Ա.Ա. ԱՂԱՋԱՆՅԱՆ
Ա.Հ. ԹՌՉՈՒՆՅԱՆ

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱ

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ
ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Ա. Ա. Աղաջանյան, Ա. Հ. Թոչունյան

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱ

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկ

ԵՐԵՎԱՆ
ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
2017

ՀՏԴ 581.19(07)
ԳՄԴ 28.57g7
Ա 458

Հրատարակության է երաշխավորել
ԵՊՀ կենսաբանության ֆակուլտետի
գիտական խորհուրդը

Աղաջանյան Ա. Ա., Թռչունյան Ա. Հ.
Ա 458 **Բույսերի կենսաքիմիա:** Ուսումնամեթոդական ձեռնարկ/ Ա. Ա. Աղաջանյան, Ա. Հ. Թռչունյան: -Եր., ԵՊՀ հրատ., 2017, 152 էջ:

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկն ընդգրկում է կենսաքիմիական մեթոդների վերաբերյալ ժամանակակից տեղեկություններ, որոնք թույլ են տալիս ուսումնասիրել քիմիական հիմնական միացությունների բաղադրությունները և հատկությունները, ինչպես նաև նրանց պարունակությունը բուսական հումքում: Ձեռնարկը հնարավորություն է տալիս հմտորեն որոշել ֆերմենտների կատալիտիկ ակտիվությունը և կատարել այլ կենսաքիմիական ցուցանիշների վերլուծական աշխատանքներ: Ուսումնամեթոդական ձեռնարկում ներառված են լաբորատոր աշխատանքներ, որոնք համապատասխանում են «Բույսերի կենսաքիմիա» առարկայի ծրագրային պահանջներին:

Նախատեսված է Կենսաբանության ֆակուլտետի, ինչպես նաև «Բժշկագիտություն» և «Անասնաբուժական բժշկագիտություն» մասնագիտություններ ունեցող ուսանողների համար, ովքեր ուսումնասիրում են «Բույսերի կենսաքիմիա» առարկան:

ՀՏԴ 581.19(07)
ԳՄԴ 28.57g7

ISBN 978-5-8084-2219-3

© ԵՊՀ հրատ., 2017
© Աղաջանյան Ա. Ա., Թռչունյան Ա. Հ., 2017

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկը նախատեսված է Երևանի պետական համալսարանի կենսաբանության ֆակուլտետի ուսանողների համար, ովքեր ուսումնասիրում են «Բույսերի կենսաքիմիա» և այլ կենսաքիմիական առարկաներ:

Բույսերն օժտված են նյութափոխանակության բազմազանությամբ: Նրանք ածխաթթվից, ջրից և անօրգանական միացություններից կարող են սինթեզել անսահման քանակությամբ միացություններ: Օրինակ՝ մարդու և կենդանիների օրգանիզմներն ունակ չեն սինթեզել բոլոր 20 պրոտեինածին ամինաթթուները, այն դեպքում, երբ բույսերում հայտնաբերված է նյութափոխանակությանը մասնակցող ավելի քան 200 ամինաթթու:

Բույսերը սինթեզում են մեծ քանակությամբ տերպենոիդներ, ֆենոլային միացություններ (լիգնին), ալկալոիդներ և այլն: Ներկայումս բույսերից անջատված է շուրջ 10000 տարբեր ալկալոիդներ:

Բույսերի կենսաքիմիայի դերը կարևոր է: Առաջին հերթին այն պայմանավորված է կենդանի օրգանիզմների ֆիզիոլոգիական ֆունկցիաների և նյութափոխանակության գործընթացների փոխկապակցվածության, ինչպես նաև երկրորդային նյութափոխանակության արգասիքների սինթեզի կարգավորման մեխանիզմների հայտնաբերման հետ: Սննդամթերքների որակը նույնպես պայմանավորված է բույսերում կենսաքիմիական փոխակերպումներով:

Հատկապես կարևոր է բուսական ծագմամբ դեղամիջոցների և կենսաբանորեն ակտիվ միացությունների հայտնաբերումը: Ներկայումս արտադրական ոլորտում շատ միացություններ սինթեզվում են բույսերի բջիջներից և հյուսվածքներից:

Լաբորատոր պրակտիկումում ներառված են կենսաքիմիական ցուցանիշների որոշման լաբորատոր աշխատանքներ, որոնք

բնութագրում են բույսերի քիմիական բաղադրությունը և բուսական հումքում օգտակար քիմիական նյութերի կուտակումը, ֆերմենտների կատալիտիկ ակտիվությունը, որոնք ազդում են բուսական հումքի որակի վրա:

Լաբորատոր պրակտիկումի նպատակն է ծանոթացնել ուսանողներին հետազոտությունների ժամանակակից մեթոդներին, ինչպես նաև գնահատել բուսական հումքի որակը: Ուսանողները կտիրապետեն կենսաքիմիական ցուցանիշների որոշման վերլուծական աշխատանքներին:

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկում յուրաքանչյուր լաբորատոր աշխատանք ներառում է ընդհանուր տեսական տեղեկություններ, մեթոդների սկզբունքներ, անհրաժեշտ սարքավորումներ և ռեակտիվներ, աշխատանքային լուծույթների պատրաստում, աշխատանքի ընթացքը, տվյալների մշակումը: Լաբորատոր աշխատանքները նախատեսված են 10-12 ուսանողներից կազմված խմբերի համար՝ խիստ պահպանելով անվտանգության տեխնիկայի կանոնները: Ուսումնական նյութն ավելի խորը ուսումնասիրելու նպատակով ներառված են ստուգիչ հարցեր, որոնք ուսանողները պետք է մշակեն լաբորատոր աշխատանքներն իրականացնելիս: Լաբորատոր աշխատանքների իրականացման կարևոր պայման է յուրաքանչյուր ուսանողի մասնակցությունը, ով լաբորատոր աշխատանքը կատարելուց հետո ձևակերպում է արդյունքները, պատասխանում ստուգիչ հարցերին և գնահատվում:

ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱՅԻ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐԻԱՅՈՒՄ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԻ ԻՐԱԿԱՆԱՑՄԱՆ ԱՆՎՏԱՆԳՈՒԹՅԱՆ ՏԵԽՆԻԿԱՅԻ ԿԱՆՈՆՆԵՐԸ

Կենսաքիմիական լաբորատորիայում աշխատանքը պահանջում է սահմանված կանոնների պահպանում: Ուսանողներին թույլ է տրվում իրականացնել լաբորատոր աշխատանքները միայն անվտանգության, քիմիական և կենսաբանական աշխատանքների կատարման կանոնները յուրացնելուց հետո: Ուսանողները կրում են պատասխանատվություն անվտանգության տեխնիկայի կանոնների պահանջները չպահպանելու համար:

Լաբորատոր աշխատանքներն անհրաժեշտ է կատարել մեթոդիկայի, սարքավորումների, ռեակտիվների հետ ծանոթանալուց հետո: Յուրաքանչյուր ուսանող պետք է ուշադիր լինի քիմիական ռեակտիվների և սարքավորումների օգտագործման ընթացքում: Անթույլատրելի է կեղտոտ ապակեղենի, առանց պիտակների ռեակտիվների օգտագործումը: Չի թույլատրվում պիպետով հավաքել թթուների և հիմքերի խիտ լուծույթներ, այլ պետք է օգտագործել հատուկ դոզավորող սարքեր: Թունավոր նյութերի հետ աշխատանքները պետք է իրականացնել քարշիչ պահարանում: Լուծույթով փորձանոթը տաքացնելիս անհրաժեշտ է պահել հեռու, ցենտրիֆուգների հետ աշխատելիս չբացել կափարիչը մինչև ռոտորի վերջնական կանգը: Խստիվ արգելվում է միացված սարքերը թողնել առանց հսկողության:

Անհրաժեշտ է հետևել, որ քիմիական նյութերը չդիպչեն ուսանողի երեսին և ձեռքերին: Թթուներով այրվածք ստանալիս, այրված մակերեսը պետք է լվանալ մեծ քանակությամբ ջրով, այնուհետև մշակել 1%-ոց սոդայի լուծույթով: Հիմքով այրվածք ստանալիս, այրված մակերեսը լվանալ մեծ քանակությամբ ջրով, այնուհետև մշակել քացախաթթվի թույլ լուծույթով: Թթուներով վնասված աչքերն անհրաժեշտ է լվանալ ջրով, այնուհետև 1%-ոց

սոդայի լուծույթով, իսկ հիմքերով՝ լվանալ ջրով, այնուհետև բորաթթվի թույլ լուծույթով: Ջերմային այրվածքների դեպքում այրված մակերեսը լվանալ էթիլ սպիրտով կամ կալիումի պերմանգանատի խիտ լուծույթով, այնուհետև մշակել գլիցերինով:

ԲՈՒՍԱԿԱՆ ԲՋՋԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ

Բարձրակարգ բույսերը բազմաբջիջ օրգանիզմներ են՝ բաղկացած միլիոնավոր բջիջներից, որոնք իրականացնում են յուրահատուկ գործընթացներ: Բուսական բջիջը կենդանի համակարգ է, որը կազմված է բջջաթաղանթներից, ցիտոպլազմից և կորիզից (նկ. 1): Ցիտոպլազմն արտաքին միջավայրից մեկուսացված է բջջային թաղանթով: Բուսական բջջում առկա են պլաստիդներ, խոշոր կենտրոնական վակուոլ, ինչպես նաև ամուր պոլիսախարիդային բջջապատ, որը հիմնականում կազմված է բջջանյութից (ցելյուլոզից): Բջջապատն ապահովում է բույսերի բջիջների և հյուսվածքների մեխանիկական ամրությունը, պաշտպանում է պրոտոպլազմային թաղանթի քայքայումը հիդրոստատիկ ճնշման ազդեցությունից: Բջջաթաղանթը թույլ է տալիս դիմակայել բջջի ներսում ջրի ճնշմանը: Այն յուրօրինակ իոնափոխադրիչ է, նպաստում է հանքային նյութերի կլանմանը: Բջջաթաղանթի ածխաջրային բաղադրիչները փոխազդելով հորմոնների հետ առաջացնում են մի շարք ֆիզիոլոգիական փոփոխություններ: Բջջաթաղանթի կազմության մեջ մտնում են ցելյուլոզը, հեմիցելյուլոզը, պեկտինային նյութերը, լիպիդները և սպիտակուցները:

Ցիտոպլազմը պարունակում է հատուկ օրգանոիդներ՝ միտոքոնդրիումներ, ռիբոսոմներ, պլաստիդներ, էնդոպլազմային ցանց և Գոլջիի համալիր: Ցիտոպլազմում տեղի են ունենում նյութափոխանակության հիմնական գործընթացները: Շնորհիվ ցիտոպլազմային թաղանթի՝ բջիջ են ներթափանցում տարբեր նյութեր: Թա-

ղանթների մակերեսին տեղակայված են տարբեր ընկալիչներ: Թաղանթներում տեղի է ունենում շնչառական շղթայում էլեկտրոնների փոխանցումը, օքսիդային և ֆոտոսինթետիկ ֆոսֆորիլացումը:

Միտոքոնդրիումները կազմված են արտաքին և ներքին թաղանթներից: Միտոքոնդրիումներում իրականանում են շնչառական գործընթացները, որոնք ապահովում են բջիջն էներգիայով: Ռիբոսոմները կազմված են ռիբոսոմալ ՌՆԹ-ից և սպիտակուցներից: Նրանց հիմնական գործընթացը նոր սպիտակուցային մոլեկուլների հավաքումն է:

Պլաստիդները բնորոշ են միայն բուսական բջջին: Տարբերում են պլաստիդների երեք տեսակ՝ լեյկոպլաստներ, քլորոպլաստներ, քրոմոպլաստներ: Պլաստիդների այս տեսակները, շնորհիվ արևային լույսի, առաջացնում են բարդ օրգանական միացություններ, այսինքն իրականացնում են ֆոտոսինթեզ:

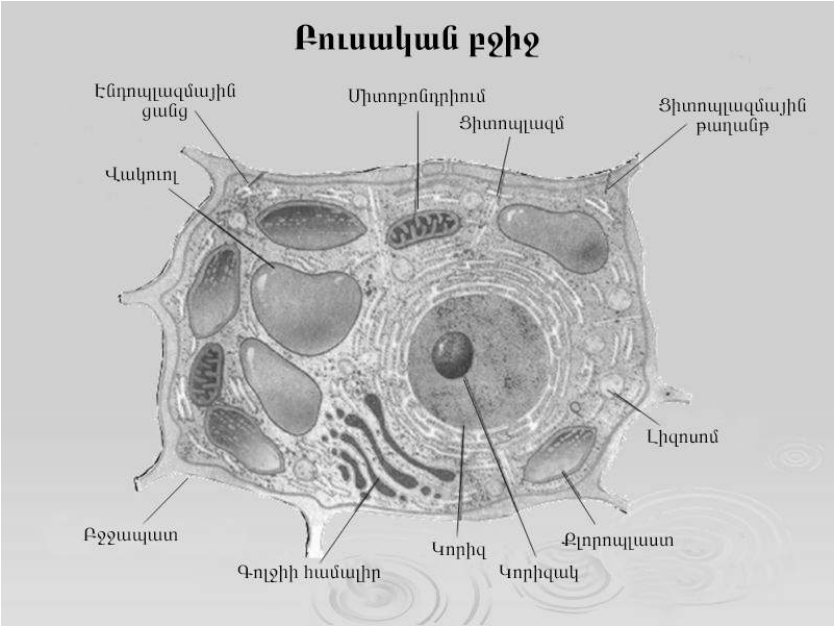
Էնդոպլազմային ցանցն իրենից ներկայացնում է ճյուղավորված անտեսանելի խողովակների համակարգ: Տարբերում են հարթ և հատիկավոր էնդոպլազմային ցանցի տեսակներ: Հարթ ցանցի թաղանթներին տեղակայված են ածխաջրային և լիպիդային փոխանակությանը մասնակցող ֆերմենտները, հետևաբար այստեղ սինթեզվում են ածխաջրերը և լիպիդները: Հատիկավոր ցանցի թաղանթներին գտնվում են ռիբոսոմները, որոնցում սինթեզվում են սպիտակուցները:

Գոլջիի համալիրում տեղի է ունենում պոլիսախարիդների սինթեզը, որոնք անհրաժեշտ են բջջապատի ձևավորման համար:

Կորիզը հիմնականում գտնվում է բջջի կենտրոնական հատվածում: Նրա հիմնական ֆունկցիան է ժառանգական տեղեկատվության պահպանումը, վերարտադրումը և փոխանցումը: Կորիզը նաև կարգավորում է նյութափոխանակությունը:

Վակուոլը պարունակում է բջջահյութ, որում լուծված են աղեր, օրգանական թթուներ, շաքարներ և այլ միացություններ: Մի

շարք բջիջների վակուոլը պարունակում է գունանյութ (անտոցիան), որը պայմանավորում է ծաղիկների, պտուղների գույնը: Վակուոլում կուտակվում են սննդանյութեր:



Նկար 1. Բուսական բջջի կառուցվածքը

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՀԱՆՔԱՅԻՆ ՄՆՆԴԱՌՈՒԹՅՈՒՆԸ

Բույսերի հանքային սննդառություն իրականանում է արտաքին միջավայրից հանքային իոնների կլանման շնորհիվ: Բնական պայմաններում բուսական օրգանիզմներն անհրաժեշտ հանքային նյութերը ստանում են հողից: Տվյալ դեպքում արմատները հողային մասնիկների, լուծույթի, մանրէների և սնկերի հետ գտնվում են փոխազդեցության մեջ: Հանքային աղերի իոնները կարող են

ներթափանցել բույսերի արմատային համակարգ ինչպես հողային լուծույթից, այնպես էլ հողային մասնիկների հետ շփման արդյունքում: Այս երկու գործընթացները կապված են H^+-իոնների, կատիոնների, HCO_3^-, OH^- անիոնների, օրգանական թթուների և հանքային անիոնների փոխակերպման հետ: Հողերը հիմնականում օժտված են կատիոն փոխադրող հատկություններով: Հողերից հանքային տարրերը կլանվում են կատիոնների և անիոնների ձևով, որոնք թափանցում են արմատի բջիջների պլազմային թաղանթներին տեղակայված իոնային պոմպերի, խողովակների, փոխադրիչների օգնությամբ: Անցնելով բջիջ որոշ տարրեր ազատ իոնների ձևով մասնակցում են նյութափոխանակությանը, մյուսներն առանց փոփոխության կապվում են օրգանական միացությունների հետ (նկ. 2): Որոշ տարրեր մի շարք օքսիդավերականգնման փոխակերպումներից հետո ներառվում են օրգանական մոլեկուլների կազմում: Վերջին տարիներին հաջողվել է պարզաբանել հողային լուծույթում սննդային նյութերի նկատմամբ բույսերի հարմարվողականության մեխանիզմները՝ հատկապես ազոտի և կալիումի համար: Պարզվել է, որ գլխավոր ազդանշանային տարրեր են հանդիսանում տարբեր պրոտեազներ, որոնք թույլ են տալիս բույսերին մրցակցել հողում սահմանափակ քանակով սննդանյութերի համար, ինչպես նաև գոյատևել պրոտեազների անբավարարության պայմաններում:

Չնայած, որ բույսերում կարելի է գտնել Մենդելեևի աղյուսակի գրեթե բոլոր տարրերը, այնուամենայնիվ նրանցից ոչ բոլորն են անհրաժեշտ բույսերի գոյատևման համար: Ածխածինը, ջրածինը և թթվածինը բուսական օրգանիզմները ֆոտոսինթեզի ընթացքում ստանում են օդից և ջրից, մյուսները՝ հողից: Բուսական հյուսվածքների չոր զանգվածում ածխածինը և թթվածինը կազմում են 45%, ջրածինը՝ 6%, ազոտը՝ 1.5%:

Հանքային տարրերը բաժանվում են մակրո և միկրոտարրերի: Բուսական հյուսվածքում մակրոտարրերը (N, P, K, Ca, Mg, S,

Si) կազմում են 0.1-1.5% (1գ/կգ չոր զանգվածի հաշվարկով): Միկրոտարրերը (Fe, Zn, Cu, Mn, Mo, B, Cl, Ni) կազմում են 0.01% (100 մգ/կգ չոր զանգվածի հաշվարկով): Հանքային տարրերի պարունակությունը բույսերի տարբեր օրգաններում տարբեր է, այն կախված է օնտոգենեզի փուլից և արտաքին միջավայրի պայմաններից: Հանքային տարրերով հատկապես հարուստ են տերևները, իսկ բույսի ցողուններում նրանց պարունակությունը նվազագույնն է:

Ազոտ (N): Բույսի զարգացման համար ազոտը կարևոր մակրոտարրն է: Ազոտը հանդիսանում է ամինաթթուների, ամիդների, սպիտակուցների, նուկլեինաթթուների, նուկլեոտիդների և այլ կենսական նշանակություն ունեցող օրգանական միացությունների բաղադրիչը: Այն մտնում է քլորոֆիլի կազմության մեջ, հետևաբար մասնակցում է ֆոտոսինթեզի գործընթացին: Ազոտի 0.5-2%-ը բույսերին հասանելի է NO_3^- և NH_4^+ իոնների ձևով: Հողում ազոտը պահեստավորվում է հանքային և օրգանական մնացորդների քայքայման շնորհիվ: Նյութափոխանակության գործընթացում բույսերն ազոտն օգտագործում են խնայողաբար: Բուսական բջջում ազոտային միացությունների քայքայման գործընթացն ավարտվում է ամոնիակի առաջացմամբ: Ազոտի անբավարարության պայմաններում արգելակվում է բույսերի աճը, նվազում է արմատների ճյուղավորվածությունը, տերևները ձեռք են բերում բաց կանաչ գունավորում, ինչը պայմանավորված է քլորոֆիլի սինթեզի թուլացմամբ: Երկարատև ազոտային քաղցն առաջացնում է սպիտակուցների հիդրոլիզ և տերևներում քլորոֆիլի քայքայում, որի արդյունքում դիտվում է տերևների դեղին, նարնջագույն կամ կարմիր գունավորում:

Ֆոսֆոր (P): Բույսերում ֆոսֆորի պարունակությունը կազմում է չոր զանգվածի 0.2%-ը: Ֆոսֆորը ներթափանցում է բույսի արմատային համակարգ օրտոֆոսֆորական թթվի ձևով ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}, PO_4^{3-}): Հողում պարունակվող ֆոսֆորի ավելի քան 90%-ը

գտնվում է կապված վիճակում և անհասանելի է բույսի համար, հետևաբար ֆոսֆորով սննդառությունը պատկանում է արմատների նյութափոխանակությանը: Ֆոսֆորը նյութափոխանակությանը մասնակցող միացությունների՝ նուկլեինաթթուների (ԴՆԹ, ՌՆԹ), նուկլեոտիդների (ԱԵՖ, ՆԱԴ, ՆԱԴՖ), նուկլեոպրոտեիդների, վիտամինների բաղադրիչ է: Ֆոսֆոպրոտեինները հանդիսանում են նաև կենսաբանական թաղանթների բաղադրիչներ, ընդ որում ֆոսֆորի առկայությունն ապահովում է թաղանթների հիդրոֆիլությունը: Ֆոսֆոր պարունակող վիտամինները և նրանց ածանցյալները հանդիսանում են կոֆերմենտներ և մասնակցում են կատալիտիկ ռեակցիաներին (ֆոտոսինթեզ, շնչառություն և այլն): Բույսերում ֆոսֆորի հիմնական պահուստային ձևերն են K^{+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, ֆիտինը (ինոզիտ ֆոսֆորական թթվի աղը): Ֆիտինի պարունակությունը բարձր է սերմերում (0.5-2%): Ֆոսֆորի դերը կարևոր է նաև էներգիայի փոխանակության գործընթացում, քանի որ պոլիֆոսֆատային կապերում էներգիան պահեստավորվում է ֆոսֆորի էսթերային կապերի ձևով (C-O~ P): ֆոսֆորն ունակ է առաջացնել մակրոէրգիկ (էներգիայով հարուստ) կապեր: Այս կապերն անկայուն են, ինչն էլ թույլ է տալիս օգտագործել էներգիան տարբեր կենսաքիմիական և ֆիզիոլոգիական գործընթացներում:

Ֆոսֆորական թթուն, թափանցելով արմատի բջիջներ, ներգրավվում է նուկլեոտիդների կազմում, առաջացնելով ԱՄՖ և ԱԿՖ: Հետագայում սուբստրատային և օքսիդացող ֆոսֆորիլացման գործընթացում (շնչառության անաերոբ և աերոբ փուլերը) առաջանում է ԱԵՖ: Կարևոր է ֆոսֆորի մասնակցությունը սպիտակուցների ֆոսֆորիլացմանը պրոտեինկինազներով: Մի շարք թաղանթային սպիտակուցների ֆոսֆորիլացումն առաջացնում է լիցքի փոփոխություն:

Ֆոսֆորի անբավարարությունը բացասական է ազդում բույսի կենսագործունեության բոլոր գործընթացների վրա, դիտվում է

տերևների կապտականաչ գունավորում, ինչը պայմանավորված է անտոցիանների կուտակմամբ: Տեղի է ունենում բջիջների և հյուսվածքների աճի կանգ: Ֆոտոսինթեզի, շնչառության, աճի բնականոն ընթացքի համար նույնպես անհրաժեշտ է ֆոսֆորի առկայությունը:

Կալիում (K): Բույսերում կալիումի պարունակությունը կազմում է 0.9%: Բնականոն կենսագործունեության համար միտոքոնդրիումներում և քլորոպլաստներում K^+ իոնների պարունակությունը պետք է կազմի 100-150 մՄ: Այդ պատճառով բջիջների պլազմային թաղանթում, որը փոխազդում է հողային լուծույթի հետ, գործում է իոնային պոմպերի հզոր համակարգ, որի շնորհիվ K^+ իոնները կուտակվում են բուսական օրգանիզմում: Հողում կալիումի պարունակությունը 5-10 անգամ բարձր է ֆոսֆորից և ազոտից: Բույսերում պարունակվող կալիումի 70%-ը գտնվում է ազատ վիճակում և հեշտությամբ անջատվում է սառը ջրով: Կալիումի աղերը լուծելի են և մասնակցում են բջջի օսմոտիկ ճնշման կարգավորմանը: Կալիումն ակտիվացնում է ֆոսֆորիլացումը կատալիզող ֆերմենտային համակարգերի գործունեությունը: Օրինակ, շաքարների ֆոսֆորիլացմանը մասնակցող հեքսոկինազ ֆերմենտը կատալիզում է պիրուվատից ֆոսֆորական թթվի փոխանցումը ԱԿՖ-ին, ինչպես նաև օքսիդացող ֆոսֆորիլացման գործընթացում ԱԵՖ-ի առաջացմանը մասնակցող ֆերմենտները: Հետևաբար կալիումի անբավարարության պայմաններում կտրուկ նվազում է մակրոէրգիկ ֆոսֆատների պարունակությունը: Կալիումը նաև ակտիվացնում է սպիտակուցի սինթեզին և Կռեբսի ցիկլին մասնակցող մի շարք ֆերմենտներ: Կալիումի անբավարարությունը դանդաղեցնում է շաքարների տեղաշարժը ֆլոեմով, դիտվում է տերևների դեղին գունավորում, որոշ ժամանակ անց նրանք ձեռք են բերում կարմիր երանգ: Կալիումի անբավարարության պայմաններում արգելակվում է բջիջների բաժանման գործ-

ընթացը, նվազում է ֆոտոսինթեզի ուժգնությունը, ինչպես նաև խախտվում է միտոքոնդրիումների թաղանթների կառուցվածքը:

Բույսերում կալիումը կուտակվում է մերիստեմատիկ, երիտասարդ տերևների, բողբոջների, ընձյուղների հյուսվածքներում: Բջջում այն կազմում է կարոտինների հիմնական մասը, գրեթե 80%-ը տեղակայված է վակուոլում: Կալիումի ազդեցությամբ բույսերում բարձրանում է օսլայի, սախարոզի և մոնոսախարիդների պարունակությունը:

Չնայած, որ միկրոտարրերի քանակությունը բույսերում չի գերազանցում 0.01%-ը, նրանք հանդիսանում են հանքային տարրերի անփոխարինելի խումբ: Միկրոտարրերի մեծ մասը հանդիսանում է ֆերմենտների ակտիվ կենտրոնի բաղադրիչ և մասնակցում է բուսական օրգանիզմների կենսական գործընթացներում: Նրանց անբավարարությունն առաջացնում է մի շարք լուրջ հիվանդություններ:

Երկաթ (Fe): Շնորհիվ բույսերում երկաթի բարձր պարունակության, այն հաճախ չի դասվում միկրոտարրերի դասին: Սակայն գործընթացները, որոնք կենդանի համակարգերում իրականացնում է երկաթը, բնորոշ են միկրոտարրերին: Fe-ը մասնակցում է շնչառական շղթայի և ֆոտոսինթեզի էլեկտրոնների փոխանցմանը, մոլեկուլային ազոտի և նիտրատից ամոնիակի վերականգմանը, կատալիզում է քլորոֆիլի մոլեկուլի սինթեզի սկզբնական փուլերը: Երկաթի հիմնական չափաբաժինը պահեստավորվում է քլորոպլաստներում՝ ֆիտոֆերիտինի ձևով: Ֆիտոֆերիտինի մոլեկուլները բավականին խոշոր են, շարժվում են բույսի քսիլեմով և ֆլոեմով: Ֆիտոստերինում Fe-ի իմոբիլիզացումն իրականանում է քսանտինօքսիդազ և ՆԱԴՀ-ցիտոքրոմ-c-ռեդուկտազ ֆերմենտների օգնությամբ: Հողում երկաթը գտնվում է օքսիդացված (Fe^{3+}) ձևով և բույսերի յուրացման համար այն պետք է վերականգնվի (Fe^{2+}): Գերխոնավ հողերում դիտվում է երկաթի անբավարարություն, որն էլ արտահայտվում է օքսիդավերականգնող

ռեակցիաների արագության նվազեցմամբ: Երկաթի վերականգնումը կատալիզվում է Fe-ռեդուկտազ ֆերմենտով, որը տեղակայված է արմատների բջիջների պլազմալեմում: Երկաթի վերականգնված ձևը (Fe^{2+}) հատուկ փոխադրիչի օգնությամբ անցնում է արմատի բջիջներ և մասնակցում է նյութափոխանակությանը: Երկաթի մասնակցությամբ շատ օքսիդավերականգնման ռեակցիաներ կարող են կատալիզվել այլ մետաղներով(Mn, Mo, Cu):

Պղինձ (Cu): Պղինձը բջիջներում կապված է ֆերմենտների հետ և մասնակցում է օքսիդավերականգման ռեակցիաներին ($Cu^{2+}+e^{-}$<—>Cu^{+}): Պղնձի իոններն օրգանական միացությունների հետ առաջացնում են կայուն համալիրներ, այդ իսկ պատճառով պղինձն ամուր կապված է սպիտակուցների հետ: Ֆիտոհորմոն էթիլենի ընկալիչները պարունակում են Cu-ի իոններ: Վերականգնված Cu-ը հեշտությամբ փոխանցում է էլեկտրոններն անմիջապես թթվածնի մոլեկուլի վրա: Պղինձը մտնում է նաև օքսիդազների կազմության մեջ (ցիտոքրոմօքսիդազ, սուպերօքսիդդիսմուտազ, պոլիֆենոլօքսիդազ, ասկորբատօքսիդազ):

