას აღნიშნავენ „ლ“ -ასოთი, წითელს - „წ“ ასოთი, ყვითელს - „ყ“ ასოთი.

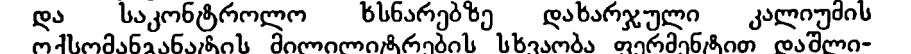
	გამონაწვლილის განზავება სინჯარებში (1-12)											
	1/2 (1)	1/4 (2)	1/8 (3)	1/16 (4)	1/32 (5)	1/65 (6)	1/128 (7)	1/256 (8)	1/512 (9)	1/1024 (10)	1/2048 (11)	1/4096 (12)
ხსნარის ფერი												

ფერების მიხედვით აღნიშნავენ, თუ როგორი განზავებისას განხორციელდა სახამებლის სრული ჰიდროლიზი ე. ი. გამოყოფენ სინჯარას, რომელშიც ხსნარი ყვითელი ფერისაა, ხოლო მომდევნოში ხსნარის ფერი მოწითალო იისფერია (არასრული ჰიდროლიზი). დავუშვათ, რომ ზღვარი აღმოჩენილია №7 და №8 სინჯარებს შორის, ე.ი. №7 სინჯარაში ხსნარი ყვითელი ფერისაა და მასში განხორციელდა სრული ჰიდროლიზი. გამოთვლებს აწარმოებენ შემდეგნაირად: განზავების სიდიდეს (ამ შემთხვევაში 128) ამრავლებენ 2-ზე (ცდისათვის აღებული სახამებლის მილილიტრების რაოდენობა) 128X2=256, ე. ი. 1 მლ სოკოს ამილაზას შემცველი განუზავებელი გამონაწვლილის მოქმედების შედეგად სახამებლის 256 მლ. 1%-ანი ხსნარი დაიშალა (ჰიდროლიზი).

ცდა 2. კატალაზას განსაზღვრა (ა. ნ. ბახის და ა. ი. ოპარინის მეთოდი)

რეაქტივები და ჭურჭელი. სწორი ბიურეტები ონკანით (2 ცალი); ერთდანაყოფიანი პიპეტები 5,20 და 25 მლ; საზომი ცილინდრები 10 მლ და 25 მლ; საზომი კოლბა 100 მლ; კონუსისებური კოლბები 200 მლ (2 ცალი); ფაიფურის როდინი დიამეტრით 110 მმ.; კვარცის ქვიშა; მცენარეული მასალა (სტაფილო ან კარტოფილი); კალიუმის პერმანგანატი (0,1N); გოგირდმჟავა (10%-ანი); კალციუმის კარბონატი; წყალბადის ზეჟანგი (0,1N).

2 გრამ კარტოფილს (ან სტაფილოს) სრესენ როდინში კვარცის ქვიშასთან ერთად და თანდათან ამატებენ 2-3 მლ წყალს. მჟავა რეაქციის შემცირების მიზნით შპატელის წვერით მცირე რაოდენობით ამატებენ კალციუმის კარბონატს, სანამ არ შეწყდება ნახშირბადის დიოქსიდის აირის გამოყოფა. გასრესილი მასა მთლიანად გადააქვთ საზომ კოლბაში და შეავსებენ წყლით 100 მლ-მდე, დააყოვნებენ 30-60 წუთის განმავლობაში და შემდეგ ფილტრავენ. 200 მლ კონუსურ კოლბაში ასხამენ 25 მლ წყალბადის ზეჟანგის 0,1N ხსნარს და აგრეთვე ამატებენ 20 მლ საკვლევი ფერმენტის გამონაწვლილს. 30 წუთის შემდეგ ამატებენ გოგირდმჟავას 10%-ანი ხსნარის 5 მლ, რათა შეწყდეს ფერმენტის მოქმედება და მიღებულ ნარევს ტიტრავენ კალიუმის ოქსომანგანატის 0,1N ხსნარით, ვიდრე არ წარმოიქმნება ვარდისფერი შეფერილობა (რომელიც ინარჩუნებს ფერს 1 წუთის განმავლობაში). ჩაინიშნავენ კალიუმის ოქსომანგანატის ხსნარის მილილიტრების რაოდენობას, რომელიც დაიხარჯა დარჩენილი წყალბადის ზეჟანგის გატიტვრაზე. პარალელურად აწარმოებენ კონტროლს, ამისათვის 20 მლ ფერმენტის შემცველ ხსნარს, ინაქტივაციის მიზნით აცხელებენ აღუღებული წყლის აბაზანაზე 5 წუთის განმავლობაში. ხსნარს აცივებენ და შემდეგ ამატებენ 25 მლ წყალბადის ზეჟანგის 0,1N ხსნარს. ნარევს აყოვნებენ 30 წუთის განმავლობაში, შემდეგ ამატებენ 5 მლ გოგირდმჟავას 10%-იან ხსნარს და ტიტრავენ 0,1N კალიუმის ოქსომანგანატის ხსნარით. აღნიშნავენ ორივე გატიტვრაზე დახარჯული კალიუმის ოქსომანგანატის რაოდენობას. საცდელ და საკონტროლო ხსნარებზე დახარჯული კალიუმის ოქსომანგანატის მილილიტრების სხვაობა ფერმენტით დაშლილი წყალბადის ზეჟანგის რაოდენობის ექვივალენტურია. ფერმენტით დაშლილი წყალბადის ზეჟანგის რაოდენობას გამოითვლიან მოყვანილი რეაქციის ტოლობის შესაბამისად:



$$5H_2O + 4KMnO_4 + 6H_2SO_4 \rightarrow 4MnSO_4 + 2K_2SO_4 + 5O_2 + 11H_2O$$

რეაქციის ტოლობის თანახმად კალიუმის პერმანგანატის 0,1N ხსნარის 1 მლ. შეესაბამება წყალბადის ზეჟანგის 1,7მგ

$$T_{KMnO_4/H_2O_2} = \frac{Э.H}{1000} = \frac{17*0,1}{1000} = 0,0017 \quad \text{ან} \quad 1,7\text{მგ}$$

გამოთვლის მაგალითი. 1,25 გ სტაფილოდან დამზადდა კატალაზას გამონაწვლილის 100 მლ საკვლევი ხსნარი; საცდელი სინჯის გატიტვრაზე დაიხარჯა 15,5 მლ, ხოლო საკონტროლოზე- 30,2 მლ კალიუმის პერმანგანატის 0,1N ხსნარი. სინჯში დაშლილი წყალბადის ზეჟანგის რაოდენობა (30,2-15,5) 14,7 მლ კალიუმის პერმანგანატის 0,1N ხსნარის ექვივალენტურია და ე.ი. (14,7×1,7) 24,99 მგ ტოლია.

1 გ სტაფილო შეიცავს კატალაზას იმ რაოდენობას, რომელსაც შეუძლია 30 წუთის განმავლობაში დაშალოს $\left(\frac{24,99\times100}{20\times1,25}\right)$99,96მგ წყალბადის ზეჟანგი, ხოლო 1 წუთის განმავლობაში – (99,96 : 30)3,33 მგ, რადგან წყალბადის ზეჟანგის 1 მკ/მოლი შეადგენს 0,034 მგ, მაშინ 1 გ სტაფილოში არის (3,33 : 0,034)100 E კატალაზა.

ვიტამინები

4. 1. ვიტამინი A (ანტიქსეროფტალმური, რეტინოლი)

A ვიტამინის ბიოლოგიური ფუნქციები მრავალფეროვანია. მის ქიმიურ სტრუქტურას საფუძვლად უდევს მეთილირებული ციკლოჰექსენის ბირთვი, გვერდით ჯაჭვს კი იზოპრენის ორ ნაშთი შეადგენს. მცენარეებში A ვიტამინი არსებობს პროვიტამინის სახით, რომელსაც β-კაროტინს უწოდებენ. ქვემოთ განხილულია რამდენიმე თვისებითი რეაქცია A ვიტამინზე.

ცდა 1. თევზის ქონში A ვიტამინის აღმოჩენა

რეაქტივები და ჭურჭელი. ლაბორატორიული შტატივი სინჯარებით; გრადუირებული პიპეტები 1 და 2 მლ-ანი; თევზის ქონი; ვიტამინი A (0,05%-ანი) ქლოროფორმში; სტიბიუმის (III) ქლორიდი (ნაჯერი) ქლოროფორმში; ძმრის ანჰიდრიდი; ყინულოვანი ძმარმჟავა; რკინის (II) სულფატი; გოგირდმჟავა (კონც.).

თევზის ქონის ერთ წვეთს ამატებენ ქლოროფორმში გაჯერებულ სტიბიუმის(III) ქლორიდის ხსნარის 4-5 წვეთს. წარმოიქმნება ლურჯი შეფერილობა, რომელიც თანდათან გადადის მოვარდისფრო-იისფერში. რეაქცია არ არის სპეციფიური, რადგან ანალოგიურ ლურჯ შეფერილობას იძლევა ყველა ნაერთი, რომელიც შეუღლებულ ორმაგ ბმას შეიცავს. აღნიშნული რეაქციის ჩატარება მოითხოვს განსაკუთრებულ სიზუსტეს, რადგან ძალზე მცირეოდენი სინოტივეც კი გამოიწვევს სტიბიუმის (III) ქლორიდის გარდაქმნას სტიბიუმის ქლოროქსიდად, რომელიც ვიტამინ A-სთან არ შედის რეაქციაში, რაც იწვევს ნარევის შემღვრევას. წყლის წვეთების მოცილების მიზნით მორეაგირე ნივთიერებებს საჭიროა დაემატოს 1-2 წვეთი ძმრის ანჰიდრიდი.

ცდა 2. რეაქცია რკინის(II) სულფატთან. 1-2 წვეთი თევზის ქონს ან ქლოროფორმში გახსნილ ვიტამინ A-ს 0,05% ხსნარს ამატებენ რკინის(II) სულფატით გაჯერებულ ყინულოვანი ძმარმჟავას 5-10 წვეთს და 1-2 წვეთ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავას. წარმოიქმნება ცისფერი შეფერილობა, რომელიც თანდათან გადადის მოვარდისფერო-წითელ

ფერში. რეაქციის მსვლელობისას კაროტინები შეიფერება მომწვანოდ.

ცდა 3. რეაქცია გოგირდმჟავასთან (დრუმონდის რეაქცია). 1 წვეთ თევზის ქონს ხსნიან 4-5 წვეთ ქლოროფორმში და ამატებენ 1 წვეთ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავას. წარმოიქმნება ცისფერი შეფერილობა, რომელიც სწრაფად გადადის რუხ წითელ ფერში.

მოცემული რეაქციის საფუძველს წარმოადგენს გოგირდმჟავას უნარი ვიტამინ A-ს ჩამოაცილოს წყალი, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ფერადი პროდუქტები.

4. 2. ვიტამინი D (ანტირაქიტული, კალციფეროლი)

D ვიტამინი არსებობს რამდენიმე ნაერთის, ვიტამერების სახით, რომლებიც ერთმანეთისგან განსხვავდებიან ქიმიური აგებულებით და ბიოლოგიური აქტივობით. ადამიანისთვის აქტიურ ვიტამერებს წარმოადგენს D_2 და D_3 ვიტამინი. ქვემოთ განხილულია რამდენიმე თვისებითი რეაქცია D ვიტამინზე.

რეაქტივები და ჭურჭელი. პიპეტები ერთი დანაყოფით 1 მლ-ანი (4 ცალი); ლაბორატორიული შტატივი სინჯარებით; თევზის ქონი; ანილინი; ბრომის ხსნარი ქლოროფორმში (1:60); მარილმჟავა (კონც.).

ცდა 1. რეაქცია ანილინთან. მშრალ სინჯარაში ათავსებენ 1 მლ თევზის ქონს და 1 მლ ანილინისა და კონცენტრირებული მარილმჟავას (15:1) ნარევს. ფრთხილი განუწყვეტელი მორევით ადუღებენ 0,5 წუთის განმავლობაში. ვიტამინის არსებობის შემთხვევაში ყვითელი ემულსია ჯერ მწვანე ფერს იღებს, ხოლო შემდეგ წითელ ფერს. 1-2 წუთის შემდეგ ემულსია იყოფა ორ ფენად, რომლის ქვედა ფენა ინტენსიური წითელი ფერისაა.

ცდა 2. ბრომქლოროფორმის სინჯი. მშრალ სინჯარაში ათავსებენ 1 მლ თევზის ქონს და ამატებენ 1 მლ ქრომის და ქლოროფორმის ნარევს (1:60). ვიტამინ D-ს არსებობის შემთხვევაში წარმოიქმნება მომწვანო-მოცისფერო შეფერილობა.

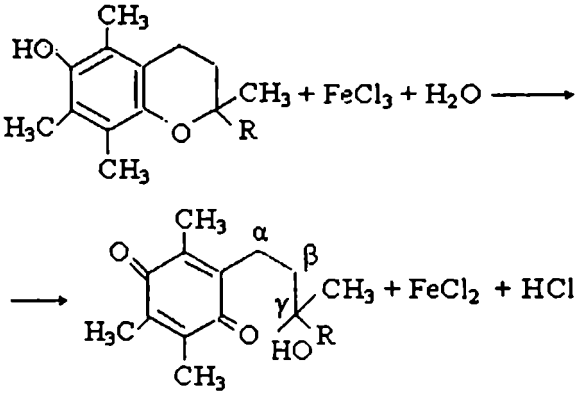
4. 3. ვიტამინი E (ანტისტერილური, გამრავლების ვიტამინი, ტოკოფეროლი)

E ვიტამინი რამდენიმე ვიტამერის სახით არსებობს. ამ ვიტამინებმა α, β, γ და ა. შ. ტოკოფეროლების სახელწოდება მიიღო. მათგან ყველაზე გავრცელებული და ბიოლოგიურად აქტიურია α-ტოკოფეროლი. ქვემოთ განხილულია რამდენიმე თვისებითი რეაქცია E ვიტამინზე.

რეაქტივები და ჭურჭელი. 96%-ანი სპირტში გახსნილი 0,1%-იანი α-ტოკოფეროლი; აზოტმჟავა (კონც.); რკინის (III) ქლორიდი.

ცდა 1. **თვისებითი რეაქციები E ვიტამინზე: რეაქცია კონცენტრირებულ აზოტმჟავასთან.** მშრალ სინჯარაში აწვეთებენ α - ტოკოფეროლის 0,1%-იანი სპირტხსნარის 4-5 წვეთს, ამატებენ კონცენტრირებული აზოტმჟავას 10 წვეთს და სინჯარის შემცველობას შეანჯღრევენ. წარმოიქმნება ემულსია, რომელიც თანდათან ფენებად დაიყოფა: ზედა, ცხიმოვანი ფენა შეიფერება წითლად. შეფერილობა განპირობებულია α - ტოკოფეროლის დაჟანგვით, რის შედეგად წარმოიქმნება α - ტოკოფეროლქინონი, რომელსაც წითელი ან მოყვითალო-წითელი ფერი აქვს.

ცდა 2. **რეაქცია რკინის(III) ქლორიდთან.** მშრალ სინჯარაში ათავსებენ α-ტოკოფეროლის 0,1%-იან სპირტხსნარის 4-5 წვეთს და მორევის პირობებში ამატებენ 0,5 მლ რკინის(III) ქლორიდს. ხსნარი წითლად შეიფერება, რაც განპირობებულია α-ტოკოფეროლის დაჟანგვით რკინის(III) ქლორიდის მოქმედებით. წარმოიქმნება ტოკოფეროლქინონი:



სადაც R – იზოჰექსადეკანის რადიკალია.

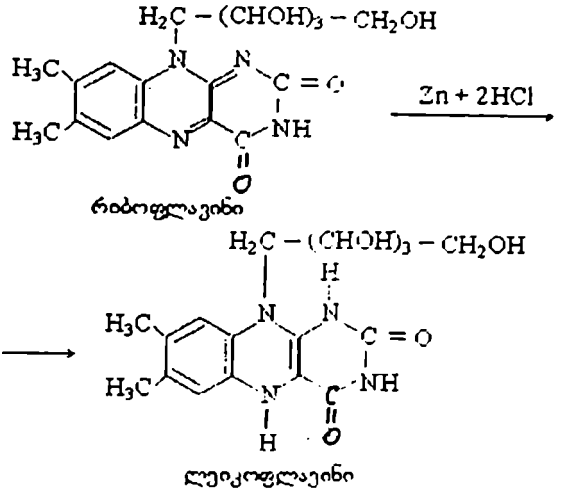
4. 4. ვიტამინი B_2 (რიბ(ო)ფლავინი)

B_2 ვიტამინი ეკუთვნის ყვითელი ფერის პიგმენტებს – ფლავინებს, რომლებიც გავრცელებულნი არიან, როგორც მცენარეთა, ისე ცხოველთა სამყაროში. ქვემოთ განხილულია თვისებითი რეაქცია B_2 ვიტამინზე.

