

4-LABORATORIYA MASHG'ULOTI.

Barg pigmentlari va ularning xususiyatlari

1906-1914 yillarda nemis kimyog'ari R.Vilshtetter xlorofillning kimyoviy tarkibini har tomonlama o'rganish natijasida uning elementar tarkibini aniqladi xlorofill "a" – $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ va xlorofill "b" - $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$. Nemis biokimyog'ari G.Fisher esa 1930- 1940 yillarda xlorofillning tuzilmaviy formulasini aniqladi.

Xlorofillar asosan to'rtta pirrol halqasini birlashtirgan porfirin birikmalar bo'lib, ular tarkibida magniy va fitol qismi bor. Fitol asosan to'rtta to'yinmagan izoprenuglevodород molekulasidan tuzilgan. Umuman, xlorofill xlorofillin dikarbon kislotasi bilan metil hamda fitol spirtlarining birikmasidan hosil bo'ladi va murakkab efirlar guruhiga kiradi. Shuning uchun ham natriy ishqori ta'sir etsa, xlorofillin kislotasining natriy tuzi, metil va fitol spirtlariga parchalanadi. Xloroplastlar tarkibida uchraydigan pigmentlar asosan uchta sinfga bo'linadi: 1) xlorofillar, 2) karotinoidlar, 3) fikobilinlar.

▲ Dars maqsadi: Talabalarga barg pigmentlarining kimyoviy xossalarini aniqlashni o'rgatish.

▲ Kerakli jihoz va materiallar: Biror o'simlikning quruq yoki xo'l barglari, etil spirti, benzin, kristall holdagi ishqor, HCl kislotasi, $CaCO_3$, sirka kislotaning mis tuzi yoki sirka kislotaning ruh tuzi kristallari, kvarts qumi, chinni havoncha, filtr qog'ozi, voronka, shisha tayoqcha, qaychi, spirt lampasi, vazelin, spektroskop, shtativ va probirkalar, pipetka, rangli qalam.

▲ Ishning bajarilish tartibi. Pigmentlar eritmasini tayyorlash uchun o'simlikning quruq yoki xo'l bargi olinadi. Agar barg quruq bo'lsa, u ezilib kolbadagi spirtga solib quyiladi. Bu pigmentlarni ajralib chiqishini tezlashtiradi. So'ngra pigmentlarning spirtidagi to'q yashil eritmasi filtrlab olinadi. Xo'l bargdan pigmentlarni ajratib olish uchun 4-5 g barg qaychida mayda qilib qirg'iladi (bunda yirik tomirlari va barg bilan olib tashlanadi). So'ngra chinni havonchaga solib bargyaxshi ezilishi uchun kvarts qumi sepiladi, hujayra shirasining kislotasini neytrallashtirish uchun ozroq $CaCO_3$ qo'shib eziladi. Bargni ezish davomida oz-ozdan etil spirti quyib turiladi. So'ngra bu ezilgan massa toza probirkalarga (filtr qog'ozi orqali) filtrlab olinadi. Chinni havochadan eritma oqib ketmasligi uchun havonchaning chetlariga vazelin surkab qo'yish kerak.

Olingan yashil filtratda xlorofil "a" xlorofil "b" karotin, ksantofill pigmentlari bo'ladi. Filtratni to'rtta probirkaga bo'lib, quyidagi ishlar bajariladi:

1. Pigmentlarni ajratish.

a) *Kraus usuli.* Pigmentlarni ajratishda ularning spirt va benzinda turlicha erish xossasidan foydalaniladi. Buning uchun bitta probirkaga pigmentlarning spirtidagi eritmasidan 4 ml olib, uning ustiga (o'zidan ko'proq miqdorda) 6 ml benzin quyiladi, probirkaning og'zi probka bilan yoki barmoq bilan berkitilib, yaxshilab chayqatiladi va tinish uchun bir necha minut shtativga qo'yib qo'yiladi. Bir necha minutdan so'ng probirkaning yuqoriga benzin qavatida yashil rangli

xlorofill “a” va “b” hamda pastki spirtli qavatida sarg’ish rangli ksantofil pigmentiajralib chiqadi. Agar pigmentlarning ajralish yaxshi bo’lmasa, u holda yana 3-4 tomchi suv tomizilib qaytadan aralashtiriladi. Agar suv ko’prok ko’shib ketsa, pastki qavat loyqalanib qoladi, Bu xolni spirt qo’shish yo’li bilan yaxshilash mumkin.