Պղնձի անբավարարության պայմաններում թուլանում են շնչառական և ֆոտոսինթեզի գործընթացները, դիտվում է երիտասարդ տերևների մուգ կանաչ գունավորում, ինչպես նաև բույսի աճի և ծաղկման դանդաղեցում: Շնորհիվ Cu-ի իոնների բարձր ռեակցիոն հատկությանը, կարող է տեղի ունենալ բույսի թունավորում. անգամ նրանց ոչ մեծ կոնցենտրացիայի դեպքում: Մասնավորապես, պղինձը վնասում է թիոլային կամրջակները, որի հետևանքով խախտվում է սպիտակուցային մոլեկուլների երրորդային կառուցվածքը: Այդ պատճառով Cu-ի իոնները տեղափոխվում են հատուկ շապերոնների օգնությամբ (համալիրի ձևով):

Ծծումբ (S): Ծծումբը հողում գտնվում է օրգանական և անօրգանական ձևով: Նրա անօրգանական ձևերն են՝ $CaSO_4$, $MgSO_4$, Na_2SO_4: Ջրածածկ հողերում ծծումբը գտնվում է վերականգնված ձևով (FeS, FeS_2 կամ H_2S):

Բույսերը հողից կլանում են սուլֆատներ և ոչ մեծ քանակությամբ ծծումբ պարունակող ամինաթթուներ: Բույսերում նրա պարունակությունը կազմում է 0.2% և գտնվում է օքսիդացված (անօրգանական սուլֆատ) և վերականգնված (ամինաթթուներ, գլուտաթիոն, սպիտակուցներ) ձևերով: Սուլֆատը վերականգնվում է քլորոպլաստներում: Սպիտակուցներում ծծումբի հիմնական ֆունկցիան SH-խմբի մասնակցությունն է կովալենտային և ջրածնային կապերի առաջացմանը, որոնք ապահովում են սպիտակուցի երրորդային կառուցվածքը: Պոլիպեպտիդային շղթաների միջև առաջացած դիսուլֆիդային կամրջակները կայունացնում են սպիտակուցի մոլեկուլը: Ցիստեին և մեթիոնին ամինաթթուները պարունակում են ծծումբ: Բույսերում նրանք կարող են գտնվել ազատ վիճակում կամ սպիտակուցների կազմում: Շատ վիտամիններ և կոֆերմենտներ նույնպես պարունակում են ծծումբ (բիոտին, լիպոյաթթու, կոէնզիմ A):

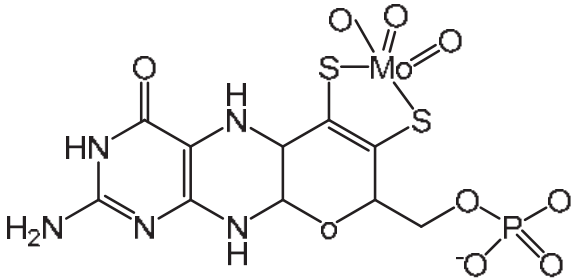
Ցինկ (Zn): Բույսերում ցինկը հանդիպում է Zn^{2+} կատիոնների ձևով: Այն, ի տարբերություն այլ միկրոտարրերի, չի մասնակցում օքսիդավերականգման ռեակցիաներին: Zn^{2+}-ի իոնները մտնում են գլիկոլիզին մասնակցող ֆերմենտների (հեքսոկինազ, ենոլազ, տրիոզֆոսֆատդեհիդրոգենազ, ալդոլազ), ինչպես նաև կարբոքսիպեպտիդազի, սուպերօքսիդդիսմուտազի, ալկոհոլդեհիդրոգենազի, ֆոսֆոլիպիդների, ՌՆԹ-պոլիմերազների կազմության մեջ: Ցինկը նաև անհրաժեշտ է տրիպտոֆանի սինթեզի համար, որը ֆիտոհորմոն ինդոլիլքացախաթթվի նախանյութն է: Հետևաբար ցինկով սնուցումը նպաստում է հյուսվածքներում աուքսինների պարունակության բարձրացմանը և բույսի աճի ակտիվացմանը: Zn^{2+}-ի անբավարարության պայմաններում խախտվում է ֆոսֆորային փոխանակությունը՝ բարձրանում է անօրգանական ֆոսֆատի պարունակությունը, դանդաղում է նրա վերածումը օրգանական ձևերի, նուկլեոտիդների, նուկլեինաթթուների և ֆոսֆոլիպիդների կազմում նվազում է ֆոսֆորի քանակությունը:

Մագնեզիում (Mg): Բույսերում մագնեզիումը հանդիպում է Mg^{2+} իոնների ձևով: Հողային լուծույթների ցածր pH-ի պայմաններում բույսերում նվազում է մագնեզիումի պարունակությունը: Բարձրակարգ բույսերում պարունակությունը կազմում է 0.02-3%: Մեծ քանակությամբ պարունակվում է երիտասարդ բջիջներում, ինչպես նաև բազմացման օրգաններում և հյուսվածքներում: Մագնեզիումի 10-12%-ը գտնվում է քլորոֆիլում: Այն անհրաժեշտ է պրոտոպորֆիրին IX-ի սինթեզի համար, որը հանդիսանում է քլորոֆիլների նախանյութ: Այն անհրաժեշտ է ֆոտոհամակարգ I-ից ֆոտոհամակարգ II-ին էլեկտրոնների փոխանցման համար: Մագնեզիումը, շնորհիվ համալիրների առաջացման հատկությանը, հանդիսանում է ֆոսֆատային խմբերի փոխանցմանը մասնակցող գրեթե բոլոր ֆերմենտների կոֆակտոր: Գլիկոլիզի վեց ռեակցիաներն ակտիվանում են մագնեզիումի մասնակցությամբ: Այն անհրաժեշտ է կաթնաթթվային և սպիրտային խմորման ֆերմենտների գործունեության համար, ուժեղացնում է եթերային յուղերի, վիտամին A և C-ի սինթեզը: Mg^{2+} իոնները, կապելով ՌՆԹ-ն և սպիտակուցը, մասնակցում են ռիբոսոմների և պոլիսոմների ձևավորմանը, ինչպես նաև անհրաժեշտ են ամինաթթուների ակտիվացման և սպիտակուցների սինթեզի համար: Ակտիվացնում են ԴՆԹ և ՌՆԹ-պոլիմերազները, մասնակցում են նուկլեինաթթուների տարածական կառուցվածքի ձևավորմանը:

Մանգան (Mn): Մանգանն օքսիդազների կոֆերմենտն է: Ակտիվացնում է Կռեբսի ցիկլի, ազոտային փոխանակության և երկրորդային նյութափոխանակության ռեակցիաները: Մանգանն անցնում է բջիջներ Mn^{2+} իոնների ձևով: Նրա միջին պարունակությունը կազմում է 1 մգ/կգ չոր զանգվածի հաշվարկով: Մասնակցում է նաև ջրի ֆոտոլիզի թթվածնի անջատմամբ և ֆոտոսինթեզի՝ ածխաթթու գազի վերականգնմամբ, գործընթացներին: Մանգանը նպաստում է շաքարների պարունակության բարձրացմանը և տեղաշարժին: Mn^{2+}-ի անբավարարության պայմաններում՝ հատ-

կապես արմատային համակարգում, կտրուկ նվազում է ֆոտոսինթեզի ընթացքում թթվածնի անջատումը և ածխաջրերի պարունակությունը, դիտվում է բույսերի տերևների բաց կանաչ, մոխրագույն կամ կարմիր գունավորում: Այն անհրաժեշտ է նիտրատների վերականգնման ընթացքում նիտրատռեդուկտազի գործունեության համար:

Մոլիբդեն (Mo): Բուսական սպիտակուցներից ոչ բոլորն են պարունակում մոլիբդեն: Այն գտնվում է բույսերում անիոնի ձևով (MoO_4^{2-}), կուտակվում է երիտասարդ օրգաններում, ավելի շատ պարունակվում է բույսերի տերևների քլորոպլաստներում, քան արմատներում և ցողուններում: Մոլիբդենն երբեմն կոչում են ազոտային փոխանակության միկրոտարր, քանի որ այն մտնում է նիտրատռեդուկտազի և նիտրոգենազի ակտիվ կենտրոնների կազմության մեջ: Mo-ի անբավարարության պայմաններում հյուսվածքներում կուտակվում են մեծ քանակությամբ նիտրատներ, արգելակվում է բույսերի աճը: Հայտնի են մոլիբդեն պարունակող ավելի քան 20 ֆերմենտներ (ալդեհիդօքսիդազ, սուլֆիտօքսիդազ՝ օքսիդացնում է SO_3^{2-} մինչև SO_4^{2-}, քսանտինհիդրոգենազ): Նշված ֆերմենտներում մոլիբդենը գտնվում է մոլիբդապտերինի ձևով և կոչվում է մոլիբդենային կոֆակտոր (Mo-co):



Մոլիբդենային կոֆակտոր - մոլիբդապտերին

Մոլիբդենը, ի տարբերություն այլ միկրոտարրերի, բույսերին անհրաժեշտ է ավելի քիչ քանակով: Նրա անբավարարությունը

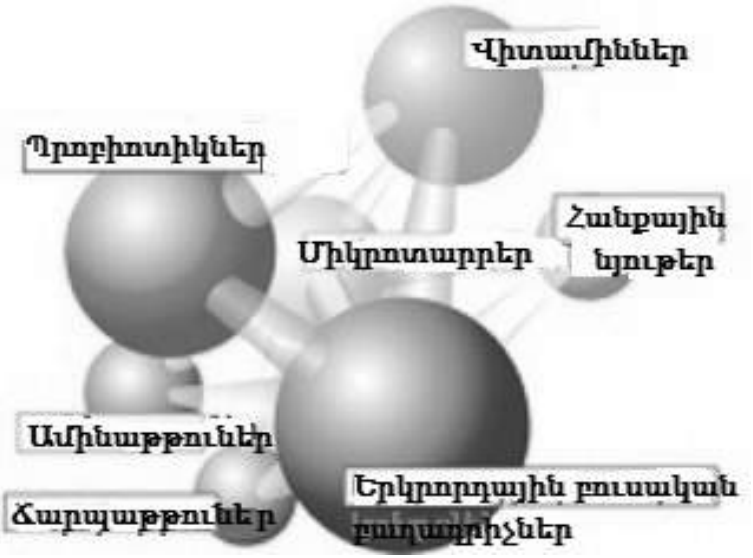
զգացվում է թթվային հողերում, քանզի նրանցում մոլիբդենը ցուցաբերում է նվազագույն շարժունակություն: Mo-ի անբավարարության պայմաններում արգելակվում է բույսի աճը, խանգարվում է քլորոֆիլի սինթեզը, ինչի արդյունքում բույսերը ձեռք են բերում բաց կանաչ գունավորում:

Բոր (B): Բորը, ի տարբերություն կենդանիների և սնկերի, բույսերի համար հանդիսանում է կարևոր միկրոտարր: Այն չի հանդիսանում ֆերմենտների բաղադրիչ կամ խթանիչ: Այնուամենայնիվ բորը մասնակցում է ֆենոլի, ածխաջրերի և նուկլեինաթթուների փոխանակությանը, բջջապատի ձևավորմանը, աճի և զարգացման գործընթացների կարգավորմանը: Բջջում բորը միացած է բջջապատի պոլիսախարիդների հետ, որի 60-80%-ը կապված է պեկտինային պոլիսախարիդի՝ ռամնոգալակտուրոն II-ի հետ, որոնք «կարում են» ռամնոգալակտուրոն II-ի մոնոմերները դիմերների, ինչն անհրաժեշտ է բույսի աճման համար: Բորը, ինչպես և կալցիումը, OH խմբեր պարունակող միացությունների հետ առաջացնում է կորդինացիոն կապեր, հետևաբար բջջապատի պոլիմերները կապելու համար բորի և կալցիումի միջև գոյություն ունի ուղիղ մրցակցություն: Շնորհիվ բորի ավելանում է բույսի ծաղիկների և պտուղների քանակը:

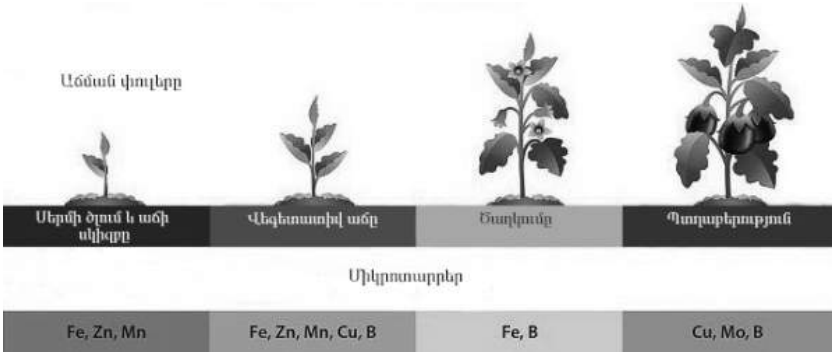
Կոբալտ, նիկել (Co, Ni): Բարձրակարգ բույսերին կոբալտն անհրաժեշտ է մոլեկուլային ազոտի ֆիքսացիայի համար, այդ պատճառով այն կուտակվում է պալարներում: Կոբալտը բույսերում հանդիպում է իոնացված վիճակում, ինչպես նաև որպես պորֆիրինային միացություն՝ ցիանոկոբալամին (վիտամին B_{12}): Բույսերը և կենդանիներն ունակ չեն սինթեզել վիտամին B_{12}-ը: Այն սինթեզվում է բույսերի պալարներում մանրէների կողմից: Կոբալտի և նիկելի ատոմային զանգվածները մոտ են միմյանց, այդ պատճառով նրանք թողնում են միևնույն ազդեցությունը ֆիզիոլոգիական գործընթացների վրա:

Բարձրակարգ բույսերում նիկելը մտնում է ուրեազ ֆերմենտի կազմության մեջ, որը ճեղքում է միզանյութը՝ ամոնիակի և ածխաթթու գազի: Այս ֆերմենտն ունի 590 կԴա մոլեկուլային զանգված և կազմված է վեց ենթամիավորներից, որոնցից յուրաքանչյուրը պարունակում է նիկելի երկուական ատոմ:

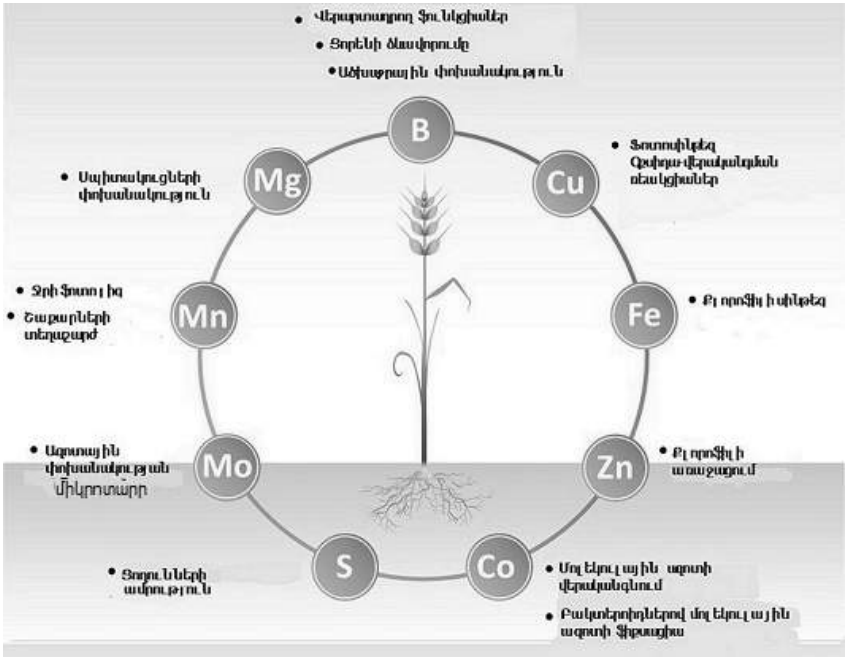
Քլոր (Cl): Բուսական հյուսվածքներում քլորը գտնվում է անիոնի ձևով կամ կապված վիճակում: Բույսերում այն մասնակցում է ջրի ֆոտոօքսիդացման և թթվածնի անջատման գործընթացներում: Cl-ի իոնները կարող են մասնակցել բուսական բջջի էլեկտրագենեզի գործընթացներում, ինչպես նաև վակուոլում օսմոտիկ ճնշման կարգավորմանը, որտեղ քլորը կուտակվում է մեծ քանակությամբ: Շատ հողեր պարունակում են բավականաչափ քլորիդներ, սակայն տեղումնաառատ շրջաններում բույսերը կարող են զգալ այս միկրոտարրի անբավարարությունը, ինչի արդյունքում դիտվում է տերևների վաղաժամ ծերացում, նաև ընկճվում են բջիջների բաժանման գործընթացները:



Նկար 2. Բուսական բջջի քիմիական կազմը



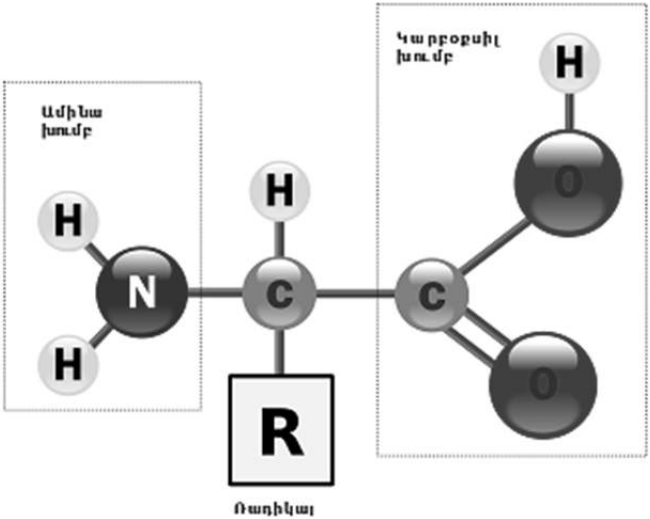
Նկար 3. Բույսի աճման փուլերում անհրաժեշտ միկրոտարրերը



Նկար 4. Միկրոտարրերի ֆունկցիաները

ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐ
1. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ԱԶԱՏ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՖՈՐՄՈԼԱՅԻՆ ՏԻՏՐՄԱՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ

Ամինաթթուները բույսերի առաջնային ազոտային միացություններն են, որոնց մոլեկուլները պարունակում են կարբոքսիլ և ամինա խմբեր՝ միացված ալիֆատիկ, արոմատիկ և հետերոցիկլիկ բնույթի օրգանական ռադիկալի հետ (նկ. 5):



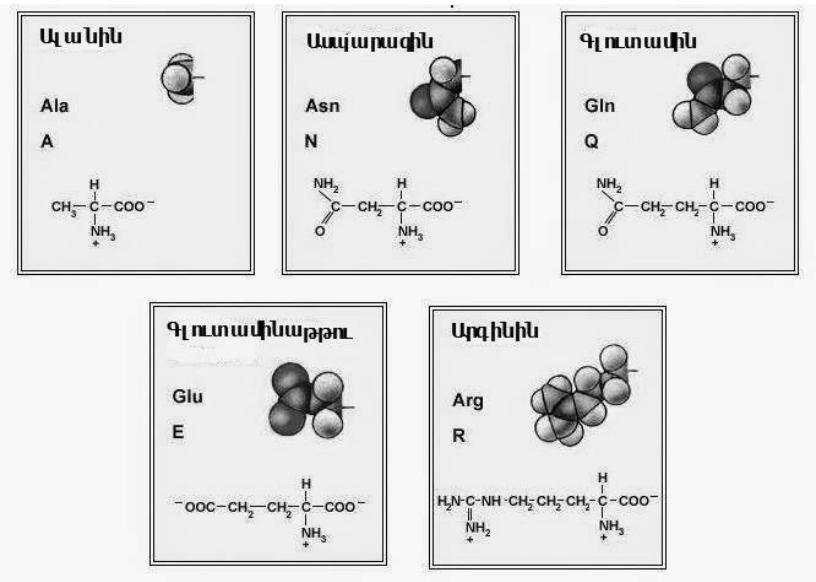
Նկար 5. Ամինաթթուների կառուցվածքը

Հիմնականում ամինախումբը կապված է α-ածխածնային ատոմի հետ, սակայն հայտնի են ամինաթթուներ, որոնց ամինախումբը կապված է այլ ածխածնի ատոմների հետ (β, γ, δ և այլն):

Բնական ամինաթթուների մեծ մասը սինթեզվում են կենդանի օրգանիզմում L- իզոմերների ձևով, D-իզոմերները հանդիպում են հազվադեպ, հաճախ միկրոօրգանիզմների բջիջներում: Քիմիական սինթեզի ժամանակ առաջանում է L և D-իզոմերների ռացեմիկ խառնուրդ: Բույսերի, մարդու և կենդանիների ֆերմենտային

համակարգերը կարող են կատալիզել կենսաքիմիական ռեակցիաներ, որոնք իրականանում են L-իզոմերների մասնակցությամբ: Վերջիններս կարող են օրգանիզմում ընկճել անգամ կենսաքիմիական գործընթացները: Միայն մեթիոնինի ինչպես L, այնպես էլ D-իզոմերները կարող են յուրացվել մարդու և կենդանիների օրգանիզմներում:

Ամինաթթուների կարևորագույն կենսաբանական դերը մասնակցությունն է սպիտակուցային մոլեկուլների սինթեզին: Սպիտակուցների սինթեզին մասնակցող ամինաթթուները կոչվում են պրոտեինածին: Բացի այդ, սպիտակուցների սինթեզին մասնակցում են երկու ամիդ՝ ասպարագին և գլուտամին (նկ. 6): Նշված ամինաթթուների առկայությունը սպիտակուցային պոլիպեպտիդների կազմում որոշվում է գենետիկական գաղտնագրի կոդոններով:



Նկար 6. Որոշ պրոտեինածին ամինաթթուների կառուցվածքները

Սպիտակուցի սինթեզից հետո կարող են տեղի ունենալ որոշ ամինաթթուների ռադիկալների վերափոխումներ, այդ իսկ պատ-

ճառով սպիտակուցների կազմի հետազոտման ընթացքում, բացի պրոտեինածին ամինաթթուներից, հայտնաբերում են այլ ամինաթթուներ (օքսիպրոլին, օքսիլիզին):

Միաժամանակ օրգանիզմների ազոտային փոխանակության մեջ կարևոր դեր ունեն որոշ իմինաթթուներ (պրոլին, պիպեկոլինաթթու), որոնք պարունակում են երկրորդային ամինախումբ (=NH): Նրանք ֆիզիկաքիմիական հատկություններով նման են ամինաթթուներին և իրականացնում են համապատասխան կենսաբանական ֆունկցիաներ:

Բուսական օրգանիզմներում ամինաթթուների ածանցյալները՝ ամիդները և բետաինները կատարում են կարևոր ֆունկցիաներ: Նրանցից լավ ուսումնասիրված են ասպարագինը, գլուտամինը և գլիկոկոլբետաինը: Ասպարագինը և գլուտամինը մասնակցում են սպիտակուցային մոլեկուլների ձևավորմանը, հանդիսանում են ազոտային միացությունների մետաբոլիտներ: Գլիկոկոլբետաինը, հանդիսանալով որոշ բույսերի ազոտային փոխանակության արգասիք, նաև մեթիլային խմբերի ակտիվ դոնոր է: Ամինաթթուները, որոնք չեն մասնակցում սպիտակուցների սինթեզին հանդիսանում են կարևոր մետաբոլիտներ, որոնց շնորհիվ իրականանում է պրոտեինածին ամինաթթուների սինթեզը, ինչպես նաև բուսական օրգանիզմի բոլոր ազոտային միացությունների՝ նուկլեոտիդների, ամիդների, ազոտական հիմքերի, ալկալոիդների, որոշ լիպիդների, վիտամինների, քլորոֆիլի, ֆիտոհորմոնների (աուքսիններ, ցիտոկինիններ), որոշ ֆիտոնցիդների մետաբոլիտներ:

Բույսերը և միկրոօրգանիզմները կարող են սինթեզել բոլոր անհրաժեշտ ամինաթթուներն այլ օրգանական միացություններից, այն դեպքում, երբ մարդու և կենդանիների օրգանիզմները չեն կարող սինթեզել որոշ պրոտեինածին ամինաթթուներ: Այդ ամինաթթուները կոչվում են անփոխարինելի և նրանք պետք է ներթափանցեն օրգանիզմ սննդի հետ:

Հասուն մարդու համար անփոխարինելի են համարվում 8 ամինաթթուներ՝ լիզին, տրիպտոֆան, մեթիոնին, տրեոնին, լեյցին, վալին, իզոլեյցին, ֆենիլալանին: Երեխաների և որոշ կենդանիների համար անփոխարինելի են համարվում նաև արգինինը, հիստիդինը և ցիստեինը: Օրգանիզմում անփոխարինելի ամինաթթուների անբավարարության ժամանակ ընկճվում է սպիտակուցների սինթեզը, ինչը կարող է դառնալ ծանր հիվանդությունների պատճառ:

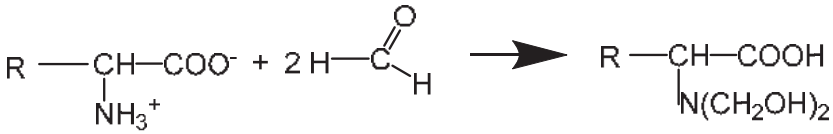
Բույսերում ազատ ամինաթթուների պարունակությունը կախված է բույսի օրգանից կամ հյուսվածքից, տարիքից, արտաքին միջավայրից և հատկապես կենսաքիմիական գործընթացների ընթացքից՝ սպիտակուցների, նուկլեինաթթուների, այլ ազոտային միացությունների սինթեզ: Ազատ ամինաթթուների առավել բարձր պարունակությամբ օժտված են կարտոֆիլի պալարները, արմատապտուղները, բանջարեղենները, պտուղները, հատապտուղները: Ամինաթթուների կոնցենտրացիան բարձրանում է աճման գործընթացների դանդաղեցման, սննդային տարրերի անբավարարության, ավելցուկային ազոտային սննդառության, սպիտակուցների քայքայման գործընթացների ուժեղացման, ինչպես նաև բույսի ծերացման ժամանակ: Որոշ ամինաթթուների կոնցենտրացիան կարող է բարձրանալ օրգանիզմում նյութափոխանակության խանգարման, ինչպես նաև սթրեսի արդյունքում: Օրինակ՝ ջրային անբավարարության ժամանակ բույսերի բջիջներում տեղի է ունենում պրոլինի, իսկ ավելցուկային ամոնիակային սննդառության ժամանակ՝ ասպարագինի, գլուտամինի և արգինինի կուտակում:

Ամինաթթուները հեշտությամբ փոխազդում են վերականգնող շաքարների հետ, առաջացնելով մուգ գունավորում ունեցող միացություններ՝ մելանոիդիններ, որոնք վատացնում են բուսական հումքի որակը: Արոմատիկ ամինաթթուների՝ թիրոզինի և ֆենիլալանինի ֆերմենտային օքսիդացման արդյունքում նույնպես առա-

ջանում են մուգ գունավորում ունեցող միացություններ՝ մելանիններ, որոնք օդի թթվածնի հետ փոխազդելիս առաջացնում են մաքրած կարտոֆիլի, մանրեցված արմատապտուղների, բանջարեղենների և մրգերի մգացում:

Մելանինները սինթեզվում են պիրոկախետինի և դիօքսիֆենիլալանինի (ԴՕՖԱ) կոնդենսացման արդյունքում: ԴՕՖԱ-ն առաջանում է թիրոզինի և ֆենիլալանինի օքսիդացման արդյունքում՝ թիրոզինազ ֆերմենտի ազդեցությամբ: Հաջորդ փուլում ԴՕՖԱ-ն, ենթարկվելով օքսիդացման, դեկարբօքսիլացման և ցիկլիզացման, վերածվում է 5,6-դիօքսիինդոլի և ինդոլ-5,6-քինոնի, որոնք կոնդենսացվում են պիրոկատեխինի մոլեկուլի հետ: Հիմնային հիդրոլիզի ժամանակ բուսական մելանինները քայքայվում են պիրոկատեխինի, պրոտոկատեխաթթվի և սալիցիլաթթվի, ինչպես նաև առաջանում է 5,6-դիօքսիինդոլի քիչ քանակություն:

Մեթոդի սկզբունքը: Ամինաթթուների և ֆորմալդեհիդի փոխազդեցության արդյունքում ֆորմալդեհիդի մոլեկուլները կապվում են ամինաթթուների ամինախմբերի հետ, իսկ կարբօքսիլ խմբերը մնում են ազատ: Ստացված միացությունները տիտրում են հիմքի լուծույթով:



Տիտրման համար ծախսված հիմքի քանակով որոշում են լուծույթում պարունակվող ամինաթթուների քանակությունը: Մոնոամինակարբոնաթթուների համար տիտրված կարբօքսիլ խմբերի քանակությունը համարժեք է ֆորմալդեհիդով կապված ամինախմբերի քանակությանը: Դիկարբոնաթթուների լրացուցիչ կարբօքսիլ խմբերի թվի ուղղման գործակցի կիրառման համար ֆոր-

մալդեհիդի ավելացումից հետո անհրաժեշտ է լուծույթը չեզոքացնել (pH 7.0):

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: Լաբորատոր կշեռք, 150 մլ ծավալով կոլբաներ, 10 և 50 մլ ծավալով չափիչ գլաններ, 10 սմ տրամագծով հավանգ, 8-10 սմ տրամագծով ճենապակյա թասիկ, թանզիվ՝ ամինաթթուների լուծամզվածքը ֆիլտրելու համար, թափահարիչ, 100 մլ ծավալով ապակյա բաժակներ, 1 մլ ծավալով պիպետներ, 100, 200, 250 մլ, 1լ ծավալով չափիչ կոլբաներ (նկ. 7):

Չափիչ կոլբաներ, գլաններ, բաժակներ **Թափահարիչ**

Նկար 7.