ცდა 1. ვიტამინი B_2-ის აღმომჩენი ფერადი რეაქციები

რეაქტივები და ჭურჭელი. ლაბორატორიული შტატივი სინჯარებით; რიბოფლავინი (აბები); მარილმჟავა (კონც.); თუთიის გრანულები.

რიბოფლავინის აბის 1/10 ნაწილს ხსნიან 0,5 მლ წყალში, ხსნარი შეიფერება. ხსნარს ამატებენ 10 მლ კონცენტრირებულ მარილმჟავას და თუთიის ლითონის მცირე ნატეხს. ხსნარი თანდათან შეიფერება ვარდისფრად, შემდეგ კი უფერულდება. რეაქციას განაპირობებს გამოყოფილი წყალბადით აღდგენილი რიბოფლავინი, რომელიც წარმოქმნის ჯერ წითელი ფერის როდოფლავინს, შემდეგ კი უფერო ლეიკოფლავინს. გაუფერულებული ხსნარის შენჯღრევისას ლეიკონაერთი კვლავ განიცდის დაჟანგვას ჰაერის ჟანგბადით და კვლავ წარმოიქმნება რიბოფლავინი.



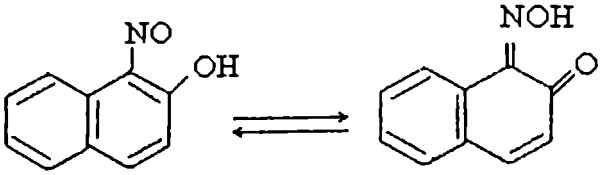
რიბოფლავინი

ლეიკოფლავინი

4. 5. ვიტამინი B_{12} (ანტიანემიური, ციანკობალამინი)

B_{12} ვიტამინი რთული აგებულებისაა. იგი შეიცავს კორინის ბირთვს (მას პორფირინის ბირთვის მსგავსი სტრუქტურა აქვს), რომელთანაც დაკავშირებულია Co^{3+}, ამ უკანასკნელთან კი – 5, 6-დიმეთილბენზიმიდაზოლი. ქვემოთ განხილულია თვისებითი რეაქცია B_{12} ვიტამინზე.

ცდა 1. კობალტის აღმოჩენა B_{12} ვიტამინის შემადგენლობაში. ციანკობალამინის და კალიუმის ჰიდროსულფატის შელღობისას, ძლიერი დამჟანგველის მოქმედებისას მიმდინარეობს მისი დაშლა და გამოყოფილი კობალტი შეიძლება აღმოჩენილ იქნას α-ნიტროზო-β-ნაფტოლით ან ნატრიუმის 1–ნიტროზო–2–ნაფტოლ–3,6–დისულფონატით (ნიტროზო-β-მარილით), რომელთანაც იგი წარმოქმნის მოყვითალო-წითელი ფერის ხსნად კომპლექსურ მარილს (მაღალი კონცენტრაციის შემცველობისას იგი გამოილექება მკვეთრი შეფერილობის ნალექის სახით). წარმოქმნილი ნაერთის ფორმულაა $(C_{10}H_6O_2N)_3Co$. შიდაკომპლექსური ბმების წარმოქმნა დამოკიდებულია $=NOH$ და $=O$ დაჯგუფებების განლაგებაზე:



რეაქტივები და ჭურჭელი. ფაიფურის ტიგელი; წითელი ლაკმუსის ქაღალდი; B_{12} . ვიტამინის პრეპარატი (ამპულა შეიცავს 15 მკგ ვიტამინს 1 მლ-ში); აზოტმჟავა (კონც.); მარილმჟავა (კონც.); α-ნიტროზო-β-ნაფტოლი (1%-ანი, აცეტონში); ნატრიუმის ჰიდროფოსფატი (10%-ანი).

B_{12} ვიტამინის ამპულის 1/3 გადააქვთ ფაიფურის ტიგელში, გამოაშრობენ აორთქლებით და დაბალ ალზე გამოწვავენ სპირტქურაზე. გაცივების შემდეგ ამატებენ 1 მლ. კონცენტრირებულ აზოტმჟავას, ადუღებენ ამწოვ კარადაში სითხის სრულ აორთქლებამდე. გაცივების შემდეგ ნალექს ამატებენ 1 წვეთ წყალს, ამატებენ აგრეთვე α-ნიტროზო-β-ნაფტოლის 1%-იან ხსნარს აცეტონში და წვეთობით დაამატებენ ნატრიუმის ჰიდროფოსფატის 10%-იან ხსნარს სუსტ ტუტე რეაქციამდე (ლაკმუსი). Co^{3+} იონების არსებობისას წარმოიქმნება რუხი წითელი შეფერილობა, ხოლო თუ Co^{3+} იონებს არ შეიცავს, ხსნარი მოყვითალო-მომწვანო ფერის იქნება.

4. 6. ვიტამინი *C*, ასკორბინის მჟავა. ვიტამინ *C*-ს აღმომჩენი თვისებითი რეაქციები

ვიტამინ *C*-ს თვისებითი რეაქციების საფუძველს წარმოადგენს მისი თვისება ადვილად შევიდეს ჟანგვა-აღდგენით პროცესებში და აღადგინოს, მაგალითად, მეთილენის ლურჯი, 2,6-დიქლორფენოლინდოფენოლი, კალიუმის ჰექსაციანო–(III) ფერატი, ვერცხლის ნიტრატი და სხვა.

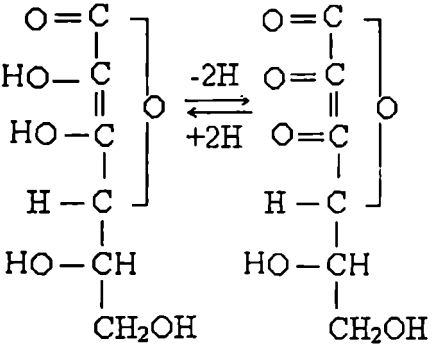
ცდა 1. მეთილენის ლურჯთან ურთიერთქმედება

რეაქტივები და ჭურჭელი: თერმოსტატი ($40^0 C$), პიპეტი, (5ცალი) თითო დანაყოფით; ლაბორატორიული შტატივი სინჯარებით; კომბოსტოს ან კარტოფილის წვენი (ან ასკორბინის

მჟავას 0,002%-ანი ხსნარი); მეთილენის ლურჯი (0,01%-ანი); მარილმჟავა (10%-ანი); რკინის ქლორიდი (1%-ანი); ძმარმჟავა (10%-ანი); 2,6 – დიქლორფენოლინდოფენოლი (ახლადდამზადებული 0,02%-ანი). კალიუმის (5%-იანი) ჰექსაციანო (III) ფერატი; კალიუმის ჰიდროქსიდი (5%-იანი).

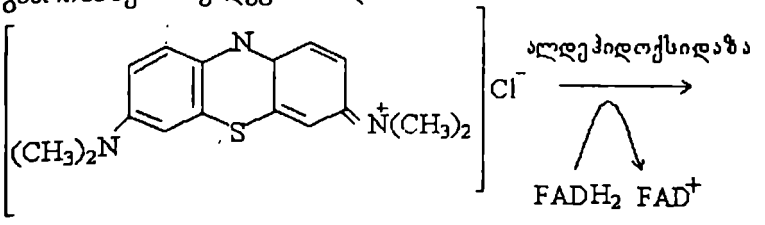
1 მლ კომბოსტოს ან კარტოფილის წვენს ასხამენ სინჯარაში, ამატებენ მას მეთილენის ლურჯის 0,01%-იანი ხსნარის 1 მლ-ს და კარგად მოურევენ. ჰაერის ჟანგბადთან შეხებისაგან დაცვის მიზნით, მოარგებენ საცობს. სინჯარას ათავსებენ თერმოსტატში (37-40^0C). დროის განმავლობაში სინჯარაში არსებული სითხე გაუფერულდება, რაც გამოწვეულია იმით, რომ მეთილენის ლურჯი აღდგება უფერო ლეიკოფორმად და წარმოიქმნება დეჰიდროასკორბინის მჟავა.

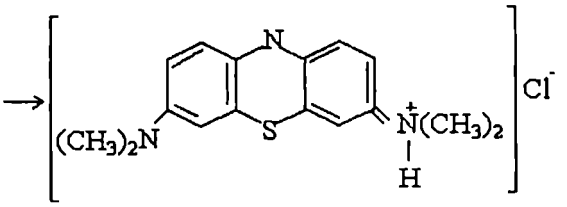
L-ასკორბინის მჟავას *L*-დეჰიდროასკორბინის მჟავაში გადასვლის რეაქცია შემდეგნაირად გამოისახება:



L – ასკორბინის მჟავა L – დეჰიდროასკორბინის მჟავა

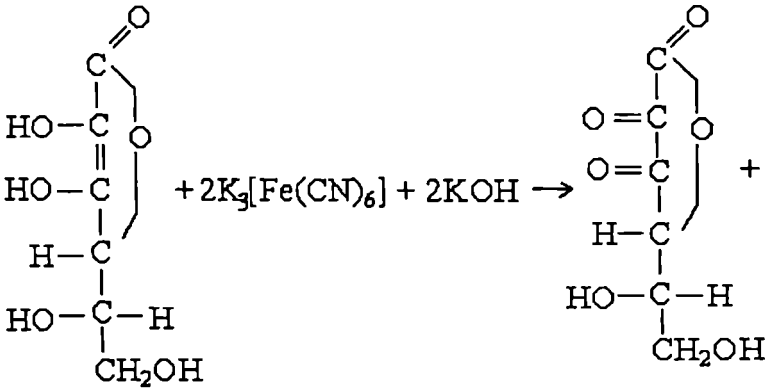
ხოლო მეთილენის ლურჯის გარდაქმნა ლეიკოფორმად გამოისახება შემდეგნაირად:





თუ შემდეგ სინჯარას მოხდიან საცობს, რათა სითხეს ეხებოდეს ჰაერი და შეანჯღრევენ, ხსნარი კვლავ ლურჯად შეიფერება.

ცდა 2. რეაქცია კალიუმის ჰექსაციანო (III) ფერატთან. ასკორბინის მჟავა დაჟანგვისას აღადგენს კალიუმის ჰექსაციანო-(III) ფერატს $K_3[Fe(CN)_6]$ და წარმოიქმნება კალიუმის ჰექსაციანო-(II) ფერატი $K_4[Fe(CN)_6]$, რომელიც რკინის იონთან, რომლის დაჟანგულობის ხარისხია +3, მჟავა არეში წარმოქმნის რკინის ჰექსაციანო-(III) ფერატს (ბერლინის ლაჟვარდი, $KFe[Fe(CN)_6]$:



$$+ 2K_4[Fe(CN)_6] + 2H_2O$$

$$FeCl_3 + K_4[Fe(CN)_6] \rightarrow KFe[Fe(CN)_6] + 3KCl$$

ბერლინის ლაჟვარდი
(ლურჯი ნალექი)

1 მლ კომბოსტოს წვენს ამატებენ 2-2 წვეთ კალიუმის ჰიდროქსიდისა და კალიუმის ჰექსაციანო-(II) ფერატის ხსნარს. შენჯღრევის შემდეგ სინჯარას ამატებენ მარილმჟავას 10%-იანი ხსნარის 6-8 წვეთს და რკინის (III) ქლორიდის

ხსნარის 1-2 წვეთს, გამოილექება ლურჯი ფერის (ან მომწვანო ლურჯი ფერის) ბერლინის ლაჟვარდის ნალექი.

4. 7. ვიტამინი PP (ანტიპელაგრული)

ამ ვიტამინს ნიაცინსაც უწოდებენ და მისი სახელწოდების ქვეშ გაერთიანებულია ორი ნივთიერება- ნიკოტინმჟავა და ნიკოტინამიდი. ორივე მათგანს ვიტამინის თვისება აქვს. ქვემოთ განხილულია რამდენიმე თვისებითი რეაქცია PP ვიტამინზე.

ცდა1. თვისებითი რეაქცია **PP** ვიტამინზე

რეაქტივები და ჭურჭელი. წყლის აბაზანა; პიპეტები დანაყოფიანი 1, 2 და 5 მლ; კოლბა კონუსური 25 მლ; ამოსაშრობი ჯამი 25 მლ; ნიკოტინმჟავა (0,1%-იანი) ან მისი ამიდი; 2,4 – დინიტროქლორბენზოლი (1%-იანი სპირტხსნარი), როდანბრომიდის ხსნარი (იხ. დანართი); ანილინის სპირტხსნარი (ახლადდამზადებულ ანილინს ხსნიან 96%-იან ეთილის სპირტში; თანაფარდობა 1:6); ეთილის სპირტი (96%-ანი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი სპირტხსნარი); ფოსფატის სპირტხსნარის ბუფერი pH=5,29 (1:1; იხ. დანართი).

ამოსაშრობ ჯამზე ათავსებენ ნიკოტინმჟავას (ან მისი ამიდის) 0,1%-იანი ხსნარის 1-2 მლ-ს და წყლის აბაზანაზე ხსნარს ამოაშრობენ. მშრალ ნაშთს ამატებენ 2,4-დინიტროქლორბენზოლის სპირტხსნარის 1-2 მლ-ს და მოურევენ მინის წკირით. მიღებულ ხსნარს ისევ წყლის აბაზანაზე მოათავსებენ და ამოაშრობენ (რადგან 2,4-დინიტროქლორბენზოლის ორთქლი მომწამლავია, ამ აორთქლებას აწარმოებენ ამწოვ კარადაში), რის შემდეგაც განაგრძობენ გაცხელებას 10-15 წუთის განმავლობაში. ჯამს აცივებენ ოთახის ტემპერატურამდე და ნალექს ამატებენ 5-10 მლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის სპირტხსნარს. წარმოიქმნება მოწითალო-იისფერი შეფერილობა. დაყოვნების შედეგად ხსნარის ფერი თანდათან ქრება.

ცდა 2. რეაქცია როდანბრომიდთან. 5 მლ-იან კონუსურ კოლბაში ასხავენ 5 მლ ნიკოტინმჟავას ხსნარს, აცხელებენ $70^{0}C$ ტემპერატურამდე, შემდეგ ამატებენ როდანბრომიდის ხსნარის 1 მლ და 2 მლ ანილინის სპირტხსნარს. კოლბის შემცველობას მოურევენ და ამატებენ 10 მლ ბუფერის სპირტხსნარს. გარკვეული ხნის შემდეგ ხსნარი ყვითლად შეიფერება.

ნახშირწყლები და მათი მიმოცვლა

5.1. ნახშირწყლების აღმომჩენი თვისებითი რეაქციები

ნახშირწყლები ფართოდაა გავრცელებული მცენარეულ და ცხოველურ სამყაროში. ადამიანის ორგანიზმში ძირითადად ასრულებენ ენერგეტიკულ და სტრუქტურულ ფუნქციას.

რეაქტივები და ჭურჭელი. პიპეტი ერთი დანაყოფით 2 მლ-ანი; რეზინის ბალონი; წყლის აბაზანა; ქიმიური სინჯარები; სწორი ბიურეტი, ონკანით 50 მლ-ანი; დანაყოფებიანი პიპეტები 1 და 5 მლ-ანი; გლუკოზა; ფრუქტოზა; მანოზა; გალაქტოზა; რამნოზა; არაბინოზა; ქსილოზა; დეზოქსირიბოზა; მალტოზა; საქაროზა; სახამებელი; გლიკოგენი; დნმ; N-აცეტილ-D-გლუკოზამინი (0,1%-ანი); α-ნაფტოლი (10%-სპირტხსნარი); ნაფტორეზორცინი (1%-ანი, სპირტხსნარი); ეთერი; ბენზოლი; ეთანოლი; ამილის სპირტი; გოგირდმჟავა (კონც.); მარილმჟავა (კონც.); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი); სპილენძის სულფატი (5%-ანი); კალიუმის ტეტრაბორატი (0,8M); ნატრიუმის ქლორიდი; ფელინგის სითხე; ნილანდერის რეაქტივი; ბარფედის რეაქტივი; სელივანოვის რეაქტივი; ორცინის რეაქტივი; დიფენილამინის ხსნარი; ერლიხის რეაქტივი; ლუგოლის ხსნარი; ნატრიუმის პერიოდატი (0,25M); ეთილენგლიკოლი; ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (0,01N); მეთილის წითელი.

ცდა1. პოდობედოვ-მოლიშის რეაქცია α-ნაფტოლთან. რეაქცია α-ნაფტოლთან წარმოადგენს ნახშირწყლების აღმოჩენის მგრძნობიარე რეაქციას. საკვლევი ნივთიერება, რომელიც აღებული იქნება მყარ ან თხევად მდგომარეობაში, უნდა იყოს სუფთა, და არ შეიცავდეს ფილტრის ქაღალდის ნარჩენებს.