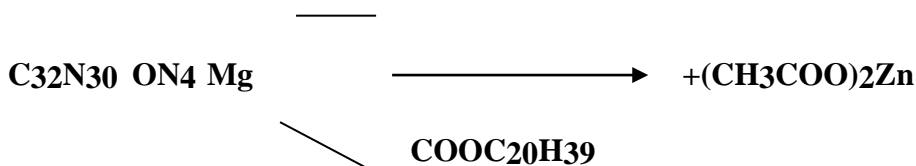
2. Pigmentlarning ximiyaviy xossalari.

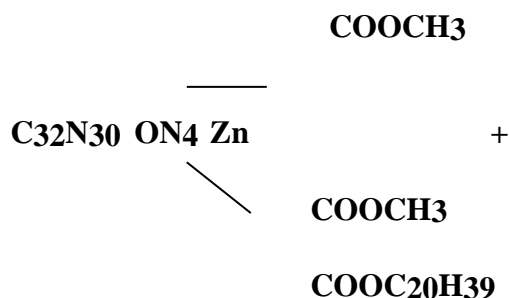
a) xlorofillning sovunlanishi. Xlorofill tarkibidagi organik moddalarning ishqor ta’sirida parchalanish sovunlanish deyiladi. O’zining ximiyaviy tuzilishiga ko’ra xlorofill murakkab efirlarga kiradi. Uni ishqor yordamida sovunlash mumkin. Buning uchun pigmentlarning spirtidagi eritmasi solingan probirkaga o’zidan biroz ko’proq miqdorida benzin qo’shib chayqatilsa, pigmentlar bir-biridan ajraladi. (Kraus usuli). So’ngra probirkadagi eritma ustiga ikkita-uchta ishqor kristalli donachasidan solinadi va chayqatiladi. Bir necha minut tinch qoldirilsa, probirkadagi eritmaning yuqori benzin qavatida sariq rangli karotin pigmenti, pastki spirt katvatida esa yashil rangli xlorofill pigmenti to’planadi. Ksantofil pigmenti xlorofill bilan birgalikda eritmaning pastki qavatida qoladi. Xlorofillni eritmaning pastidagi spirt qavatiga o’tib qolishini quyidagicha tushuntirish kerak. Xlorofill xlorofillin dikarbon kislotasi bilan metil va fitol spirtlarning birkmasidan hosil bo’lgan. Shuning uchun xlorofill murakkab efirlar guruhiga kiradi. Xlorofillga ishqor ta’sir etganda, u sovunlanish reaksiyasiga kirishib, dikarbon kislota tuzlariga, erkin metil va fitol spirtlariga parchalanib ketadi.