Ռեակտիվներ: Նատրիումի հիդրոքսիդ (NaOH), խիտ աղաթթու (HCl 1.19 գ/սմ^3), ֆենոլֆտալեին ($C_{20}H_{14}O_4$), բրոմթիմոլ կապույտ ($C_{27}H_{28}Br_2O_5S$), 40%-ոց ֆորմալինի լուծույթ (CH_2O), բորաթթու (H_3BO_3), կալիումի քլորիդ (KCl), կալիումի դիհիդրոֆոսֆատ (KH_2PO_4), 96% էթիլ սպիրտ:

Լուծույթների պատրաստում: 0.05 Մ NaOH (պատրաստվում է ֆիքսանալից, լուծելով այն 1լ թորած ջրում):

0.05 Մ HCl (0.21 մլ խիտ HCl-ը լուծել 50մլ թորած ջրում):

0.5% $C_{20}H_{14}O_4$ (0.05գ $C_{20}H_{14}O_4$ -ը լուծել 10 մլ 50% էթիլ սպիրտում):

0.04% $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ (0.05գ $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$-ը լուծել 1.6 մլ 0.05 Մ NaOH-ի լուծույթում): Ստացված լուծույթը տեղափոխել 250 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ, ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին:

0.2 Մ NaOH (0.4գ NaOH-ը լուծել 50 մլ թորած ջրում):

Ֆորմոլային խառնուրդ: Խառնել 25 մլ 40% CH_2O-ի և 1 մլ 0.5% $C_{20}H_{14}O_4$-ի սպիրտային լուծույթները: Ստացված խառնուրդը տիտրել 0.2 Մ NaOH-ի լուծույթով (մի քանի կաթիլ) մինչև թույլ վարդագույն գունավորման առաջացումը և ֆիլտրել:

Բուֆերային լուծույթ pH 9.2 (3.1 գ H_3BO_3 և 3.7 գ KCl լուծել 6.7 մլ 0.2 Մ NaOH-ի լուծույթում 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբայում, ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին):

0.2 Մ KH_2PO_4 (0.68 գ KH_2PO_4 լուծել 25 մլ թորած ջրում):

Բուֆերային լուծույթ pH 7.0 (խառնել 12.5 մլ 0.2 Մ KH_2PO_4 և 7.3 մլ 0.2 Մ NaOH լուծույթները 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբայում, ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին):

Աշխատանքի ընթացքը: 5գ չոր բուսական հումքը տեղադրել 150 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ, ավելացնել 50 մլ թորած ջուր: Փակել խցանով և թափահարել 30 րոպե: Ստացված բուսական խառնուրդը ֆիլտրել 4 տակ ծալված թանզիվով ճենապակյա բաժակի մեջ:

Հյութեղ բուսական հումքի հետազոտման համար (կարտոֆիլ, հատապտուղներ և այլն) անհրաժեշտ է այն տրորել հավանգում 50 մլ թորած ջրով 15 րոպե: Ստացված բուսական խառնուրդը նույն եղանակով տեղափոխել ճենապակյա թասիկի մեջ:

Ֆորմոլային տիտրման համար անհրաժեշտ է 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ լցնել 2 մլ բուսական լուծամզվածք, որը պարունակում է ազատ ամինաթթուներ, ավելացնել 18 մլ թորած ջուր և 5 կաթիլ $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$-ի լուծույթ: Եթե լուծույթն ունի կապույտ գունավորում, այն անհրաժեշտ է կաթիլներով չեզոքացնել 0.05 Մ HCl-ի լուծույթով, իսկ եթե գունավորումը դեղին է, ապա

0.05 Մ NaOH-ի լուծույթով մինչև դեղնականաչ գունավորման առաջացումը (pH 7.0): Զուգահեռ պատրաստել ստուգիչ նմուշ, որը պարունակում է 20 մլ բուֆերային լուծույթ (pH 7.0) և 5 կաթիլ $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$-ի լուծույթ: Ստուգիչ փորձանոթի գունավորումը համեմատում են փորձնական նմուշի գունավորման հետ:

Չեզոքացված լուծույթին (pH 7.0) ավելացնել 2 մլ ֆորմոլային ռեակտիվ և տիտրել փորձնական նմուշը 0.05Մ NaOH-ի լուծույթով մինչև կապտամանուշակագույն գունավորման առաջացումը: Գունավորման ուժգնությունը համեմատել ստուգիչ փորձանոթի գունավորման հետ, որը պարունակում է 20 մլ բուֆերային լուծույթ (pH 9.2), 5 կաթիլ $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$-ի լուծույթ և 3 կաթիլ $C_{20}H_{14}O_4$-ի սպիրտային լուծույթ: Ուղղման գործակցի համար առանձին բաժակի մեջ լցնել 20 մլ թորած ջուր, 5 կաթիլ $C_{27}H_{28}Br_2O_5S$-ի լուծույթ և 3 կաթիլ $C_{20}H_{14}O_4$-ի սպիրտային լուծույթ: Ստացված լուծույթը տիտրել 0.05 Մ NaOH-ի լուծույթով:

Եթե ամինաթթուների լուծամզվածքն անգույն է և թափանցիկ, ապա կարելի է նրա ծավալը մեծացնել մինչև 5-10 մլ:

Տվյալների մշակում: Բուսական նմուշում ամինաթթուների ազոտի պարունակությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$C = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0.7 \cdot 50 \cdot 100}{H \cdot 2}$$

որտեղ՝

C - բուսական հումքում ամինաթթուների ազոտի պարունակությունը, մգ%,

V_1 – 0.05 Մ NaOH-ի ծավալը, որը ծախսվել է փորձնական նմուշի տիտրման համար, մլ,

V_2 – 0.05 Մ NaOH-ի ծավալը, որը ծախսվել է 20 մլ ջրի տիտրման համար, մլ,

0.7 - ամինաթթուների ազոտի վերահաշվարկի գործակիցը, մգ,

50 - բուսական հումքից ստացված ամինաթթուների լուծամզվածքի ընդհանուր ծավալը, մլ,

100 - վերահաշվարկի գործակիցը 100 գ բուսական հումքում

H - բուսական հումքի կշիռը, գ,

2 - ֆորմոլային տիտրման համար վերցված ամինաթթուների լուծամզվածքի ծավալը, մլ:

Հաշվարկված ցուցանիշի հիման վրա եզրակացնում են հետազոտվող նմուշում ազատ ամինաթթուների պարունակության և բուսական հումքում տեղի ունեցող կենսաքիմիական գործընթացների ուղղվածության մասին:

Ստուգիչ հարցեր

1. Ամինաթթուների ո՞ր ստերեոիզոմերներն են սինթեզվում կենդանի օրգանիզմներում:
2. Ինչո՞ւմ են կայանում պրոտեինածին ամինաթթուների կառուցվածքային և կենսաբանական առանձնահատկությունները:
3. Ի՞նչ է նշանակում «անփոխարինելի ամինաթթուներ»:
4. Ի՞նչ միացություններ են առաջանում ամինաթթուների և վերականգնող շաքարների փոխազդեցության արդյունքում:
5. Ի՞նչ միացություններ են առաջանում ամինաթթուների և օդի թթվածնի փոխազդեցության արդյունքում:
6. Ո՞րն է ֆորմոլային տիտրման եղանակով ամինաթթուների որոշման սկզբունքը:
7. Ինպե՞ս են բուսական հումքից ստանում ազատ ամինաթթուների լուծամզվածքը:
8. Նշել ամինաթթուների լուծամզվածքի ֆորմոլային տիտրման առանձնահատկությունները:
9. Ինչպե՞ս է հաշվարկվում բուսական հումքում ամինաթթուների քանակությունը:
10. Ո՞ր գործոններից է կախված բուսական հյուսվածքներում ամինաթթուների կոնցենտրացիայի փոփոխությունը:

2. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ԲԻՈՒՐԵՏԻ ՄԵԹՈԴՈՎ

Սպիտակուցները բարձրամոլեկուլային կենսապոլիմերներ են: Նրանց մոլեկուլները կազմված են պեպտիդային կապերով միացված պրոտեինածին ամինաթթուների մնացորդներից, որոնք գաղտնագրվում են գենետիկական գաղտնագրի կոդոններով: Սակայն ֆիզիոլոգիական միջավայրի ազդեցությամբ որոշ պրոտեինածին ամինաթթուների մնացորդներ կարող են ենթարկվել փոփոխության: Սպիտակուցների մոլեկուլները, որոնք պարունակում են միայն ամինաթթվային մնացորդներ, կոչվում են պրոտեիններ: Բացի ամինաթթվային մնացորդներից սպիտակուցների մոլեկուլները կարող են պարունակել ոչ ամինաթթվային բնույթի խմբավորումներ: Այդպիսի սպիտակուցները կոչվում են պրոտեիդներ:

Կենդանի օրգանիզմում սպիտակուցների մոլեկուլները կատարում են կենսական կարևոր ֆունկցիաներ: Բջիջներում բոլոր կենսաքիմիական ռեակցիաները իրականանում են հատուկ սպիտակուցների՝ ֆերմենտների մասնակցությամբ: Կառուցվածքային սպիտակուցները մասնակցում են ցիտոպլազմի և ներբջջային օրգանոիդների կենսաբանական թաղանթների ձևավորմանը: Կարգավորող և փոխադրող սպիտակուցները մասնակցում են նյութափոխանակությանը: Իմունային համակարգի սպիտակուցները կատարում են պաշտպանիչ դեր: Բույսերի պահուստային հյուսվածքներում կուտակվում են սպիտակուցներ, որոնք ձևավորվող ընձյուղների համար հանդիսանում են էներգիայի և պրոտեինածին ամինաթթուների աղբյուր:

Մարդու և կենդանիների համար սպիտակուցները հանդիսանում են անփոխարինելի ամինաթթուների հիմնական աղբյուր: Մարդուն անհրաժեշտ է միջինում օգտագործել օրական 8-10 գ լիարժեք սպիտակուց: Հաշվի առնելով սպիտակուցների կարևո-

թությունը մարդու սննդակարգում՝ անհրաժեշտ է բուսական հումքում վերահսկել սպիտակուցների պարունակությունը:

Հաճախ բուսական հումքի քիմիական բաղադրության գնահատման համար օգտագործում են սպիտակուցի որոշման արագ և հեշտ մեթոդներ՝ սպիտակուցների գունավորման ռեակցիաներ: Այդպիսի մեթոդներից է բիուրետի մեթոդը, որը լուծույթում սպիտակուցների 0.04-2.0 մգ/մլ կոնցենտրացիայի դեպքում ունի բարձր ճշգրտություն:

Մեթոդի սկզբունքը: Մեթոդը հիմնված է հիմնային միջավայրում Cu(II) կատիոնների և սպիտակուցներում պեպտիդային կապեր ունեցող խմբերի փոխազդեցության վրա, առաջացնելով կայուն կապտամանուշակագույն համալիր: Գունավորման ուժգնությունը կախված է լուծույթում սպիտակուցների կոնցենտրացիայից: Լուծույթում սպիտակուցների քանակությունն որոշում են համադրելով հետազոտվող նմուշի և հայտնի կոնցենտրացիայով սպիտակուցի օպտիկական խտությունները:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: Ջերմակարգավորվող ջրային բաղնիք, տեխնիկական և վերլուծական կշեռքներ, ցենտրիֆուգ (նկ. 8),

Լաբորատոր կշերք

Ցենտրիֆուգ

Նկար 8.

լուսաէլեկտրագունաչափ (ԼԷԳ) կամ սպեկտրոֆոտոմետր (ՍՖ), 1-10 մլ ծավալով պիպետներ, 10-20 մլ ծավալով բյուրետներ, 10 սմ տրամագծով հավանգ, 50 և 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, 150-200 մլ ծավալով ապակյա բաժակներ, 20 մլ ծավալով փորձանոթներ, ապակյա ձագար, ֆիլտրի թուղթ:

Ռեակտիվներ: Նատրիումի հիդրոքսիդ (NaOH), K-Na գինեթթվային ($KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$), պղնձի սուլֆատ ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$), կալիումի յոդիտ (KJ), 96% էթիլ սպիրտ, միզանյութ (CH_4N_2O), ակտիվացված ածուխ, թիմոլ($C_{10}H_{14}O$), ալբումին, թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: 0.2 Մ NaOH (0.8 գ NaOH-ը լուծել թորած ջրում, տեղափոխել 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ և ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին):

4% NaOH (1 գ NaOH-ը լուծել 25 մլ թորած ջրում):

NaOH-ի սպիրտային լուծույթ: 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ լցնել 25 մլ էթիլ սպիրտ և 4% NaOH-ի լուծույթով ծավալը հասցնել նիշին:

Միզանյութի լուծույթ: 50 մլ տարողությամբ ապակյա բաժակի մեջ լցնել 15գ միզանյութ և 0.025 գ $C_{10}H_{14}O$: Ավելացնել 35 մլ թորած ջուր և ստացված խառնուրդը տաքացնել մինչև միզանյութի և թիմոլի լուծվելը: Լուծույթին ավելացնել 0.15 գ ակտիվացված ածուխ, խառնել և ֆիլտրել 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ: Լուծույթի ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին:

Բիուրետի ռեակտիվ: 0.9 գ $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$-ը լուծել 40 մլ 0.2 Մ NaOH-ի լուծույթում: Ստացված լուծույթին ավելացնել 0.3 գ $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, խառնել մինչև լուծվելը: Այնուհետև ավելացնել 0.5 գ KJ և լուծել (անհրաժեշտության դեպքում տաքացնել): Սառեցնելուց հետո լուծույթը տեղափոխել 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ, ծավալը 0.2 Մ NaOH-ով հասցնել նիշին: Բիուրետի ռեակտիվը պահել մուգ ապակյա տարայում:

Սպիտակուցի ստանդարտ լուծույթ: 0.4 գ ալբումինը լուծել 100 մլ թորած ջրում: Ստացվում է 4 մգ/մլ կոնցենտրացիայով սպիտակուցի լուծույթ:

Աշխատանքի ընթացքը: 1-2 գ բուսական հումքը տրորել հավանգում, ավելացնել 3 մլ NaOH-ի սպիրտային լուծույթ, խառնել 15 րոպե՝ սպիտակուցային լուծամզվածք ստանալու նպատակով: Լուծույթը տեղափոխել ցենտրիֆուգի համար նախատեսված փորձանոթի մեջ, ցենտրիֆուգել 5000 g արագությամբ 10 րոպե: Թափանցիկ վերնստվածքը տեղափոխել ապակյա փորձանոթի մեջ: Փորձանոթի մեջ լցնել 0.2 մլ բուսական հումքից ստացված սպիտակուցի լուծույթ, ավելացնել 2.4 մլ միզանյութի լուծույթ և 2.4 մլ բիուրետի ռեակտիվ: Լուծույթը խառնել և տեղադրել ջրային բաղնիք 40°C ջերմաստիճանում 10 րոպե՝ կայուն գունավորում ստանալու նպատակով: Սառեցնելուց հետո գունավորված լուծույթը գունաչափել (ԼԷԳ կամ ՍՖ, 670 նմ ալիքի երկարություն, կյուվետի հաստությունը 1 սմ): Սպիտակուցի քանակությունը որոշել տրամաչափական կորի օգնությամբ:

Տրամաչափական կորի կառուցման համար չափում են հայտնի կոնցենտրացիայով սպիտակուցի լուծույթի օպտիկական խտությունը: Աբսցիսների առանցքին տեղադրում են հայտնի կոնցենտրացիայով սպիտակուցի օպտիկական խտության արժեքները, օրդինատների առանցքին՝ 0.2 մլ լուծույթում պարունակվող սպիտակուցի քանակությունը (մգ):

4 մգ/մլ կոնցենտրացիայով ստանդարտ սպիտակուցի լուծույթներ: 1.5, 2.5, 3.5, 4.5, 6.0, 8.0, 10 մլ ալբումինի ստանդարտ լուծույթները լցնել 10 մլ ծավալով չափիչ փորձանոթների մեջ և NaOH-ի սպիրտային լուծույթով հասցնել նիշին: Յուրաքանչյուր փորձանոթից վերցնել 0.2 մլ սպիտակուցի լուծույթ և իրականացնել լուծույթների գունավորումը՝ օգտագործելով միզանյութի և բիուրետի լուծույթները, վերը նշված եղանակով: Յուրաքանչյուր լուծույթում պարունակվում է համապատասխանաբար՝ 0.12, 0.2, 0.28, 0.36, 0.48, 0.64, 0.8 մգ սպիտակուց: Եթե փորձնական նմուշի

օպտիկական խտությունը դուրս է տրամաչափական կորի սահմաններից, ապա անհրաժեշտ է սպիտակուցի լուծույթը նոսրացնել և կրկնել փորձը:

Արդյունքների մշակում: Հետազոտվող նմուշում սպիտակուցի քանակությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով հաշվի առնելով նոսրացումը.

$$X = \frac{P \cdot 3 \cdot 100}{H \cdot 0.1}$$

որտեղ՝

X - հետազոտվող բուսական նմուշում սպիտակուցների քանակությունը, %,

P – 0.2 մլ սպիրտային լուծույթում բուսական հումքից անջատված սպիտակուցների քանակը, մգ,

H – բուսական հումքի կշիռը, մգ,

3 – բուսական հումքից անջատված սպիտակուցի լուծույթի ընդհանուր ծավալը, մլ,

0.2 – գունավորման համար վերցված սպիտակուցի լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

100 – վերահաշվարկի գործակիցը, %:

Ստուգիչ հարցեր

1. Ի՞նչ ֆունկցիաներ են կատարում սպիտակուցները բջիջներում:
2. Ո՞րն է սպիտակուցների դերը մարդու և կենդանիների սննդակարգում:
3. Ո՞րն է բիուրետի մեթոդով սպիտակուցների որոշման սկզբունքը:
4. Ինչպե՞ս է իրականացվում սպիտակուցի լուծույթի գունավորումը բիուրետի ռեակտիվով:
5. Ինչպե՞ս է հաշվարկվում սպիտակուցի քանակությունը հետազոտվող բուսական նմուշում:
6. Ի՞նչ ազդեցություն են թողնում բնակլիմայական գործոնները և բույսերի սնուցման ռեժիմը բուսական հումքում սպիտակուցների քանակության վրա:

3. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՍՊԵԿՏՐՈՖՈՏՈՄԵՏՐԻԿ ԵՂԱՆԱԿՈՎ

Կենսաքիմիական հետազոտություններում հաճախ անհրաժեշտ է գնահատել լուծույթներում սպիտակուցների կոնցենտրացիան ուսումնասիրության միջանկյալ փուլում՝ պահպանելով սպիտակուցի մոլեկուլի բնական հատկությունները հետագա հետազոտությունների համար: Այդ նպատակով սպեկտրալ վերլուծության միջոցով մշակվում են նրանց քանակական որոշման մեթոդները: Մեթոդներից մեկը՝ սպիտակուցների որոշումն է լուծույթների օպտիկական խտության չափման եղանակով ուլտրամանուշակագույն տիրույթում՝ 280 նմ ալիքի երկարությամբ, որն իրականացվում է սպեկտրոֆոտոմետրի կամ լուսաէլեկտրագունաչափի օգնությամբ (նկ. 9):

Նկար 9. Սպեկտրոֆոտոմետր (ՍՖ), Լուսաէլեկտրագունաչափ (ԼԷԳ)

Մեթոդի սկզբունքը: Մեթոդը հիմնված է սպիտակուցի մոլեկուլում արոմատիկ ամինաթթուների (թիրոզին, տրիպտոֆան, ֆենիլալանին) խմբերի 280 նմ ալիքի երկարությամբ ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների կլանման ունակության վրա:

Բուսական հումքից սպիտակուցներն անջատում են համապատասխան լուծիչով (ջուր, աղային լուծույթ, հիմնային բուֆերային լուծույթ և այլն) ցենտրիֆուգման եղանակով, այնուհետև չափում ստացված սպիտակուցի լուծույթի օպտիկական խտությունը ՍՖ-ի օգնությամբ՝ 280 նմ ալիքի երկարությամբ: Լուծույթում սպիտակուցների քանակությունը գնահատում են համադրելով հետազոտվող և ստանդարտ սպիտակուցի լուծույթների օպտիկական խտությունները:

Հետազոտվող լուծույթում նուկլեինաթթուների բարձր կոնցենտրացիայի դեպքում անհրաժեշտ է կատարել ուղղում, քանի որ նրանք 280 նմ ալիքի երկարության պայմաններում կլանում են ուլտրամանուշակագույն ճառագայթները, իսկ առավելագույն կլանում դիտվում է 260 նմ ալիքի երկարության պայմաններում: Այդ պատճառով սպիտակուցի լուծույթը չափում են 260 և 280 նմ ալիքների երկարությամբ: Նուկլեինաթթուների ազդեցությունը սպիտակուցի լուծույթի օպտիկական խտության վրա բացառվում է համապատասխան ուղղում կատարելուց հետո:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: Լաբորատոր կշեռք, 6-8 սմ տրամագծով ճենապակյա հավանգ, 20 մլ ծավալով փորձանոթներ, ցենտրիֆուգ 15000 g արագությամբ, 1-5 մլ ծավալով պիպետներ, 50 և 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, 5-6 սմ տրամագծով ապակյա ձագարներ, սպեկտրոֆոտոմետր:

Ռեակտիվներ: Նատրիումի քլորիդ (NaCl), ալբումին, թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: 1% NaCl (1 գ NaCl-ը լուծել 100 մլ թորած ջրում):

Սպիտակուցի ստանդարտ լուծույթ: 100 մգ ալբումինը լուծել 100 մլ 1% NaCl-ի լուծույթում:

Աշխատանքի ընթացքը: 1 գ բուսական հումքը տրորել հավանգում 10 մլ 1% NaCl-ի լուծույթով 15 րոպե: Խառնուրդը տեղափոխել ցենտրիֆուգի համար նախատեսված փորձանոթի մեջ,

ցենտրիֆուգել 10000-12000 պտ/ր արագությամբ 10 րոպե: Ստացված սպիտակուցի լուծույթից 0.2 մլ տեղափոխել 20 մլ ծավալով ապակյա փորձանոթի մեջ, ավելացնել 9.8 մլ NaCl-ի լուծույթ, խառնել: Չափել սպիտակուցի լուծույթի օպտիկական խտությունը (ՍՖ, 280 նմ ալիքի երկարություն, կյուվետի հաստությունը 1 սմ): Տրամաչափական կորի օգնությամբ որոշել հետազոտվող լուծույթում սպիտակուցի քանակությունը:

Տրամաչափական կորը կառուցում են հայտնի կոնցենտրացիայով սպիտակուցի ստանդարտ լուծույթի նոսրացման եղանակով: Փորձանոթների մեջ լցնել 0.1, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.2, 2.6 մլ ալբումինի լուծույթներ, 1% NaCl-ի լուծույթով ծավալները հասցնել 10 մլ-ի, խառնել: Ստացված աշխատանքային լուծույթներում պարունակվում է համապատասխանաբար՝ 0.1, 0.3, 0.6, 0.9, 1.2, 1.5, 1.8, 2.2, 2.6 մգ սպիտակուց: Չափել աշխատանքային լուծույթների օպտիկական խտությունները վերը նշված եղանակով:

Արդյունքների մշակում: Հետազոտվող նմուշում սպիտակուցի քանակությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$X = \frac{P \cdot 10 \cdot 100}{H \cdot 0.2},$$

որտեղ՝

X – բուսական հումքում սպիտակուցների քանակությունը, %,

P – տրամաչափական կորով որոշված սպիտակուցների քանակությունը, մգ,

10 – բուսական հումքից ստացված սպիտակուցի լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

100 – վերահաշվարկի գործակիցը, %,

H – բուսական հումքի կշիռը, գ,

0.2 – օպտիկական խտությունը չափելու նպատակով վերցված սպիտակուցի լուծույթի ծավալը, մլ:

Եթե հետազոտվող նմուշում առկա են նուկլեինաթթուներ, ապա սպիտակուցների կոնցենտրացիան որոշում են հաշվի առնելով ուղղման գործակիցը հետևյալ բանաձևով.

$$C = 1.45E_{280} - 0.74E_{260},$$

որտեղ՝

C – հետազոտվող նմուշում սպիտակուցների կոնցենտրացիան, մգ/մլ,

E_{280} – 280 նմ ալիքի երկարությամբ սպիտակուցի լուծույթի օպտիկական խտության ցուցանիշը,

E_{260} – 260 նմ ալիքի երկարությամբ սպիտակուցի լուծույթի օպտիկական խտության ցուցանիշը,

1.45 – նուկլեինաթթուների կլանման սպեկտրի ուղղման գործակիցը,

0.74 – արոմատիկ ամինաթթուների խմբերի կլանման սպեկտրի ուղղման գործակիցը:

Նշված բանաձևով սպիտակուցների կոնցենտրացիան (մգ/մլ) բազմապատկում են փորձանոթում եղած լուծույթի ծավալով (10 մլ) և ստանում 0.2 մլ լուծամզվածքում պարունակվող սպիտակուցների քանակությունը (P, մգ):

Ստուգիչ հարցեր

1. Որո՞նք են սպիտակուցի որոշման առանձնահատկությունները սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով:
2. Ի՞նչ եղանակով են անջատում սպիտակուցները բուսական հումքից:
3. Ո՞ր սպիտակուցներն են որոշում սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով:
4. Ի՞նչ նպատակով է կառուցվում աշխատանքային լուծույթների սանդղակը:
5. Ի՞նչ առավելություն ունի սպիտակուցների որոշման սպեկտրոֆոտոմետրիկ մեթոդը:

4. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ՇԱՔԱՐՆԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՖԵՆՈԼԱՅԻՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ

Շաքարները բաժանվում են չորս խմբերի՝ մոնոսախարիդներ, մոնոսախարիդների ածանցյալներ, օլիգոսախարիդներ և պոլիսախարիդներ (նկ. 10):

Նկար 10. Ածխաջրեր

Եթե ընդունենք սախարոզի քաղցրությունը 100%, ապա այլ շաքարները կարելի է բաշխել հետևյալ կերպ:

սախարոզ ……..	100	մալտոզ……	32
քսիլիտ……...	200	գալակտոզ……..	32
ֆրուկտոզ……..	173	ռամնոզ……...	32
գլյուկոզ…….	74	ռաֆինոզ…….	23
սորբիտ…….	48	լակտոզ……..	16
քսիլոզ……...	40		

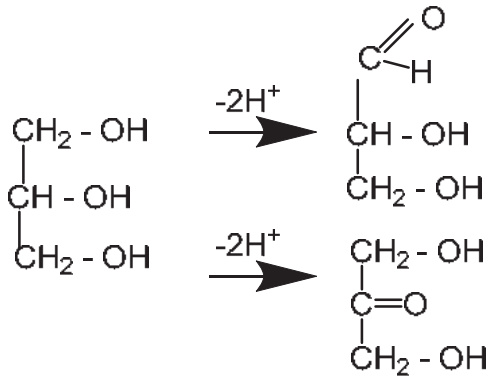
Այն շաքարները, որոնք ունեն ազատ ալդեհիդային և կետոնային խմբեր կարող են մասնակցել օքսիդավերականգման

ռեակցիաներին և կոչվում են վերականգնող շաքարներ: Նրանց են պատկանում մոնոսախարիդները և դիսախարիդներից՝ մալտոզը, լակտոզը, ցելոբիոզը: Վերականգնող շաքարները փոխազդում են ամինաթթուների հետ առաջացնելով մուգ գունավորում ունեցող միացություններ՝ մելանոիդներ: Առաջին փուլում առաջանում են քայքայման արգասիքներ՝ շաքարներից առաջանում է ֆուրֆուրոլ կամ օքսիմեթիլֆուրֆուրոլ, ամինաթթուներից՝ ալդեհիդներ, ածխաթթու գազ և ամոնիակ: Հաջորդ փուլում ֆուրֆուրոլը կամ օքսիմեթիլֆուրֆուրոլը փոխազդելով ամինաթթուների հետ առաջացնում են մելանոիդիններ: Բարձր ջերմաստիճանի պայմաններում (բուսական հումքի ջերմամշակման ժամանակ) ռեակցիան ընթանում է ավելի արագ: Միջանկյալ միացությունները՝ ալդեհիդները, առաջացնում են յուրահատուկ հոտ: Ֆուրֆուրոլը ունի խնձորի, օքսիմեթիլֆուրֆուրոլը՝ մեղրի հոտ: Ամինաթթուների և վերականգնող շաքարների վերջնական արգասիքները՝ մելանոիդիններն առաջացնում են բուսական հումքի մգացում:

Բույսերի և ջրիմուռների ածխաջրերը հանդիսանում են ֆոտոսինթեզի վերջնական արգասիքներ: Ածխաջրերը հեշտությամբ ներգրավվում են շնչառական գործընթացին, այդպիսով ապահովելով բջջի էներգիական փոխանակությունը: Ֆոտոսինթեզի արգասիքներից ամենատարածվածն են սախարոզը և օսլան: Օսլան կուտակվում է ֆոտոսինթեզող բջիջներում, սախարոզը կարող է ներգրավվել ֆլոեմայի համակարգում: Սախարոզի և օսլայի սինթեզի ֆերմենտային համակարգերը մրցակցում են միևնույն սուբստրատի (գլյուկոզ-6-ֆոֆատ) համար: Բացի սախարոզից և օսլայից ածխաթթու գազի C^{14} ածխածինը հայտնաբերված է նաև գլյուկոզի և ֆրուկտոզի մոլեկուլներում:

Բուսական օրգանիզմների համար ածխաջրերն ունեն կարևոր նշանակություն: Նրանք հանդիսանում են բուսական բջիջների և հյուսվածքների հիմնական սննդանյութ և կազմում են չոր զանգվածի 85-90%-ը: Մոնոսախարիդները կարելի է դիտարկել