სინჯარაში ათავსებენ საკვლევი ხსნარის 1 მლ-ს, ან მყარი ნივთიერების მარცვლებს, რომელსაც ხსნიან 1 მლ წყალში, ამატებენ α-ნაფტოლის 10%-იანი სპირტხსნარის 2 წვეთს და სინჯარის შემცველობას. ფრთხილად, შეუნჯღრევლად, ოდნავ დახრილ სინჯარაში, კედელზე ჩაყოლებით, ამატებენ 2 მლ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავას. გოგირდმჟავა ჩადის სინჯარის ფსკერზე და ორი სითხის ზღვარზე წარმოიქმნება მოიისფრო-წითელი ფერის რგოლი. გოგირდმჟავას მოქმედების შედეგად ნახშირწყლებისგან წარმოქმნილი ფურ-

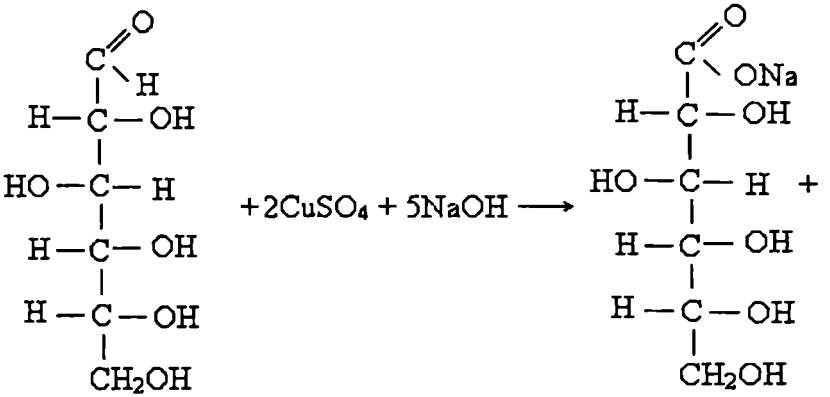
ფურული და 5–ოქსიმეთილფურფურული კონდენსირდება სულფირებული α-ნაფტოლის ორ მოლთან და წარმოქმნის ტრიარილმეთანის ქრომოგენს, რომელიც გოგირდმჟავათი იჟანგება და წარმოიქმნება ფერადი ქინოიდური ნაერთი.

ცდა2. ტოლენსის ნაფტორეზორცინის სინჯი. 5-6 მლ საკვლევ ხსნარს ამატებენ 1%-ნი ნაფტორეზორცინის სპირტხსნარის 1მლ-ს და იგივე მოცულობის კონცენტრირებულ მარილმჟავას. ნარევს ფრთხილად აცხელებენ და ადუღებენ 1 წუთის განმავლობაში, შემდეგ გააცივებენ და შეანჯღრევენ ეთერთან ან ბენზოლთან ერთად. ეთერის (ბენზოლის) ფენა იძენს სხვადასხვა ფერს: გლუკოზა, მანოზა, გალაქტოზა იძენს მომწვანო-ლურჯ ფერს; რამნოზა – იასამნისფერს; არაბინოზა და ქსილოზა – მუქ ლურჯს; ურონმჟავების ეთერის (ბენზოლის) ფენა, (რომელთა აღმოსაჩენად ხშირად იყენებენ ამ რეაქციას) იასამნის ფერს იძენს.

ცდა3. სინჯი რედუცირებულ შაქრებზე. ტუტე არეში დაჟანგვისას მონოსაქარიდები აღადგენენ სპილენძის(II) ოქსიდის მარილებს სპილენძის(I) ოქსიდის მარილებად, ბისმუტის ოქსიდის მარილებს კი აღადგენენ ლითონურ ბისმუტამდე, ვერცხლის მარილებს – ლითონურ ვერცხლამდე. ეს რეაქციები გამოიყენება ე. წ. აღმდგენი (რედუცირებული) მონოსაქარიდების რაოდენობითი განსაზღვრისათვის, რომელთა მოლეკულაც შეიცავს კარბონილის ჯგუფს. აღდგენითი თვისებები გააჩნიათ აგრეთვე ზოგიერთ დისაქარიდებს – მალტოზა, ლაქტოზა, ცელობიოზა, რომელთა მოლეკულები შეიცავს თითო თავისუფალ კარბონილის ჯგუფს. დაჟანგვა ადვილად მიმდინარეობს ტუტე არეში, ძნელად – ნეიტრალურში, და განსაკუთრებით – ძნელად მჟავა არეში.

ცდა 4. ტრომერის რეაქცია. ტუტე არეში მონოსაქარიდები აღადგენენ სპილენძის (II) ოქსიდს, სპილენძის (I) ოქსიდად, თვითონ კი იჟანგებიან და წარმოქმნიან ალდონმჟავებს.

სინჯარაში ასხამენ გლუკოზის ხსნარის 1-2 მლ-ს და ამატებენ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 10%-იანი ხსნარის ტოლ მოცულობას. ნარევს მორევის პირობებში წვეთ-წვეთობით ამატებენ სპილენძის სულფატის 5%-იან ხსნარს, სანამ არ წარმოიქმნება სიმღვრივე – სპილენძის (II) - ჰიდროქსიდი. სინჯარის ზედა ნაწილს ფრთხილად აცხელებენ. წარმოიქმნება ყვითელი შეფერილობა (სპილენძის(I) ჰიდროქსიდი), რომელიც წითელ ფერში გადადის (სპილენძის(I) ოქსიდი), რაც ტრომერის დადებით რეაქციაზე მიუთითებს:



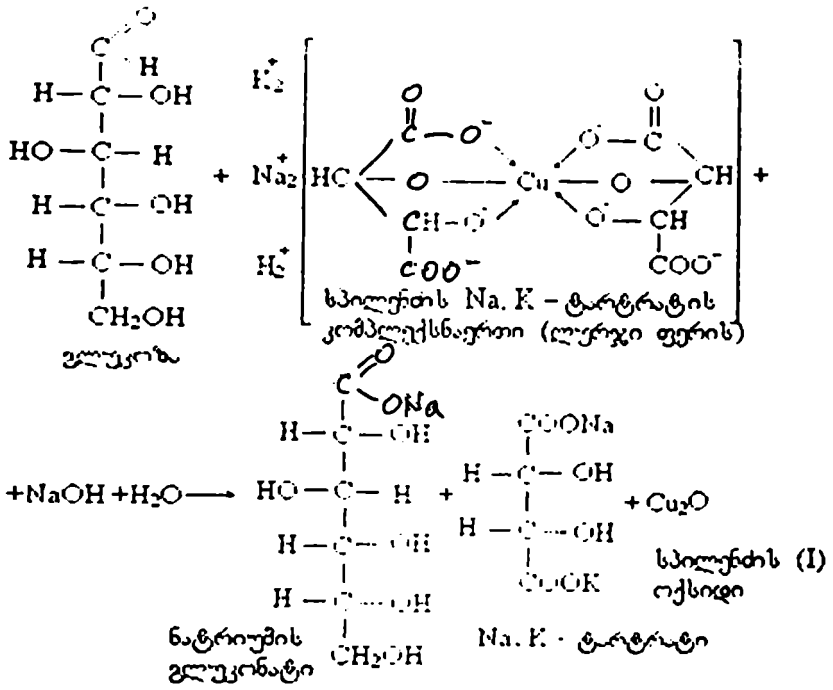
$$+\ 2\,CuOH + 2Na_2SO_4 + 2H_2O$$

$$Cu_2O \quad H_2O$$

ტრომერის რეაქციის ჩასატარებლად იყენებენ მალტოზის, საქაროზის და სახამებლის ხსნარებს.

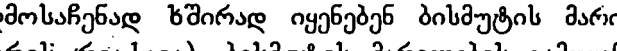
სპილენძის მარილის ჭარბი რაოდენობა ნიღბავს რეაქციას, რადგან სპილენძის(II) ჰიდროქსიდი გაცხელებისას კარგავს წყალს და წარმოიქმნება სპილენძის(II) ოქსიდი, რომელიც შავი ფერისაა.

ცდა 5. რეაქცია ფელინგის სითხესთან. ხშირად იყენებენ ე. წ. ფელინგის სითხეს, რომელშიც სპილენძის (II) იონი ტარტრატებთან კომპლექსური ნაერთის სახით იმყოფება. ფელინგის სითხესთან რედუცირებული ნახშირწყლების რეაქციის მექანიზმი ისეთივეა, როგორც ტრომერის რეაქციაში. ფელინგის სითხის უპირატესობა მდგომარეობს იმაში, რომ ჭარბი რეაქტივის შემთხვევაში სპილენძი არ გამოილექება სპილენძის(II) ოქსიდის სახით. 1-2 მლ გლუკოზის ხსნარს ამატებენ ფელინგის სითხის ტოლ მოცულობას, ნარევს აცხელებენ დუღილის დაწყებამდე. წარმოიქმნება სპილენძის(I) ოქსიდის წითელი ფერის ნალექი.

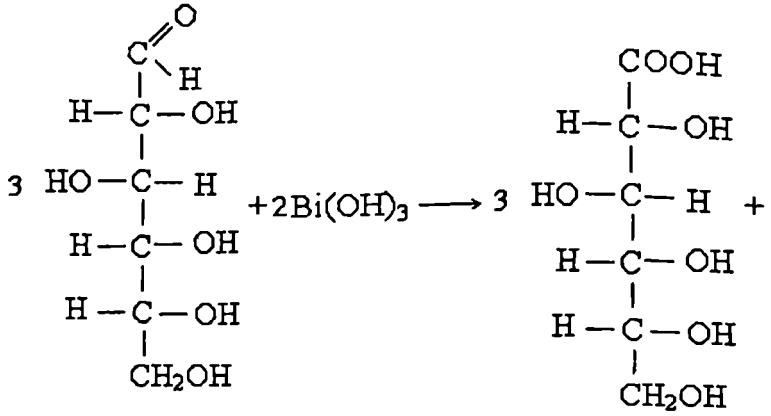


ფელინგის სითხესთან ურთიერთქმედების რეაქციას ატარებენ მალტოზის, საქაროზის და სახამებლის ხსნარებთან.

ცდა 6. ნილანდერის რეაქცია. რედუცირებული შაქრების აღმოსაჩენად ხშირად იყენებენ ბისმუტის მარილებს (ნილანდერის რეაქცია). ბისმუტის მარილების გამოყენება განსაკუთრებით მოსახერხებელია შაქრის აღმოსაჩენად შარდში, რადგან სპილენძის მარილებისაგან განსხვავებით შარდმჟავა არ აღადგენს ბისმუტის მარილებს.



$$Bi(OH)_2NO_3 + NaOH \rightarrow Bi(OH)_3 + NaNO_3$$



$+2Bi\downarrow + 3H_2O$

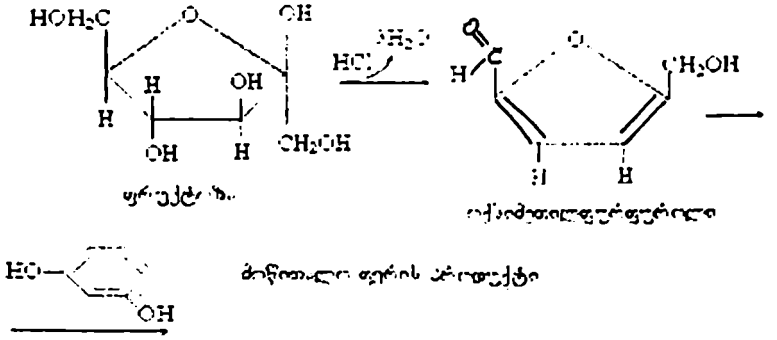
გლუკოზის ხსნარის 1-2 მლ-ს ამატებენ 0,5-1 მლ ნილანდერის რეაქტივს და ფრთხილად ადუღებენ 2 წუთის განმავლობაში. ხსნარი შეიფერება ჯერ ყავისფრად, ხოლო შემდეგ შავ ფერს ღებულობს, რაც გამოწვეულია ფხვიერი ლითონური ბისმუტის ნალექის წარმოქმნით.

მალტოზას, საქაროზას, სახამებლის ხსნარების გამოყენებით რეაქცია მიმდინარეობს ანალოგიურად

ცდა7. ბარფედის რეაქცია (აღდგენითი დისაქარიდების განსხვავება მონოსაქარიდებისაგან). ბარფერდის სინჯი განსხვავდება სხვა ყველა ამა თუ იმ რეაგენტის აღდგენითი რეაქციისაგან იმით, რომ შაქრის დაჟანგვა მიმდინარეობს არა ტუტე არეში, არამედ არეში, რომელიც ახლოსაა ნეიტრალურთან. ასეთ პირობებში რედუცირებული დისაქარიდები მონოსაქარიდებისგან განსხვავებით პრაქტიკულად არ იჟანგებიან, რაც მონოსაქარიდებისგან მათი განსხვავების საშუალებას იძლევა.

5 მლ ბარფერდის რეაქტივს ამატებენ 1 მლ საკვლევი შაქრის ხსნარს. ნარევს აცხელებენ წყლის აბაზანაზე 10 წუთის განმავლობაში. მონოსაქარიდები აღადგენენ რეაქტივს სპილენძის (I) ოქსიდამდე, დისაქარიდები არ იძლევიან რეაქციას. ხანგრძლივი დულილი საჭირო არ არის, რადგან მჟავა არეში დისაქარიდები ჰიდროლიზდებიან და წარმოიქმნება მონოსაქარიდები, რის შედეგადაც ბარფედის რეაქცია დადებითი გახდება.

ცდა8. სელივანოვის რეაქცია კეტოზებზე. მარილმჟავასთან ფრუქტოზის (ან სხვა კეტოჰექსოზის) გაცხელებისას წარმოიქმნება ოქსიმეთილფურფურული, რომელიც რეზორცინთან წარმოქმნის წითელი ფერის ნაერთს:



ანალოგიური პროცესი ახასიათებთ ალდოზებს, მაგრამ მათი რეაქცია მიმდინარეობს გაცილებით ნელა და განსაკუთრებულ პირობებში (ტემპერატურა და მჟავიანობა).

ორ სინჯარაში ასხამენ 3-3 მლ სელივანოვის რეაქტივს, ერთ მათგანს ამატებენ ფრუქტოზის ხსნარის 3 წვეთს, ხოლო მეორეში – გლუკოზის ხსნარის 3 წვეთს. ორივე სინჯარას ათავსებენ წყლის აბაზანაზე, რომელიც წინასწარ გაცხელებულია 80°C ტემპერატურამდე და აყოვნებენ აბაზანაში 8 წუთის განმავლობაში. ამ დროის მანძილზე სინჯარაში, რომელშიც მოთავსებულია ფრუქტოზას ხსნარი, წარმოიქმნება წითელი შეფერილობა.

ცდა 9. დეზოქსიპენტოზების რეაქცია დიფენილამინთან. 2–დეზოქსიპენტოზები რბილ პირობებში მჟავასთან გაცხელებისას წარმოქმნიან ფურფურილის სპირტს, ოქსილევულინის ალდეჰიდს და მათ მონათესავე ქრომოგენებს, რომლებიც კონდენსირდებიან ამინებთან, რის შედეგადაც ლურჯი ფერის ნაერთები წარმოიქმნება.

დეზოქსირიბოზის ან დნმ-ის ხსნარის 1 მლ-ს ამატებენ 2 მლ დიფენილამინის ხსნარს. სარეაქციო ნარევს აცხელებენ 100°C ტემპერატურაზე 10 წუთის განმავლობაში. წარმოიქმნება ლურჯი შეფერილობა, რომელსაც ხსნარი ინარჩუნებს რამდენიმე საათის მანძილზე.

ცდა10. სახამებლის და გლიკოგენის რეაქცია იოდთან. 2-3 მლ სახამებლის ხსნარს ამატებენ 1-2 წვეთ ლუგოლის ხსნარს. ხსნარი შეიფერება ლურჯად. სინჯარის შემცველობას ყოფენ 3 ნაწილად: პირველ ნაწილს ამატებენ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 10%-ანი ხსნარის 1-2 მლ-ს, მეორეს – 2-3 მლ ეთილის სპირტს; მესამე ნაწილს აცხელებენ. ყველა შემთხვევაში შეფერილობა ქრება, ხოლო მესამე სინჯში გაცივებისას შეფერილობა კვლავ აღდგება. რეაქციას საფუძვლად უდევს იოდის არამდგრადი ადსორბციული ნაერთის წარმოქმნა ამილოზასთან.

სინჯარაში ასხამენ 2-3 მლ გლიკოგენის ხსნარს, ამატებენ 1-2 წვეთ ლუგოლის ხსნარს, მოურევენ, წარმოიქმნება რუხი წითელი ფერის შეფერილობა. ფერი უფრო ინტენსიური გახდება, თუ ხსნარს დაამატებენ ნატრიუმის ქლორიდის რამდენიმე კრისტალს, ხოლო ნატრიუმის ჰიდროქსიდის ხსნარის დამატებისას ან ხსნარის გაცხელების შემთხვევაში შეფერილობა ქრება.

