

4-Laboratoriya ishi

KOLONKALI VA YUPQA QATLAM XROMATOGRAFIYA USULLARIDA OLIB BORILADIGAN MASHG‘ULOTLAR

Yupqa qatlam xromatografiya usulida aminokislotalarni sifat tahlili

Yupqa qatlam xromatografiya usulida qo‘ziqorin tarkibidagi aminokislotalarni aniqlash uchun turli xil kompaniyalarda ishlab chiqarilgan YUQX plastinkalardan foydalanish mumkin.

Kerakli asbob uskunalar va reaktivlar:

1. YUQX plastinkasi.
2. Chinni havoncha.
3. Xromatografik kamera.
4. SAMAG pribori (Scanner 3 va Linomat 5) yoki analogi.
5. Shisha flakonlar.
6. Shotta filtr voronkasi.
7. 50 ml li konussimon shlifli kolba.
8. Quritilgan makroqo‘ziqorin namunasi.
9. Etil spirti.
10. Xloroform.
11. Metanol.
12. Atseton.
13. Geksan.

Ishni bajarish tartibi: Chinni xovonchada 10 gramm quritilgan қўзиқорин maydalanadi va 50 ml li konussimon kolbaga solinib ustiga maydalangan qo‘ziqorin botguncha 70% li etil spirt qo‘yiladi. Kolbaga ultratovushli vannada 30 minut davomida ishlov beriladi, keyin eritma qismi ikkinchi kolbaga qo‘yib olinadi. Agar miqdoriy tahlil o‘tkaziladigan bo‘lsa jarayon 4, 5 marta takrorlanadi. Eritma filtrlab olinadi va namuna tahlil uchun 0.5% sulfat kislotali gidroliz qilib tayyor holga keladi.

Guvoh modda sifatida toza holdagi 3–5 mg aminokislotalar analitik tarozida oʻlchab olinadi va 3–5 ml etil spirtida eritiladi (1 mg/ml konsentratsiyali eritma tayyorlanadi).

Namuna va guvoh moddalar eritmasi "Linomat 5" pribori yordamida 5X10 sm oʻlchamda YUQX plastinkaga 5 mkl dan purkaladi. (priborlar mavjud boʻlmagan holda mikro shpits yordamida 5 mkl dan tomiziladi). Plastinkaga sepilgan eritmani erituvchisi quritiladi. Elyuirlash uchun xloroform: metanol: atseton: geksan—4:1:4:4 sistema tayyorlab olinadi va xromatografik kameraga 5 ml qoʻyiladi. Kameraga namunalar sepilgan plastinka moddalar tomizilgan tomoni bilan tushiriladi va tepa qismidan 1–3 sm qolguncha koʻtariladi. Plastinka kameradan olinib murili shkaf tagida quritiladi.

Tayyor boʻlgan plastinkani "Scanner 3" priborida oʻqitish, UB lampada natijalarni koʻrish, yod bugʻi yoki dragendorf eritmasini purkash orqali ochiltiriladi va aminokislotaning R_f qiymatini solishtirish orqali identifikatsiya qilinadi. Natijalar ish jurnaliga qayd qilib boriladi va plastinkada moddalarning qoʻrinishi chizib qoʻyiladi. Aminokislotaning R_f qiymati hisoblab topiladi va qaysi aminokislota ekanligi guvoh orqali aniqlab yozib qoʻyiladi.

Yuqori samarali yupqa qatlam xromatografiya usulida texnik (tozalanmagan) va qayta kristallangan antranil kislotasini sifat va miqdoriy tahlili

(Laboratoriya ishi)

Yuqori samarali yupqa qatlam xromatografiya usulida texnik va qayta kristallash orqali tozalangan antranil kislotasining tozalik darajasini aniqlash uchun Merck (Germaniya), Wathman (Germaniya), Fluka (Germaniya), Sorbfil (Rossiya) firmalaridan birida ishlab chiqarilgan plastinkalardan foydalanish mumkin.