որպես բազմատոմ սպիրտների ածանցյալներ (գլիցերին): Գլիցերինի օքսիդացման արդյունքում առաջանում է գլիցերինային ալդեհիդ և դիօքսիացետոն, որոնք ունեն կարևոր նշանակություն կենդանի բջջի նյութափոխանակության գործընթացում:



Բնության մեջ լայն տարածված են պենտոզները և հեքսոզները: Բույսերում պենտոզները, ի տարբերություն հեքսոզների, ազատ վիճակում չեն հանդիպում: Մոնոսախարիդներն ազատ վիճակում պարունակվում են բույսի կանաչ հատվածներում և սերմերում, գլյուկոզը պարունակվում է գրեթե բոլոր պտուղներում և բանջարեղեններում: Բնության մեջ հայտնաբերվել են երկու պետնոզներ՝ D-մանոհեպտուլոզ և D-սեդուհեպտուլոզ, ընդ որում այս շաքարները հանդիպում են միայն կետոձևերով: D-մանոհեպտուլոզը մեծ քանակությամբ պարունակվում է ավոկադոյի (*Percea americana*) պտուղներում, տերևներում և սերմերում: Նրա վերականգնման արդյունքում առաջանում է համապատասխան բազմատոմ սպիրտ՝ պերսեիտ: D-սեդուհեպտուլոզը մեծ քանակությամբ հայտնաբերվել է բարձրատերևուկների ընտանիքին պատկանող բույսերում (*Crassulaceae*): Նրա վերականգնման արդյունքում որոշ բույսերի արմատներում առաջանում է բազմատոմ սպիրտ՝ վոլեմիտ: Ֆոտոսինթեզի առաջին իսկ վայրկյաններից D-

սեղուհեպտուլոզը ֆոսֆորային եթերների ձևով առաջանում է քլորոֆիլ պարունակող հյուսվածքներում: Այն հանդիսանում է ֆոտոսինթեզի միջանկյալ արգասիքներից մեկը:

Ածխաջրերի համար ածխածնի առաջնային աղբյուր է մթնոլորտի ածխաթթու գազը, որը կլանվում է ֆոտոսինթեզի ընթացքում: Գլյուկոզի սինթեզի համար ածխածնի այլ աղբյուր հանդիսանում են ճարպերը (տրիգլիցերիդներ), որոնք պահեստավորվում են սերմերի էնդոսպերմում: Սերմերի ծլման ընթացքում ճարպերը ճեղքվում են և գլյուկոնեոգենեզի գործընթացում վերածվում D-գլյուկոզի ֆոսֆատային եթերների: Ֆոտոսինթեզի կամ գլյուկոնեոգենեզի ընթացքում առաջացած մոնոսախարիդները կարող են վերածվել այլ մոնոսախարիդների: Այս փոխակերպումներն ունեն կարևոր նշանակություն շաքարների քայքայման գործընթացում:

Սախարոզը բնության մեջ ամենատարածված դիսախարիդն է, որի շնորհիվ էներգիան տեղափոխվում է բույսի միջով: Այն կազմված է D-գլյուկոզի և D-ֆրուկտոզի մնացորդներից: Սախարոզն օգտագործվում է որպես սննդամթերք, որի ստացման հիմնական աղբյուրը հանդիսանում է ճակնդեղը (պարունակում է մինչև 23% սախարոզ): Ծլած սերմերում սախարոզը սինթեզվում և տեղափոխվում է մերիստեմատիկ հյուսվածքներ, որտեղ մասնակցում է բջջապատի ձևավորմանը և չի օգտագործվում պահուստային պոլիսախարիդների սինթեզի համար: Երիտասարդ բույսի համար սախարոզի աղբյուր հանդիսանում է սերմերում և վեգետատիվ օրգաններում պահեստավորված նյութը, որը ճեղքվում է և օգտագործվում սախարոզի սինթեզի համար:

Բույսերում պոլիսախարիդների կենսասինթեզի մեխանիզմը մինչ օրս լիովին ուսումնասիրված չէ: Հայտնի է, որ պոլիսախարիդները բույսերում սինթեզվում են տրանսգլիկոզիլացման հաջորդական ռեակցիաներով, որոնցում մասնակցում են գլիկոզիլային մնացորդների և ակցեպտորի մոլեկուլները: Գլիկոզիլային մնացորդները տեղափոխվում են դոնորից ակցեպտորին: Այս մե-

խանիզմի համապարփակությունն այն է, որ յուրաքանչյուր պոլիսախարիդի առաջացման համար պահանջվում է գլիկոզիլային մնացորդների հազարավոր փոխանցումներ: Գլիկոզիլային մնացորդների դոնորներից առավել կարևոր են նուկլեոզիդդիֆոսֆատշաքարները, չնայած՝ սախարոզը նույնպես կարող է հանդես գալ որպես դոնոր: Պոլիսախարիդների կենսասինթեզում նուկլեոզիդդիֆոսֆատշաքարների դերն էներգիայի ապահովումն է:

Բույսերում հայտնաբերված է սախարոզի սինթեզը կատալիզող երկու ֆերմենտ՝ սախարոզսինթազը և սախարոզֆոսֆատսինթազը, որոնք սինթեզում են համապատասխանաբար հետևյալ ռեակցիաները:

(1) ԱԿՖ-գլյուկոզ + D-ֆրուկտոզ —> Սախարոզ + ԱԿՖ

(2) ՈՒԿՖ-գլյուկոզ + D-ֆրուկտոզ-6-ֆոսֆատ —> Սախարոզ-6-ֆոսֆատ + ՈՒԿՖ

Սախարոզֆոսֆատսինթազը կարող է օգտագործել միայն ՈՒԿՖ-գլյուկոզը, իսկ սախարոզսինթազը՝ ԱԿՖ, ՈՒԿՖ և ԳԿՖ-գլյուկոզը: Ռեակցիայի (2) արդյունքում առաջացած սախարոզ-6-ֆոսֆատը սախարոզֆոսֆատազի ազդեցությամբ վերածվում է ազատ սախարոզի:

(3) Սախարոզ-6-ֆոսֆատ + H_2O —> Սախարոզ + Օրթոֆոսֆատ

Վերջին տարիների տվյալները վկայում են, որ բույսերում սախարոզի կենսասինթեզն իրականանում է (2) և (3) ռեակցիաների համակցությամբ: Ներկայումս ապացուցված է, որ սախարոզը սինթեզվում է ՈՒԿՖ-գլյուկոզից և ֆրուկտոզ-6-ֆոսֆատից ֆոտոսինթեզող բջիջների ոչ միայն քլորոպլաստներում, այլ նաև ցիտոպլազմում: Չֆոտոսինթեզող հյուսվածքներում սախարոզի առաջացումը ՈՒԿՖ-գլյուկոզից և ֆրուկտոզ-6-ֆոսֆատից նույնպես տեղի է ունենում ցիտոպլազմում: Ենթադրվում է, որ սախարոզսինթազ ֆերմենտը կապված չէ սախարոզի կենսասինթեզի

հետ, այլ կապված է օսլայի վերածման հետ՝ կատալիզելով ռեակցիան (1) աջից ձախ և առաջացնելով ԱԿՖ-գլյուկոզ սախարոզից:

Կենդանի օրգանիզմներում շաքարները շնչառական ռեակցիաների հիմնական սուբստրատներ են, որոնց ընթացքում սինթեզվում են կարևոր կենսաէներգիական արգասիքներ և միջանկյալ մետաբոլիտներ: Նրանք օրգանիզմում կենսական նշանակություն ունեցող քիմիական միացությունների սինթեզի համար նախնական նյութեր են:

Շաքարները պարունակվում են բույսերի բոլոր օրգաններում, որոշ բուսական մթերքներում (բանջարեղեններ, հատապտուղներ) որպես պահուստային նյութեր նրանք կուտակվում են մեծ քանակությամբ: Բույսերը հիմնականում պարունակում են գլյուկոզ, ֆրուկտոզ և սախարոզ: Բույսերում շաքարների քանակությունը տատանվում է կախված մշակույթի գենոտիպից, բնակլիմայական պայմաններից, բույսերի սննդառության ռեժիմից: Շաքարներով հատկապես հարուստ է խաղողը, որոշ տեսակների մոտ շաքարի քանակությունը կազմում է 28-30%: Խաղողի պտուղներում պարունակվում է գլյուկոզ և ֆրուկտոզ, սակայն որոշ տեսակներում կարող է պարունակվել քիչ քանակությամբ սախարոզ: Մեծ քանակությամբ շաքարներ պարունակում են դեղձի, ծիրանի, խնձորի, տանձի, սալորի, ցիտրուսաինների մշակույթները:

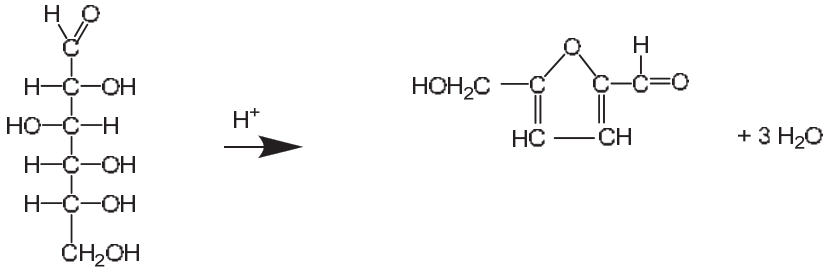
Ներկայումս մշակված են բուսական հումքում շաքարների քանակի որոշման տարբեր մեթոդներ, որոնցից առավել տարածված են թղթային և նրբաշերտ քրոմատոգրաֆիան, իսկ վերականգնող շաքարների քանակական որոշման մեթոդներից են՝ Բերտրանի և ցիանիդային մեթոդները:

Բերտրանի մեթոդը հիմնված է շաքարների և Ֆելինգի ռեակտիվի փոխազդեցության վրա, որի ընթացքում տեղի է ունենում շաքարների օքսիդացում և պղնձի օքսիդի (I) նստվածքի առաջացում: Նստվածքի զանգվածը ուղիղ համեմատական է հետազոտվող լուծույթում շաքարների կոնցենտրացիային: Ցիանիդային

մեթոդը հիմնված է երկաթի ցիանիդի (III) լուծույթով վերականգնող շաքարների լուծույթի տիտրման վրա: Ռեակցիայի ընթացքում շաքարներն օքսիդանում են, իսկ երկաթը վերականգնվում է երկաթի ցիանիդի (II): Տիտրման համար ծախսված երկաթի ցիանիդի (III) լուծույթի քանակով հաշվարկվում է վերականգնող շաքարների քանակությունը բուսական նմուշում:

Մեթոդի սկզբունքը: Մեթոդը հիմնված է թթվային միջավայրում շաքարների և ֆենոլի փոխազդեցության ռեակցիայի վրա, որի արդյունքում առաջանում են կոնդենսացման արգասիքներ (դեղնանարնջագույն գունավորում): Գունավորման ուժգնությունն ուղիղ համեմատական է լուծույթում շաքարների քանակությանը: Թթվային միջավայրում սախարոզը և այլ օլիգոմերներ տաքացնելիս ենթարկվում են հիդրոլիզի՝ առաջացնելով մոնոսախարիդներ:

Մոնոսախարիդները դեհիդրատացման արդյունքում առաջացնում են ֆուրֆուրոլ կամ օքսիմեթիլֆուրֆուրոլ, որոնք փոխազդելով ֆենոլի հետ առաջացնում են դեղնանարնջագույն գունավորում:



D-գլյուկոզ 5-օքսիմեթիլֆուրֆուրոլ

Գունավորված լուծույթի օպտիկական խտությունը չափում են լուսաէլեկտրագունաչափի (ԼԷԳ) կամ սպեկտրոֆոտոմետրի (ՍՖ) օգնությամբ:

Ֆենոլի հետ ռեակցիայի համար անհրաժեշտ է շաքարների լուծույթը մաքրել ամինաթթուներից, որոնք կարող են փոխազդել ֆուրֆուրոլի կամ օքսիմեթիլֆուրֆուրոլի հետ, առաջացնելով մելանոիդիններ: Այդ պատճառով բուսական հումքից շաքարներն անջատելիս իրականացվում է սպիրտային լուծամզում: Սպիրտի գոլորշիացման արդյունքում ստանում են շաքարների ջրային լուծույթներ: Շաքարների քանակությունը հաշվարկվում է համադրելով հետազոտվող նմուշի և հայտնի կոնցենտրացիայով ստանդարտ լուծույթների օպտիկական խտությունները: Նշված մեթոդը տարբերվում է բարձր զգայունությամբ, ինչն էլ թույլ է տալիս հետազոտվող նմուշում որոշել շաքարների քանակությունը մինչև 10 մկգ ճշգրտությամբ:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: Տեխնիկական և վերլուծական կշեռքներ, հոմոգենիզատոր կամ ճենապակյա հավանգ (նկ. 11), ջերմակարգավորվող ջրային բաղնիք, էքսիկատոր, հետադարձ սառնարան, 50 և 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, 5-8 սմ տրամագծով ապակյա ձագար, 10 սմ տրամագծով ճենապակյա թասիկ, 20 մլ ծավալով փորձանոթներ, 150 մլ ծավալով ապակյա բաժակ, ապակյա ձողիկ, ֆիլտրի թուղթ, ԼԷԳ կամ ՍՖ:

Հոմոգենիզատոր

Ճենապակյա հավանգներ

Ճենապակյա թասիկներ

Ապակյա ձագարներ

Նկար 11. Լաբորատոր աշխատանքների համար նախատեսված պարագաներ

Ռեակտիվներ: Ֆենոլ (C_6H_5OH), ծծմբական թթու (H_2SO_4 1.84 գ/սմ^3), սախարոզ, 96% էթիլ սպիրտ:

Լուծույթների պատրաստում: 1% C_6H_5OH ջրային լուծույթ (0.5 գ C_6H_5OH լուծել քիչ քանակությամբ թորած ջրով 150 մլ ծավալով ապակյա բաժակի մեջ): Լուծույթը տեղափոխել 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ, ծավալը հասցնել նիշին, փակել խցա-

նով, խառնել: Ստացված լուծույթը տեղափոխել մուգ ապակյա տարայի մեջ:

Սախարոզի ստանդարտ լուծույթ: 100 մգ ± 0.01 մգ նախապես թերմոստատում չորացված (60°C) սախարոզը լուծել 100 մլ թորած ջրում: Ստացված լուծույթի 1 մլ-ում պարունակվում է 1մգ սախարոզ:

80% էթիլ սպիրտի լուծույթ (83.3 մլ 96% էթիլ սպիրտը նոսրացնել թորած ջրով 100 մլ ծավալով չափիչ գլանի մեջ, ծավալը հասցնել նիշին):

Աշխատանքի ընթացքը: Շաքարների լուծամզման համար 1-2 գ բուսական հումքը մանրացնել հավանգում, ավելացնել 10 մլ էթիլ սպիրտ և տեղափոխել 100 մլ ծավալով կոլբայի մեջ հետադարձ սառնարանով: Տեղադրել ջրային բաղնիք 60°C ջերմաստիճանում 15 րոպե: Սառեցնելուց հետո վերնստվածքը (շաքարների սպիրտային լուծամզվածք) ֆիլտրել 50 մլ ծավալով կոլբայի մեջ: Հետադարձ սառնարանով կոլբայում մնացած նստվածքին ավելացնել 10 մլ էթիլ սպիրտ և կրկնել լուծամզումը ևս 15 րոպե: Սառեցնելուց հետո վերնստվածքը կրկին ֆիլտրել: Կատարել շաքարների երրորդ լուծամզումը վերը նշված եղանակով, որից հետո սպիրտային լուծամզվածքը և կոլբայում բուսական հումքի մնացորդը տեղափոխել ֆիլտրի թղթի վրա: Հետադարձ սառնարանով կոլբայի և ֆիլտրի թղթի նստվածքը 2-3 անգամ լվանալ քիչ քանակությամբ 80% էթիլ սպիրտով: Լուծույթի ծավալն էթիլ սպիրտով հասցնել նիշին (50 մլ):

Չոր բուսական հումքի հետազոտման համար անհրաժեշտ է կշռել 0.2 – 0.5 գ բույս՝ կախված բուսական հումքում պարունակվող շաքարի քանակությունից: Բուսական հումքը տրորել հավանգում: Մանրեցված բույսը տեղադրել հետադարձ սառնարանով կոլբայի մեջ, ավելացնել է 10 մլ էթիլ սպիրտ և տեղադրել ջրային բաղնիք 60°C ջերմաստիճանում 15 րոպե: Վերնստվածքը ֆիլտրել փորձանոթի մեջ: Հաջորդ երկու լուծամզումները կատարել վերը

նշված եղանակով, լուծամզվածքները ֆիլտրել չափիչ փորձանոթների մեջ: Ֆիլտրի թղթի նստվածքը լվանալ 80%-անոց էթիլ սպիրտով, ծավալը հասցնել նիշին (50 մլ):

Շաքարների ջրային լուծույթների պատրաստման համար ճենապակյա թասիկի մեջ լցնել 5 մլ սպիրտային լուծամզվածք, տեղադրել ջրային բաղնիք 60°C ջերմաստիճանում մինչև սպիրտի գոլորշիացումը: Շաքարների նստվածքը լուծել 10 մլ թորած ջրով՝ խառնելով ապակյա ձողիկով: Ստացված շաքարների ջրային լուծույթը տեղափոխել 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ և ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին:

Շաքարների ռեակցիան ֆենոլի հետ H_2SO_4-ի առկայությամբ կատարել քարշիչ պահարանում, օգտագործելով 20 մլ ծավալով ջերմակայուն փորձանոթներ: Փորձանոթի մեջ լցնել 1 մլ շաքարների ջրային լուծույթ, ավելացնել 1 մլ 1% C_6H_5OH-ի լուծույթ, խառնել: Փորձանոթին դանդաղ ավելացնել 5 մլ խիտ H_2SO_4, խառնել և թողնել 10 րոպե: Այնուհետև տեղադրել ջրային բաղնիք 30°C ջերմաստիճանում 20 րոպե՝ լուծույթի կայուն գունավորման ձևավորման նպատակով: Գունավորված լուծույթը պետք է լինի թափանցիկ: Լուծույթի պղտոր լինելու դեպքում անհրաժեշտ է կրկնել շաքարների ռեակցիան ֆենոլի հետ: Զուգահեռ պատրաստել ստուգիչ նմուշ, որը պարունակում է 1 մլ թորած ջուր, 1մլ C_6H_5OH-ի լուծույթ և 5 մլ խիտ H_2SO_4:

Լուծույթները գունաչափել (ԼԷԳ կամ ՍՖ, 490 նմ ալիքի երկարություն, կյուվետի հաստությունը 1 սմ): Յուրաքանչյուր լուծույթի օպտիկական խտությունն անհրաժեշտ է չափել առնվազն երկու անգամ: Օպտիկական խտության տարբերությունը չպետք է գերազանցի 0.01 միավորը:

Շաքարների քանակությունը հետազոտվող նմուշում որոշում են տրամաչափական կորով:

1 մգ/մլ սախարոզի ստանդարտ լուծույթը նոսրացնել հետևյալ եղանակով՝ 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբաների մեջ լցնել 1,

3, 5, 7, 9, 12, 15 մլ սախարոզի ստանդարտ լուծույթ, ծավալները թորած ջրով հասցնել նիշին, խառնել: Յուրաքանչյուր կոլբայում կպարունակվի համապատասխանաբար՝ 1, 3, 5, 7, 9, 12, 15 մգ սախարոզ: Յուրաքանչյուր կոլբայից 1-ական մլ շաքարի լուծույթ տեղափոխել ջերմակայուն փորձանոթների մեջ և կատարել ֆենոլի և խիտ ծծմբական թթվի հետ ռեակցիան վերը նշված եղանակով: Կայուն գունավորում ստանալուց հետո գունաչափել: Ստացված արժեքների հիման վրա կառուցել տրամաչափական կոր: Աբսցիսների առանցքին տեղադրել սախարոզի համապատասխան քանակները (մգ), օրդինատներին՝ շաքարի լուծույթի օպտիկական խտության արժեքները:

Տվյալների մշակում: Տրամաչափական կորի օգնությամբ ստացված հետազոտվող նմուշի օպտիկական խտության արժեքով որոշում են սպիրտային լուծույթներում պարունակվող շաքարների քանակությունը (մգ):

Բուսական հումքում շաքարների քանակությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$C = \frac{M \cdot 50 \cdot 100}{H \cdot 5},$$

որտեղ՝

C - բուսական հումքում շաքարների քանակությունը, %,

M – տրամաչափական կորի օգնությամբ ստացված շաքարների քանակությունը, մգ,

50 – շաքարի սպիրտային լուծամզվածքի ընդհանուր ծավալը, մլ,

H – բուսական հումքի կշիռը, մգ,

5 – գոլորշիացման համար վերցված շաքարների սպիրտային լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

100 – վերահաշվարկի գործակիցը, %:

Ստուգիչ հարցեր

1. Ո՞ր ածխաջրերն են պատկանում վերականգնող շաքարների դասին:
2. Շաքարների կենսաբանական դերը բուսական օրգանիզմներում:
3. Ինչպե՞ս են ազդում շաքարները բուսական հումքի որակի վրա:
4. Ինչպիսի՞ միացություններ են մելանոիդինները և ինչպե՞ս են դրանք ազդում բուսական հումքի որակի վրա:
5. Ի՞նչ մեթոդներով են որոշում շաքարների քանակությունը բուսական հումքում:
6. Ֆենոլային մեթոդով շաքարների որոշման ժամանակ սպիրտային լուծամզման նշանակությունը:
7. Ի՞նչ եղանակով են ստանում շաքարների ջրային լուծույթը:
8. Ի՞նչ եղանակով են գունավորում շաքարների լուծույթը ֆենոլային ռեակտիվով:
9. Ինչպե՞ս են գունաչափում շաքարների լուծույթները:
10. Ինչպե՞ս են կառուցում տրամաչափական կորը շաքարների քանակությունը որոշելու համար:
11. Ի՞նչ նշանակություն ունեն շաքարները բույսերում:
12. Ի՞նչ ազդեցություն են թողնում բնակլիմայական պայմանները և սննդառության ռեժիմը շաքարների քանակության վրա:

5. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՃԱՐՊԵՐԻ ԹԹՎԱՅԻՆ ԹՎԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ

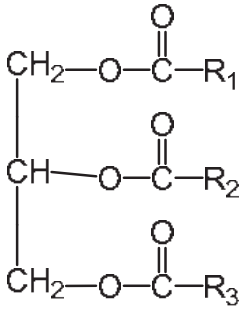
Ճարպերը և ճարպանման միացություններն (լիպոիդներ) անվանում են լիպիդներ: Լիպիդների խմբին են պատկանում իզոպրենոիդային միացությունները՝ ստերոլներ, կարոտինոիդներ, քլորոֆիլներ և այլն: Լիպիդներն առկա են հյուսվածքներում: Նրանք չեն լուծվում ջրում, լուծվում են օրգանական լուծիչներում (էթանոլ, ացետոն և այլն): Լուծիչներն անհրաժեշտ է խառնել ջրի հետ, քանի որ թարմ բուսական հյուսվածքը պարունակում է 70% ջուր: Բուսական աշխարհում հայտնաբերված է ավելի քան 200 տեսակ ճարպաթթուներ: Ացիլային լիպիդներում մեծ քանակություն կազմող լիպիդները կոչվում են «գլխավոր», մյուսները՝ «երկրորդային»: Գլխավոր ճարպաթթուները բաժանվում են երեք խմբի.

- հագեցած՝ պալմիտինաթթու (16:0), ստեարինաթթու (18:0), արախինաթթու (20:0), բեգենաթթու (22:0):
- մոնոչհագեցած (պարունակում են մեկ կրկնակի կապ)՝ օլեինաթթու (18:1Δ9):
- պոլիչհագեցած (պարունակում են մեկից ավելին կրկնակի կապ)՝ լինոլաթթու (18:2Δ9,12), լինոլենաթթու (18:3Δ9,12,15):

Գլխավոր ճարպաթթուները պարունակվում են բույսի բոլոր հատվածներում: Նրանց է պատկանում լինոլաթթուն (50-70%):

Կտավատի յուղում բավականին բարձր է լինոլաթթվի պարունակությունը, ձիթայուղում՝ օլեինաթթվի: Քլորոպլաստների լիպիդները հարուստ են α-լինոլենաթթվով: Բուսական ճարպերը պարունակում են ավելի շատ չհագեցած ճարպաթթուներ, հետևաբար սենյակային ջերմաստիճանի պայմաններում գտնվում են հեղուկ վիճակում: Կենդանական ճարպերը պարունակում են հագեցած ճարպաթթուներ և սենյակային ջերմաստիճանի պայմաններում գտնվում են պինդ վիճակում: Բուսական ճարպերից կոկոսի յուղը պարունակում է մինչև 50% լաուրինաթթու (12:0) և միրիստինաթթու (14:0), սենյակային ջերմաստիճանի պայմաններում այն պինդ է: Այսպիսով՝ բուսական հյուսվածքներում ճարպերի հատկություններն որոշվում են հագեցած և չհագեցած ճարպաթթուների տոկոսային հարաբերությամբ: Կարմիր ջրիմուռի լիպիդները պարունակում են մինչև 50% արախիդոնաթթու, որը հայտնաբերված է նաև քարաքոսների և պտերի մոտ, սակայն բացակայում է բարձրակարգ բույսերում: Բոլոր պոլիչհագեցած ճարպաթթուները կենսաթաղանթների ֆոսֆոլիպիդների պարտադիր բաղադրիչ են:

Բուսական օրգանիզմներում ճարպաթթուները և տրիգլիցերիդները բույսերի պահուստային նյութերն են: Բարձրակարգ բույսերում տրիգլիցերիդները պարունակվում են ինչպես վեգետատիվ, այնպես էլ վերարտադրողական օրգաններում: Բույսերի սերմերում տրիգլիցերիդները կուտակվում են որպես պահուստային նյութեր:



տրիգլիցերիդ

R_1, R_2, R_3- ճարպաթթուների ռադիկալներ

Բազմաթիվ ճարպաթթուների ածանցյալներ օժտված են մանրէասպան հատկություններով, ինչպես նաև խթանում են բույսի աճը: Մոմերը, ֆոսֆոլիպիդները և գլիկոլիպիդները կատարում են կառուցվածքային դեր: Ֆոսֆոլիպիդները և գլիկոլիպիդները թաղանթների կառուցվածքային բաղադրիչներ են: Ֆոտոսինթեզի գործընթացում մեծ է գլիկոլիպիդների դերը:

Բույսերում ճարպաթթուների կենսասինթեզը տեղի է ունենում ցիտոզոլում և պլաստիդներում՝ սինթազ ֆերմենտի ազդեցությամբ: Բույսերում լիպիդների կատաբոլիզմն ունի կարևոր ֆիզիոլոգիական և էներգիական նշանակություն, որի արդյունքում հեռացվում են խախտված կառուցվածքով կենսամոլեկուլները: Շնչառության ընթացքում ացետատի ներգրավման արդյունքում առաջանում է ԱԵՖ, ինչպես նաև այլ մակրոէրգիկ միացություններ: Կատաբոլիզմի արդյունքում առաջացած որոշ միջանկյալ արգասիքներ օժտված են հորմոնների հատկությամբ, հանդիսանում են նյութափոխանակության խթանիչներ և արգելակիչներ, ինչպես նաև ազդում են բույսի աճի վրա:

Յուղատու հումքից անջատված բուսական ճարպերը ոչ մեծ քանակությամբ պարունակում են ֆոսֆոլիպիդներ և ստերոիդ լիպիդներ (0.5-3%), ազատ ճարպաթթուներ (0.5-1.5%), տոկոֆերոլներ (50-100%), գունանյութեր (կարոտինոիդներ, քլորոֆիլ): Բացի այդ որոշ բույսերի ճարպերը կարող են պարունակել ալկալոիդներ, գլիկոզիդներ, դաբաղանյութեր, եթերային յուղեր:

Երկարատև պահպանման ժամանակ հիդրոլիտիկ գործընթացների ակտիվացման արդյունքում բուսական հումքում բարձրանում է ազատ ճարպաթթուների կոնցենտրացիան: Ակտիվացումը տեղի է ունենում ինչպես ֆերմենտների մասնակցությամբ (լիպազների, ֆոսֆոլիպազների), այնպես էլ ոչ ֆերմենտային ճանապարհով: Ացիլգլիցերոլների հիդրոլիզը ոչ ֆերմենտային ճանապարհով ուժեղանում է բարձր ջերմաստիճանի պայմաններում: Ազատ ճարպաթթուների առկայությունը վատացնում է բու-

սական ճարպի համային հատկությունները, ուժեղացնում է օքսիդացման գործընթացները՝ առաջացնելով ճարպաթթուների պերօքսիդներ և հիդրոպերօքսիդներ, ալդեհիդներ և կետոններ: Բուսական ճարպերի հատկությունները բնորոշվում են թթվային, յոդային և օճառացման թվով:

Ճարպերում ազատ ճարպաթթուների քանակությունը գնահատելու համար կարևոր է թթվային թվի որոշման ցուցանիշը: Թթվային թիվն արտահայտվում է 1 գ ճարպում ազատ ճարպաթթուների չեզոքացման համար ծախսված KOH-ի քանակով (մգ): Թարմ բուսական ճարպի համար այդ ցուցանիշը գտնվում է 0.5-2 սահմանում, երկարատև պահպանման ժամանակ կարող է բարձրանալ մինչև 3-3.5: Եթե ճարպի թթվային թիվը բարձր է 3.5 ցուցանիշից, այն օգտագործվում է տեխնիկական նպատակներով: Չհասունացած կամ ծլած սերմերում ճարպի թթվային թիվը կարող է հասնել 20-40-ի:

Մեթոդի սկզբունքը: Բուսական ճարպի նմուշը խառնում են NaCl-ի հագեցած լուծույթի հետ, որից հետո ցուցանշիչի առկայությամբ ազատ ճարպաթթուները տիտրում են KOH-ի ջրային լուծույթով համաձայն հետևյալ ռեակցիայի.

$$RCOOH + KOH = RCOOK + H_2O:$$

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: Լաբորատոր կշեռք, 5 մլ ծավալով միկրոբյուրետ (նկ. 12), 100 մլ ծավալով կոնաձև կոլբաներ, 6-8 սմ տրամագծով ապակյա ձագար, 50 և 250 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, 100 մլ և 1 լ ծավալով քիմիական բաժակներ:

Միկրոբյուրետ **Քիմիական բաժակ**

Նկար 12.