იოდ-სახამებლის და იოდ-გლიკოგენის კომპლექსების ფერების სხვაობა ადასტურებს სახამებლის და გლიკოგენის სტრუქტურულ სხვაობას.

52. ნახშირწყლების გამოყოფა

როგორც ცხოველური, ასევე სხვა ორგანიზმებისთვის. გლიკოგენი წარმოადგენს სარეზერვო ნახშირწყალს.

ვარაუდობენ, რომ ორგანიზმში გლიკოგენის ორი ფორმა არსებობს: ცილებთან მჭიდროდ დაკავშირებული, ქსოვილიდან ძნელად გამოსაყოფი და გაცილებით სუსტად ბმული ცილებთან, ადვილად ექსტრაგირებადი ცხელი წყლით და სამქლორიანი ძმარმჟავას განზავებული ხსნარების მეშვეობით.

გლიკოგენის გამოყოფის ორი მეთოდი არსებობს: ერთი მათგანის თანახმად, საკვლევ ქსოვილს ამუშავებენ მდუღარე წყლის აბაზანაზე კალიუმის ჰიდროქსიდის 30%-იანი ხსნარით. ასეთი უხეში დამუშავების შედეგად ქსოვილები იშლება, მასში არსებულ ნივთიერებათა უმეტესობა ჰიდროლიზდება, მაგრამ გლიკოგენი არ იცვლება და სპირტის დამატებისას გამოილექება. თუმცა ასეთი დამუშავების შედეგად გლიკოგენის მოლეკულური მასა მნიშვნელოვნად მცირდება.

მეორე მეთოდის მიხედვით, გლიკოგენს გამოყოფენ სამქლორიანი ძმარმჟავას 5%-ანი ხსნარით. ასეთი დამუშავებისას გლიკოგენის მოლეკულური მასა ნაკლებად იცვლება, მაგრამ

ამ შემთხვევაში ცილებთან ბმული გლიკოგენის გამოყოფა სრულად, სიძნელეს წარმოადგენს.

ცდა 1. გლიკოგენის გამოყოფა საფუარიდან

რეაქტივები და ჭურჭელი. თერმოსტატი; ცენტრიფუგა; საშრობი კარადა; მაცივარი; კონუსისური კოლბები 250 მლ-ანი და 300 მლ-ანი; ფაიფურის როდინი (დიამეტრი 90 მმ); საზომი ცილინდრი 50 მლ-ანი; ჭიქები აწონვისთვის (ბიუქსები); ბიუხნერის ძაბრი; მინის ძაბრი; მინის წკირი; ლუდის საფუარი; საქაროზა (20%-ანი) სამქლორიანი ძმარმჟავა (5%-ანი და 10%-ანი); კვარცის ქვიშა; ეთანოლი; დიეთილეთერი.

10გ ლუდის საფუარს, რომელიც წინასწარ ირეცხება, გაფილტრავენ ბიუხნერის ძაბრზე, შეურევენ 200 მლ საქაროზას 20%-იან ხსნარს და დააყოვნებენ 3 საათის განმავლობაში 25°C ტემპერატურაზე. იწყება ინტენსიური დულილის პროცესი, რის შედეგადაც საფუარის უჯრედებში გროვდება გლიკოგენი.

შემდეგ პროცესს წყვეტენ, საფუარს სწრაფად მოაცილებენ ცენტრიფუგირებით, ათავსებენ წინასწარ გაცივებულ როდინში, ამატებენ 15 მლ 0°C ტემპერატურამდე გაცივებულ სამქლორიან ძმარმჟავას 10%-იან ხსნარს, ამატებენ აგრეთვე 5 გ კვარცის ქვიშას და სრესენ 10 წუთის განმავლობაში. 5 წუთის განმავლობაში ახდენენ ნარევის ცენტრიფუგირებას (3000g). მჟავა ექსტრაქტი გადააქვთ 200 მლ-იან კოლბაში და ინახავენ 0-40°C ტემპერატურაზე, ნალექი კი გადააქვთ როდინში და კვლავ ახდენენ ექსტრაგირებას 10 მლ სამქლორიანი ძმარმჟავას გაცივებული 5%-იანი ხსნარით. ამ ოპერაციას იმეორებენ სამჯერ. ცენტრიფუგირების ნაცვლად საფუარის ნარჩენი შეიძლება გაიფილტროს ბიუხნერის ძაბრზე. ყველა ექსტრაქტს ათავსებენ კონუსისებურ კოლბაში და თუ ხსნარი შეიცავს მყარ ნაწილაკებს, ფილტრავენ, ფილტრს ჩარეცხავენ ორჯერ 3-3 მლ სამქლორიანი ძმარმჟავას 5%-ანი ხსნარით.

ექსტრაქტს ამატებენ ორმაგი მოცულობის ეთანოლს, მოურევენ და დააყოვნებენ 30 წუთის განმავლობაში 0°C ტემპერატურაზე, რის შემდეგ ნალექს (გლიკოგენს) ჩამოაცილებენ ცენტრიფუგირებით (3000g) 5-10 წუთის განმავლობაში. ნალექის ზედაპირზე დაგროვილ სითხეს გადაასხამენ, ხოლო გლიკოგენის ნალექს გასუფთავების მიზნით ხსნიან 3 მოცულობა თბილ წყალში, ინტენსიურად მოურევენ მინის

წკირით. ამატებენ ორმაგი მოცულობის (აღებული წყლის რაოდენობის მიხედვით) ეთილის სპირტს, აყოვნებენ მაცივარში 30 წუთის განმავლობაში და შემდეგ ახდენენ ცენტრიფუგირებას.

გლიკოგენის ნალექს ორჯერ ჩარეცხავენ 5 მლ. სპირტის 65%-იანი ხსნარით, ინტენსიური მორევით და ცენტრიფუგირებით. ამის შემდეგ გლიკოგენს ჩარეცხავენ 5 მლ 96%-ანი სპირტით, და ბოლოს 10 მლ ეთერით. გლიკოგენი გადააქვთ წინასწარ აწონილ ბიუქსში, აშრობენ საშრობ კარადაში 80°C-ზე და წონიან.

ცდა 2. გლიკოგენის გამოყოფა ცხოველური ქსოვილებიდან. გლიკოგენს დიდი რაოდენობით შეიცავს ღვიძლი, გაცილებით ნაკლებადაა მდიდარი გლიკოგენით კუნთოვანი ქსოვილი.

რეაქტივები და ჭურჭელი: ცენტრიფუგა; მაცივარი; წყლის აბაზანა; ქიმიური სინჯარები; მინის მილი; კალიუმის ჰიდროქსიდი (30%-ანი); ნატრიუმის სულფატი (10%-ანი); ეთანოლი.

სინჯარაში ასხამენ 2 მლ კალიუმის ჰიდროქსიდის 30%-იან ხსნარს, შეათბობენ და ათავსებენ მასში 300 მგ ახლადდაკლული ცხოველის ქსოვილს (ღვიძლი, კუნთი, ტვინი), ან აბრეშუმის პარკს, აბრეშუმის ჭიას. სინჯარას აცხელებენ 30-60 წუთის განმავლობაში მდულარე წყლის აბაზანაზე და სინჯარის შემცველობას ხშირად მოურევენ. ჰიდროლიზის დასრულების შემდეგ სინჯარას აცივებენ და ამატებენ 0,2 მლ. ნატრიუმის სულფატის 10%-იან ხსნარს და 5 მლ ეთანოლს. ნარევს კარგად მოურევენ და ათავსებენ მაცივარში მთელი ღამის განმავლობაში. მეორე დღეს წარმოქმნილ ნალექს მოაცილებენ ცენტრიფუგირებით 40 წუთის განმავლობაში (7000g). ნალექის ზედაპირზე დაგროვილ სითხეს გადააქცევენ, ხოლო ნალექს ხსნიან 1-2 მლ წყალში. მიღებულ ხსნარს ამატებენ 2 მლ ეთანოლს, მოურევენ და ათავსებენ მაცივარში 30 წუთის განმავლობაში. ნალექს ჩამოაცილებენ ცენტრიფუგირებით, ხსნიან წყალში და ლექავენ სპირტით. გლიკოგენის მესამე გამოლექვის შემდეგ ნალექზე დაგროვილ სითხეს ჩამოაცილებენ. გლიკოგენის ნალექს აშრობენ, ხსნიან წყალში და მისი კონცენტრაციის დასადგენად იყენებენ ქიმიურ ან ფერმენტულ მეთოდებს.

ცდა 3. გლიკოგენის აღმოჩენა ცხოველურ ქსოვილებში

რეაქტივები და ჭურჭელი. ცენტრიფუგა; წყლის აბაზანა; ცენტრიფუგის მინის სინჯარები; მინის მაღალი ჭიქა; გრადუირებული პიპეტები 2 მლ-ანი და 5 მლ-ანი; ყინული; კალიუმის ჰიდროქსიდი (15%-ანი და 60%-ანი); მარილმჟავა (2,5%-ანი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10%-ანი); ეთანოლი; ფელინგის სითხე; ლუგოლის რეაქტივი (იხ. დანართი).

ცენტრიფუგის სინჯარაში ასხამენ 2 მლ კალიუმის ჰიდროქსიდის 60%-იან ხსნარს და მასში ათავსებენ 1,5- 2 გ ქსოვილს. სინჯარას ათავსებენ მდუღარე წყლის აბაზანაში 1 საათის განმავლობაში. შემდეგ ამოიღებენ აბაზანიდან, აცივებენ და ასხამენ მასში 8-10 მლ ეთანოლს. სინჯარას ათავსებენ ჭიქაში, რომელშიც ყინულის ნატეხებია მოთავსებული და აყოვნებენ 20-30 წუთის განმავლობაში. გამოილექება გლიკოგენის ნალექი. ნალექს გამოანთავისუფლებენ ცენტრიფუგირებით 5-10 წუთის განმავლობაში (3000g). სითხეს აცილებენ დეკანტაციით, ნალექს ხსნიან 2 მლ კალიუმის ჰიდროქსიდის 15%-იან ხსნარში, ამატებენ 8-10 მლ ეთანოლს და მიღებულ ნარევს აცივებენ.

ხელახლა გამოლექილი გლიკოგენის ნალექს ჩამოაცილებენ ცენტრიფუგირებით. გლიკოგენის ნალექის მცირე ნაწილს ხსნიან რამდენიმე წვეთ წყალში და ამატებენ ლუგოლის რეაქტივს; წარმოიქმნება წითელი შეფერილობა, რომელიც ქრება გაცხელებისას და კვლავ წარმოიქმნება გაცივებისას.

გლიკოგენის დარჩენილ ნაწილში ახდენენ ჰიდროლიზს და ადასტურებენ მის შემადგენლობაში გლუკოზას არსებობას. ამისთვის, მას ამატებენ 3-4 მლ მარილმჟავას 2,5%-იან ხსნარს და ადუღებენ 15-20 წუთის განმავლობაში. აცივებენ და ანეიტრალებენ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 10%-იანი ხსნარით, ამატებენ ფელინგის სითხის ტოლ მოცულობას. ნარევს აცხელებენ დუღილის დაწყებამდე. წარმოიქმნება სპილენძის(I) ოქსიდის წითელი ფერის ნალექი.

5.3. ნახშირწყლების რაოდენობითი განსაზღვრა

სახამებელის განსაზღვრის ქიმიური მეთოდები ეფუძნება იოდთან მისი შეფერილობის შეცვლის ინტენსივობას და აგრეთვე მისი ფერმენტული ან მჟავური ჰიდროლიზის შედეგად წარმოქმნილი გლუკოზის რაოდენობით განსაზღვრას. მეთოდი, რომელიც ეფუძნება სახამებლის იოდთან შეფერილობის ინ-

ტენსიურობას, არ არის საკმარისად ზუსტი, რადგან ეს ურთიერთქმედება ამილოზასა და ამილოპექტინისათვის განსხვავებულად მიმდინარეობს და მათი თანაფარდობა სახამებელში იცვლება, რაც დამოკიდებულია აღებულ ობიექტზე. ეს მეთოდი გამოიყენება ფარდობითი განსაზღვრისათვის. მჟავა ჰიდროლიზის მეთოდის გამოყენებისას საჭიროა სახამებელის რაოდენობითი გამოყოფა მცენარეული მასალიდან, რადგან მჟავა ჰიდროლიზის მიმდინარეობისას სახამებელთან ერთად იშლება ცელულოზა, ჰემიცელულოზა და სხვა პოლისაქარიდები, რაც მცენარეებში საკმაოდ დიდი რაოდენობითაა. ყველაზე დამაჯერებელი შედეგები მიიღება ნერწყვის ამილაზათი სახამებლის ფერმენტული დაშლისას. გლუკოზის რაოდენობას, რომელიც გამოიყოფა სახამებელის ჰიდროლიზის შედეგად, საზღვრავენ იოდომეტრულად ვილშტეტერ-შუდლის მიხედვით.

ცდა 1. სახამებელის რაოდენობითი განსაზღვრა

რეაქტივები და ჭურჭელი: წყლის აბაზანა; საზომი კოლბები 200 მლ-ანი; კონუსისური კოლბები 200 მლ უკუმაცივრით; ფაიფურის როდინი (დიამეტრით 90 მმ); გრადუირებული პიპეტები 5 და 10 მლ-ანი; პიპეტები ერთი დანაყოფით 25 მლ-ანი; სწორი ბიურეტები, ონკანით 25 მლ-ანი და 50 მლ-ანი; საზომი ცილინდრი 100 მლ-ნი; მინის ფირფიტა; მინის წკირი; მარილმჟავა (25%-იანი); ნატრიუმის ქლორიდი (10%-ანი); იოდი (0,1N); ნატრიუმის თიოსულფატი (0,1N; ზუსტად დადგენილი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (0,5N); გოგირდმჟავა (2N); სახამებელ-ინდიკატორი (1%-ნი); ლუგოლის რეაქტივი (იხ. დანართი).

5 გ კარტოფილს სრესენ ფაიფურის როდინში, გადააქვთ 200 მლ-იან საზომ კოლბაში, მცირე რაოდენობის გამოხდილი წყლით (30-50 მლ) და იქვე სასწრაფოდ ამატებენ ცხელ გამოხდილ წყალს (100 მლ). კოლბას სწრაფად ათავსებენ მდულარე წყლის აბაზანაზე 1 საათის განმავლობაში, რათა მოხდეს სახამებლის სრული გადასვლა ხსნარში. კოლბის შემცველობას პერიოდულად მოურევენ, ამ დროს სახამებლის მარცვლები იბერებიან (ფუვდებიან) და იშლებიან. 1 საათის შემდეგ კოლბას ამოიღებენ აბაზანიდან, აცივებენ 40°C-მდე და ამატებენ 10 მლ ნერწყვის ხსნარს. რადგან ამილაზა აქტიურდება ქლორიდ-იონების მიერ, ამიტომ კოლბაში ამატებენ 5 მლ ნატრიუმის ქლორიდის 10%-იან ხსნარს. ფერმენტულ ჰიდროლიზს აწარმოებენ 37-40°C ტემპერატურის პირობებში 2-3 საათის განმავლობაში, რისთვისაც გამოიყენება კარტოფილის სახამებელი, ხოლო 12-18 საათის განმავლობაში

მიმდინარეობს მარცვლეულის სახამებელის ჰიდროლიზი. სახამებელის ჰიდროლიზის ხარისხს და მისი დასრულების მომენტს ადგენენ სახამებელის რეაქციით იოდთან. ამისათვის მინის წკირით, კოლბიდან ამოიღებენ სითხის ერთ წვეთს, რომელიც მყარ ნაწილაკებს შეიცავს, გადააქვთ სინჯი მინის ფირფიტაზე და ამატებენ ლუგოლის ხსნარის რამდენიმე წვეთს. თუ სინჯზე იოდის დამატებისას ლურჯი ფერი არ შეიმჩნევა, კოლბას შეავსებენ წყლით დანაყოფამდე, მოურევენ და ფილტრავენ მშრალი ფილტრის ქაღალდის გამოყენებით, მშრალ ჭიქაში ან კოლბაში.