Xlorofill sovunlanish reaksiyasida o’z rangini saqlab qoladi, ammobenazinda bu xususiyati yo’qotadi. Probirkadagi eritmalar qavatining rasminichizib, spirtida qaysi modda va benzinda qaysi modda eriganligi yozib qo’yiladi. **a) Feofitin olish.** Xlorofill tuzilishiga ko’ra metalla-organik birikma, chunki uning molekulasida markazida magniy metalli bor. Xlorofillga yashil rang berib turish, asosan, uning molekulasidagi markaziy o’rinni egallab turgan ikki valentli metall-magniyning xususiyatidir. Buni feofitinning hosil bo’lishi va vodorod atomining metall bilan o’rin almashishidan bilib olamiz. Buning uchun toza probirkaga pigmentlarning spirtli eritmasidan 4-5 ml solib, uning ustiga 2-3 tomchi konsentrat xlorid kislotasi tomiziladi. Shu payt xlorofillning yashil rangi o’rniga ko’ng’ir rang hosil bo’ladi. Reaksiya vaqtida xlorofill molekulasida tarkibidagi magniy metalli vodorod bilan o’rin almashadi va feofitin hosil bo’ladi. Agar shu ko’ng’ir rangli eritmaga sirka kislotaning mis yoki ruxli $Zn(CH_3COO)_2$ tuzi kristallaridan qo’shib, asta-syokin spirt lampasida qizdirilsa, ko’ng’ir rangli eritma qaytadan yashil rangga kiradi.

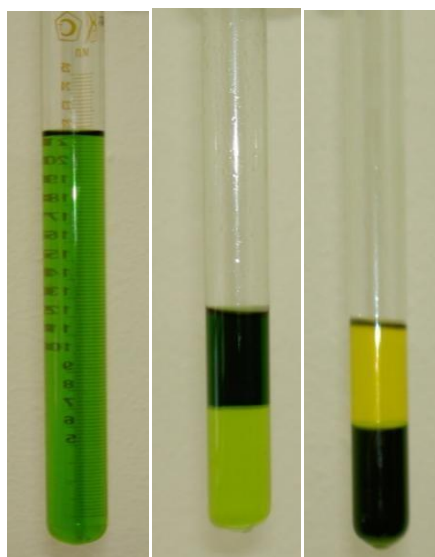
Bu reaksiya quyidagicha o’tadi:

COOCH₃





Tajriba shuni ko'rsatadiki, xlorofill rangining yashilligi uning molekulasida metall borligidan dalolat beradi. Bu reaksiyada xlorofill molekulasida metallo-organik birikma ekanligi isbotlanadi. Bunda sirka kislota katalizatorlik vazifasini bajaradi.



5-rasm. Kraus usuli.

4-LABORATORIYA MASHG'ULOTI.

☀ ***Barg pigmentlarini qog'oz xromatografiyasi usuli bo'yicha aniqlab olish.***

Xloroplast tarkibida uchraydigan pigmentlar fotosintez jarayonida asosiy rol o'ynaydi. O'simlik pigmentlarini o'rganishda M.S.Svetning 1901-1913 yillarda kashf etgan adsorbsion xromatografiya usuli juda katta ahamiyatga ega. M.S.Svet shu usuldan foydalanib, 1910 yilda xlorofill "a" va "b" hamda sariq pigmentlarning guruhlarini mavjud ekanligini aniqladi.

▲Kerakli jihoz va materiallar: Biror o'simlikning quruq yoki xo'l barglari, 96% etil spirti, benzin, aseton, petroleyn efiri, CaCO_3 , maydalangan shisha yoki qum, chinni havoncha, 20x3

sm kattalikdagi xromotagrafiya qog'ozi, voronka, shisha silindr, qaychi, shtativ va probirkalar, pipetka, kamov nasosi.

▲Ishning bajarilishi. O'sib turgan yoki quritilgan bargdan 2-3 g olib, qaychi bilan maydamayda qilib qirqib, chinni havonchaga solinadi va maydalangan shisha kukun ishtirokida yaxshilab eziladi, so'ngra esa, unga 1-15 ml aseton solib, yana 1-1,5 daqiqa davomida eziladi. Barg hujayralari shirasidagi ortiqcha kislotalarni neytrallash uchun esa, bargni ezish davomida scalpel uchida CaCO_3 dan ozroq olib, aralashmaga solinadi. Hosil bo'lgan pigmentlar aralashmasi, Kamov yoki suv nasosi yordamida bunzen kolbasiga fil'trlanadi.



6-rasm. Qog'oz xromotagrafiya usulida pigmentlarni ajratish