Ռեակտիվներ: Նատրիումի քլորիդ (NaCl), կալիումի հիդրոքսիդ (KOH) (ֆիքսանալ), 1% ֆենոլֆտալեինի ($C_{20}H_{14}O_4$) սպիրտային լուծույթ, թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: 0.1 Մ KOH-ի ջրային լուծույթ (պատրաստել ֆիքսանալից 1 լ ծավալով չափիչ կոլբայում):

NaCl-ի հագեցած լուծույթ (100 մլ ծավալով քիմիական բաժակի մեջ տաքացնել 80 մլ թորած ջուր (80°C) և հագեցնել NaCl-ով): Լուծույթը սառեցնել և ֆիլտրել:

1% $C_{20}H_{14}O_4$ (0.1 գ $C_{20}H_{14}O_4$ լուծել 10 մլ 50% էթիլ սպիրտում):

Աշխատանքի ընթացքը: Հետազոտության համար վերցնել ազատ ճարպաթթուներ պարունակող բուսական ճարպի նմուշներ (եգիպտացորենի, արևածաղկի, ձիթապտղի յուղեր): Բուսական ճարպի կշիռը սահմանում են ըստ աղյուսակի (աղ.1): Կոնաձև կոլբան տեղադրել կշեռքին և պիպետով ավելացնել բուսական ճարպի անհրաժեշտ քանակությունը: Բուսական ճարպին ավելացնել 50 մլ NaCl-ի հագեցած լուծույթ և 5 կաթիլ $C_{20}H_{14}O_4$-ի լուծույթ: Ստացված լուծույթը խառնել և տիտրել 0.1 Մ KOH-ի լուծույթով մինչև վարդագույն գունավորման առաջացումը, որը կայուն է 30 վայրկյանի ընթացքում: Միկրոբյուրետի սանդղակով

որոշել տիտրման համար ծախսված KOH-ի լուծույթի ծավալը: Զուգահեռ պատրաստել ստուգիչ նմուշ, որը պարունակում է 50 մլ NaCl-ի հագեցած լուծույթ և 5 կաթիլ $C_{20}H_{14}O_4$-ի լուծույթ: Փորձնական և ստուգիչ նմուշների տիտրման համար ծախսված KOH-ի քանակի տարբերությունն օգտագործում են թթվային թվի հաշվարկման ժամանակ:

Աղյուսակ 1.

Թթվային թվի որոշման համար առաջարկվող ճարպի կշիռները

Սպասվող թթվային թիվը	Ճարպի կշիռը, գ
< 1	10
1-4	< 2.5
4-15	> 1.0
15-75	0.5
> 75	0.1

* Բաց և մուգ գունավորում ունեցող ճարպերի թթվային թվի որոշման ժամանակ որպես ցուցանշիչ ցանկալի է օգտագործել 1% թիմոլի ջրային լուծույթ, որը տալիս է կապույտ գունավորում:

Արդյունքների մշակում: Ճարպի թթվային թիվը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$Թթ = \frac{5.611 \cdot V \cdot K}{H},$$

որտեղ՝

Թթ – թթվային թիվը KOH-ի մգ-ում, 1 գ ճարպի հաշվարկով,

V – ազատ ճարպաթթուների տիտրման համար ծախսված 0.1 Մ KOH-ի լուծույթի ծավալը (փորձնական և ստուգիչ նմուշի տարբերությունը), մլ,

K – KOH-ի տիտրի ուղղումը (K=1, քանի որ լուծույթը պատրաստվել է ֆիքսանալից),

H – բուսական ճարպի կշիռը, գ,

5.611 – KOH-ի զանգվածը (մգ), 1 մլ 0.1 Մ KOH-ի լուծույթում:

Օգտագործելով օլեինաթթվի վերահաշվարկի գործակիցը (0.503), որոշում են ազատ ճարպաթթուների պարունակությունը, %

$$Ճ.թ.(\%) = \frac{Թթ \cdot 282.3 \cdot 100}{56.11 \cdot 1000} = Թթ \cdot 0.503$$

որտեղ՝

Թթ – թթվային թիվը

282.3 – օլեինաթթվի մոլային զանգվածը, գ/մոլ

56.11 – KOH-ի մոլային զանգվածը, գ/մոլ

1000 – թթվային թվի վերահաշվարկը (մգ-ից գ-ի)

100 – վերահաշվարկի գործակիցը, %:

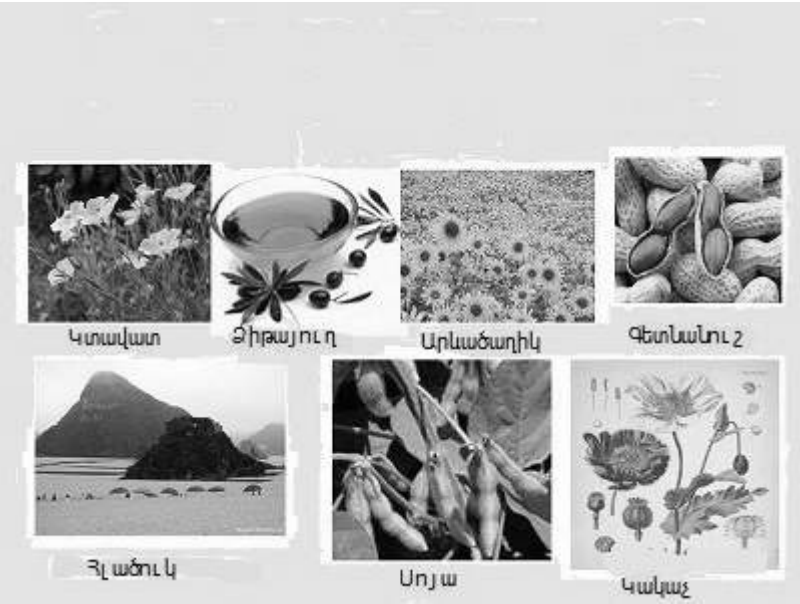
Ստուգիչ հարցեր

1. Ո՞ր գործոններ են ազդում բուսական ճարպում ազատ ճարպաթթուների քանակության բարձրացման վրա:
2. Ի՞նչ է թթվային թիվը և ինչպե՞ս է այդ ցուցանիշը ազդում բուսական ճարպերի որակի վրա:
3. Ո՞րն է թթվային թվի որոշման սկզբունքը:
4. Ի՞նչ ռեակտիվներ են օգտագործվում թթվային թվի որոշման համար:
5. NaCl-ի հագեցած լուծույթում բուսական ճարպերի տիտրման առանձնահատկությունները KOH-ի ջրային լուծույթներով:

6. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՃԱՐՊԵՐՈՒՄ ՅՈԴԱՅԻՆ ԹՎԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՀԱՆՈՒՍԻ ՄԵԹՈԴՈՎ

Բուսական ճարպերի սննդային արժեքն որոշվում է ոչ միայն նրանց էներգիածին կարևորությամբ, այլ նաև պոլիչհագեցած ճարպաթթուների (լինոլաթթվի, լինոլենաթթվի) պարունակությամբ, որոնք չեն սինթեզվում մարդու և կենդանիների օրգանիզմներում: Այդ իսկ պատճառով բուսական ճարպերն անփոխարինելի ճարպաթթուների աղբյուրներ են:

Կտավատի, արևածաղկի, կակաչի, սոյայի (նկ. 13) յուղերում անփոխարինելի ճարպաթթուների պարունակությունը կազմում է ընդհանուր ճարպաթթուների զանգվածի 40-80%-ը:



Նկար 13. Յուղատու բույսեր

Ճարպերում չհագեցած ճարպաթթուների բնութագրման համար օգտագործում են յոդային թվի ցուցանիշը: Այն արտահայտվում է յոդի քանակով (գ), որը կարող է կապվել 100 գ ճարպի հետ: Յոդը կապվում է ճարպի հետ չհագեցած ճարպաթթուների կրկնակի կապերի ճեղքման արդյունքում: Հետևաբար, որքան շատ են կրկնակի կապերը ճարպի թթվային մնացորդներում, այնքան բարձր է յոդային թվի ցուցանիշը: Կենդանական ճարպերը պարունակում են հագեցած ճարպաթթուներ և ունեն յոդային թվի ցածր ցուցանիշներ (30-70): Բուսական ճարպերը, պարունակելով հիմնականում չհագեցած ճարպաթթուներ, տարբերվում են յոդային թվի բարձր ցուցանիշով (80-180):

Որոշ բուսական յուղերի յոդային թվի ցուցանիշներն են. արևածաղկի՝ 120-140, սոյայի՝ 120-130, կտավատի՝ 150-180, եգիպտացորենի՝ 110-130: Բուսական յուղերի յոդային թիվը փոփոխվում է սերմերի հասունացման շրջանում: Չհասունացած սերմերի յուղն ունի հագեցած ճարպաթթուների բարձր պարունակություն, հետևաբար նրանում ցածր է յոդային թիվը: Հասունացման շրջանում ուժեղանում է չհագեցած ճարպաթթուների սինթեզը, ինչի հետևանքով 20-30 միավորով բարձրանում է յոդային թիվը: Օրինակ՝ արևածաղկի սերմերի հասունացման շրջանում նվազում է պալմիտինաթթվի և ստեարինաթթվի քանակությունը 25-30%-ից հասնելով 6-10%-ի, իսկ լինոլաթթվի քանակությունը կրկնապատկվում է հասունացած սերմերում՝ հասնելով 65-80%-ի: Կտավատի սերմերում հասունացման շրջանում ուժեղանում է լինոլենաթթվի սինթեզը, այն դեպքում, երբ այլ ճարպաթթուների քանակությունը նվազում է:

Յոդային թվի որոշումը հիմված է ճարպի և ակտիվացված յոդի փոխազդեցության վրա: Հանուսի մեթոդով յոդն ակտիվանում է բրոմի միջոցով, որը քացախաթթվում լուծելիս յոդի հետ առաջացնում է յոդի բրոմիդ: Ստացված լուծույթը կոչվում է Հանուսի ռեակտիվ:

Մեթոդի սկզբունքը: Օրգանական լուծիչում լուծված բուսական յուղի նմուշին ավելացնում են Հանուսի ռեակտիվ, որն էլ փոխազդում է չհագեցած ճարպաթթուների մնացորդների հետ: Ռեակցիայի ընթացքում տեղի է ունենում չհագեցած ճարպաթթուների կրկնակի կապերի տեղում բրոմի (Br) և յոդի (J) միացում:

$$RCH_2CH{=}CH(CH_2)nCOOH + JBr \longrightarrow RCH_2CHBr{-}CHJ(CH_2)nCOOH$$

Յոդի բրոմիդի (JBr) մնացորդը մշակում են KJ-ի լուծույթով, որոնց փոխազդեցության արդյունքում առաջանում է մոլեկուլային յոդ (J_2).

$$JBr + KJ = KBr + J_2 :$$

Անջատված յոդի քանակությունը որոշում են նատրիումի հիպոսուլֆիտով ($Na_2S_2O_3$) տիտրման եղանակով.

$$2Na_2S_2O_3 + J_2 = 2NaJ + Na_2S_4O_6:$$

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: Տեխնիկական և վերլուծական կշեռքներ, 100 և 200 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, պիպետներ, 200 մլ ծավալով ապակյա բաժակ, 8 սմ տրամագծով ձագար:

Ռեակտիվներ: Քլորոֆորմ ($CHCl_3$) (չպետք է գունավորվի KJ-ի լուծույթի հետ խառնելիս), կալիումի յոդիտ (KJ), ջրալուծ օսլա, հիպոսուլֆիտ ($Na_2S_2O_3$), բյուրեղային յոդ (J), բրոմ (Br), սառցե քացախաթթու (CH_3COOH), թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: Հանուսի ռեակտիվ (ապակյա բաժակի մեջ լուծել 1.3 գ J և 10 մլ CH_3COOH): Ստացված լուծույթը տեղափոխել 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ, ավելացնել 0.26 մլ (0.82 գ) բրոմ: Պարունակությունը խառնել և ծավալը CH_3COOH-ով հասցնել նիշին: Անվտանգության կանոնների պահպանման նպատակով Հանուսի ռեակտիվը պատրաստում են քարշիչ պահարանում:

20% KJ (12.5 գ KJ-ը լուծել 50 մլ թորած ջրում): Լուծույթը պահել մուգ ապակյա տարայում:

0.1 Ն $Na_2S_2O_3$ (2.481 գ $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ լուծել 50 մլ եռացված և սառեցված թորած ջրում): Լուծույթը տեղափոխել 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ, ծավալը հասցնել նիշին: Փորձանոթը փակել խցանով, խառնել: Լուծույթը պահել 10 օր մութ պայմաններում: Կարելի է պատրաստել նաև ֆիքսանալից:

1% օսլա (1 գ ջրալուծ օսլան լուծել 20 մլ թորած ջրում): Ստացված լուծույթը խառնելով ավելացնել 80 մլ տաք ջրին (70°C) և տաքացնել մինչև լուծույթի պարզելը: Օսլայի լուծույթը սառեցնել և պահել սառնարանում 2 շաբաթ:

Աշխատանքի ընթացքը: 200 մլ ծավալով չափիչ կոլբայում կշռել բուսական յուղ համաձայն աղյուսակի (աղ. 2): Կշռելու ընթացքում յուղի կաթիլները չպետք է դիպչեն փորձանոթի պատերին: Բուսական յուղին ավելացնել 10 մլ $CHCl_3$, փակել խցանով (խցանը թրջել 20% KJ-ի լուծույթում): Փորձանոթի պարունակությունը խառնել մինչև բուսական յուղի լիարժեք լուծվելը (կարելի է տաքացնել 30°C ջերմաստիճանում): Բուսական յուղի լուծույթին ավելացնել 25 մլ Հանուսի ռեակտիվ: Փակել KJ-ի լուծույթում թրջած խցանով, խառնել: Հանուսի ռեակտիվը և $CHCl_3$-ը ավելացնել քարշիչ պահարանում: Ռեակցիայի ընթացքի համար փորձանոթը պահել մութ պայմաններում որոշակի ժամանակահատվածում համաձայն աղյուսակի (աղ. 2)

Աղյուսակ 2

Յոդային թվի որոշման համար բուսական յուղի կշիռները

Յոդային թիվը	**Բուսական յուղի կշիռը, գ**	**Ռեակցիայի տևողությունը (25-30°C), ժամ**
<30	0,7-1	0.5
30-60	0.5-0.6	0.5
60-100	0.3-0.4	0.5
100-130	0.2-0.3	1
130-160	0.15-0.2	1
160-200	0.1-0.15	1
Կտավատի յուղ	0.05-0.07	1

Ժամանակը լրանալուն պես նմուշին ավելացնել 10 մլ KJ-ի լուծույթ և 50 մլ թորած ջուր, խառնել: Առաջացած մոլեկուլային յոդը տիտրել 0.1 Ն $Na_2S_2O_3$-ի լուծույթով մինչև թույլ դեղին գունավորման առաջացումը, որից հետո ավելացնել 0.5 մլ օսլայի լուծույթ (կապույտ գունավորում) և շարունակել տիտրել մինչև գունազրկումը:

Զուգահեռ նույն եղանակով որոշել Հանուսի ռեակտիվում յոդի քանակությունը: Փորձանոթի մեջ լցնել 10 մլ $CHCl_3$, ավելացնել 25 մլ Հանուսի ռեակտիվ: Փակել խցանով և պահել մութ պայմաններում հետազոտվող նմուշի հետ միասին: Ժամանակը լրանալուն պես ստուգիչ փորձանոթին ավելացնել 50 մլ ջուր և 10 մլ KJ-ի լուծույթ: Լուծույթը խառնել և տիտրել 0.1Ն $Na_2S_2O_3$-ով մինչև թույլ դեղին գունավորման առաջացումը, որից հետո ավելացնել 0.5 մլ օսլայի լուծույթ (կապույտ գունավորում) և շարունակել տիտրել մինչև գունազրկումը: Ստուգիչ և հետազոտվող փորձանոթների տիտրման համար ծախսված $Na_2S_2O_3$-ի քանակների տարբերությամբ որոշել յոդային թիվը:

Արդյունքների մշակում: Յոդային թիվը հաշվում են հետևյալ բանաձևով.

$$Յթ = \frac{(V_1 - V_2)\cdot K\cdot 0.01269\cdot 100}{H},$$

որտեղ՝

$Յ_{թ}$ – յոդային թիվը (գ), 100 գ ճարպի հաշվարկով,

V_1 – ստուգիչ նմուշի տիտրման համար ծախսված 0.1 Ն $Na_2S_2O_3$-ի ծավալը, մլ,

V_2 – հետազոտվող նմուշի տիտրման համար ծախսված 0.1 Ն $Na_2S_2O_3$-ի ծավալը, մլ,

K – 0.1 Ն $Na_2S_2O_3$-ի տիտրի ուղղումը,

0.01269–1մլ 0.1 Ն $Na_2S_2O_3$-ի լուծույթում պարունակվող յոդի քանակությունը, գ,

100 – վերահաշվարկ 100 գ ճարպի վրա,

H – բուսական յուղի կշիռը, գ:

Յոդային թվի հիման վրա գնահատում են հետազոտվող բուսական հումքի որակը և ճարպաթթուների բաղադրությունը:

Ստուգիչ հարցեր

1. Ինչպե՞ս է օգտագործվում յոդային թիվը բուսական յուղերի սննդային և տեխնիկական հատկությունների գնահատման համար:
2. Ինչպե՞ս են որոշում յոդային թիվը:
3. Ո՞րն է Հանուսի մեթոդով յոդային թվի որոշումը:
4. Ինչի՞ համար է անհրաժեշտ ստուգիչ նմուշը:
5. Նշել հիպոսուլֆիտով յոդի լուծույթի տիտրման առանձնահատկությունը:
6. Ինչպե՞ս է իրականացվում ստուգիչ և հետազոտվող նմուշների յոդային թվի որոշումը:
7. Ինչպե՞ս է փոփոխվում բուսական յուղի որակը բնակլիմայական պայմանների ազդեցությամբ:
8. Ինչո՞ւ ավելցուկային ազոտային սննդառության ժամանակ վատանում է յուղատու բույսերի որակը:

ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ

Կենդանի օրգանիզմներում կենսաքիմիական ռեակցիաներն իրականանում են շնորհիվ կենսաբանական կատալիզատորների՝ ֆերմենտների: Ֆերմենտները սպիտակուցների մոլեկուլների յուրահատուկ ձևեր են, որոնք օրգանիզմների բջիջներում կատալիզում են կենսաքիմիական փոխակերպումները:

Ֆերմենտների դասակարգումը:

Օքսիդոռեդուկտազներ. Կատալիզում են օքսիդավերականգնման ռեակցիաները: Բույսերում ամենատարածված ֆերմենտներից են՝ կատալազը, պերօքսիդազը, դեհիդրոգենազները, օքսիդազները, ցիտոքրոմները:

Տրանսֆերազներ. Տեղափոխում են ֆոսֆորական թթուների, մոնոսախարիդների և ամինաթթուների մնացորդները մեկ միացությունից մյուսին: Բույսերում հատկապես մեծ է գլիկոզիլտրանսֆերազների դերը, որոնք կատալիզում են մոնոսախարիդների մնացորդների տեղափոխումը:

Հիդրոլազներ. Կատալիզում են ջրի մասնակցությամբ բարդ օրգանական միացությունների ճեղքումը պարզ միացությունների (հիդրոլիզ): Այս դասի ներկայացուցիչներն են լիպազը, ամիլազը, պեկտինազը, ցելյուլազը, ֆոսֆատազը, պրոտեոլիտիկ ֆերմենտները:

Լիազներ. Կատալիզում են սուբստրատներից որոշ խմբերի ոչ հիդրոլիտիկ ճեղքումը, առաջացնելով կրկնակի կապեր: Լիազների դասին պատկանող ֆոտոսինթեզի և ֆոտոշնչառության կարևոր ներկայացուցիչն է ռիբուլոզբիֆոսֆատկարբոքսիլազը:

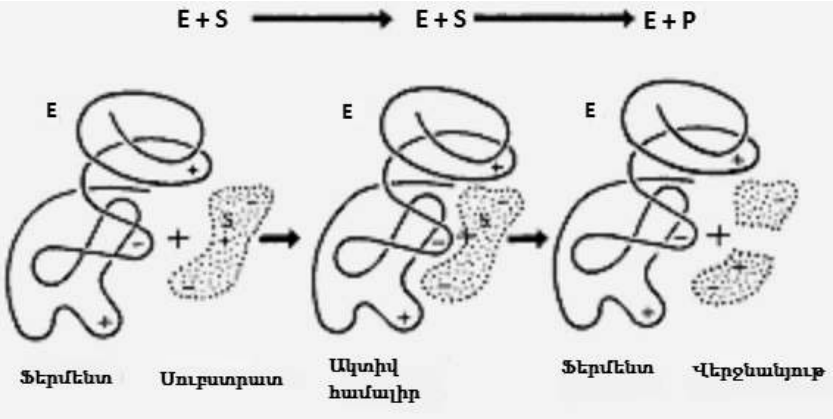
Իզոմերազներ. Կատալիզում են քիմիական միացությունների փոխակերպումն իզոմերների: Այս ֆերմենտները կարևոր են բուսական օրգանիզմների նյութափոխանակության գործընթացում:

Նրանք իրականացնում են ֆոսֆոգլիցերինային ալդեհիդի վերածումը ֆոսֆոդիօքսիացետոնի:

Լիգազներ. Կատալիզում են մոլեկուլների միացումը՝ ԱԵՖ-ի մակրոէրգիկ կապերի հաշվին: Կենդանի օրգանիզմներում բարդ օրգանական միացությունների սինթեզն իրականանում է սինտետազների մասնակցությամբ:

Ֆերմենտների մոլեկուլների կատալիտիկ ակտիվությունն արտահայտվում է հատուկ ցուցանիշով, որը կոչվում է ֆերմենտի ակտիվություն: Այս ցուցանիշը կարելի է որոշել ռեակցիայի ընթացքում ծախսված սուբստրատի և ռեակցիայի արգասիքների կուտակման քանակով:

Օրգանիզմից դուրս ֆերմենտների ակտիվության որոշման ժամանակ սուբստրատի փոխակերպման ամենաբարձր արագություն դիտվում է ֆերմենտային ռեակցիայի սկզբնական փուլում, այնուհետև՝ սուբստրատի կոնցենտրացիայի նվազման և առաջացած արգասիքների կուտակման արդյունքում, ռեակցիայի արագությունը նվազում է: Այդ պատճառով ֆերմենտների կատալիտիկ ակտիվությունն որոշվում է ռեակցիայի սկզբնական արագությամբ և հնարավորինս կարճ ժամանակահատվածում: Ֆերմենտների կատալիտիկ հատկությունների արտահայտման համար ստեղծվում են նպաստավոր պայմաններ՝ ջերմաստիճան, pH:

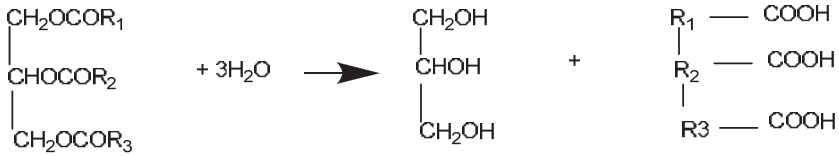


Նկար 14. Ֆերմենտ-սուբստրատ համալիրի առաջացում
E-ֆերմենտ, S-սուբստրատ

Ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունն ընդունված է չափել կատալներով (կատ) կամ միկրոկատալներով (մկկատ), նանոկատալներով (նկատ), պիկոկատալներով (պկատ): 1 կատալը ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունն է, որը կարող է նպաստավոր պայմաններում 1 վայրկյանում կատալիզել 1 մոլ սուբստրատ: Կատալներով չափվում է ֆերմենտի ընդհանուր ակտիվությունը, որը կախված է ինչպես ֆերմենտային սպիտակուցի կատալիտիկ հատկություններից, այնպես էլ ռեակցիային մասնակցող ֆերմենտի մոլեկուլներից:

7. ՉԻԹԱՏՈՒ ԵՎ ՀԱՏԻԿԱՅԻՆ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՍԵՐՄԵՐՈՒՄ ԼԻՊԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ

Լիպազները պատկանում են հիդրոլազների դասին և տարածված են բույսերի և միկրոօրգանիզմների բջիջներում: Նրանց մասնակցությամբ տեղի է ունենում ացիլգլիցերինների հիդրոլիտիկ ճեղքավորումը, հետևաբար այս ֆերմենտներն անվանում են տրիացիլգլիցերոլլիպազ (3.1.1.3.): Լիպազների ազդեցությամբ առաջանում է գլիցերին և ազատ ճարպաթթուներ:



R_1, R_2, R_3 – ճարպաթթուների մնացորդներ

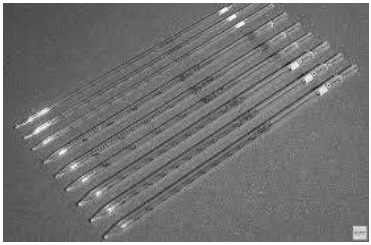
Հիդրոլիզի ընթացքում ֆերմենտն աստիճանաբար կատալիզում է տրիացիլգլիցերինի առաջին բարդ եթերային կապի, այնուհետև երկրորդ և երրորդ կապերի ճեղքումը:

Բույսերի և միկրոօրգանիզմների բջիջներում լիպազը գտնվում է լուծված վիճակում և գործում է նպաստավոր pH-ի պայմաններում (pH 8.0): Լիպազի կատալիտիկ ակտիվության դրսևորման համար անհրաժեշտ է ֆիզիոլոգիական միջավայրում Ca^{2+} կատիոնների առկայությունը: Լիպազի ակտիվությունից է կախված բույսերի տերևներում և սերմերում ճարպերի կուտակումը, որոնք ներգրավվում են նյութափոխանակության գործընթացում: Յուրաքանչյուր բույսի տեսակ ունի որոշակի լիպազների խումբ, որոնք տարբերվում են լուծելիությամբ, pH-ի օպտիմումով և միջավայրի իոնային բաղադրությամբ: Լիպազ ֆերմենտը մեծ քանակությամբ պարունակվում է ձիթատու և հացահատիկային մշակաբույսերում:

Մեթոդի սկզբունքը: Լիպազի ակտիվությունը որոշվում է հիմքի լուծույթով ազատ ճարպաթթուների տիտրման եղանակով, որոնք առաջանում են բույսերից անջատված ֆերմենտների և բուսական ճարպի փոխազդեցության արդյունքում:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: 8-10 սմ տրամագծով ճենապակյա հավանգ, ջրային բաղնիք, 150 մլ ծավալով կոնաձև կոլբաներ, 1-10 մլ ծավալով պիպետներ (նկ. 15), լաբորատոր կշեռք, 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, ճենապակյա բաժակ, թանզիվ:

Ավտոմատ պիպետ



Ապակյա պիպետներ

Նկար 15.