ამილაზას მოქმედების შედეგად წარმოქმნილი დექსტრინებისა და ამილაზას ჰიდროლიზისათვის ამატებენ მარილმჟავას 2,5%-იან ხსნარს. ამისათვის 100 მლ. ფილტრატი გადააქვთ 200 მლ-იან კონუსისურ კოლბაში. ამატებენ 12 მლ მარილმჟავას 25%-იან ხსნარს და ათავსებენ კოლბას უკუმაცივრით მდუღარე წყლის აბაზანაზე (მინის მილი დაახლოებით 80 სმ) 3 საათის განმავლობაში. ჰიდროლიზის დასრულებისას კოლბას აცივებენ, ხსნარი კონუსისებური კოლბიდან გადააქვთ 200 მლ-იან საზომ კოლბაში, რამდენჯერმე გამოავლებენ მას გამოხდილ წყალს და საზომ კოლბაში ხსნარს შეავსებენ დანაყოფამდე. მიღებულ ხსნარში გლუკოზას საზღვრავენ იოდომეტრულად: იღებენ 10 მლ ხსნარს, ამატებენ 15 მლ იოდის 0,1N ხსნარს და შემდეგ ნელ-ნელა, ინტენსიური მორევით ამატებენ 25 მლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 0,5N ხსნარს იოდის შეფერილობის გაქრობამდე, 10-15 წუთის შემდეგ კოლბას ამატებენ 5 მლ გოგირდმჟავას 2N ხსნარს და გამოყოფილ იოდს ტიტრავენ თიოსულფატის 0,1N ხსნარით. როდესაც ხსნარი გახდება მოყვითალო-ჩალისფერი, მას ამატებენ 1 მლ (20-25 წვეთი) სახამებელის 1%-იან ხსნარს. სითხის ყოველ 50 მლ-ზე. პარალელურად ატარებენ საკონტროლო ცდას, რომელშიც ჰიდროლიზატის ნაცვლად იღებენ იგივე მოცულობით გამოხდილ წყალს. სახამებელის შემცველობას (C) საკვლევ პროდუქტში (პროცენტებში) გამოითვლიან მოცემული ფორმულის მიხედვით:

$$C = \frac{(V - V_1) \cdot V_2 \cdot 0{,}009 \cdot 100 \cdot 0{,}9}{a \cdot V_3};$$

სადაც V – თიოსულფატის 0,1N ხსნარის რაოდენობა, რომელიც დაიხარჯა საკონტროლო გატიტვრაზე (მლ.);

V_1 – თიოსულფატის 0,1N ხსნარის რაოდენობა, რომელიც დაიხარჯა ცდაში (მლ); 0,009 – გატიტვრის შედეგების გადათვლის კოეფიციენტი გლუკოზის შემცველობაზე;

a – საკვლევი მასალის წონა; 0,9 – გლუკოზის სახამებელში გადათვლის კოეფიცინეტი, მცენარეული მასალიდან გამონაწვლილი მასალის მოცულობა (მოცემულ შემთხვევაში 400 მლ);

V_3 – ჰიდროლიზატის მოცულობა, რომელიც აღებულ იქნა გლუკოზას იოდომეტრული განსაზღვრისათვის (10 მლ).

კარტოფილის ნაყოფში შაქრის შემცველობა უმნიშვნელო რაოდენობითაა (0,1-0,2%), ამიტომ შეიძლება მისი უგულებელყოფა და განსაზღვრული გლუკოზის სრული რაოდენობა გადათვლილ უნდა იქნეს სახამებელზე. სხვა მასალაში (მკვახე ვაშლი, ფოთლები, ღეროები) შაქრის შემცველობა მნიშვნელოვნად მეტია.

სახამებლის რაოდენობრივი შემცველობის ზუსტი მონაცემების მისაღებად საჭიროა ცალკეულ წონაკში განისაზღვროს რედუცირებული მონო-, დისაქარიდების ოდენობა და მიღებული სიდიდე გამოაკლდეს გლუკოზის განსაზღვრის შედეგებს. შემდეგ მიღებული მონაცემი კი გადათვლილ იქნეს სახამებელზე.

5.4. ნახშირწყლების მიმოცვლა

ამილაზების მეშვეობით ხორციელდება სხვადასხვა ნაერთის ჰიდროლიზი, კერძოდ: სახამებლის, გლიკოგენის, ოლიგოსაქარიდების და იმ ნივთიერებების, რომლებიც აგებულნი არიან α,D-გლუკოპირანოზასაგან და მოლეკულაში შეიცავენ α-1,4 და α-1,6 გლიკოზიდურ ბმებს.

ცდა 1. α- და β- ამილაზას განსხვავებული მოქმედება სახამებელზე

რეაქტივები და ჭურჭელი: ცენტრიფუგა; თერმოსტატი; წყლის აბაზანა; ფაიფურის როდინი (დიამეტრი 90მმ.); ბიუხნერის ძაბრი; კონუსისისებური კოლბა 100-150 მლ-ანი; სინჯარები; მინის ლაბორატორიული ჭიქა; გრადუირებული პიპეტები 1, 2 და 10 მლ-ანი; უნივერსალური ინდიკატორი; ნატრიუმის ქლორიდი (1%-ანი); ამონიუმის სულფატი; ეთანოლი; ციტრატული ბუფერი, pH=5,6 (84 მლ) ლიმონმჟავა (0,1 M) შეურევენ 116 მლ.

$Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (0,2M) მარილმჟავას (0,1N, 2%-ანი); სპილენძის სულფატი (6%-ანი); ლუგოლის რეაქტივი; ფელინგის სითხე; ბარფერდის რეაქტივი (იხ. დანართი); ყინული.

α- და β-ამილაზას გამოყოფენ ფქვილიდან, მარცვლეულიდან. აღმოცენებული მარცვალი გაცილებით მეტი რაოდენობით შეიცავს ამილაზას და ამიტომ ამ ფერმენტების მისაღებად უკეთესია გამოყენებულ იქნეს ალაო.

მარცვლეულის ალაოს მოსამზადებლად (ხორბალი, ქერი, ჭვავი) საკვლევ მარცვლებს გამოაშრობენ თერმოსტატში, სადაც ტემპერატურა არ უნდა აღემატებოდეს 35°C-ს გამოშრობის შემდეგ ფქვავენ და აწარმოებენ 100 გ წმინდად დაფქვილი ალაოს ექსტრაგირებას 1%-ანი ნატრიუმის ქლორიდის 400 მლ ხსნარით 1-1,5 საათის განმავლობაში 30-35°C ტემპერატურაზე. დრო და დრო შეანჯღრევენ. ექსტრატს გადაფილტრავენ ბიუხნერის ძაბრზე და ფილტრატის ყოველ 100 მლ-ს ამატებენ 35 გ ამონიუმის სულფატს. ამონიუმის სულფატით გაჯერების შედეგად გამოილექება α- და β- ამილაზა. ნალექს დააყოვნებენ ცივ პირობებში და შემდეგ აცენტრიფუგირებენ (3000g) 10-15 წუთის განმავლობაში. ფერმენტების შემცველ ნალექს ხსნიან 20 მლ წყალში.

α-ამილაზას გამოყოფენ ამ ხსნარიდან, რისთვისაც საკვლევი ხსნარის 10 მლ-ს ათავსებენ კონუსურ კოლბაში და აცხელებენ 15 წუთის განმავლობაში 70°C ტემპერატურაზე (აუცილებელია მკაცრად იყოს დაცული ტემპერატურა), ამის შემდეგ ხსნარს აცივებენ და გამოიყენებენ α- ამილაზას აქტიურობის გამოსაკვლევად. აღნიშნულ ტემპერატურაზე β- ამილაზა ინაქტივირდება. α- ამილაზას pH-ის ოპტიმუმი შეადგენს 5,5-5,8, ამიტომ, ხსნარის გაცივების შემდეგ α- ამილაზას ხსნარს ამატებენ ციტრატული ბუფერული ხსნარის 10 მლ-ს, რომლის pH=5,6.

β-ამილაზას გამოყოფენ ალაოს გამონაწვლილიდან მჟავა არეში, α-ამილაზას ინაქტივირების შემდეგ. ამილაზების წყალხსნარის მეორე ნახევარს (10 მლ) ამატებენ მარილმჟავას 0,1N ხსნარის 2 მლ-ს და 8 მლ წყალს (საერთო მოცუ-

ლობა 20 მლ-ს ტოლია, pH=3,3), და ათავსებენ ყინულიან აბაზანაში 15 წუთის განმავლობაში. შემდეგ β- ამილაზას ხსნარს ამატებენ 4 მლ. ნატრიუმის ჰიდროფოსფატის 0,15M ხსნარს, რათა pH-ის მნიშვნელობა გახდეს 6-ის ტოლი.

ამილაზას დექსტრინირების უნარს ამჟღავნებენ იოდთან სინჯის საშუალებით. ამისათვის ნომრავენ 16 სინჯარას, ათავსებენ მათ შტატივში ორ მწკრივად (ყოველ მწკრივში ექვსი სინჯარა), თითოეულ სინჯარაში ათავსებენ სახამებლის 2%-იანი ხსნარის 5-5 მლ-ს. ყოველ სინჯარას ამატებენ ფერმენტის ხსნარს და წყალს, ცხრილში მოცემული რაოდენობით. პირველი რიგის სინჯარებში ასხავენ α- ამილაზას ხსნარს, ხოლო მეორე რიგის სინჯარებში – β- ამილაზას ხსნარს.

ნივთიერების სახელწოდება	ნივთიერების რაოდენობა (მლ) სინჯარაში					
	1	2	3	4	5	6
ფერმენტის შემცველი ხსნარი	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	0
წყალი	3,8	3,6	3,4	3,2	3,0	4,0

სინჯარებს შეანჯღრევენ და ათავსებენ წყლის აბაზანაზე (40^{0}C) 10 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგაც სინჯარებს გააცივებენ და ყოველ მათგანში ასხამენ მარილმჟავას 20%-იან ხსნარის 0,1 მლ-ს, რათა შეწყდეს ფერმენტის მოქმედების პროცესი. სახამებლის ჰიდროლიზის სისრულის შესამოწმებლად, ყოველ სინჯარას ამატებენ 1-2 წვეთ ლუგოლის ხსნარს. იოდთან შეფერილობის მიხედვით ავლენენ ამილაზების დექსტრინირების უნარს და საზღვრავენ სახამებლის დაშლის ხარისხს ორი სახეობის ამილაზას მეშვეობით.

ორ სინჯარაში ათავსებენ სახამებლის 2%-იანი ხსნარის 5-5 მლ-ს, აცხელებენ წყლის აბაზანაზე (40°C) 15 წუთის განმავლობაში. შემდეგ პირველ სინჯარას ამატებენ α–ამილაზას ხსნარის 1 მლ-ს, ხოლო მეორეს – β–ამილაზას ხსნარის 1 მლ-ს. სინჯარების შემცველობას მოურევენ და კვლავ ათავსებენ წყლის აბაზანაზე (40°C) 30 წუთის განმავლობაში. ამ დროის გასვლის შემდეგ ორივე სინჯარას აცხელებენ ადუღებამდე, რათა შეჩერდეს სახამებლის ფერმენტული ჰიდროლიზი.

ხსნარებს აყოვნებენ ოთახის ტემპერატურამდე და ყოველი სინჯარის შემცველობას ყოფენ ორ ნაწილად: ხსნარის ერთ ნაწილს ამატებენ ფელინგის სითხეს, ხოლო მეორე ნაწილთან ატარებენ ბარფედის რეაქციას.

მიღებული მონაცემების საფუძველზე გამოაქვთ დასკვნა α და β ამილაზების განსხვავებულ მოქმედებაზე.

ცდა2. არაორგანული ფოსფატის გამოყენება დუღილის პროცესში
(*ფრუქტოზა-1,6 – დიფოსფატის ფერმენტული სინთეზი ნეიბერგისა და კობელის მიხედვით*)

ნახშირწყლების დაშლის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან პროცესს, რომელიც მიმდინარეობს ცხოველურ ორგანიზმში, გლიკოგენოლიზი წარმოადგენს. იგი იწყება გლიკოგენის დაშლით და სრულდება რძემჟავას (CH_3-CHOH-COOH) წარმოქმნით. მიკროორგანიზმებში (საფუარი) და მცენარეებში ანაერობულ პირობებში ასევე მიმდინარეობს სპირტული დუღილი, რის შედეგადაც წარმოიქმნება ეთილის სპირტი და ნახშირბადის დიოქსიდი.

ორივე პროცესისათვის დამახასიათებელია მათი მიმდინარეობა ფოსფორმჟავას მონაწილეობით ან უფრო სწორად, ფოსფატური ჯგუფების მონაწილეობით. ამ დროს წარმოიქმნებიან რთული ეთერები (გლუკოზა-1-ფოსფატი და გლუკოზა-6-ფოსფატი), რომლებიც გარდაიქმნებიან ფრუქტოზა-6-ფოსფატად, შემდეგ კი ფრუქტოზა-1,6-დიფოსფატად.

წარმოქმნილი ფრუქტოზა-1,6-დიფოსფატი იშლება ორ ტრიოზად: დიჰიდროქსიაცეტონფოსფატად და გლიცერალდეჰიდ-3-ფოსფატად.

თუ საფუარს "მოვწამლავთ" ტოლუოლით, მაშინ ფერმენტი ალდოლაზა ინჰიბირდება, სწორედ მისი მეშვეობით ხორციელდება ფრუქტოზა-1,6-დიფოსფატის დაშლა ორ ტრიოზად. ამის შედეგად სარეაქციო არეში შეტანილი ფოსფატური ბუფერიდან განუწყვეტლივ შთაინთქმება ფოსფორმჟავა, რის შედეგადაც წარმოიქმნება და დაგროვდება ფრუქტოზა-1,6-დიფოსფატი.

რეაქტივები და ჭურჭელი: ცენტრიფუგა; თერმოსტატი; ექსიკატორი ონკანით; ბიუხნერის ძაბრი; კონუსური კოლბა 200 მლ-ანი; ფაიფურის როდინი (დიამეტრი 110 მმ); გრადუირებული პიპეტები 1, 2 და 5 მლ-ანი; მინის ძაბრი; საზომი ცილინდრი 25 მლ-ანი; ლუდის საფუარი; საქაროზა; ნატრიუმის ჰიდროფოსფატი; კალიუმის დიჰიდროფოსფატი; ამიაკი (2,5%-ანი და 25%-ანი); სამქლორიანი ძმარმჟავა (25%-იანი); ნატრიუმის ჰიდროქსიდი (10N) მაგნეზიალური ნარევი (იხ. დანართი); მარილმჟავა (1N); ბარიუმის კარბონატი; ეთანოლი; დიეთილეთერი, ტოლუოლი; მეთილორანჟი (0,2%); ფენოლფტალეინი (1%-ანი).

ლუდის საფუარს ჩარეცხავენ ონკანის წყლით, სანამ ჩანარეცხი წყალი არ გაუფერულდება, რის შემდეგაც საფუარს ათავსებენ ბიუხნერის ძაბრზე და მოაცილებენ სითხეს. მაცივარში შენახვის შემთხვევაში, ის რამდენიმე დღის განმავლობაში შეინარჩუნებს აქტიურობას. 10გ საქაროზას ხსნიან 50მლ წყალში 40^{0}C ტემპერატურაზე, შემდეგ ამატებენ 3გ. $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ და 1გ KH_2PO_4 (ნარევის PH≈7). მარილების გახსნის შემდეგ კოლბაში ათავსებენ 15გ საფუარს, რომელიც ერთგვაროვანი მასის მიღებამდე წინასწარ როდინში უნდა გაისრისოს თბილ წყალში (5-10 მლ). ნარევს მოურევენ და ათავსებენ თერმოსტატში (37^{0}C) 15 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგაც ხსნარს ამატებენ 2-3 მლ ტოლუოლს, მოურევენ და ტოლუოლით სრული გაჯერების მიზნით ნარევს ისევ ათავსებენ თერმოსტატში. პირველ 30 წუთის განმავლობაში ნარევს რამდენჯერმე მოურევენ.

მუშაობისას მთავარ ამოცანას წარმოადგენს დაკვირვება იმაზე, თუ როგორ მიმდინარეობს ფოსფორილირება არაორგანული ფოსფატის შემცირებით. ამისათვის დულილის დაწყებიდან 30 წუთის შემდეგ დროის გარკვეული ინტერვალით იღებენ სინჯებს 1 მლ-ს ოდენობით: დასაწყისში 30 წუთის, ხოლო 15 წუთის გასვლისას ამატებენ მათ 2-2 მლ 2,5 %-იან ამიაკის ხსნარს, ნალექს გადაფილტრავენ მცირე ზომის. სველ ფილტრში და გამჭვირვალე ფილტრატის 2 მლ-ს ამატებენ 3-3 მლ მაგნეზიალურ ნარევს. არაორგანული ფოსფატის

არსებობის შემთხვევაში წარმოიქმნება თეთრი ფერის ნალექი $MgNH_4PO_4$.