Kerakli asbob uskunalar va reaktivlar:

1. YUSYUQX plastinkasi.
2. Issiqlikga chidamli 500 ml li stakan.
3. Byuxner voronkasi.

4. Bunzen kolbasi.
5. Filtr qog'oz.
6. Xromatografik kamera.
7. CAMAG pribori (Scanner 3 va Linomat 5) yoki analogi.
8. Shisha flakonlar.
9. Texnik antranil kislotasi.
10. Aktivlangan ko'mir.
11. Toza antranil kislota namunasi (>98%).
12. Filtr qog'oz.
13. Etil spirti.
14. Benzol.
15. Geksan.

Ishni bajarish tartibi: Issiqlikga chidamli 500 ml li stakanga 10 gr texnik antranil kislotasi o'lchab solinib ustiga 400 ml suv qo'yiladi va to'liq erib ketguncha qizdiriladi. Antranil kislotasi to'liq erib ketgandan keyin qizdirishdan to'xtatib (kuchli qaynab ketmasligi uchun) ustiga 2 gr aktivlangan ko'mir solinadi va 1–2 minut qaynatiladi. Byuxner voronkasiga ikki qavat filtr qog'oz qo'yib, issiq suv bilan namlanadi va eritma filtrlanadi. Filtrat sovutilgandan keyin hosil bo'lgan cho'kma filtrlab olinadi va quritiladi.

Namunalar va guvoh moddalar eritmalarini tayyorlash:

Shisha flakonga analitik (0,0001 gr yoki undan yuqori aniqlikdagi) tarozida 2–3 mg namunalar (texnik, tozalangan guvoh antranil kislotasi) o'lchab olinadi va 2–3 ml etil spirtida eritiladi (1 mg/ml konsentratsiyali eritma tayyorlanadi).

Namuna va guvoh moddalar eritmasi "Linomat 5" pribori yordamida 5X10 sm o'lchamda YUSYUQX plastinkaga navbatma – navbat 5 mkl dan purkaladi. (priborlar mavjud bo'lmagan holda mikro shpits yordamida 5 mkl dan tomiziladi). Plastinkani erituvchisi ochiq havoda yoki fen yordamida quritiladi. Elyuirlash uchun shisha flakonga pipetka yoki mikrodozator yordamida benzol:geksan–1:1 erituvchilar aralashmasidan iborat sistema tayyorlab olinadi va xromatografik kameraga 4 ml quyiladi. Kameraga namunalar sepilgan plastinka moddalar

tomizilgan tomoni bilan tushiriladi va 7 sm gacha ko'tarilguncha kutiladi. Plastinka kameradan olinib murili shkaf tagida quritiladi.

Tayyor bo'lgan plastinkani "Scanner 3" priborida skaner qilinadi. Skaner natijasida olingan xromatografik cho'qqilarning yuzasi ulchamlari daftarga yozib olinadi. Cho'qqilarning umumiy ko'rinishi kompyutrdan pechat qilib olinadi va ish daftariga kleylanadi. Cho'qqilarning yuzasi bo'yicha guvoh moddaning cho'qqisi bilan taqqoslanib, qo'yidagi formula yordamida tozalik darajasi hisoblab topiladi va ish jurnaliga qayd qilib boriladi. Antranil kislotasining Rf–qiymati kompyuterdan olinadi va ish daftariga yozib quyiladi.

$$X = \frac{A_2 \cdot m_1 \cdot P}{A_1 \cdot m_2}$$

Bu yerda:

A_1 – Standart Antranil kislotasining eritmasi cho'qqilari yuzasini o'rtacha qiymati;

A_2 – Texnik antranil kislotasiga tegishli cho'qqilar yuzasini o'rtacha qiymati;

m_1 – Standart namuna antranil kislotasini og'irlik miqdori, gr.;

m_2 – Namuna (texnik antranil kislota) ni og'irlik miqdori, gr.;

R – Standartda antranil kislotasining massa ulushi, %.