ფოსფორილირების დინამიკის გამოსავლენად სინჯარებს, რომელშიც ნალექია წარმოქმნილი ინახავენ და მათში არსებული ნალექის მოცულობის მიხედვით მსჯელობენ ფოსფორილირების მსვლელობაზე. 2-2,5 საათის დაყოვნების შემდეგ $MgNH_4PO_4$ აღარ გამოილექება ან ნალექის შემდეგომი შემცირება აღარ შეინიშნება. ასეთი მდგომარეობის მიღწევის შემდეგ დულილის შეჩერების მიზნით ამატებენ 25%-იან სამქლორიან ძმარმჟავას, მისი 5%-იანი კონცენტრაციის მიღწევამდე. ნარევს შეანჯღრევენ და 20-30 წუთის შემდეგ ფილტრავენ ბიუხნერის ძაბრზე. ნალექის მოცილება შეიძლება აგრეთვე ცენტრიფუგებით 15 წუთის განმავლობაში (4000g). თუ ნალექის ზედაპირზე არსებული სითხე იქნება შემღვრეული, მას ფილტრავენ სველ ფილტრში.

ფრუქტოზა-1,6-დიფოსფატის გამოყოფას იწყებენ ფოსფატიდების დალექვით, რისთვისაც გამოიყენებენ მაგნეზიალურ ნარევს. ფილტრატს, რომელსაც აქვს მჟავა არე, ანეიტრალებენ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 10N ხსნარით (ინდიკატორი მეთილორანჟი), აგრეთვე ამატებენ 25%-იანი ამიაკის ხსნარს, მძაფრი სუნის გამოყოფამდე და 10 მლ მაგნეზიალურ ნარევს. ნარევს აცენტრიფუგირებენ, ფილტრავენ, მცირე რაოდენობით დარჩენილ სითხეს ამატებენ 2-3 წვეთ ფენოლფტალეინის 1%-იან ხსნარს და ხსნარის შეფერილობის მიხედვით ამატებენ მას მარილმჟავას ან ტუტეს, რათა ხსნარის PH=8,2 გახდეს. (მოვარდისფრო შეფერილობა). ამის შემდეგ ამატებენ 10-12 მლ წყალში გახსნილ 4გ. ბარიუმის კარბონატის ხსნარს. წარმოიქმნება ნალექი, რომელიც წარმოადგენს ფრუქტოზა-1,6-დიფოსფატის ბარიუმის მარილს.

ნარევს აცენტრიფუგირებენ, ჩარეცხავენ წყლით, შემდეგ სპირტით და ეთერით, ათავსებენ ონკანიან ექსიკატორში.

მიღებული ნაერთის იდენტიფიცირებას აწარმოებენ მასში არსებული ფოსფორისა და ფრუქტოზას განსაზღვრით.

ლიპიდები

6.1. ლიპიდების გამოყოფის მეთოდები

ლიპიდები მიეკუთვნება წყალში უხსნადი ორგანული ნაერთების კლასს, რომლებიც კარგად იხსნებიან ორგანულ გამხსნელებში.

ჩვეულებრივ, ლიპიდებს გამოყოფენ გამომშრალი (გაუწყლოვებული) ქსოვილებიდან, არსებული ორგანული გამხსნელების მეშვეობით (სპირტები, ეთერები, ბენზოლი, ტოლუოლი, ბენზინი, აცეტონი, პირიდინი, ქლოროფორმი, ოთხქლორიანი ნახშირბადი, გოგირდნახშირბადი და სხვა). ლიპიდების ურთიერთდასაცილებლად გამოიყენება მათი განსხვავებული ხსნადობა ამა თუ იმ გამხსნელში: ზოგი მათგანი კარგად იხსნება ეთერში, მაგრამ ცუდად იხსნება აცეტონში (მაგალითად ფოსფოლიპიდები), სხვები იხსნებიან ბენზოლში, მაგრამ არ იხსნებიან სპირტში (ქოლესტეროლი, ცერებროზიდები და სხვა) და ა. შ. სარეზერვო ცხიმი ადვილად გამოიყოფა. ბმული ლიპიდების გამოყოფა შესაძლებელია მხოლოდ ცილა-ლიპიდური კომპლექსების დაშლის შემდეგ. ბმული მდგომარეობიდან თავისუფალ მდგომარეობაში ლიპიდების გადაყვანა შესაძლებელია მათი ჰიდროლიზით, ან საკვლევი მასალის ადუღებით სპირტში, რის შედეგადაც ლიპიდები გამოიყოფიან უცვლელი სახით.ცხიმებისა და ზეთების ქიმიური შედგენილობის დახასიათებისათვის საჭიროა მათი ქიმიური კონსტანტების განსაზღვრა. ცხიმის ქიმიურ კონსტანტას ახასიათებენ:

1. 1გ ცხიმში თავისუფალი მჟავების რაოდენობა (მჟავური რიცხვი);
2. 1გ ცხიმში ბმული მჟავების რაოდენობა (ეთეროვანი რიცხვი);
3. მჟავების საერთო რაოდენობა 1გ ცხიმში (გასაპონის რიცხვი);
4. უჯერი მჟავების რაოდენობა (მჟავური რიცხვი).

არსებობენ აგრეთვე სხვა კონსტანტებიც.

ცდა1. ცხიმების გამოყოფა და ფრაქციონირება. ცხიმის გამოყოფა რძიდან

რეაქტივები და ჭურჭელი. მინის ქიმიური სინჯარები; საზომი ცილინდრი 10 მლ-ანი; ასაორთქლებელი ფინჯანი 50 მლ-ანი; წყლის აბაზანა; ნატრიუმის კარბონატი (10%-იანი); დიეთილეთერი.

6 მლ აუდულარ რძეს ამატებენ ნატრიუმის კარბონატის 10%-იანი ხსნარის 2მლ-ს, კარგად მოურევენ და 5მლ ეთერის დამატებისას შეანჯღრევენ. ეთერს გადმოასხამენ ასაორთქლებელ ჭურჭელში და ააორთქლებენ ამოშრობამდე წინასწარ გაცხელებულ წყლის აბაზანაზე (ამწოვ კარადაში; ლაბორატორიაში ყველა სპირტქურა უნდა გამოირთოს). ეთერის აორთქლების შემდეგ რჩება ცხიმი-რძის ცხიმი.

ცდა 2. თვისებითი რეაქციები ცხიმებზე. თვისებითი რეაქციები ცხიმებზე და ზეთებზე.

რეაქტივები და ჭურჭელი: საათის მინები ან მინის ფირფიტები; ცხიმი ან ზეთი (ნებისმიერი); ოსმიუმის მჟავა (1%-ანი).

საათის მინაზე ათავსებენ ზეთის ერთ წვეთს, ამატებენ ოსმიუმის მჟავას 1%-ანი ხსნარის ერთ წვეთს. ზეთი შეიფერება შავად. ოსმიუმის მჟავას გარდა, გამოიყენებენ საღებავს სუდან III, რომლის მოქმედების შედეგად ზეთები სხვადასხვა წითელ შეფერილობას იღებენ. ოსმიუმის მჟავას 1%-იანი ხსნარი, სუდან III და სხვა რეაქტივები გამოიყენება მიკროქიმიური განსაზღვრისათვის. ქსოვილების ნიმუშებს (მცენარეული და ცხოველური) წინასწარ ასველებენ ერთ-ერთ ამ რეაქტივში და მიკროსკოპის მეშვეობით ადევნებენ თვალს: ქსოვილში ზეთის წვეთები წითლად ან შავად შეიფერება.

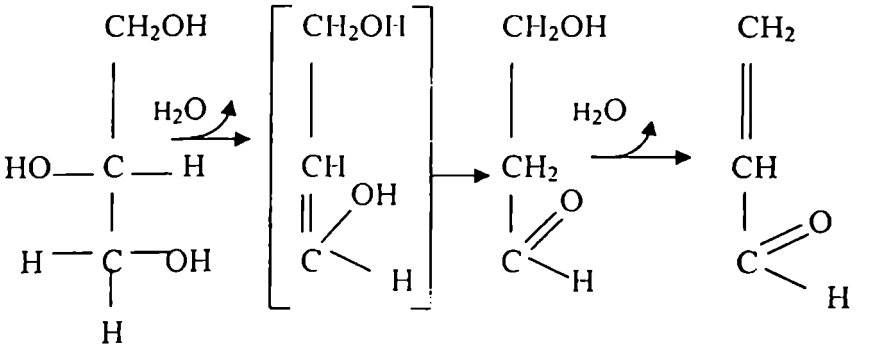
ცდა 3. გლიცერინის აღმოჩენა ცხიმებში (აკროლეინის სინჯი)

რეაქტივები და ჭურჭელი: მინის ქიმიური სინჯარები; მცენარეული ზეთი (ან ნებისმიერი ცხიმი); ცვილი; ფილტრის ქაღალდი; კალიუმის ჰიდროსულფატი (უწყლო); ვერცხლის ნიტრატი (1%-იანი); ამონიუმის ჰიდროქსიდი (5%-იანი); ფუქსინგოგირდოვანი მჟავა (იხ. დანართი).

სინჯარაში ათავსებენ 2-3 წვეთ ცხიმს და ამატებენ ხუთმაგი ოდენობით უწყლო კალიუმის ჰიდროსულფატს. სინჯარას ფრთხილად, მაგრამ ძლიერად აცხელებენ (ამწოვ კარადაში) თეთრი ფერის ორთქლის წარმოქმნამდე. ყურადღებას აქცევენ (ფრთხილად!) აკროლეინის გამაღიზიანებელი მძაფრი სუნის გამოყოფას. თუ გამოყოფილ ორთქლში შეიტანენ ვერცხლის ოქსიდის ამიაკურ ხსნარში (იხ. დანართი) დასველებულ ფილტრის ქაღალდს, ქაღალდი გაშავდება თავისუფალი ვერცხლის გამოყოფის შედეგად. შემდეგ სინჯარის პირთან მიუახლოვებენ ფუქსინგოგირდოვან მჟავაში დასველებულ ფილტრის ქაღალდს. წარმოიქმნება ვარდისფერი ლაქა. ორივე რეაქცია (ვერცხლის ოქსიდის ხსნართან ფუქსინგოგირდოვან

მჟავასთან) წარმოადგენენ ალდეჰიდებისათვის დამახასიათებელ თვისებით რეაქციებს, მოცემულ შემთხვევაში კი აკროლეინისთვის დამახასიათებელ რეაქციას. ცდას ატარებენ განმეორებით, მაგრამ ზეთის ნაცვლად იღებენ ცვილს.

ლიპიდებში გლიცეროლს აღმოაჩენენ აკროლეინის სინჯის მეშვეობით. გლიცეროლის გაცხელებით წყალწამრთმევი საშუალებების თანაობისას (კალიუმის ჰიდროსულფატი, ბორის მჟავა, მაგნიუმის სულფატი) მიმდინარეობს უჯერი აკრილალდეჰიდის–აკროლეინის წარმოქმნა:



გლიცეროლი აკროლეინი

ლიპიდებს, რომლებიც არ შეიცავენ გლიცერინს (ცვილი, სტერიდები და ა. შ.) აკროლეინის სინჯის რეაქცია არ ახასიათებთ. ცვილზე ამ რეაქციის ჩატარებისას აკროლეინი არ წარმოიქმნება.

ცდა 4.ცხიმების კონსტანტას და გაჯერების განსაზღვრა;

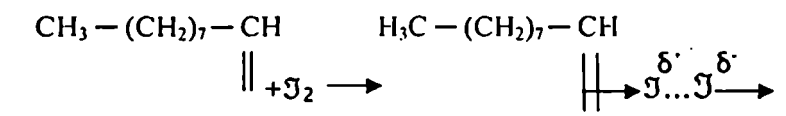
ცხიმების უჯერობა დამოკიდებულია მათ შემადგენლობაში უჯერი ცხიმოვანი მჟავების არსებობაზე. უჯერი ნაერთები ადვილად იერთებენ ჰალოგენის ორ-ორ ატომს ყოველი ორმაგი ბმის ადგილზე. ჩვეულებრივ უჯერობის ხარისხს საზღვრავენ იოდის რიცხვით. იოდის რიცხვი განისაზღვრება იოდის გრამების რაოდენობით, რომელსაც მიიერთებს 100გ ცხიმი.

ზეთების (ცხიმების) არაერთ ყველაზე მნიშვნელოვან მაჩვენებელს წარმოადგენს სწორედ იოდის რიცხვი. მისი მეშვეობით შესაძლებელია მსჯელობა ზეთის (ცხიმის) უჯერობის ხარისხზე, მისი "გამოშრობის", გამძაღების და სხვა გარ-

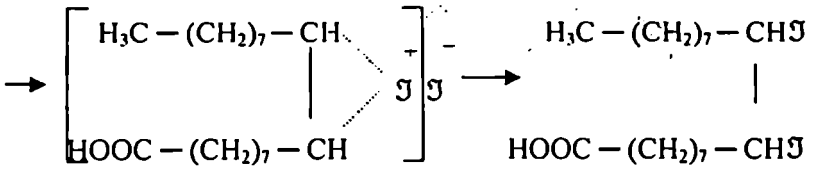
დაქმნების უნარზე, რაც მიმდინარეობს საკვები და ტექნიკური ზეთების შენახვისას ან გადამუშავებისას.

ორმაგ ბმებთან, იოდის გარდა, ურთიერთქმედებენ აგრეთვე სხვა ჰალოგენებიც — ქლორი და ბრომი, მაგრამ ისინი არა მარტო ორმაგ ბმებს უკავშირდებიან, არამედ მათ შეუძლიათ წყალბადის ატომების ჩანაცვლება რადიკალებში. იოდი კი გარკვეულ პირობებში უპირატესად ორმაგ ბმებთან ურთიერთქმედებს.

უჯერი ცხიმოვანი მჟავების ურთიერთქმედების რეაქცია იოდთან გამოისახება შემდეგნაირად:



ოლეინმჟავა



ცდა 5. იოდის რიცხვის განსაზღვრა

რეაქტივები და ჭურჭელი. ანალიზური სასწორი; მინის სინჯარები; გრადუირებული პიპეტი 10 მლ-ანი; კონუსური კოლბა 250 მლ საცობიანი (4 ცალი); ბიურეტი ონკანით 25მლ-ანი; საზომი ცილინდრი 100 მლ-ანი; მცენარეული ზეთი; ეთილის სპირტი; იოდის ხსნარი (0,2N) სპირტში (96%-ანი); (25,4გ. იოდი გადააქვთ 1000 მლ-იან საზომ კოლბაში და ხსნიან სპირტში); ჰიდროსულფატის ხსნარი (0,1N); სახამებელი (0,5%-ანი).

250 მლ მოცულობის მშრალ, კონუსურ, მილესილსაცობიან კოლბაში, ათავსებენ საკვლევ ზეთს. მასალას ანალიზურ სასწორზე შემდეგნაირად წონიან: აწონიან მინის ჭურჭელს (პენიცილინის ქილას), რომელშიც მოთავსებულია ზეთი და მას მორგებული აქვს პიპეტიანი საცობი, პიპეტით ამოიღებენ 3-4 წვეთ ზეთს, რომელსაც ათავსებენ კოლბაში

და ისევ წონიან ჭურჭელს. წონის სხვაობა შეესაბამება ჭურ-ჭლიდან ამოღებული ზეთის რაოდენობას. კოლბაში ზეთის გასახსნელად ამატებენ 25 მლ სპირტს. თუ ზეთი ცუდად იხსნება, კოლბას შეათბობენ წყლის აბაზანაზე. მეორე კოლ-ბაში ატარებენ საკონტროლო ცდას, ანუ მასში ასხამენ 25 მლ სპირტს. ორივე კოლბაში ცალ-ცალკე (ცდა და კონ-ტროლი) ამატებენ 12,5 მლ იოდის 0,2N სპირტხსნარს (ბი-ურეტიდან), მოურევენ, ამატებენ 100მლ გამოხდილ წყალს, მოარგებენ საცობს და შეანჯღრევენ. 5 წუთის შემდეგ კოლ-ბების შემცველობას ტიტრავენ თიოსულფატის 0,1N ხსნარით, ჯერ მკრთალი ყვითელი ფერის წარმოქმნამდე, ხოლო შემდეგ ამატებენ 1 მლ სახამებლის ხსნარს და ტიტრავენ ლურჯი შეფერილობის გაქრობამდე.

ცდასა და კონტროლის გატიტვრაზე დახარჯული 0,1N თიოსულფატის ხსნარის სხვაობა წარმოადგენს იოდის რაოდენობის მაჩვენებელს, რომელიც დაკავშირებულია აღებულ ზეთთან. იოდის რიცხვს გრამებში გამოითვლიან შემდეგი ფორმულის მეშვეობით:

$$\text{იოდის რიცხვი} = \frac{(V_1 \cdot V_2) \cdot 0{,}0127 \cdot 100}{\alpha}$$

სადაც:

V_1 – $Na_2S_2O_3$ 0,1N ხსნარის რაოდენობაა, (მლ), რომელიც დაიხარჯა კონტროლის ნიმუშის გატიტვრაზე;

V_2 –$Na_2S_2O_3$ 0,1N ხსნარის რაოდენობაა (მლ), რომელიც დაიხარჯა საცდელი ნიმუშის გატიტვრაზე (მლ);

0,0127 – თიოსულფატის ტიტრი იოდის მიხედვით;

α – ზეთის რაოდენობა (გ).

პარალელური ცდების მონაცემების სხვაობა, მიღებული იოდის რიცხვების მხოლოდ მეათედის ფარგლებშია დაშვებული.

ცდა 6. ცხიმების მჟავური რიცხვის განსაზღვრა. მჟავუ-რი რიცხვი წარმოადგენს ცხიმის მჟავიანობის მახასიათებელს. ცხიმის მჟავური რიცხვი განისაზღვრება კალიუმის ჰიდ-როქსიდის მილიგრამების იმ რაოდენობით, რომელიც საჭიროა 1 გ ცხიმში არსებული თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავების გასანეიტრალებლად.

სხვა ფიზიკურ-ქიმიურ მაჩვენებლებთან ერთად მჟავური რიცხვი წარმოადგენს ცხიმის ხარისხის მახასიათებელს. მაგა-ლითად, მწიფე მარცვლეულიდან მიღებული ზეთი ძალზე

მცირე რაოდენობით შეიცავს თავისუფალ ცხიმოვან მჟავებს, ხოლო მოუმწიფებელი მარცვლეულიდან მიღებულ ზეთში თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავების რაოდენობა მნიშვნელოვნად მეტია. ცხიმის შენახვისას შეინიშნება გლიცერიდების ჰიდროლიზი, რის შედეგადაც გროვდება თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავები ე. ი. მჟავიანობა იზრდება. მჟავიანობის ზრდა კი მიუთითებს ცხიმის დაბალ ხარისხზე.

ცხიმის მჟავური რიცხვის დადგენის მეთოდს საფუძვლად უდევს მასში არსებული თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავების გატიტვრა 0,1N KOH-ის ხსნარით. ჩვეულებრივ გატიტვრას აწარმოებენ კალიუმის ჰიდროქსიდით და არა ნატრიუმის ჰიდროქსიდით, რადგან რეაქციის მიმდინარეობისას წარმოქმნილი კალიუმის საპნები ცდის პირობებში გაცილებით უკეთ იხსნებიან.

რეაქტივები და ჭურჭელი. ანალიზური სასწორი; კონუსური კოლბა 50 მლ-ანი ან 100 მლ-ანი; საზომი ცილინდრები 10 ან 25 მლ-ანი; ერთდანაყოფიანი პიპეტი 1 ან 2 მლ-ანი; ბიურეტი ონკანით 25 ან 50 მლ-ანი; სპირტისა და გოგირდის ეთერის ნარევი (1:1); კალიუმის ჰიდროქსიდი (0,1N) სპირტში (96%-ანი); მცენარეული ზეთი ან ცხოველური ცხიმი.

მჟავური რიცხვის განსაზღვრისათვის ანალიზურ სასწორზე წონიან 2-3გ ცხიმს (კარაქი, ზეთი) ათავსებენ მას 50-100 მლ-ან კონუსური კოლბაში და ხსნიან სპირტისა და ეთერის ნარევის (1:1) ნეიტრალურ ხსნარში (10-15მლ). სპირტისა და ეთერის ნარევის (1:1) გასანეიტრალებლად მას ამატებენ 3-4 წვეთ ფენოლფტალეინს და კალიუმის ჰიდროქსიდის 0,1N სპირტხსნარს სუსტი ვარდისფერი შეფერილობის წარმოქმნამდე. ცხიმის გახსნის შემდეგ ამატებენ 1-2 წვეთ ფენოლფტალეინის ხსნარს და ტიტრავენ კალიუმის ჰიდროქსიდის 0,1N სპირტხსნარით მკრთალ ვარდისფერ შეფერილობამდე. შენჯღრევისას შეფერილობა არ უნდა ქრებოდეს 0,5-1 წუთის განმავლობაში.

მჟავურ რიცხვს გამოითვლიან შემდეგი ფორმულის მიხედვით:

$$\text{მჟავური რიცხვი} = \frac{V \cdot T}{\alpha}$$

სადაც:

V –0,1N KOH ხსნარის რაოდენობაა (მლ.), რომელიც დაიხარჯა აღებული რაოდენობის ცხიმის გატიტვრაზე;

T – კალიუმის ჰიდროქსიდის 0,1N ხსნარის ტიტრი (მგ);

α – ცხიმის აღებული რაოდენობა (გ).

ცდა7. ცხიმის გასაპვნის რიცხვის განსაზღვრა. გასაპვნის რიცხვი ეწოდება კალიუმის ჰიდროქსიდის მილიგრამების იმ რაოდენობას, რომელიც ესაჭიროება 1გ. ცხიმში არსებული, როგორც თავისუფალი, აგრეთვე ბმული (გლიცერიდების სახით) ცხიმოვანი მჟავების განეიტრალებას.

ცხიმში თავისუფალი ცხიმოვანი მჟავების შემცველობის მახასიათებელია მჟავური რიცხვი, ხოლო ეთერების სახით ბმული მჟავების რაოდენობა ხასიათდება ეთერის რიცხვით, ე. ი. კალიუმის ჰიდროქსიდის მილიგრამების რაოდენობით, რომელიც ესაჭიროება 1 გ ცხიმის გასაპვნისას გამონთავისუფლებული ეთეროვანი ბმების გასანეიტრალებლად. ექსპერიმენტულად ეთეროვანი რიცხვი განისაზღვრება გასაპვნის რიცხვისა და მჟავური რიცხვის სხვაობით.

რეაქტივები და ჭურჭელი: ანალიზური სასწორი; წყლის აბაზანა; კონუსური კოლბები 50 მლ-ანი უკუმაცივრით (2 ცალი); ერთდანაყოფიანი პიპეტი 1 მლ-ანი; ბიურეტები ონკანით 25 მლ-ანი ან 50 მლ-ანი (2 ცალი); კალიუმის ჰიდროქსიდი (0,5N) სპირტში (96%-ში); (იხ. დანართი); მარილმჟავა (0,5N); ფენოლფტალეინი (1%-ანი).

ანალიზურ სასწორზე წონიან 0,5გ ცხიმს და ათავსებენ 50 მლ მოცულობის კოლბაში, მეორე კოლბაში ასხამენ 0,5 მლ წყალს. ორივე კოლბას ბიურეტიდან ამატებენ კალიუმის ჰიდროქსიდის 0,5N სპირტხსნარს. კოლბებს მოარგებენ უკუმაცივრების (სიგრძე 70სმ) და აცხელებენ წყლის აბაზანაზე (30-40^{0}C), პერიოდულად შეანჯღრევენ. ყურადღება ექცევა იმას, რომ კოლბაში მოთავსებულმა სითხემ სუსტად იდუღოს და მილის ზედა ნაწილი არ გაცხელდეს.

გასაპვნის დასრულების შემდეგ თითოეულ კოლბაში ასხავენ 15-20 მლ წყალს, 3-4 წვეთ ფენოლფტალეინს და ტიტრავენ 0,5N მარილმჟავათი, სანამ არ გაქრება ვარდისფერი შეფერილობა. გამომდინარე იქიდან, რომ კალიუმის ჰიდ-

როქსიდის 0,5N ხსნარის 1მლ შეესაბამება მის 28 მგ-ს, გასაპვნის რიცხვის გამოთვლას აწარმოებენ შემდეგი ფორმულით:

$$\text{გასაპვნის რიცხვი} = \frac{(V_1 - V_2)28}{\alpha}$$

სადაც:

V_1–0,5N HCl-ის ხსნარის რაოდენობაა (მლ.), რომელიც დაიხარჯა კონტროლის (წყლიანი კოლბა) გატიტვრაზე;

V_2–0,5N HCl-ის ხსნარის რაოდენობაა (მლ.), რომელიც დაიხარჯა ცდის გატიტვრაზე;

α –აღებული ცხიმის რაოდენობა (გ).

62. სტეროიდები და სტეროლები.

სტეროიდები და სტეროლები ფართოდაა გავრცელებული მცენარეულ და ცხოველურ ორგანიზმებში. ერთ-ერთ ყველაზე გავრცელებულ სტეროლს ქოლესტეროლი წარმოადგენს, რომელიც პირველად აღმოჩენილ იქნა ნაღვლის კენჭების გამოკვლევისას. ნაღვლის კენჭების 90%-ს ქოლესტეროლი შეადგენს. ქოლესტეროლების რთულ ეთერებს უწოდებენ ქოლესტერიდებს. ქოლესტერიდებში ცხიმოვანი მჟავა უფრო ხშირად წარმოდგენილია სტეარინის, პალმიტინის ან ოლეინის მჟავას სახით.

ცხოველურ ორგანიზმებში ქოლესტეროლის რაოდენობა მშრალ ნივთიერებაში შეადგენს 0,25-0,30%. ყველაზე დიდი რაოდენობით ქოლესტეროლს შეიცავს ნერვული სისტემა, განსაკუთრებით თავის ტვინის თეთრი ნივთიერება. მთლიანად ტვინის ქსოვილში მისი შემცველობა შეადგენს 2-3%-ს. რუხ ნივთიერებაში მისი რაოდენობა აღწევს – 0.9-1,4%, ხოლო თეთრ ნივთიერებაში მისი რაოდენობა აღწევს – 4-5,3%. ქოლესტეროლის შემცველობის დიდი რაოდენობით გამოირჩევა ლანოლინი.

ქოლესტეროლი კარგად იხსნება მთელ რიგ ორგანულ გამხსნელებში. ქოლესტეროლის ყველაზე კარგი გამხსნელია ქლოროფორმი. ქოლესტეროლის ხსნადობის ხარისხის მიხედვით ორგანულ გამხსნელებს განალაგებენ შემდეგი თანმიმდევრობით: ქლოროფორმი, გოგირდოვანი ეთერი, ცხელი ეთილის სპირტი, ბენზოლი, გოგირდნახშირბადი, ტოლუოლი, აცეტონი.

წყალში იგი უხსნადია, მაგრამ ადვილად ფუვდება და წარმოქმნის მდგრად ემულსიას, რის შედეგადაც შეუძლია შეიკავოს წყლის დიდი რაოდენობა, რაც მის მასას 100-ჯერ აღემატება. ტვინიდან ლიპიდების ან სხვა ქსოვილების გამოყოფისას ქოლესტეროლი გადადის ისეთ ფრაქციაში, რომელსაც არ ახასიათებს გასაპვნა და ტუტეები მასზე არავითარ მოქმედებას არ ახდენენ. ქოლესტეროლი არ იშლება კონცენტრირებული ტუტეების მოქმედებისას. სხვა ლიპიდები, კერძოდ ცხიმები და ფოსფატიდები, ასეთ პირობებში მთლიანად იშლებიან შემადგენელ კომპონენტებად და კარგავენ მათთვის დამახასიათებელ ბუნებრივ თვისებებს.

ცდა 1. ქოლესტეროლის აღმომჩენი თვისებითი რეაქციები. შიფის რეაქცია

რეაქტივები და ჭურჭელი: მინის სინჯარები; ძმარმჟავა (ყინულოვანი); ძმრის ანჰიდრიდი; ფორმალინი — გოგირდმჟავა (1მლ ფორმალინს შეურევენ 50მლ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავას); ბენზოილის ქლორიდი; თუთიის ქლორიდი; გოგირდმჟავა (კონც.); ქოლესტეროლი (0,1%-იანი) ძმარმჟავაში; წინა ცდის მსვლელობისას მიღებული ქოლესტეროლის ქლოროფორმიანი ექსტრაქტი.

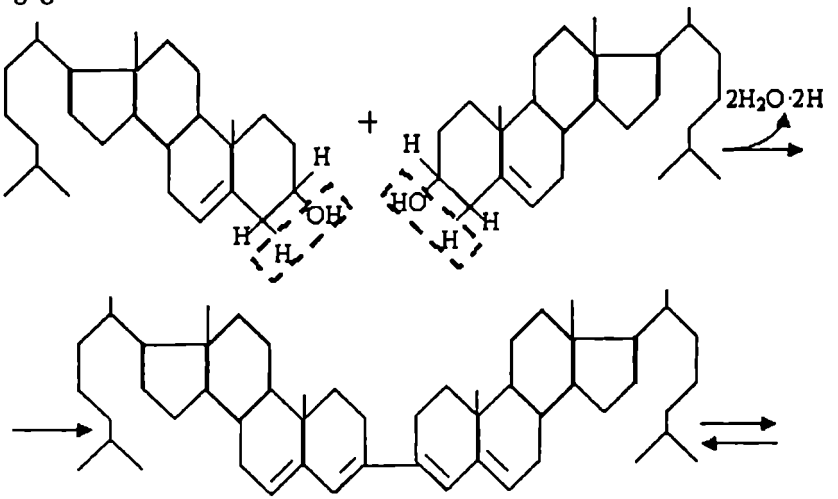
სინჯარაში ასხამენ ქოლესტეროლის ქლოროფორმიანი ხსნარის 1 მლ-ს (მიღებულია წინა ცდის ჩატარებისას) და ფრთხილად, დახრილ სინჯარაში, კედლის გასწვრივ ჩაასხამენ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავას. ორი სითხის ზღვარზე წარმოიქმნება წითელი ფერის რგოლი.

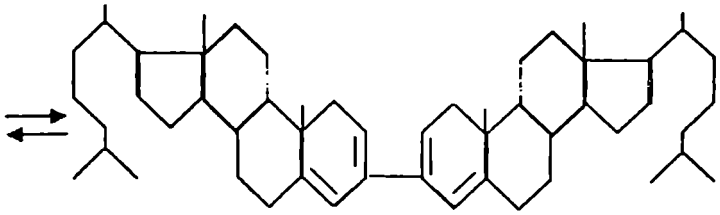
ცდა 2. სალკოვსკის რეაქცია. შიფის სინჯის ჩატარების შემდეგ სითხეს ფრთხილად შეანჯღრევენ, მოურევენ. დაყოვნების შედეგად სითხის ზედა ფენა შეიფერება წითლად, ქვედა ფენა მოყვითალო-ნარინჯისფერს იძენს, მწვანე ფერის ფლუორესენციით (სითხე სინათლეზე გამჭვირვალეა და აქვს მოყვითალო-წითელი შეფერილობა, ხოლო ანარეკლ შუქზე გამოიყურება მღვრიედ და აქვს მომწვანო ფერი). თუ ქვედა ფენას დაამატებენ ყინულოვან ძმარმჟავას სითხე შეიძენს მოვარდისფრო-წითელ ფერს და ინარჩუნებს ფლუორესცენციას.

ცდა 3. ლიბერმან-ბურხარდის რეაქცია. სინჯარაში ათავსებენ 1-2 მლ ქოლესტეროლის ქლოროფორმიან ექსტრაქტს, 10 წვეთ ძმრის ანჰიდრიდს და 2 წვეთ კონცენტრირებულ გოგირდმჟავას. სითხეს ინტენსიურად შეანჯღრევენ და აკვირ-

დებიან ფერების წარმოქმნას. ჯერ წარმოიქმნება მოიისფრო-წითელი, შემდეგ იისფერი, ამეთვისტო-ლურჯი, შემდეგ წარ-მოიქმნება ლურჯი და ბოლოს მწვანე ფერი. ქოლესტეროლის უმნიშვნელო რაოდენობა განაპირობებს მწვანე ფერის სწრაფ წარმოქმნას. ეს რეაქცია საფუძვლად უდევს ქოლესტეროლის რაოდენობით განსაზღვრას.

ქიმიური პროცესები, რომლებიც მიმდინარეობენ ზემო-აღწერილ სამ რეაქციაში ერთმანეთის მსგავსია. გოგირდ-მჟავას მოქმედების შედეგად მიმდინარეობს ქოლესტეროლის დეჰიდრირება და დაჟანგვა, რის შედეგადაც ქოლესტეროლის ორი მოლეკულა (რომლებიც კარგავენ ორ მოლეკულა წყალს) უკავშირდებიან ერთმანეთს მესამე ნახშირბადის ატომის მიხედვით და წარმოიქმნება ნივთიერებები, რომელთა ჯამური ფორმულები შემდეგნაირად გამოისახება: $C_{54}H_{86}$ და $C_{54}H_{88}$. ეს უჯერი ნახშირწყალბადებია, რომელთაც ორმაგი შეუღლებული ბმები აქვთ და გოგირდმჟავასა და ძმრის ალდეჰიდთან მოქმე-დების შედეგად წარმოქმნიან სხვადასხვა წარმოებულებს. აღნიშნული რეაქციები ახასიათებს არა მხოლოდ ქოლესტე-როლს, არამედ სხვა სტეროლებსაც და აგრეთვე ქოლის მჟავას:





ბიქოლესტადიენი (მწვანე ფერის)

ცდა 4. ვიტას რეაქცია. სინჯარაში ქოლესტეროლის ქლოროფორმიანი ხსნარის 2 მლ-ს ამატებენ ტოლი მოცულობის ფორმალინისა და გოგირდმჟავას ნარევს და შეანჯღრევენ. ხსნარი იყოფა ორ ფენად: ზედა ფენა —ალუბლის ფერისაა, ქვედა ფენა — რუხი-წითელი ფერის ინტენსიური მწვანე ფლუორესცენციით. ზედა ფენას გადმოასხამენ (ქლოროფორმიანი ფენა) მეორე სინჯარაში და ამატებენ 2-3 წვეთ ძმრის ანჰიდრიდს. ალუბლის ფერი გადადის ლურჯ შეფერილობაში.

ცდა 5. ჩუგაევის რეაქცია. სამუშაოს ატარებენ ამწოვ კარადაში, რადგან ბენზოილის ქლორიდი წარმოადგენს ტოქსიკურ ნივთიერებას. აცხელებენ ფრთხილად, ვინაიდან რეაქცია მიმდინარეობს ძალზე ენერგიულად.

სინჯარაში ათავსებენ დაახლოებით 1 მლ ბენზოილის ქლორიდს. ამატებენ 5-10 წვეთ ძმარმჟავაში გახსნილ ქოლესტეროლის ხსნარს და 0,1-0,2გ. თუთიის ქლორიდს. სინჯარას აცხელებენ ფრთხილად დაბალ ალზე. ხსნარი იძენს ჟოლოს-ფერს.

1. **მილონის რეაქტივი.** ვერცხლისწყლის ერთ წილს ხსნიან (ჯერ გაცივებისას, ხოლო შემდეგ წყლის აბაზანაზე) ორმაგი მასის რაოდენობით აღებულ აზოტმჟავაში (სიმკვრივე-1,40). მიღებულ ხსნარს განაზავებენ ორმაგი მოცულობის წყლით.

2. **ჰიპობრომიდის ხსნარი.** 1 გ ბრომს ხსნიან ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 5%-იანი ხსნარის 50 მლ-ში, გახსნას აწარმოებენ ყინულით გაცივებისას. მაცივარში შენახვის პირობებში, ხსნარის გამოყენება 2 კვირის მანძილზეა შესაძლებელი.

3. **გლიოქსილის მჟავა.** 2 გ მაგნიუმის ფხვნილს (ოდნავ დასველებულს) ამატებენ 50 მლ წინასწარ გაცივებულ (0^0C) მჟაუნმჟავას ნაჯერ ხსნარს. მაგნიუმის ოქსალატის ნალექს ფილტრავენ და ჩარეცხავენ მცირეოდენი წყლით. ფილტრატს შეამჟავებენ ძმარმჟავათი და შეავსებენ წყლით 200მლ-დე. ხსნარს ინახავენ მაცივარში.

4. **შერეული ინდიკატორი.** ძირითადი ხსნარი: 100მლ მეთილის წითელის 0,1%-იან სპირტხსნარს შეურევენ 25 მლ მეთილენის ლურჯის 0,1%-იან სპირტხსნარს. ხსნარი ინახება მუქი ფერის მინის ჭურჭელში.

სამუშაო ხსნარი: ძირითადი ხსნარის 1 მოცულობას შეურევენ 1 მოცულობა სპირტს და 2 მოცულობა წყალს.

5. **ვერცხლის წყლის იოდიდის ხსნარი კალიუმის იოდიდში.** კალიუმის იოდიდის 5გ-ს ხსნიან გამოხდილ წყალში და ხსნარს აჯერებენ 12 გ ვერცხლისწყლის იოდიდით. ხსნარის მოცულობას დაიყვანენ 100მლ-დე.

6. **ორცინის რეაქტივი.** 0,2 გ ორცინს ხსნიან 100მლ მარილმჟავას 30%-იან ხსნარში და ამატებენ 0,1გ რკინის (III) ქლორიდს. ხსნარს ინახავენ მუქი ფერის ჭურჭელში.

7. **ფლოროგლუცინის ხსნარი.** 0,2 გ ფლოროგლუცინს ხსნიან 100მლ მარილმჟავას 30%-იან ხსნარში.

8. **ფელინგის სითხე.** ამზადებენ ორ ხსნარს: A–34,6გ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 500 მლ ხსნარში; B–173გ სეგნეტის მარილი და 70გ ნატრიუმის ჰიდროქსიდი 500მლ. ხსნარში; ხსნარებს განცალკევებით ინახავენ. გამოყენების წინ ორივე ხსნარს შეურევენ ერთმანეთს 1:1 თანაფარდობით.

9. **ამონიუმის მოლიბდატის ხსნარი** (25%-ნი) გოგირდმჟავას 5N ხსნარში. 25გ ამონიუმის მოლიბდატს

ხსნიან (საზომ კოლბაში) 450 მლ. წყალში და გახსნისთანავე ხსნარის მოცულობას შეავსებენ 500მლ-დე წყლით. 1 ლიტრიან საზომ კოლბაში 139მლ გოგირდმჟავას (კონც., სიმკვრივე 1,84) შეურევენ 350მლ წყალს. გაცივების შემდეგ იმავე კოლბაში ასხავენ უკვე დამზადებულ ამონიუმის მოლიბდატის ხსნარს, შეურევენ და გაცივების შემდეგ შეავსებენ გამოხდილი წყლით დანაყოფამდე.

10.მაგნეზიალური ნარევი . წყალში ხსნიან 100 გ მაგნიუმის ქლორიდს, 200 გ ამონიუმის ქლორიდს, 20 მლ (კონც) ამიაკის ხსნარს და განაზავებენ წყლით 1ლ-მდე.

11. დიფენილამინის ხსნარი. 70%-იან სპირტიდან ორჯერ გამოკრისტალიზებულ 1გ დიფენილამინს ხსნიან ნარევში, რომელიც შეიცავს 2,75მლ გოგირდმჟავას (კონც.) და 100მლ ყინულოვან ძმარმჟავას.

12. ფუქსინგოგირდოვან მჟავას ხსნარი. 1 გ ფუძე ფუქსინს ხსნიან 200მლ მდუღარე გამოხდილ წყალში, შეანჯღრევენ 5 წუთის განმავლობაში და შემდეგ აცივებენ ზუსტად 50°C-მდე. ხსნარს გადაფილტრავენ და ფილტრატს ამატებენ 20მლ მარილმჟავას 1N ხსნარს. აცივებენ 25°C-მდე და ამატებენ 1გ ნატრიუმის ან კალიუმის მეტაბისულფიტს. ხსნარს ინახავენ სიბნელეში 14-24 საათის განმავლობაში, ამატებენ 2გ გააქტივებულ ნახშირს და შეანჯღრევენ 1 წუთის განმავლობაში. ფილტრავენ. ინახავენ სიბნელეში 0-4°C. გამოყენების წინ ტემპერატურას დაიყვანენ ოთახის ტემპერატურამდე.

13.ამონიუმის მოლიბდატის ხსნარი აზოტმჟავაში. ამონიუმის მოლიბდატის 15%-იან ხსნარს 110:90-ზე თანაფარდობით შეურევენ აზოტმჟავას ხსნარს (კონც.).

14.ჰიპობრომიტის ხსნარი. 1 გ ბრომს ხსნიან გაცივებით (ყინულით) 50მლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 5%-იან ხსნარში. მაცივარში გაცივებისას ხსნარი შეიძლება გამოყენებულ იქნეს ორი კვირის განმავლობაში.

15.2,6-დიქლორინდოფენოლი (0,001N ხსნარი). ბიუქსში წონიან 130 მგ რეაქტივს და ძაბრის მეშვეობით გადააქვთ 500 მლ-იან საზომ კოლბაში, ნარჩენებს ბიუქსში და ძაბრზე ჩარეცხავენ გამოხდილი წყლით. კოლბას ნახევრამდე შევსებისას ამატებენ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 0,01N ხსნარის 10 წვეთს და წყალს, ხსნარს შეანჯღრევენ 2,6–დიქლორინდოფენოლის სრულ გახსნამდე. ხსნარის მოცულობას შეავსებენ გამოხდილი წყლით კოლბის დანაყოფამდე. ხსნარს კვლავ შეანჯღრევენ და გადაფილტრავენ ფერადი მინის მშრალ ჭურჭელში. რეაქტივი მდგრადია სამი დღეღამის მანძილზე.

16.კალიუმის იოდატის ხსნარი (0,001N). ანალიზურ სასწორზე წონიან ბიუქსში მოთავსებულ 0,3568გ კალიუმის იოდატს, აწონილი ნივთიერება გადააქვთ 1ლ-იან საზომ კოლბაში და ხსნიან გამოხდილ წყალში. მიღებული 0,01N ხსნარი შესაძლებელია იქნას განზავებული გამოხდილი წყლით 10-ჯერ და მიიღება 0,001N ხსნარი.

17. როდანბრომიდის ხსნარი. კოლბაში ასხამენ კალიუმის როდანიდის 0,01N ხსნარის 10მლ-ს ან 1გ ამონიუმის როდანიდს, კალიუმის ბრომიდის კრისტალებს და მარილმჟავას 17%-ანი ხსნარის 1 მლ-ს. ფრთხილად (ამწოვ კარადაში, წვეთობით) ამატებენ 2 მლ ბრომს. ხსნარს გამზადებისთანავე გამოიყენებენ.

18.ნიდერლანდის რეაქტივი. ბისმუტის ფუძე ნიტრატის 2გ-ს და სეგნეტის მარილის 4 გ-ს ხსნიან 100 მლ ნატრიუმის ჰიდროქსიდის 10%-იან ხსნარში, მდუღარე აბაზანაზე. აცივებენ და გადაფილტრავენ, რათა მოაცილონ წარმოქმნილი ნალექი.

19. ბარფედის რეაქტივი. სპილენძის აცეტატის 13,3 გ ხსნიან 200 მლ ცხელ წყალში. ფილტრავენ და ფილტრატს ამატებენ 1,9მლ ყინულოვან ძმარმჟავას.

20სელივანოვის რეაქტივი.0,05გ რეზორცინს ხსნიან 100მლ განზავებულ მარილმჟავაში (1:1).

21.ერლიხის რეაქტივი 10 გ. N,N–დიმეთილ–n– ამინობენზალდეჰიდს ხსნიან 12,5 მლ მარილმჟავას 10N ხსნარში და ამატებენ 87,5 მლ ყინულოვან ძმარმჟავას. სამუშაოს დაწყებამდე ხსნარს ანზავებენ ცხრა წილი ყინულოვანი ძმარმჟავით.

22. ჰიგროსკოპული ბამბა, ჩარეცხილი. ბამბას ადუღებენ გამოხდილ წყალში 15-20 წუთის განმავლობაში. ფილტრავენ უშუალოდ ძაბრზე და ჩარეცხავენ წყლით ნახშირწყლების არსებობის უარყოფით რეაქციამდე, რასაც აწარმოებენ ფელინგის სითხის გამოყენებით. ბამბას გამოაშრობენ და ინახავენ მჭიდროდ დახურულ ქილაში.

24. კალიუმის ჰიდროქსიდის სპირტხსნარი (0,5N). ეთილის სპირტს ამუშავებენ მცირე რაოდენობის კალიუმის პერმანგანატის ფხვნილით ან ამატებენ კალიუმის პერმანგანატის ხსნარს, სანამ შეფერილობა არ შეწყდება, ხოლო შემდეგ კალიუმის კარბონატის თანაობისას გამოხდიან სპირტს (ეს აუცილებელია). გამოხდილი სპირტის პირველ ულუფას გადააქცევენ. 30 გ ქიმიურად სუფთა კალიუმის ჰიდროქსიდს ხსნი-

ან 30 მლ გამოხდილ წყალში, შემდეგ შეავსებენ 1ლ-დე გასუფთავებული 95%-ანი სპირტით. კოლბას მოარგებენ საცობს, რომელშიც მოთავსებულია მილი ნატრონის კირით. ხსნარს აყოვნებენ დღე-ღამის განმავლობაში. ამის შემდეგ, აწარმოებენ ხსნარის სიფონირებას მუქ ჭურჭელში, რომელშიც მოთავსებულია მილი ნატრონის კირით.

25. ნესლერის რეაქტივი. 50 გ კალიუმის იოდიდს ხსნიან 50 მლ წყალში და ამატებენ ვერცხლისწყლის (II) ქლორიდის კონცენტრირებულ ცხელ ხსნარს, წარმოქმნილი ნალექის სრულ გახსნამდე. შემდეგ ამატებენ კალიუმის ჰიდროქსიდის ხსნარს (180 გ KOH 300 მლ წყალში), შეავსებენ წყლით 1000 მლ-დე და ამატებენ კიდევ 5 მლ ვერცხლისწყლის (II) ქლორიდის ხსნარს. დააყოვნებენ და ნალექის ზედაპირზე დაგროვილი გამჭვირვალე სითხე გადააქვთ მშრალ მუქი ფერის ჭურჭელში. მიღებული ხსნარი წარმოადგენს $K_2[HgI_4]$-ს.

26. „ნადის რეაქტივი". 1%-იანი α-ნაფტოლის სპირტხსნარს, 1%-იანი დიმეთილპარაფენილენდიამის და ნატრიუმის კარბონატის 1,5%-იან ხსნარებს ტოლი მოცულობით შეურევენ ერთმანეთს. შენახვისას რეაქტივი სწრაფად იცვლება, ამიტომ ამზადებენ უშუალოდ სამუშაოს წინ.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Ю. Б. Филиппович. Практикум по общей биохимии. М.: Просвещение.1982. ·

2. მ. კოკიჩაშვილი. სამედიცინო ბიოქიმია. თბილისი. 1996.

3. А. Н. Смолин. Практикум по общей биохимии. М.: Просвещение. 1969.

4. А. Ленинджер. Биохимия. М.: Мир. 1976.

5. А. Я. Николаев. Биологическая химия. М.: Высшая школа.1989.

6. Г. Малер. Основы биологической химии. М.: Мир. 1970.

7. Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. Биологическая химия. М.: Медицина.1995.

8. О. Д. Кушманова. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. М.: Медицина. 1983.

შინაარსი

წინასიტყვაობა ----------3
პირველი თავი. ამინომჟავები ---------- 4
1.1.ამინომჟავების გამოყოფისა და ურთიერთდაცილების მეთოდები ---------- 4
1.2. ამინომჟავების აღმომჩენი თვისებითი რეაქციები ----------8
1.3. ამინომჟავების თვისებები---------- 15
1.4. ამინომჟავების რაოდენობითი განსაზღვრა---------- 15
მეორე თავი. ცილები და მათი მიმოცვლა----------22
2.1. ცილების გამოყოფა, გასუფთავება და ფრაქციონირება --22
2.2. ცილების თვისებითი რეაქციები----------26
2.3. ცილების რაოდენობითი განსაზღვრა ----------39
2.4. ცილების დალექვის რეაქციები----------45
2.5. ნუკლეოპროტეინები ---------- 51
2.6. გლიკოპროტეინები ---------- 53
2.7. ქრომოპროტეინები---------- 53
2.8. ფოსფოპროტეინები ---------- 55
2.9. ცილების მიმოცვლის საბოლოო პროდუქტები ---------- 57
მესამე თავი. ფერმენტები ----------60
3.1. ფერმენტული პრეპარატების მიღება ----------60
3.2. ფერმენტების აღმომჩენი თვისებითი რეაქციები----------63
3.3. ფერმენტების თვისებები ----------69
3.4. ფერმენტების თერმოლაბილურობა----------74
3.5. აქტივატორების და ინჰიბიტორების მოქმედება ფერმენტების აქტიურობაზე ----------75
3.6. ფერმენტების რაოდენობითი განსაზღვრა----------76
მეოთხე თავი. ვიტამინები ---------- 81
4.1. ვიტამინი A ----------81
4.2. ვიტამინი D ----------82
4.3. ვიტამინი E ----------83
4.4. ვიტამინი B_2----------84
4.5. ვიტამინი B_{12}----------85
4.6. ვიტამინი C----------86

4.7. ვიტამინი PP ----------89
მეხუთე თავი. ნახშირწყლები და მათი მიმოცვლა --------- 90
5.1. ნახშირწყლების აღმომჩენი თვისებითი რეაქციები------- 90
5.2. ნახშირწყლების გამოყოფა ----------96
5.3. ნახშირწყლების რაოდენობითი განსაზღვრა ---------- 99
5.4. ნახშირწყლების მიმოცვლა----------102
მეექვსე თავი. ლიპიდები ----------108
6.1. ლიპიდების გამოყოფის მეთოდები----------108
6.2. სტეროიდები და სტეროლები---------- 115
დანართი ----------119
გამოყენებული ლიტერატურა----------123
შინაარსი----------124