Ռեակտիվներ: Կալիումի դիհիդրոֆոսֆատ (KH_2PO_4), նատրիումի հիդրոֆոսֆատ (Na_2HPO_4), 1% ֆենոլֆտալեինի ($C_{20}H_{14}O_4$) սպիրտային լուծույթ, կալիումի հիդրօքսիդ (KOH), թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: 1/15 Մ ֆոսֆատային բուֆեր, pH 7.4 (1.1866 գ $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ լուծել 100 մլ թորած ջրում, 0.4537 գ KH_2PO_4 լուծել 50 մլ թորած ջրում): Խառնել 81.8 մլ Na_2HPO_4 և 18.2 մլ KH_2PO_4 լուծույթները:

0.05 Մ KOH (0.2806 գ KOH լուծել 30 մլ թորած ջրում, տեղափոխել 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ, ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին):

1% $C_{20}H_{14}O_4$ (0.1 գ $C_{20}H_{14}O_4$-ը լուծել 10 մլ 50% էթիլ սպիրտում):

Աշխատանքի ընթացքը: 2 գ չոր կամ 3 գ ծլած սերմերը տրորել ճենապակյա հավանգում 20 մլ ֆոսֆատային բուֆերով (pH 7.4) 15 րոպե: Ստացված լուծամզվածքը ֆիլտրել 4 տակ ծալված թանզիվով ճենապակյա բաժակի մեջ:

Երկու կոնաձև փորձանոթների մեջ լցնել 5-ական մլ ֆերմենտային լուծամզվածք, փորձանոթներից մեկը տեղադրել եռացող ջրային բաղնիք 10 րոպե (ֆերմենտի ապաակտիվացում): Սառեցնելուց հետո երկու փորձանոթներին ավելացնել 3գ±0,01գ բուսական յուղ, խառնել և տեղադրել թերմոստատ 30°C պայմաններում 30 րոպե: Ժամանակը լրանալուն պես փորձանոթներին ավելացնել 3-ական կաթիլ $C_{20}H_{14}O_4$ -ի լուծույթ և տիտրել 0.05 Մ KOH-ի լուծույթով:

Արդյունքների մշակում: Լիպազի ակտիվությունը հաշվարկվում է հետևյալ բանաձևով.

$$A = \frac{(V_2 - V_1)\cdot K\cdot 2.8}{H\cdot t},$$

որտեղ՝

A - լիպազի ակտիվությունը (1 ժամում հիդրոլիզացված ճարպի տիտրման համար ծախսված KOH-ի մգ-ում), 1 գ բույսի հաշվարկով,

V_1-լիպազի ազդեցությամբ առաջացած ճարպաթթուների տիտրման համար ծախսված 0.05 Մ KOH-ի ծավալը, մլ,

V_2 -ապաակտիվացված ֆերմենտի տիտրման համար ծախսված 0.05 Մ KOH-ի ծավալը, մլ,

K- 0.05 Մ KOH-ի տիտրի ուղղումը,

2.8 - KOH-ի քանակությունը 1 մլ 0.05 Մ KOH-ի լուծույթում, մգ,

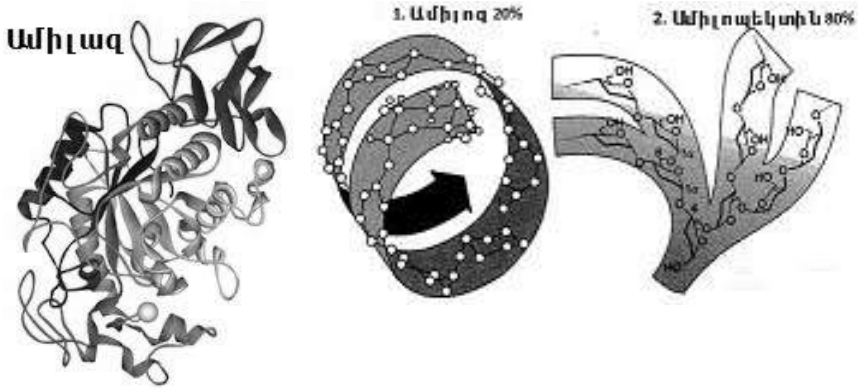
H - բուսական հումքի կշիռը, գ,

t – ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակը, ժամ:

Ստուգիչ հարցեր

1. Ինչպիսի՞ ռեակցիաներ է կատալիզում լիպազ ֆերմենտը:
2. Նշել լիպազի առանձնահատկությունները:
3. Ինչպիսի՞ ազդեցություն է թողնում լիպազը բուսական հումքի որակի վրա:
4. Ի՞նչ գործոնների ազդեցությամբ է բարձրանում լիպազի ակտիվությունը:
5. Ի՞նչ սկզբունքով են որոշում լիպազի ակտիվությունը:
6. Ինչպե՞ս են ստանում լիպազի ֆերմենտային լուծամզվածքը:
7. Որո՞նք են ֆերմենտային ռեակցիայի և լիպազների ազդեցությամբ առաջացած ճարպաթթուների տիտրման առանձնահատկությունները:
8. Ինչպե՞ս է փոխվում լիպազի ակտիվությունը սերմերի բողբոջման շրջանում:

8. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ԱՄԻԼԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ



Նկար 16. Ամիլազի և օսլայի մոլեկուլների կառուցվածքները

Ամիլազները պատկանում են պոլիազների դասին: Կատալիզում են բարձրամոլեկուլային պոլիսախարիդների (օսլա, գլիկոգեն) մոլեկուլում α (1→4) կապերի հիդրոլիտիկ ճեղքումը (նկ. 16): Ամիլազների հիմնական աղբյուրը հանդիսանում են հատիկավորները, նրանց ստացման համար օգտագործում են սպիտակուցով հարուստ բույսերի սերմերը: Ամիլազները մեծ քանակությամբ պարունակվում են ինչպես ծլած, այնպես էլ չծլած ցորենում: Շնորհիվ ամիլազի, բուսական և կենդանական օրգանիզմներում օսլան վերածվում է մալտոզի և գլյուկոզի, որոնք բույսերի հյութերի և կենդանիների արյան միջոցով հասցվում են օրգաններին և ապահովում օրգանիզմներն էներգիայով: Կենդանի օրգանիզմում ամիլազը ճեղքում է օսլան պարզ շաքարների, որոնք ներծծվում են բարակ աղիներում: Ամիլազները կատալիզում են մարսողությունը, վերածում են սննդի նուտրիենտներն օրգանիզմի համար դյուրին յուրացվող նյութերի: Բույսերում նրանք ներկայացված են իզոֆերմենտների մեծ քանակով: Ամիլազներին են պատկանում

α-ամիլազը (3.2.1.1), β-ամիլազը (3.2.1.2), գլյուկոամիլազը (3.2.1.3):

α-ամիլազը ճեղքում է α(1→4) կապերը, առաջացնելով ցածրամոլեկուլային պոլիսախարիդներ՝ դեքստրիններ: Ամիլոպեկտինի մոլեկուլում այդ ֆերմենտը հիդրոլիզում է պոլիսախարիդային շղթայի ճյուղավորված հատվածների միջև առաջացած α(1→4) կապերը, այդ իսկ պատճառով առանց նրա մասնակցության տեղի չի ունենում ամիլոպեկտինի լիարժեք ճեղքավորում: α-ամիլազի կատալիտիկ ակտիվության արտահայտման համար անհրաժեշտ է ռեակցիոն միջավայրում քլորի իոնների առկայությունը, որոնք հանդիսանում են ֆերմենտի խթանիչներ: α-ամիլազն ակտիվորեն սինթեզվում է ցորենի ծլման շրջանում՝ գիբերիլինների մակածմամբ: Ֆերմենտի ակտիվությանը նպաստող պայմաններն են՝ pH 5.6-5.8, 60-65°C ջերմաստիճանը: α-ամիլազն ակտիվանում է Ca^{2+} և Cl^{-} իոններով, ընկճվում՝ Fe^{+}, Cr, Cu-ի իոններով:

β-ամիլազի ազդեցությամբ տեղի է ունենում պոլիսախարիդային շղթայի ծայրերում α(1→4) կապերի ճեղքում՝ 100%-ով մալտոզի առաջացմամբ: Այս ֆերմենտի ազդեցությունը դադարում է օսլայի մոլեկուլի ճյուղավորված հատվածներում, որտեղ գլյուկոզի մնացորդները կապված են α(1→6) կապերով: β-ամիլազը ցորենում գտնվում է ինչպես ազատ, այնպես էլ կապված վիճակում: Կապված վիճակում տեղակայվում են միայն էնդոսպերմում: Այն ակտիվանում է պրոտեազների և թիոլազների ազդեցությամբ: Ֆերմենտի ակտիվությանը նպաստող պայմաններն են՝ pH 4.6-5.6, 40-50°C ջերմաստիճանը: Ֆերմենտի ակտիվությունն ընկճում են ծանր մետաղների իոնները, հալոգենները, օզոնը:

Գլյուկոամիլազը, ինչպես և β-ամիլազը, կատալիզում է պոլիսախարիդային շղթայի ծայրերում α(1→4) կապերի հիդրոլիզը՝ առաջացնելով գլյուկոզի մոլեկուլներ: Գլյուկոամիլազն առավել մեծ քանակությամբ պարունակվում է մանրէածին աղբյուրներում և քիչ քանակությամբ սինթեզվում է բույսերում:

α-ամիլազը հանդիսանում է էնդոամիլազ՝ ճեղքում է սուբստրատի պոլիմեր շղթաներում ներմոլեկուլային կապերը: β-ամիլազը և գլյուկոամիլազը հանդիսանում են էկզոամիլազներ:

Ամիլազի առավել բարձր ակտիվություն դիտվում է սերմերի, սոխուկների, պալարների բողբոջման շրջանում, երբ տեղի է ունենում օսլայի ուժգին ճեղքավորում, ինչի արդյունքում բարձրանում է դեքստրինների, մալտոզի և գլյուկոզի կոնցենտրացիան, որոնք օգտագործվում են սածիլների հյուսվածքների ձևավորման համար:

Ցորենի ամիլալիտիկ ֆերմենտների ուսումնասիրության ընթացքում պարզվել է, որ ամիլազի ակտիվությունը բարձրանում է բույսերի ազոտային անուցման ուժեղացման ժամանակ: Ազոտային պարարտանյութերի ազդեցությամբ ցորենում նվազում է ջրալուծ սպիտակուցների կոնցենտրացիան, որոնք հանդիսանում են ամիլազի արգելակիչներ: Այդ պատճառով քիչ քանակությամբ ֆերմենտային սպիտակուցներ կապվում են արգելակիչների հետ ոչ ակտիվ համալիրի ձևով, հետևաբար ավելի շատ է կուտակվում կատալիտիկ ակտիվ ազատ α-ամիլազ:

Օսլան հանդիսանում է բույսերի պահուստային հիմնական պոլիսախարիդ, ընդ որում այն բույսերում կարող է պահպանվել բավականին երկար ժամանակ կամ ծախսվել շատ արագ: Այն երկար ժամանակով պահեստավորվում է սերմերում, պալարներում, արմատներում և օգտագործվում է նշված օրգանների աճման ընթացքում: Ֆոտոսինթեզի ընթացքում օսլան առաջանում է քլորոպլաստներում, հետագա մթնային փուլում այն ծախսվում և դուրս է գալիս տերևներից սախարոզի ձևով: Օսլան առաջանում և պահեստավորվում է քլորոպլաստներում հատիկների ձևով: Հատիկների չափսերը և ձևը տարբեր բույսերում տարբեր են. կարող են տատանվել 1-100 մկմ: Օսլայի հատիկների առավել մեծ չափսեր հանդիպում են կարտոֆիլի պալարներում, փոքր՝ բրնձում և հնդկաձավարում: Հատիկները պարունակում են մինչև 20% ջուր,

որից 10%-ը քիմիապես կապված է օսլայի հետ: Օսլայում քիմիական նյութերի պարունակությունը մեծ չէ (0.2-0.7%), նրանք հիմնականում ներկայացված են ֆոսֆորական թթվով: Օսլայի մոլեկուլում հայտնաբերված են որոշ ճարպաթթուներ (պալմիտինաթթու, ստեարինաթթու և այլն), որոնց պարունակությունը կազմում է 0.6%:

Օսլայի մոլեկուլը կազմված է ամիլոզից և ամիլոպեկտինից: Ամիլոզի մոլեկուլը ճյուղավորված շղթա է՝ կազմված 100-ից մինչև մի քանի հազար D-գլյուկոպիրանոզային մնացորդներից, որոնք միացված են (1→4) գլիկոզիդային կապերով: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ամիլոզի մոլեկուլն ունի 1.3 նմ տրամագծով պարուրաձև կառուցվածք (նկ. 16), որի մեկ պարույրին հատկացվում է վեց գլյուկոզի մնացորդ: Ամիլոզի մոլեկուլները լուծվում են տաք ջրում, սակայն առաջացած լուծույթն անկայուն է և այն արագ նստում է: Այս երևույթի հիմքն այն է, որ ամիլոզի երկար մոլեկուլները ձգտում են հայտնվել միմյանց հետ կողք կողքի և ջրածնային կապերով առաջացնել անլուծելի միացություններ:

Ամիլոպեկտինն ունի ճյուղավորված կառուցվածք, կազմված է D-գլյուկոպիրանոզային մնացորդներից միացված (1→4) գլիկոզիդային կապերով, սակայն ճյուղավորված հատվածներում առաջանում են (1→6) գլիկոզիդային կապեր (նկ. 16): Ամիլոպեկտինի կառուցվածքն եռաչափ է և նման է գլիկոգենի կառուցվածքին (կենդանական օրգանիզմների պահուստային պոլիսախարիդ):

Ամիլոզի և ամիլոպեկտինի հարաբերությունը կախված է բույսի տեսակից: Հիմնականում բույսերում սինթեզվող օսլայի հատիկները պարունակում են 15-25% ամիլոզ և 75-85% ամիլոպեկտին: Խնձորի օսլան կազմված է միայն ամիլոզից: Եգիպտացորենը տարբերվում է այլ բույսերից նրանով, որ բացի օսլայից այն պարունակում է նաև գլիկոգենանման պոլիսախարիդ՝ ֆիտոգլի-

կոգեն, որն ունի ավելի բարձր ճյուղավորվածության աստիճան, քան ամիլոպեկտինը:

Բույսերում բացի պահուստային պոլիսախարիդներից սինթեզվում են նաև կառուցվածքային պոլիսախարիդներ (ցելյուլոզ, հեմիցելյուլոզ): Կառուցվածքային պոլիսախարիդներն անհրաժեշտ են բջջապատի ձևավորման համար, հետևաբար դրանց սինթեզը տեղի է ունենում բույսերի այն հատվածներում, որտեղ տեղի է ունենում հյուսվածքների աճ:

Պահուստային պոլիսախարիդները սինթեզվում են էներգիայի ժամանակավոր կամ մշտական պաշարի առաջացման դեպքում: Որպես ժամանակավոր պահուստային նյութ կարելի է դիտարկել ֆոտոսինթեզի ընթացքում քլորոպլաստներում օսլայի հատիկների կուտակումը, որը մթնային փուլում մոբիլիզացվում և տեղափոխվում է սախարոզի ձևով: Պոլիսախարիդների մշտական պաշարներն առաջանում են սերմերում՝ բույսի աճման ժամանակ, ինչպես նաև պալարներում, սոխուկներում բույսի վեգետատիվ բազմացման համար:

Նոր ծլած բույսում սախարոզը սինթեզվում և փոխադրվում է մերիստեմատիկ հյուսվածքներ, որտեղ այն օգտագործվում է կառուցվածքային պոլիսախարիդների սինթեզի համար, որոնք անհրաժեշտ են բջջապատի ձևավորմանը: Տվյալ դեպքում սախարոզը չի օգտագործվում պոլիսախարիդների սինթեզի համար:

Բույսերում պոլիսախարիդների կենսասինթեզը մինչ օրս վերջնական պարզաբանված չէ: Հայտնի է, որ բույսերում պոլիսախարիդները սինթեզվում են տրանսգլիկոզիլացման հաջորդական ռեակցաների ճանապարհով, որտեղ մասնակցում են գլիկոզիլային մնացորդների դոնոր և ակցեպտոր հանդիսացող մոլեկուլները: Այս մեխանիզմի յուրահատկությունն այն է, որ յուրաքանչյուր պոլիսախարիդի առաջացման համար պահանջվում է գլիկոզիլային մնացորդների հազարավոր փոխանցումներ: Այս փոխանցումները կատալիզվում են միևնույն ֆերմենտով:

Օսլայի սինթեզն երկաստիճան գործընթաց է: Նախ սինթեզվում է ամիլոզը, որպես օսլայի ավելի պարզ բաղադրիչ, առաջացնելով հիմք ամիլոպեկտինի սինթեզի համար: Հետևաբար ամիլոզը ամիլոպեկտինի նախանյութն է: Ամիլոզի սինթեզը կատալիզում է սինթազ ֆերմենտը: Բույսերում պարունակվում է այս ֆերմենտի երկու իզոֆերմենտ, որոնք կատալիզում են D-գլյուկոպիրանոզային մնացորդի տեղափոխումը ՆԱԴՖ-D-գլյուկոզից 1.4-D-գլյուկան ընկալիչի չվերականգնող ծայրից: Բուսական հյուսվածքներում հիդրոլազի և ֆոսֆորիլազի (գլիկոտրանսֆերազ) մասնակցությամբ օսլան կարող է ճեղքվել մինչև մոնոսախարիդներ: Օսլայի ճեղքման արդյունքում առաջանում են դեքստրիններ, մալտոզ: Բույսերում օսլայի ճեղքման վերջնական արգասիքներ են հանդիսանում D-գլյուկոզը և D-գալակտոզ-1-ֆոսֆատը: Հիդրոլազների դասին են պատկանում α և β-ամիլազները, ամիլոպեկտին-6-գլյուկանհիդրոլազը, օլիգո-1,6-գլյուկոզիդազը և α-գլիկոզիդազը:

Մեթոդի սկզբունքը: Բուսական հումքից անջատված α և β-ամիլազներ պարունակող ֆերմենտային լուծամզվածքն ավելացնում են օսլայի լուծույթին և որոշ ժամանակ խառնուրդը պահում նպաստավոր ջերմաստիճանում: Ֆերմենտային ռեակցիան կանգնեցնում են ամիլազի ապաակտիվացմամբ: Մնացորդում չհիդրոլիզված օսլան որոշում են գունաչափման եղանակով: Ռեակցիան ընթանում է յոդի ներկայությամբ, որն օսլայի հետ առաջացնում է կապտամանուշակագույն գունավորում: Լուծույթում օսլայի ընդհանուր քանակությունը նույնպես որոշում են գունաչափման եղանակով՝ ֆերմենտի ապաակտիվացումից հետո (մինչև օսլային լուծամզվածքի ավելացնելը): Ապաակտիվացված և ակտիվ ֆերմենտների ստացված արդյունքների տարբերությամբ հաշվարկում են α և β-ամիլազների գումարային ակտիվությունը:

Ֆերմենտային լուծամզվածքում α–ամիլազի ակտիվությունը որոշում են վերը նշված ռեակցիաներով՝ β-ամիլազի ջերմային ապաակտիվացումից հետո, որը դենատուրացվում է 70°C ջերմաստիճանում: Տվյալ պայմաններում α–ամիլազը լիովին պահպանում է իր կատալիտիկ ակտիվությունը: β-ամիլազի ակտիվությունը հաշվարկվում է ամիլազի գումարային ակտիվության և α–ամիլազի ակտիվության ցուցանիշների տարբերությամբ: Հաշվի առնելով, որ քլորի իոնները հանդիսանում են ամիլազի խթանիչներ, բուսական հումքից այդ ֆերմենտների լուծամզման համար օգտագործվում է NaCl-ի լուծույթ:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: 8-10 սմ տրամագծով հավանգ կամ հոմոգենիզատոր, լաբորատոր կշեռք, թանզիվ, ճենապակյա բաժակներ, ջերմակարգավորվող ջրային բաղնիք, թերմոստատ (նկ. 17), 1-10 մլ ծավալով պիպետներ, 50, 100, 200 մլ ծավալով կոլբաներ, փորձանոթներ, ԼԷԳ:

Թերմոստատ **Ջրային թերմոստատ**

Նկար 17.

Ռեակտիվներ: Ջրալուծ օսլա, նատրիումի քլորիդ (NaCl), կալիումի յոդիտ (KJ), բյուրեղային յոդ (J), խիտ քացախաթթու

(CH_3COOH 1.05 գ/սմ^3), նատրիումի հիդրոքսիդ (NaOH), խիտ աղաթթու (HCl), քացախաթթվային նատրիում (CH_3COONa), քացախաթթվային կալցիում (CH_3COOCa), թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: 1% NaCl (100 մլ ծավալով չափիչ կոլբայում լուծել 1 գ NaCl):

0.2 Մ ացետատային բուֆեր, pH 5.5 (2.722 գ $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ լուծել 100 մլ թորած ջրում, 0.23 մլ խիտ CH_3COOH լուծել 20 մլ թորած ջրում): Խառնել 88.5 մլ CH_3COONa և 11.5 մլ CH_3COOH լուծույթները:

2% օսլայի լուծույթ: Քիմիական բաժակի մեջ խառնել 4 գ ջրալուծ օսլա և 50 մլ թորած ջուր): Ավելացնել 150 մլ տաք ջուր (70-80°C), տեղադրել եռացող ջրային բաղնիք, խառնել մինչև օսլայի լուծվելը: Օսլայի լուծույթն օգտագործվում է ամիլազի ակտիվության որոշման համար:

1 Մ HCl (8.23 մլ խիտ HCl-ը լուծել 40 մլ թորած ջրում): Սառեցնելուց հետո տեղափոխել 100 մլ ծավալով չափիչ գլանի մեջ, ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին:

0.1 Մ HCl (5 մլ 1Մ HCl-ը նոսրացնել թորած ջրով 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ, ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին):

0.3% J պատրաստված 3% KJ-ի լուծույթում (0.03 գ J և 0.3 գ KJ լուծել 5 մլ թորած ջրում, տաքացնել): Ստացված լուծույթը տեղափոխել 10 մլ չափիչ գլանի մեջ, ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին: Լուծույթը պահել մուգ տարայում:

Աշխատանքի ընթացքը: 1 գ բուսական հումքը տրորել հավանգում 10 մլ 1% NaCl-ի լուծույթով 15 րոպե: Խառնուրդը ֆիլտրել 4 տակ ծալված թանզիվով ճենապակյա բաժակի մեջ: Ստացված լուծամզվածքը պարունակում է ամիլալիտիկ ֆերմենտներ: Խառնուրդի կեսը տեղափոխել փորձանոթի մեջ, ավելացնել CH_3COOCa-ի մի քանի բյուրեղ (α-ամիլազի կայունացման նպատակով) և տեղադրել ջրային բաղնիք 70°C ջերմաստիճանում 15 րոպե: Տվյալ ջերմաստիճանում տեղի է ունենում β-ամիլազի ջեր-

մային դենատուրացում: Ստացված թափանցիկ ֆերմենտային լուծույթը, որը պարունակում է ակտիվ α-ամիլազ, օգտագործում են հետագա վերլուծության համար:

Փորձանոթների մեջ լցնել 3-ական մլ ացետատային բուֆեր (pH 5.5) և օսլայի լուծույթ: Փորձանոթների պարունակությունը խառնել և տեղադրել թերմոստատ 40°C-ի պայմաններում 5 րոպե: Ինկուբացումն ավարտվելուց հետո առաջին փորձանոթին ավելացնել 1 մլ ֆերմենտային լուծամզվածք (պարունակում է ակտիվ α և β-ամիլազներ): Երկրորդ փորձանոթին՝ 1 մլ ֆերմենտային լուծամզվածք, որը պարունակում է α-ամիլազ (β-ամիլազի ապաակտիվացումից հետո): Երրորդ փորձանոթին՝ 1 մլ 1% NaCl-ի լուծույթ: Փորձանոթները խառնել և տեղադրել թերմոստատ 40° C-ի պայմաններում 15 րոպե: Ակտիվ ֆերմենտային լուծամզվածքներն ավելացնելուց հետո անհրաժեշտ է ֆիքսել ժամանակը: 15 րոպե անց փորձանոթներին ավելացնել 2-ական մլ 1 Մ HCl-ի լուծույթ և ֆիքսել ժամանակը (թթվային միջավայրում տեղի է ունենում ամիլազների ապաակտիվացում):

Փորձանոթներում մնացած չհիդրոլիզացված օսլան ներկել յոդային ռեակտիվով: Յուրաքանչյուր փորձանոթից 0.5-ական մլ նմուշ տեղափոխել 50 մլ ծավալով կոլբաների մեջ, որոնցում լցված է 40-45 մլ թորած ջուր և 1 մլ 0.1 Մ HCl-ի լուծույթ, ծավալը հասցնել նիշին: Ավելացնել 3-ական կաթիլ J-ի լուծույթ, պատրաստված KJ-ում, խառնել: Գունավորված լուծույթները գունաչափել (ԼԷԳ, ալիքի երկարությունը 595 նմ, կյուվետի հաստությունը 1 սմ):

Արդյունքների մշակում: Ամիլալիտիկ ֆերմենտների գումարային ակտիվությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$A\alpha + \beta = \frac{(D_3 - D_1)\cdot 60\cdot 10}{D_3\cdot 1\cdot t},$$

որտեղ՝

$A\alpha + \beta$ – ամիլազների գումարային ակտիվությունը 1 ռոպեում հիդրոլիզացված օսլայում (մգ), 1 գ բույսի հաշվարկով,

D_3 – նմուշի օպտիկական խտությունը, որտեղ ավելացված չէ ֆերմենտային լուծամզվածք (ավելացվել է 1% NaCl),

D_1 – օսլայի լուծույթին ավելացված ֆերմենտային լուծամզվածքի օպտիկական խտությունը,

60 – օսլայի քանակը 3 մլ 2%-ոց լուծույթում, մգ,

10 – բուսական հումքից ստացված ֆերմենտային լուծամզվածքի ընդհանուր ծավալը, մլ,

1 – օսլայի հիդրոլիզի համար վերցված ֆերմենտային լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

t – ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակը, ռոպե:

α-ամիլազի ակտիվությունը հաշվարկում են վերը նշված բանաձևով, որտեղ D_1-ը փոխարինվում է D_2-ով (օսլայի լուծույթին ավելացված ֆերմենտային լուծամզվածքի՝ ակտիվ α-ամիլազի օպտիկական խտությունը): β-ամիլազի ակտիվությունը հաշվարկում են գումարային ամիլազային և α-ամիլազի ակտիվությունների տարբերությունով:

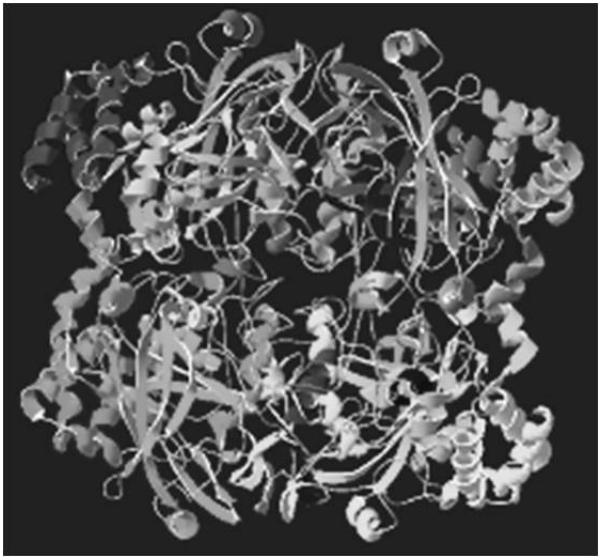
Եթե ակտիվ ֆերմենտների ավելացման արդյունքում օսլան լիովին չի հիդրոլիզվում, ապա յոդային ռեակտիվն ավելացնելիս կապույտ գունավորում չի դիտվում, հետևաբար անհրաժեշտ է կրճատել ֆերմենտային ռեակցիայի տևողությունը:

Ստուգիչ հարցեր

1. Ինչպե՞ս են ազդում α, β և գլյուկոամիլազներն օսլայի վրա:
2. Ի՞նչ նշանակություն ունեն ամիլազները ցորենի որակի գնահատման համար:
3. Ինչո՞ւ է α-ամիլազի ակտիվության բարձրացման արդյունքում վատանում ցորենի հատկությունները:

4. Ի՞նչ գործոնների ազդեցությամբ է ցորենում բարձրանում ամիլազների ակտիվությունը:
5. Ո՞րն է յոդային ռեակտիվով ամիլազի ակտիվության որոշման սկզբունքը:
6. Ինչպե՞ս են որոշում α և β-ամիլազների ակտիվությունը:
7. Ի՞նչ եղանակով են ստանում ամիլազների լուծամզվածքը:
8. Ինչպե՞ս է իրականացվում ամիլազի և օսլայի ֆերմենտային ռեակցիան:
9. Ինչպե՞ս են ստանում չհիդրոլիզացված օսլայի գունավորված լուծույթը:
10. Ինչպե՞ս է փոխվում ամիլազի ակտիվությունը բուսական մշակույթների աճման շրջանում:

9. ԿԱՏԱԼԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄՆ ԸՍՏ ԲԱԽԻ ԵՎ ՕՊԱՐԻՆԻ



Նկար 18. Կատալազի կառուցվածքը

Թթվածնի ակտիվ ձևերը թունավոր միացություններ են և շնորհիվ հակաօքսիդանտային համակարգի գործունեությանը, անընդհատ գտնվում են օրգանիզմի հսկողության տակ: Բջջում առաջացած թթվածնի ակտիվ ձևերի կոնցենտրացիայի ցածր մակարդակը պահպանվում է շնորհիվ հակաօքսիդանտային համակարգի, որի վիճակից է կախված սթրեսային պայմաններում բույսերի կայունությունը: Հակաօքսիդանտներին պատկանող միացությունների թիվն անընդհատ ավելանում է: Նրանց հարմար է բաժանել ըստ մոլեկուլային զանգվածների՝ ցածրամոլեկուլային և բարձրամոլեկուլային:

Բույսերի կարևոր բարձրամոլեկուլային հակաօքսիդանտներից են կատալազը, սուպերօքսիդդիսմուտազը, գլուտաթիոնպեր-

օքսիդազը: Նրանք չեզոքացնում են թթվածնի ակտիվ ձևերը, արգելակում են օրգանական միացությունների ազատ ռադիկալային օքսիդացումը: Հակաօքսիդանտ-ֆերմենտները տեղակայված են բջջի կոմպարտմենտներում, ունեն տարբեր սուբստրատային յուրահատկություն և թթվածնի ակտիվ ձևերի նկատմամբ խնամակցություն: Հակաօքսիդանտային համակարգի ֆերմենտներն օնտոգենեզի ընթացքում մասնակցում են նյութափոխանակության կարգավորմանը և կարևոր են բույսերի համար, քանի որ նրանց շնորհիվ բույսը հարմարվում է արտաքին միջավայրի փոփոխություններին:

Օքսիդացիոն սթրեսի պայմաններում ֆերմենտային հակաօքսիդանտային համակարգը կարող է կորցնել արդյունավետությունը: Պատճառն ազատ ռադիկալներով ֆերմենտների ապաակտիվացումն է: Այս պարագայում բարձրանում է ցածրամոլեկուլային ոչ ֆերմենտային հակաօքսիդանտների նշանակությունը: Ցածրամոլեկուլային հակաօքսիդանտները փոխազդում են թթվածնի և օրգանական ռադիկալների հետ՝ ընկճելով բջջում ազատ ռադիկալային գործընթացները: Նրանք, վերցնելով իրենց վրա թթվանի ածանցյալների (O_2*, O_2^-, $^{\bullet}OH$, H_2O_2) հարվածը, օքսիդանում են և ընդհատում բջջում ընթացող ռեակցիան: Սակայն ոչ ֆերմենտային ցածրամոլեկուլային հակաօքսիդանտները համեմատած ֆերմենտայինների հետ քիչ արդյունավետ են:

Կատալազ ֆերմենտը (1.11.1.6) պատկանում է օքսիդոռեդուկտազների դասին: Կազմված է սպիտակուցից և պրոստետիկ խմբից, որը պարունակում է հեմատին ($C_{34}H_{32}O_4N_4Fe(III)OH$): Կատալազը պարունակում է 0.09% երկաթ, այսինքն 1 մոլեկուլ ֆերմենտին հատկացվում է չորս ատոմ երկաթ: Կատալազն օրգանիզմում կատարում է կարևոր դեր: Այն կանխում է ջրածնի պերօքսիդի կուտակումը, որի շնորհիվ տեղի է ունենում օրգանական միացությունների պերօքսիդային օքսիդացում, ինչպես նաև թողնում է վնասակար ազդեցություն բջջային թաղանթների վրա:

Այս ֆերմենտը կատալիզում է ջրածնի պերօքսիդի քայքայումը ջրի և թթվածնի: Ռեակցիան ընթանում է երկու փուլով

$$Fe^{2+}\text{-կատալազ} + 2H_2O_2 \longrightarrow \text{Օքսիդացված կատալազ}$$

$$\text{Օքսիդացված կատալազ} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+}\text{-կատալազ} + 2H_2O + O_2$$

Ֆերմենտը մեկ վայրկյանում կարող է քայքայել $6 \cdot 10^6$ մոլեկուլ ջրածնի պերօքսիդ:

Կատալազը՝ որպես կոֆերմենտ, պարունակում է պրոտոհեմի խումբ՝ Fe^{3+}-ի ձևով: Տվյալ ֆերմենտի մոլեկուլներն իրենցից ներկայացնում են տետրամեր սպիտակուցներ՝ 250.000 Դա մոլեկուլային զանգվածով և օժտված են բարձր կատալիտիկ ակտիվությամբ ($2 \cdot 10^5$ կատ, 1 մոլ կատալիտիկ կենտրոնների հաշվարկով): Կատալազն առկա է բջիջներում, որտեղ ցիտոքրոմների մասնակցությամբ իրականանում է բջջային շնչառություն: Կատալազը տեղակայված է պերօքսիսոմներում և գլիկոսոմներում: Միտոքոնդրիումներում հայտնաբերված է յուրահատուկ իզոձև, որի ակտիվությունը հայտնաբերվել է նաև բույսերի քլորոպլաստներում: Օքսիդացված վիճակում կատալազը կարող է գործել ինչպես պերօքսիդազը՝ կատալիզելով սպիրտների և ալդեհիդների օքսիդացումը: Այն գործում է պերօքսիդազից 10 անգամ արագ: Կատալազը մատակարարում է թթվածնով հյուսվածքների այն հատվածները, որտեղ այս կամ այն պատճառով դժվարանում է թթվածնի ներթափանցումը: Կատալազի կենսաբանական դերը կապված է ցիտոքրոմային համակարգի բնականոն գործունեության հետ: Նրա ակտիվությունը կախված է ֆերմենտի ստացման աղբյուրից: Կատալազն առավել ակտիվ է բույսերի երիտասարդ հյուսվածքներում և օրգաններում: Հյուսվածքների տարիքի հետ ֆերմենտի ակտիվությունը նվազում է: Կատալազի ակտիվությունն ընկճվում է ցիանաջրածնային թթվով (կապտաթթու), ծծմբաջրածնով, ֆտորիդներով: Նրա ակտիվությունն առավել ուժեղ ընկճվում է նիտրատ-իոնի ազդեցությամբ: Կատալազն օգտագործում է պերօքսիդը ոչ միայն որպես ակցեպտոր, այլ նաև

որպես էլեկտրոնների և պրոտոնների դոնոր, ընդ որում պերօքսիդի մեկ մոլեկուլն օքսիդանում է մոլեկուլային թթվածնի, երկրորդը՝ վերականգնվում է ջրի:

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

Կենսաքիմիական հետազոտություններում, ինչպես նաև բուսական հումքի որակի գնահատման ժամանակ լայն տարածում է գտել կատալազի ակտիվության որոշման մեթոդն ըստ Բախի և Օպարինի:

Մեթոդի սկզբունքը: Կատալազի ակտիվության որոշումը հիմնված է բուսական հումքից ջրային լուծամզումով ֆերմենտի անջատման վրա: Ջրածնի պերօքսիդի լուծույթին կատալազի ջրային լուծամզվածք ավելացնելիս, որոշակի ժամանակահատվածում իրականանում է ֆերմենտային ռեակցիա: Ռեակցիայի ավարտից հետո թթվային միջավայրում կալիումի պերմանգանատի լուծույթով տիտրման եղանակով որոշվում է ֆերմենտի ազդեցությամբ չքայքայված ջրածնի պերօքսիդի քանակությունը հետևյալ սխեմայով:

$$5H_2O_2 + 2KMnO_4 + 3H_2SO_4 \longrightarrow K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 5O_2 + 8H_2O$$

Միաժամանակ հետազոտվող նմուշի հետ որոշվում է ռեակցիայի ավարտից հետո չքայքայված ջրածնի պերօքսիդի քանակությունը (ստուգիչ տարբերակ): Տվյալ ռեակցիայում ոչ ֆերմենտային ճանապարհով տեղի է ունենում ջրածնի պերօքսիդի մասնակի քայքայում: Ստուգիչ և հետազոտվող նմուշների տիտրման տարբերությամբ որոշում են կատալազի ազդեցությամբ քայքայված ջրածնի պերօքսիդի քանակությունը, ջրի և թթվածնի առաջացմամբ: Ստացված արդյունքով հաշվարկում են ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունը:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: 8-10 սմ տրամագծով ճենապակյա հավանգ կամ հոմոգենիզատոր, թանզիվ, ճենապակյա բաժակ, 50, 100 և 150 մլ ծավալով կոնաձև կոլ-

բաներ, 100 մլ և 1 լ ծավալով չափիչ կոլբաներ, պիպետներ, թերմոստատ:

Ռեակտիվներ: Խիտ ջրածնի պերօքսիդ (H_2O_2), խիտ ծծմբական թթու (H_2SO_4), կալիումի պերմանգանատ ($KMnO_4$):

Լուծույթների պատրաստում: 1% H_2O_2 (պատրաստել թարմ լուծույթ յուրաքանչյուր փորձից առաջ, նոսրացնելով խիտ ջրածնի պերօքսիդի լուծույթը 100 մլ թորած ջրում): Լուծույթը տեղափոխել մուգ ապակյա տարայի մեջ:

10% H_2SO_4 (50 մլ ծավալով ճենապակյա բաժակի մեջ լցնել 30 մլ թորած ջուր, ավելացնել 6.06 մլ խիտ H_2SO_4): Լուծույթը սառեցնելուց հետո տեղափոխել 100 մլ ծավալով կոլբայի մեջ, ծավալը հասցնել նիշին:

0.1 Ն $KMnO_4$ (պատրաստել ֆիքսանալից 1 լ ծավալով չափիչ կոլբայում): Պատրաստված լուծույթը տեղափոխել մուգ ապակյա տարայի մեջ:

Աշխատանքի ընթացքը: 2 գ բուսական հումքը տրորել հավանգում 20 մլ թորած ջրով 15 րոպե: Ֆիլտրել 4 տակ ծալված թանզիվով ճենապակյա բաժակի մեջ:

Երկու փորձանոթների մեջ լցնել 5-ական մլ ֆերմենտային լուծամզվածք: Առաջին փորձանոթին ավելացնել 5 մլ H_2SO_4՝ ֆերմենտի ապաակտիվացման նպատակով (ստուգիչ): Այնուհետև երկու փորձանոթներին ավելացնել 1-ական մլ 1% H_2O_2-ի լուծույթ, խառնել և տեղադրել թերմոստատ 30°C-ի պայմաններում 15 րոպե: Ռեակցիան անհրաժեշտ է իրականացնել լույսի բացակայության պայմաններում, քանզի այն ակտիվացնում է ջրածնի պերօքսիդի ինքնաբերաբար քայքայումը թթվածնի և ջրի: Ֆերմենտային լուծույթը ջրածնի պերօքսիդին ավելացնելուց հետո ֆիքսել ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակը: 15 րոպե անց երկրորդ փորձանոթին ավելացնել 5 մլ H_2SO_4 և ֆիքսել ֆերմենտային ռեակցիայի ընդհատման ժամանակը:

Ստուգիչ և փորձնական նմուշներում չքայքայված ջրածնի պերօքսիդի քանակությունը որոշում են 0.1 Ն $KMnO_4$-ի լուծույթով տիտրմամբ մինչև թույլ վարդագույն գունավորման առաջացումը, որը կայուն է 1 րոպեի ընթացքում: Տիտրման արդյունքներն օգտագործում են ֆերմենտի ակտիվությունը որոշելու համար:

Արդյունքների մշակում: Կատալազի ակտիվությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$A = \frac{(V_1 - V_2)\cdot 50\cdot 20}{H\cdot 5\cdot t},$$

որտեղ՝

A – կատալազի ակտիվությունը 1 գ բուսական զանգվածում, մկկատ,

V_1 – ստուգիչ նմուշի տիտրման համար ծախսված $KMnO_4$-ի քանակը, մլ,

V_2 – փորձնական նմուշի տիտրման համար ծախսված $KMnO_4$-ի քանակը, մլ,

50 – 0.1 Ն $KMnO_4$-ի վերահաշվարկի գործակիցը (մլ) ջրածնի պերօքսիդի մկմոլերի,

20 – բուսական հումքից ստացված ֆերմենտային լուծամզվածքի ընդհանուր ծավալը, մլ,

H – բուսական հումքի կշիռը,

5 – ֆերմենտային ռեակցիայի համար վերցված ֆերմենտային լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

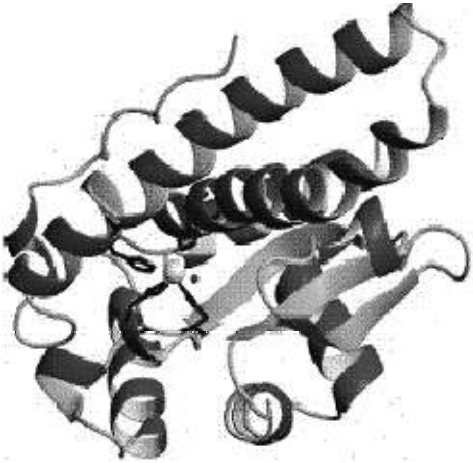
t – ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակը, վրկ.:

Ստացված արդյունքների հիման վրա գնահատում են բուսական նմուշում իրականացվող կենսաքիմիական գործընթացները:

Ստուգիչ հարցեր

1. Նշել ֆերմենտների ակտիվության որոշման ընդհանուր սկզբունքները:
2. Ի՞նչ միավորներով են չափում ֆերմենտների ակտիվությունը:
3. Ի՞նչ նշանակություն ունի օրգանիզմների համար կատալազ ֆերմենտը:
4. Կատալազի ակտիվության որոշման մեթոդի սկզբունքները ըստ Բախի և Օպարինի:
5. Ինչպե՞ս են ստանում ֆերմենտային լուծամզվածքը:
6. Նշել ֆերմենտային լուծամզվածքի և ջրածնի պերօքսիդի ռեակցիայի առանձնահատկությունները:
7. Ինչի՞ համար է անհրաժեշտ ստուգիչ նմուշը կատալազի ակտիվության որոշման ժամանակ:
8. Ինչպե՞ս է իրականացվում չքայքայված ջրածնի պերօքսիդի տիտրումը կալիումի պերմանգանատի լուծույթով:
9. Ինչպե՞ս են հաշվարկում կատալազի ակտիվությունը՝ ըստ ստացված արդյունքների:
10. Ինչպե՞ս է օգտագործվում կատալազի ակտիվության ցուցանիշը բուսական հումքում իրականացվող կենսաքիմիական գործընթացների գնահատման համար:

10. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ՊԵՐՕՔՍԻԴԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ



Նկար 19. Պերօքսիդազի կառուցվածքը

Օրգանիզմում թթվածնով օրգանական սուբստրատների օքսիդացման արդյունքում որպես հիմնական արգասիքներ առաջանում են ջրածնի պերօքսիդ (H_2O_2) կամ օրգանական պերօքսիդներ, որոնք կարող են օքսիդացնել տարբեր նյութեր: Կենդանի բջիջներում քիմիական միացությունների պերօքսիդային օքսիդացման ռեակցիաները կատալիզում է պերօքսիդազ ֆերմենտը (1.11.1.7): Պերօքսիդազը պատկանում է օքսիդոռեդուկտազների դասին: Այն ջրածնի պերօքսիդի հետ առաջացնում է համալիր միացություն, որի արդյունքում պերօքսիդն ակտիվանում է՝ վերածվելով ջրածնի ակցեպտորի:

Կազմված է երկաթ պարունակող ցածրամոլեկուլային կոֆերմենտ հեմատինից ($C_{34}H_{32}O_4N_4Fe(III)OH$) և ապոֆերմենտից՝ սպիտակուցային մասնիկ, որը կազմում է ֆերմենտի հիմնական

մասը: Մաքրված, բյուրեղացված բուսական պերօքսիդազն ունի 44.000 Դա մոլեկուլային զանգված: Հեմատինը կազմում է մոլեկուլային զանգվածի 1.48%-ը: Պերօքսիդազի սպիտակուցը պարունակում է տրիպտոֆան և օքսիպրոլին: Մոլեկուլի հեմինային մասը ներկայացված է պրոտոպորֆիրին IX-ով:

Պերօքսիդազը կատալիզում է օրգանական և անօրգանական օքսիդացման ռեակցիաները: Որպես էլեկտրոնների ակցեպտորներ օգտագործում է ջրածնի պերօքսիդը կամ օրգանական պերօքսիդը.

$$2XH + H_2O_2 \longrightarrow 2X + 2H_2O$$

$$2XH + ROOH \longrightarrow 2X + H_2O + ROH:$$

XH- վերականգնված սուբստրատ, X- օքսիդացված սուբստրատ

Պերօքսիդազով օքսիդացված սուբստրատներին են պատկանում գրեթե բոլոր ֆենոլները (պիրոկատեխին, պիրոգալոլ, գալաթթու, բենզիդին և այլն), արոմատիկ ամինները (ալանին, դիմեթիլալանին և այլն), յոդային ջրածինը, դյուրին օքսիդացող միացությունները (ասկորբինաթթու, նիտրիտներ և այլն): Պերօքսիդազը կատալիզում է ջրածնի պերօքսիդով ֆենոլային միացությունների, ճարպաթթուների, ամինաթթուների և ամինների, տերպենների, վերականգնված գլյուտաթիոնի օքսիդացումը:

Պերօքսիդազները պարունակվում են բջջի քլորոպլաստներում, միտոքոնդրիումներում, պերօքսիսոմներում, ցիտոզոլում: Ֆերմենտը մասնակցում է միտոքոնդրիումների շնչառական շղթայի էլեկտրոնների փոխանցմանը, ֆոտոսինթեզի օքսիդավերականգման ռեակցիաներին, բջիջներում էներգիայի փոխանցմանը, աուքսինի և էթիլենի առաջացմանը, ազոտային փոխանակության ընթացքում նիտրիտների և նիտրատների վերականգմանը, շնչառական գործընթացներում, օրգանների զարգացման կարգավորմանը: Պերօքսիդազները չեն մասնակցում բջջային շնչառության հիմնական ռեակցիաներին, սակայն կատարում են կարևոր դեր ջրածնի պերօքսիդի ապաակտիվացման գործընթա-

ցում, որն առաջանում է ֆլավինային օքսիդազների ազդեցությամբ: Պերօքսիդազներն օգտագործում են ջրածնի պերօքսիդը՝ որպես էլեկտրոնների և պրոտոնների ակցեպտորներ, սուբստրատների օքսիդացման ընթացքում.

$$AH_2 + H_2O_2 \rightarrow A + 2H_2O:$$

Պերօքսիդազի ակտիվությունն ընկճում են բոլոր այն միացությունները, որոնք կարող են միանալ երկաթի հետ: Հեմպրոտեինային համալիրում կարող են ճեղքել կապերից մեկը կամ արգելակել պերօքսիդի միացումը երկաթի հետ՝ ապաակտիվացնելով ֆերմենտը: Ջրածնի պերօքսիդի վերականգնման հակաօքսիդանտային պաշտպանությունն իրականացնում են ասկորբատպերօքսիդազը և գլուտաթիոնպերօքսիդազը:

Բուսական պերօքսիդազն երկբաղադրիչ ֆերմենտ է, տեղակայված է պերօքսիսոմներում: Այս ֆերմենտի կատալիտիկ կենտրոնը պարունակում է պրոտոհեմ: Պերօքսիդազն օժտված է ջերմակայունությամբ, այդ իսկ պատճառով բուսական հումքի ջերմամշակումից հետո նրանում պահպանվում է պերօքսիդազի ակտիվությունը: Թեյի և ծխախոտի ֆերմենտացման ընթացքում պերօքսիդազը պոլիֆենոլօքսիդազի հետ մասնակցում է գունավորված և բուրավետ միացությունների առաջացմանը:

Մեթոդի սկզբունքը: Բուսական հումքում պերօքսիդազների ակտիվության որոշումը հիմված է ջրածնի պերօքսիդով պիրոգալոլի օքսիդացման ֆերմենտային ռեակցիայի վրա: Արդյունքում առաջանում է գունավորված միացություն՝ պուրպուրոգալին, որի քանակությունը որոշում են գունաչափման եղանակով:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: 8-10 սմ տրամագծով հավանգ, թանզիվ, ճենապակյա բաժակ (նկ. 20), 50 մլ ծավալով կոնաձև փորձանոթներ, պիպետներ, 100 մլ ծավալով կոլբաներ, թերմոստատ, ԼԷԳ:

Նկար 20. Ճենապակյա բաժակներ

Ռեակտիվներ: Խիտ ջրածնի պերօքսիդ (H_2O_2), խիտ ծծմբական թթու (H_2SO_4), նատրիումի հիդրոֆոսֆատ ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$), նատրիումի դիհիդրոֆոսֆատ ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$), պիրոգալոլ ($C_6H_6O_3$):

Լուծույթների պատրաստում: 1% H_2O_2 (պատրաստել թարմ լուծույթ յուրաքանչյուր փորձից առաջ, նոսրացնելով խիտ ջրածնի պերօքսիդի լուծույթը 100 մլ թորած ջրում): Լուծույթը տեղափոխել մուգ ապակյա տարայի մեջ:

10% H_2SO_4 (50 մլ ծավալով ճենապակյա բաժակի մեջ լցնել 30 մլ թորած ջուր, ավելացնել 6.06 մլ խիտ H_2SO_4): Լուծույթը սառեցնելուց հետո տեղափոխել 100 մլ ծավալով կոլբայի մեջ, ծավալը հասցնել նիշին:

0.05 Մ ֆոսֆատային բուֆեր, pH 7.0 (1.7911 գ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ լուծել 100 մլ թորած ջրում, 0.3901 գ $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ լուծել 50 մլ թորած ջրում): Խառնել 61 մլ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ և 39 մլ $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ լուծույթերը:

1% $C_6H_6O_3$ (0.5 գ $C_6H_6O_3$ -ը լուծել 50 մլ թորած ջրում):

Աշխատանքի ընթացքը: 2 գ բուսական հումքը տրորել հավանգում 20 մլ 0.05 Մ ֆոսֆատային բուֆերով (pH 7.0) 15 րոպե

(ֆերմենտային լուծամզվածքի ստացման նպատակով): Ֆիլտրել 4 տակ ծալված թանզիվով 50 մլ ծավալով կոլբայի մեջ:

50 մլ ծավալով երկու կոլբաների մեջ լցնել 4-ական մլ ֆերմենտային լուծամզվածք: Առաջին կոլբային ավելացնել 5 մլ H_2SO_4 (ֆերմենտի ապաակտիվացման նպատակով), որից հետո երկու կոլբաներին ավելացնել 5-ական մլ $C_6H_6O_3$ -ի և 1-ական մլ H_2O_2-ի լուծույթներ, խառնել և տեղադրել թերմոստատ 25°C-ի պայմաններում 15 րոպե: Ռեակցիան անհրաժեշտ է իրականացնել լույսի բացակայության պայմաններում, քանզի այն ակտիվացնում է ջրածնի պերօքսիդի ինքնաբերաբար քայքայումը թթվածնի և ջրի: Ֆերմենտային լուծույթը H_2O_2-ին ավելացնելուց հետո ֆիքսել ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակը: 15 րոպե անց երկրորդ փորձանոթին ավելացնել 5 մլ H_2SO_4 և ֆիքսել ֆերմենտատիվ ռեակցիայի ընդհատման ժամանակը: Պերօքսիդազի ազդեցությամբ առաջացած գունավորված լուծույթները գունաչափել (ԼԷԳ, կանաչ լուսաֆիլտր, կյուվետի հաստությունը 5մմ):

Արդյունքների մշակում: Պերօքսիդազի ակտիվությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$A = \frac{(D_1 - D_2)\cdot 20}{H\cdot 4\cdot t},$$

որտեղ՝

A - 1 ժամում առաջացած պերօքսիդազի ակտիվությունը, 1գ բուսական հումքում,

D_1 – ակտիվ պերօքսիդազի լուծույթի օպտիկական խտությունը,

D_2 – ապաակտիվացված պերօքսիդազի լուծույթի օպտիկական խտությունը,

20 – բուսական հումքից անջատված ֆերմենտային լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

4 – ֆերմենտային ռեակցիայի համար վերցված պերօքսիդազների լուծամզվածքի ծավալը,

t – ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակը, ժամ:

Ստուգիչ հարցեր

1. Ինչպիսի՞ն են պերօքսիդազի կառուցվածքը և ազդեցության մեխանիզմը:
2. Ո՞ր միացությունների օքսիդացումն է կատալիզում պերօքսիդազ ֆերմենտը:
3. Ի՞նչ նշանակություն ունի պերօքսիդազն օրգանիզմի նյութափոխանակության ընթացքում:
4. Որո՞նք են պերօքսիդազի կատալիտիկ ակտիվության որոշման սկզբունքները:
5. Նկարագրել բուսական հումքից պերօքսիդազի անջատման եղանակը և նշել պիրոգալոլի պերօքսիդային օքսիդացման ռեակցիայի առանձնահատկությունները:
6. Ինչպե՞ս կարելի է օգտագործել պերօքսիդազի ակտիվության տեղեկությունները բույսերում կենսաքիմիական գործընթացների և բուսական հումքի որակի գնահատման ժամանակ:

11. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ՆԻՏՐԱՏՌԵԴՈՒԿՏԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ

Ազոտը վերականգնված ձևով մտնում է օրգանական միացությունների կազմի մեջ, այդ պատճառով կլանված նիտրատների իոնները բույսերում վերականգնվում են ամոնիակի: Մշակովի հողերում բավականին ակտիվ տեղի է ունենում նիտրիֆիկացման գործընթացը, որի ընթացքում հողում օրգանական մնացորդների քայքայման, ինչպես նաև ներմուծված պարարտանյութերի արդյունքում առաջացած ազոտի ամոնիակային ձևը վերածվում է նիտրատների: Նիտրիֆիկացումն ընդանում է երկու փուլով, որոնք իրականացվում են մանրէների երկու խմբերով: *Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosolobus, Nitrosospira* և *Nitrosovibrio* խմբի մանրէներն օքսիդացնում են ամոնիակն ազոտական թթվի՝

$$2NH^{3+} + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O:$$

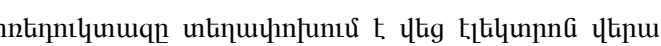
Այնուհետև՝ *Nitrobacter, Nitrospina* և *Nitrococcus* խմբի մանրէներն օքսիդացնում են նիտրիտը նիտրատի՝

$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3:$$

Նիտրիտները սովորաբար հողում չեն կուտակվում շնորհիվ մանրէների երկու խմբերի հաջորդաբար գործունեությանը: Հարկ է նշել, որ նիտրիֆիկատորներն օքսիդացնում են նաև պարարտանյութերի ամոնիակային ազոտը՝ վերածելով նիտրատների: Բույսերում նիտրատային ազոտը հատուկ ֆերմենտային համակարգերի միջոցով վերականգնվում է ամոնիակային ձևի: Առաջին փուլում նիտրատռեդուկտազի ազդեցությամբ տեղի է ունենում նիտրատներից նիտրիտների առաջացում:

$$NO_3^- + NAD(F)H + H^+ \xrightarrow{2e^-} NO_2^- + NAD(F)^+ + H_2O$$

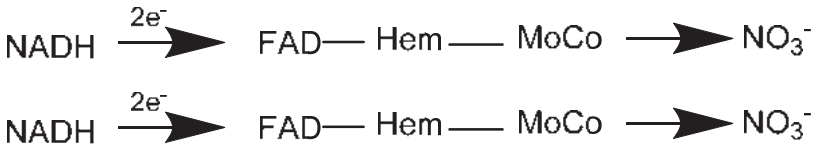
Այնուհետև՝ նիտրատռեդուկտազի մասնակցությամբ նիտրիտները վերածվում են ազոտի ամոնիակային ձևի, որն էլ օգտագործվում է ամինաթթուների, ամիդների և այլ ազոտային միացությունների սինթեզի համար: Ֆերմենտը՝ որպես էլեկտրոնների դոնոր, օգտագործում է ֆերեդոքսինը: Քանի որ արմատներում ֆերեդոքսինը բացակայում է, այն առաջանում է շնչառության գործընթացի պենտոզֆոսֆատային ուղիում: Նիտրիտի ապաօքսիդացումը տեղի է ունենում համապատասխան հետևյալ ռեակցիայի:



$$NO_2^- + 6\ Ֆդ_{վերակ} + 8\ H^+ + 6e^- \longrightarrow NH_4^+ + 6\ Ֆդ_{օքիդ} + 2H_2O$$

Նիտրիտռեդուկտազը տեղափոխում է վեց էլեկտրոն վերականգնված ֆերեդոքսինից ($Ֆդ_{վերակ}$) նիտրիտի վրա՝ ամոնիակի առաջացմամբ: Տերևներում ֆերեդոքսինի վերականգնումը տեղի է ունենում էլեկտրոնների ֆոտոսինթետիկ տրանսպորտի, իսկ հետերոտրոֆ հյուսվածքներում՝ ՆԱԴՖՀ-ի օքսիդացման հաշվին, որը սինթեզվում է պենտոզֆոսֆատային ուղիում գլյուկոզի օքսիդացման արդյունքում: Նիտրիտը վերականգնվում է ($NO_2^- \longrightarrow NH_4^+$) առանց որևիցե միջանկյալ միացությունների առաջացման:

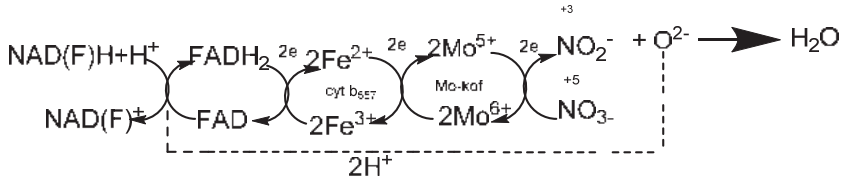
Բարձրակարգ բույսերի, կանաչ ջրիմուռների և սնկերի նիտրատռեդուկտազներն (1.6.6.1; 1.6.6.2; 1.6.6.3) իրենցից ներկայացնում են մետաղաֆլավապրոտեիդներ 200-330 հազար Դա մոլեկուլային զանգվածով, որոնք ունեն ֆլավինային խմբեր (ՖԱԴ, ՖՄՆ) և պարունակում են մոլիբդենային կոֆակտոր (MoCo):



Նիտրատռեդուկտազի դիմեր

Բույսերում նիտրատային ազոտի վերականգնման համար որպես էլեկտրոնների դոնոր հանդիսանում է ՆԱԴ·Հ-ը, սնկերում՝ ՆԱԴՖ·Հ-ը: Վերականգնված դինուկլեոտիդներից էլեկտրոնները և պրոտոնները տեղափոխվում են նիտրատռեդուկտազի ֆլավինային խմբերի վրա, այնուհետև էլեկտրոնները փոխանցվում են ցիտոքրոմ b_{557}-ի վրա, որն էլ ծառայում է որպես էլեկտրոնների միջանկյալ փոխադրիչ՝ ֆլավինային կոֆերմենտից մոլիբդենային կոֆակտորին: Պրոտոններն ազատվում են և կարող են փոխազդել թթվածնի անիոնների հետ, որոնք առաջանում են նիտրատային ազոտի վերականգման արդյունքում:

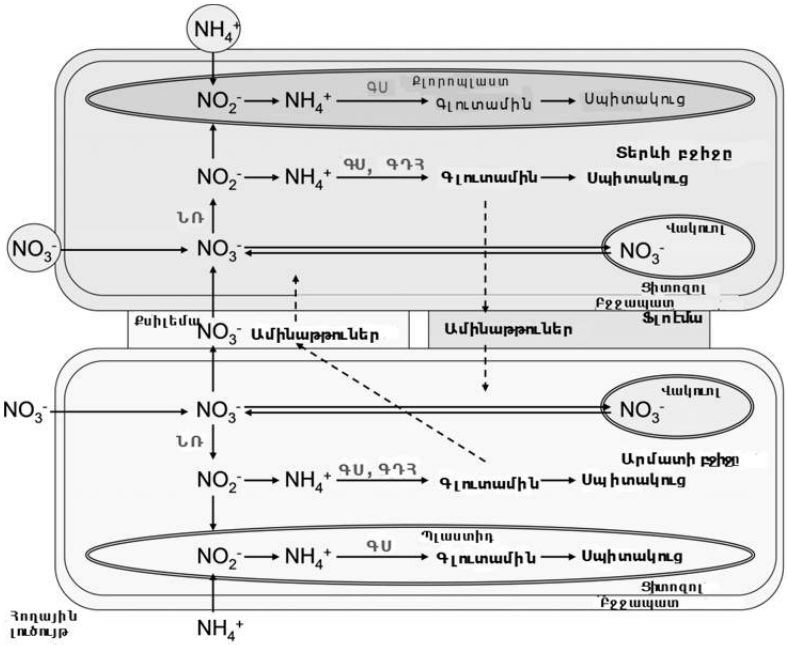
Մոլիբդենային կոֆակտորը պարունակում է արոմատիկ խմբերի հետ անկայուն կապված մոլիբդենի կատիոններ, և միանում է ֆերմենտի սպիտակուցային հատվածին: Մոլիբդենի կատիոնները՝ փոխելով օքսիդացման աստիճանը, կարող են ընդունել էլեկտրոններ ցիտոքրոմ b_{557}-ից և փոխանցվել նիտրատի ազոտին, որն էլ կապվում է ֆերմենտի ակտիվ կենտրոնի հետ: Ազոտի վերականգնման արդյունքում նիտրատը վերածվում է նիտրիտի, իսկ անջատված թթվածնի անիոնը՝ O^{2-} միանում է պրոտոններին, առաջացնելով ջրի մոլեկուլ: Նիտրատռեդուկտազի ազդեցությամբ նիտրատների վերականգնման մեխանիզմը ներկայացված է հետևյալ գծապատկերով:



Բույսերում նիտրատռեդուկտազային առավել բարձր ակտիվություն դիտվում է մերիստեմատիկ հյուսվածքներում: Շատ բույսերում ֆոտոսինթեզի, ինչպես նաև բավարար ածխաջրերի քանակի (հանդիսանում են ՆԱԴ·Հ-ի առաջացման աղբյուր) շնորհիվ նիտրատների լիովին վերականգնումը տեղի է ունենում ար-

մատներում (նկ. 21): Սակայն լույսի անբավարարության և ցածր ջերմաստիճանի պայմաններում, որոնք դանդաղեցնում են ածխաջրերի սինթեզը, ինչպես նաև ավելցուկային ազոտային սնուցման պայմաններում, նիտրատների զգալի մասը թափանցում է բույսի վեգետատիվ հատվածներ և վերագանգնվում է տերևներում:

Հայտնի են բույսերի տեսակներ, որոնց արմատներում հայտնաբերված չէ նիտրատռեդուկտազային ակտիվություն: Դրանցում նիտրատային ազոտի վերածումն ամոնիակայինի իրականացվում է հիմնականում տերևներում: Տերևների նիտրիտռեդուկտազը գաղտնագրվում է միջուկային գենոմով: Այն սինթեզվում է ցիտոպլազմում, տեղափոխվում է քլորոպլաստ, որտեղ էլ տեղի է ունենում ֆերմենտի վերջնական հավաքում: Նիտրատը, լույսը և սախարոզն ակտիվացնում են տՌՆԹ-ի նիտրիտռեդուկտազի տրանսկրիպցիան, իսկ ասպարագինը և գլուտամինը՝ ընկճում: Նիտրատի կուտակումը կարող է տեղի ունենալ ինչպես բույսի պալարներում, այնպես էլ արմատներում: Երբ նիտրատի քանակությունը քիչ է, այն կուտակվում է արմատներում: Երբ NO_3^- իոնները շատ են, դրանք անցնում են տերևներ, որտեղ վերականգնվում են ամոնիումի: Նիտրատների վերականգնման և մոլեկուլային ազոտի կապման արդյունքում առաջացած ամոնիումի իոնները, շնորհիվ տարբեր ամինաթթուների և ամիդների, յուրացվում են բույսերի կողմից (նկ. 21):



Նկար 21. Բույսերում ազոտի ներթափանցման և յուրացման ընդհանուր գծապատկերը:
ՆՌ – նիտրատռեդուկտազ, ԳՍ – գլուտամատսինթետազ, ԳԴՀ - գլուտամատդեհիդրոգենազ

Նիտրատռեդուկտազը մակածվող ֆերմենտ է: Նրա ակտիվությունը կտրուկ բարձրանում է բույսերում նիտրատների առաջացման ժամանակ՝ ֆերմենտի սինթեզի մակածման արդյունքում: Երբ բույսերի բջիջներում նիտրատների կոնցենտրացիան նվազում է, ֆերմենտային սպիտակուցի սինթեզը դադարում է, ինչի հետևանքով նիտրատռեդուկտազային ակտիվությունը նվազում է՝ հասնելով նախնական մակարդակի: Բացի նիտրատներից նիտրատռեդուկտազի սինթեզի խթանիչներ են ցիտոկինինը և օրգանական նիտրոմիացությունները՝ այսինքն, ֆերմենտի մակածումը կարող է իրականանալ քիմիական կարգավորիչների ազդեցու-

թյամբ: Միաժամանակ ամոնիումի կատիոններն ընկճում են բույսերում նիտրատռեդուկտազի սինթեզը:

Հայտնի են բույսերի տեսակներ, որոնք ունեն նիտրատռեդուկտազային ակտիվության ոչ բարձր մակարդակ, որի արդյունքում նրանք կուտակում են նիտրատների բարձր կոնցենտրացիաներ: Շատ բույսերում նիտրատների քանակությունը բարձրանում է աճեցման անբարենպաստ պայմանների արդյունքում՝ լուսային էներգիայի, ֆոսֆորի, կալիումի, մի շարք միկրոտարրերի անբավարարության, ցածր ջերմաստիճանի, ազոտական պարարտանյութերի ավելցուկի դեպքում: Այդ պատճառով բուսական մթերքների յուրաքանչյուր խմբի համար սահմանված է նիտրատների թույլատրելի կոնցենտրացիա:

Լույսի անբավարարության ժամանակ թուլանում են ֆոտոսինթեզի և շնչառական գործընթացները, ինչի արդյունքում նվազում է վերականգնված դինուկլեոտիդների և ֆերեդոքսինի առաջացման արագությունը, որոնք հանդիսանում են նիտրատների վերականգման համար էլեկտրոնների դոնորներ: Արդյունքում նիտրատների մեծ մասը չի վերականգնվում, հետևաբար չի օգտագործվում բույսերի ազոտային միացությունների սինթեզի համար: Նման երևույթ դիտվում է ցածր ջերմաստիճանների պայմաններում, երբ դանդաղում են կենսասինթետիկ գործընթացները կապված նիտրատ վերականգնող համակարգի էլեկտրոնների դոնորների վերականգնման հետ: Միևնույն ժամանակ բույսերում շարունակվում են կուտակվել նիտրատներ, հետևաբար բույսերի հյուսվածքներում բարձրանում է նրանց կոնցենտրացիան:

Բույսերի նիտրատ վերականգնող համակարգի վրա զգալի ազդեցություն են թողնում միկրոտարրերը՝ Mo, Fe, Mg, Mn, Cu, որոնք նիտրատռեդուկտազի, նիտրիտռեդուկտազի և ազոտային փոխանակության այլ ֆերմենտների խթանիչներ են: Հատկապես կարևոր է մոլիբդենի դերը, որն ընդգրկված է նիտրատռեդուկտազի մոլիբդենային կոֆակտորի կազմում: Մոլիբդենի և այլ միկ-

բոտարրերի անբավարարության ժամանակ նիտրատների վերականգնման գործընթացը դանդաղում է, ինչի հետևանքով նրանք կուտակվում են բույսերում: Ավելի շատ կուտակում դիտվում է ազոտական պարարտանյութերի բարձր չափաբաժինների, ինչպես նաև ֆոսֆորի և կալիումի ցածր քանակի դեպքում:

Մեթոդի սկզբունքը: Մեթոդը հիմնված է նիտրիտների գունաչափական որոշման վրա, որոնք առաջանում են նիտրատներից նիտրատռեդուկտազի ազդեցությամբ:

$$NO_3^- + \text{ՆԱԴH} + H^+ \longrightarrow NO_2^- + \text{ՆԱԴ}^+ + H_2O$$

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: 8-10 սմ տրամագծով ճենապակյա հավանգ, լաբորատոր կշեռք, ճենապակյա թասիկ, թանզիվ, փորձանոթներ, 50 և 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, 50 մլ ծավալով կոնաձև կոլբաներ, 1-10 մլ ծավալով պիպետներ, ապակյա ձագար, թղթյա ֆիլտր, թերմոստատ, ԼԷԳ:

Ռեակտիվներ: Նատրիումի հիդրոֆոսֆատ ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$), նատրիումի դիհիդրոֆոսֆատ ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$), կալիումի նիտրատ (KNO_3), նատրիումի նիտրիտ ($NaNO_2$), նիկոտինամիդդինուկլեոտիդ վերականգնված (ՆԱԴH), խիտ քացախաթթու (CH_3COOH), ամոնիումի սուլֆատ ($(NH_4)_2SO_4$), սուլֆանիլաթթու ($C_6H_7NO_3S$), α-նաֆթիլամին ($C_{10}H_7\text{-}NH_2$), թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: 0.05 Մ ֆոսֆատային բուֆեր, pH 8.0 (1.7911 գ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ լուծել 100 մլ թորած ջրում, 0.078 գ $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ լուծել 10 մլ թորած ջրում): Խառնել 94.7 մլ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ և 5.3 մլ $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ լուծույթները:

0.1 Մ KNO_3 (0.5055 գ KNO_3 լուծել 50 մլ թորած ջրում):

0,028 Մ ՆԱԴH (0.93 գ ՆԱԴH լուծել 50 մլ 0.05 Մ ֆոսֆատային բուֆերում):

10% CH_3COOH (4.86 մլ խիտ CH_3COOH-ը լուծել 50 մլ թորած ջրում):

Ամոնիումի սուլֆատի հագեցած լուծույթ: $(NH_4)_2SO_4$-ը լուծել 50 մլ տաք ջրում (70°C) մինչև լուծույթի հագեցումը, սառեցնել և ֆիլտրել:

Գրիսի ռեակտիվ (0.48 գ $C_6H_7NO_3S$ և 0.24 գ $C_{10}H_7$-NH_2 լուծել 10% CH_3COOH-ում, ծավալը հասցնել 100 մլ-ի):

$NaNO_2$-ի ստանդարտ լուծույթ: 10 մգ $NaNO_2$-ը լուծել 100 մլ թորած ջրում:

Աշխատանքի ընթացքը: 2 գ բուսական հումքը տրորել ճենապակյա հավանգում 20 մլ ֆոսֆատային բուֆերով (pH 8.0) 15 րոպե: Ֆիլտրել 4 տակ ծալված թանզիվով ճենապակյա բաժակի մեջ:

Երկու փորձանոթների մեջ լցնել 2-ական մլ լուծամզվածք: Առաջին փորձանոթին ավելացնել 1 մլ CH_3COOH (ֆերմենտի ապաակտիվացում): Նույն փորձանոթին ավելացնել 3 մլ $(NH_4)_2SO_4$-ի հագեցած լուծույթ՝ սպիտակուցների նստեցման նպատակով, խառնել: Երկու փորձանոթներին (ակտիվ և ապաակտիվացված ֆերմենտներ) ավելացնել 1-ական մլ KNO_3 և ՆԱԴԻ, տեղադրել թերմոստատ 27°C-ի պայմաններում 30 րոպե: Ֆիքսել ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակը: 30 րոպե անց ակտիվ ֆերմենտ պարունակող փորձանոթին ավելացնել 1 մլ CH_3COOH (ֆերմենտի ապաակտիվացում) և 3 մլ $(NH_4)_2SO_4$-ի հագեցած լուծույթ, խառնել և թողնել 10 րոպե: Փորձանոթների պարունակությունը ֆիլտրել 50 մլ ծավալով կոնաձև կոլբաների մեջ: Յուրաքանչյուր ֆիլտրատից 5-ական մլ տեղափոխել փորձանոթների մեջ, ավելացնել 1մլ Գրիսի ռեակտիվ, խառնել: 30 րոպե անց գունավորված լուծույթները գունաչափել (ԼԷԳ, ալիքի երկարությունը 540 նմ, կյուվետի հաստությունը 1 սմ):

Տրամաչափական կորի կառուցում: 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբաների մեջ լցնել 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0 մլ $NaNO_2$-ի ստանդարտ լուծույթ: Փորձանոթների ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին: Յուրաքանչյուր կոլբայից վերցնել 5-ական

մլ $NaNO_2$-ի լուծույթ, ավելացնել 1 մլ Գրիսի ռեակտիվ, խառնել: 30 րոպե անց գունաչափել (ԼԷԳ, ալիքի երկարությունը 540 նմ, կյուվետի հաստությունը 1 սմ): Ստացված տվյալների հիման վրա կառուցել տրամաչափական կոր: Աբսցիսների առանցքին տեղադրել $NaNO_2$-ի քանակությունները, մկգ (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 մկգ), օրդինատներին՝ լուծույթների օպտիկական խտության ցուցանիշները:

Արդյունքների մշակում: Նիտրատռեդուկտազի ակտիվությունը հաշվարկվում է հետևյալ բանաձևով.

$$A = \frac{M \cdot 20 \cdot 8}{H \cdot 2 \cdot 5 \cdot t},$$

որտեղ՝

A–1 ժամում առաջացած նիտրատռեդուկտազի ակտիվությունը նատրիումի նիտրատի մկգ-ում, 1 գ բույսի հաշվարկով,

M–նատրիումի նիտրատի օպտիկական խտությունը, որոշված տրամաչափական կորով, մկգ,

20- ֆերմենտային լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

8 – ֆերմենտային ռեակցիայի ռեակցիոն խառնուրդի ծավալը, մլ,

H – բուսական հումքի կշիռը, գ,

2 – ֆերմենտային ռեակցիայի համար վերցված լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

5 – ֆիլտրատի ծավալը, վերցված Գրիսի ռեակտիվի գունավորման համար, մլ,

t – ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակը, ժամ:

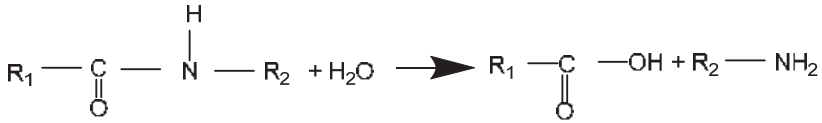
Ստուգիչ հարցեր

1. Ինչպիսի՞ն են նիտրատռեդուկտազի կառուցվածքը և հատկությունները:
2. Ինչպիսի՞ն է նիտրատռեդուկտազի ազդեցության մեխանիզմը:

3. Ինչո՞ւ է լուսային էներգիայի անբավարարության և ցածր ջերմաստիճանի պայմաններում բույսերում բարձրանում նիտրատների պարունակությունը:
4. Ինչո՞ւ է ավելցուկային ազոտային սնուցման և միկրոտարրերի անբավարարության ժամանակ բույսերում բարձրանում նիտրատների պարունակությունը:
5. Ինչ՞ սկզբունքով են որոշում նիտրատռեդուկտազի ակտիվությունը:
6. Ինչպե՞ս են բուսական հումքից ստանում նիտրատռեդուկտազի ֆերմենտային լուծամզվածքը:
7. Որո՞նք են նիտրատռեդուկտազի մասնակցությամբ ֆերմենտային ռեակցիայի առանձնահատկությունները:
8. Ինչպե՞ս են որոշում նիտրատռեդուկտազի ազդեցությամբ առաջացած նիտրիտների քանակությունը:

12. ՊՐՈՏԵՈԼԻՏԻԿ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ

Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտները (3,4) կամ պրոտեազները կատալիզում են սպիտակուցի մոլեկուլում և պեպտիդներում պեպտիդային կապերի հիդրոլիզը:



R_1, R_2 – սպիտակուցների կամ պեպտիդների պոլիպեպտիդային շղթաները

Պրոտեազները բաժանվում են պրոտեինազների և պեպտիդազների: Պրոտեինազները կատալիզում են սպիտակուցների մոլեկուլներում պեպտիդային կապերի հիդրոլիտիկ ճեղքումը, իսկ պեպտիդազներն ազդում են միայն պեպտիդների վրա: Պրոտեինազներից առավել լավ ուսումնասիրված են պեպսինի (3.4.23.1), տրիպսինի (3.4.21.4), քեմոտրիպսինի (3.4.21.1) և պապաինի (3.4.22.2) կառուցվածքները և հատկությունները:

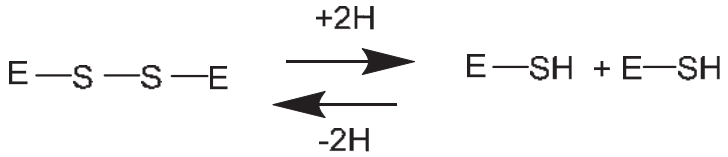
Պեպսինն անջատվում է ստամոքսի լորձաթաղանթից ոչ ակտիվ սպիտակուցի՝ պեպսինագենի ձևով, որը թթվային միջավայրում ակտիվանում է պեպտիդային կապերի մասնակի հիդրոլիզի արդյունքում: Պեպսինի կատալիտիկ ակտիվությունը պայմանավարված է դիկարբոնային ամինաթթուների կարբոքսիլային խմբերով: Տրիպսինի և քեմոտրիպսինի կատալիտիկ ակտիվությունը պայմանավորված է սերինի, հիստիդինի, ասպարագինաթթվի և գլուտմինաթթվի ամինաթթվային մնացորդների մասնակցությամբ: Հայտնի է, որ տրիպսինը կատալիզում է արգինինի և լիզինի մնացորդների միջև առաջացած պեպտիդային կապերը: Պեպսինի, տրիպսինի և քեմոտրիպսինի ազդեցությամբ սպիտակուցները հիդրոլիզվում են, առաջացնելով պեպտիդներ և ազատ ամինաթթուներ: Այդ ֆերմենտները ստացվել են բյուրեղացված վիճա-

կում և որոշվել է նրանց ամինաթթվային հաջորդականությունները:

Պրոտեինազների դասին է պատկանում նաև բուսական ֆերմենտ՝ պապաինը: Պապաինի մոլեկուլը պարունակում է 212 ամինաթթվային մնացորդներ, որոնք սպիտակուցի երրորդային կառուցվածքը ձևավորելու ժամանակ առաջացնում են երեք դիսուլֆիդային կապեր: Հիդրոլիտիկ ռեակցիայի ժամանակ, որը կատալիզում է պապաինը, մասնակցում են ցիստեինի սուլֆիհիդրիլ (-SH) և հիստիդինի ամիդազոլային խմբերը:

Բույսերում տարբերում են պրոտեինազների երկու տեսակ: Նրանցից մեկն ակտիվ կենտրոնում պարունակում է սուլֆիհիդրիլ խումբ և կոչվում են թիոլային պրոտեինազներ: Մյուս պրոտեազները ակտիվ կենտրոնում չեն պարունակում թիոլային խմբեր և կատալիտիկ կենտրոնի կառուցվածքով նման են կենդանական ծագման պրոտեինազներին՝ պեպսինին և տրիպսինին: Թիոլային պրոտեինազների յուրահատուկ հատկությունն է՝ ցիահիդների և սուլֆիհիդրիլ միացությունների (ցիստեին, վերականգնված գլյուտաթիոն) ակտիվացումը: Նշված միացությունները ֆերմենտն օքսիդացված ձևից վերածում են վերականգնված ձևի, որն օժտված է հիդրոլիտիկ ակտիվությամբ:

Թիոլային պրոտեինազների վերականգնման գծապատկերը:



օքսիդացված ձև վերականգնված ձև

Օքսիդիչների ազդեցությամբ ֆերմենտը վերածվում է օքսիդացված դիսուլֆիդային ձևի:

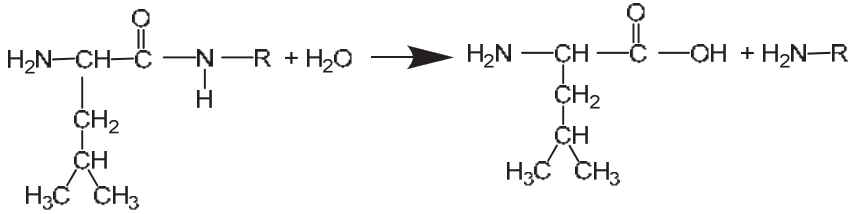
Բույսերում, բացի պապաինից, հայտնի է նաև արքայախնձորի պտուղներից և ցողուններից ստացված բրոմելաինը, ինչպես

նաև թզենու ծառից՝ ֆիցինը: Շատ բույսերի տերևներում հայտնաբերված են սուլֆիհիդրիլ միացություններով ակտիվացված պրոտեինազներ: Թիոլային պրոտեինազներին են պատկանում նաև ցորենից անջատված պրոտեոլիտիկ ֆերմենտները: Որոշ բույսերի սերմերից և պտուղներից անջատված են նաև ոչ թիոլային պրոտեինազներ: Նրանց են պատկանում ոլոռի սերմերից անջատված արվենսինը, գետնընկույզի սերմերից՝ արախայինը: Ֆերմենտների այս դասին են պատկանում նաև շատ սնկերի պրոտեինազներ:

Պեպտիդազներն ընդգրկում են ֆերմենտների երեք խմբեր: Ամինապեպտիդազները կատալիզում են ամինաթթվային մնացորդների հիդրոլիտիկ ճեղքումը պեպտիդների N-ծայրից: Կարբոքսիպեպտիդազները կատալիզում են ամինաթթվային մնացորդների հիդրոլիտիկ ճեղքումը պեպտիդների C-ծայրից: Դիպեպտիդազները կատալիզում են դիպեպտիդներում պեպտիդային կապերի հիդրոլիզը ազատ ամինաթթուների առաջացմամբ: Կարբոքսիպեպտիդազ A-ն (3.4.17.1.) սինթեզվում է կենդանիների ենթաստամոքսային գեղձում: Այս ֆերմենտն ակտիվ կենտրոնում պարունակում է Zn^{2+}, որը կապում է հիստիդինի երկու իմիդազոլային խմբերը գլուտամինաթթվի կարբոքսիլ խմբի հետ: Կարբոքսիպեպտիդազ A-ի կատալիտիկ ակտիվությանը մասնակցում են նաև արգինինի և թիրոզինի ամինաթթվային մնացորդները:

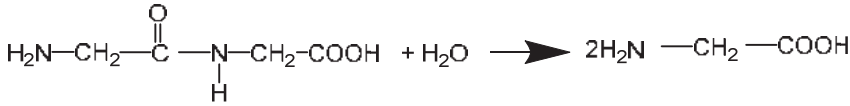
պոլիպեպտիդ C-ծայրային ամինաթթու

Ամինապեպտիդազների ներկայացուցիչն է լեյցինամինապեպտիդազը (3.4.11.1), որը կատալիզում է լեյցինի մնացորդների պոկումը պոլիպեպտիդների N-ծայրից:



պեպտիդ լեյցին

Դիպեպտիդազներին է պատկանում գլիցիլգլիցինպեպտիդազը (3.4.13.11.), որը կատալիզում է դիպեպտիդ գլիցիլգլիցինի հիդրոլիզը:



գլիցիլգլիցին գլիցին

Պրոլինազ ֆերմենտը (3.4.13.8) ճեղքում է պրոլինի կարբոքսիլ խմբերով առաջացած դիպեպտիդների պեպտիդային կապերը:

Պեպտիդազները մետաղ պարունակող ֆերմենտներ են, կարող են միջավայրի տարբեր պայմաններում բույսերի և տարբեր օրգանիզմների բջիջներում ցուցաբերել կատալիտիկ ակտիվություն: Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների համատեղ գործունեության արդյունքում սպիտակուցները հիդրոլիզվում են ազատ ամինաթթուների:

Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների մասին տեղեկությունները կարևոր են բուսական հումքի որակի գնահատման համար: Հացահատիկային բույսերի հասունացման վաղ շրջանում դիտվում է պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների բարձր ակտիվություն: Սակայն հասունացման շրջանում նաև ուժեղանում է սպիտակուցների սինթեզը, որոնք հանդիսանում են պրոտեազների էնդոգեն արգելակիչներ, կապում են ֆերմենտային սպիտակուցները ոչ ակտիվ

համալիրների ձևով, ինչի արդյունքում լիարժեք հասունացված ցորենում չի հայտնաբերվում պրոտեոլիտիկ ակտիվություն: Պրոտեազների միավորումը ոչ ակտիվ համալիրների կարող է նաև իրականացվել շնորհիվ ցորենում առկա պահուստային սպիտակուցների: Ցորենի հասունացումը խոնավ պայմաններում թուլացնում է պահուստային սպիտակուցների սինթեզը, արդյունքում հասունացած ցորենում դիտվում է բարձր պրոտեազային ակտիվություն:

Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ակտիվության որոշման ժամանակ հաշվի են առնում հիդրոլիզված սուբստրատի (սպիտակուցներ) կամ հիդրոլիզի արդյունքում առաջացած արգասիքների (ազատ ամինաթթուներ) քանակությունները: Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների գումարային ակտիվությունը հաշվարկելու համար կիրառում են «Անսոնի» մեթոդը:

Մեթոդի սկզբունքը: Համաձայն «Անսոնի» մեթոդի պրոտեազների ակտիվությունը որոշում են սպիտակուցների հիդրոլիզի արդյունքում առաջացած թիրոզինի քանակով: Թիրոզինի կոնցենտրացիան որոշում են Ֆոլինի ռեակտիվով գունաչափման կամ սպեկտրոֆոտոմետրիկ եղանակով՝ 280 նմ ալիքի երկարությամբ:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: 8-10 սմ տրամագծով ճենապակյա հավանգ, լաբորատոր կշեռք, թանզիվ, ճենապակյա բաժակ, 1-10 մլ ծավալով պիպետներ, 50 մլ ծավալով կոնաձև կոլբաներ, 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, 25 մլ ծավալով չափիչ գլան (նկ. 22), փորձանոթներ, ձագար, թղթյա ֆիլտր, թերմոստատ, ԼԷԳ կամ ՍՖ:

Նկար 22. Չափիչ գլաններ

Ռեակտիվներ: Ալբումին, նատրիումի հիդրոֆոսֆատ ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$), նատրիումի դիհիդրոֆոսֆատ ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$), եռքլորքացախաթթու (CCl_3COOH), նատրիումի կարբոնատ (Na_2CO_3), Ֆոլինի ռեակտիվ, թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: 0.05 Մ ֆոսֆատային բուֆեր, pH 8.0 (1.7911 գ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ լուծել 100 մլ թորած ջրում, 0.078 գ $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ լուծել 10 մլ թորած ջրում): Խառնել 94.7 մլ $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ և 5.3 մլ $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ լուծույթները:

0.5% ալբումինի լուծույթ (0.25գ մաքուր ալբումինը լուծել 0.05 Մ ֆոսֆատային բուֆերում 50 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ):

14% CCl_3COOH (7 գ CCl_3COOH լուծել 50 մլ թորած ջրում):

0.5 Մ Na_2CO_3 (2.6498 գ Na_2CO_3 լուծել 50 մլ թորած ջրում):

Ֆոլինի ռեակտիվ (10 մլ Ֆոլինի ռեակտիվը նոսրացնել 100 մլ թորած ջրով): Լուծույթը պահել մուգ ապակյա տարայում:

Աշխատանքի ընթացքը: 2 գ բուսական հումքը տրորել հավանգում 20 մլ թորած ջրով 15 րոպե: Ստացված ֆերմենտային լուծամզվածքը ֆիլտրել 4 տակ ծալված թանզիվով ճենապակյա բաժակի մեջ:

Երկու փորձանոթների մեջ լցնել 4-ական մլ ալբումինի լուծույթ և 4 մլ թորած ջուր: Առաջին փորձանոթին ավելացնել 10 մլ CCl_3COOH՝ սպիտակուցների նստեցման նպատակով (ֆերմենտի ապաակտիվացում): Փորձանոթների պարունակությունը խառնել և տեղադրել թերմոստատ 40°C-ի պայմաններում 15 րոպե: Երկու փորձանոթներին ավելացնել 2-ական մլ ֆերմենտային լուծամզվածք (ֆիքսել ժամանակը), տեղադրել թերմոստատ 40°C-ի պայմաններում 30 րոպե: 30 րոպե անց երկրորդ փորձանոթին ավելացնել 10 մլ CCl_3COOH, խառնել, թողնել 15 րոպե: Վերնստվածքը ֆիլտրել և ֆիլտրատում որոշել թիրոզինի քանակությունը:

Փորձանոթների մեջ լցնել 1.5 մլ ֆիլտրատ, 4 մլ 0.5 Մ Na_2CO_3-ի լուծույթ և 0.8 մլ Ֆոլինի ռեակտիվ, թողնել 20 րոպե: Գունաչափել (ԼԷԳ, ալիքի երկարությունը 630 նմ, կյուվետի հաստությունը 1 սմ կամ ՍՖ, ալիքի երկարությունը 280 նմ):

Արդյունքների մշակում: Պրոտեազների ակտիվությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$A = \frac{(D_1 - D_2)\cdot 20}{H\cdot 2\cdot t},$$

որտեղ՝

A – թիրոզինի լուծույթում 1 ժամում առաջացած պրոտեազների ակտիվությունը, 1 գ բույսում,

D_1 – նմուշում ակտիվ պրոտեազների օպտիկական խտությունը,

D_2 – նմուշում ապաակտիվացված պրոտեազների օպտիկական խտությունը,

20 – ֆերմենտային լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

2 – ֆերմենտային ռեակցիայի համար վերցված ֆերմենտային լուծամզվածքի ծավալը, մլ,

H – բուսական հումքի կշիռը, գ,

t – ֆերմենտային ռեակցիայի ժամանակը, ժամ:

Ստուգիչ հարցեր

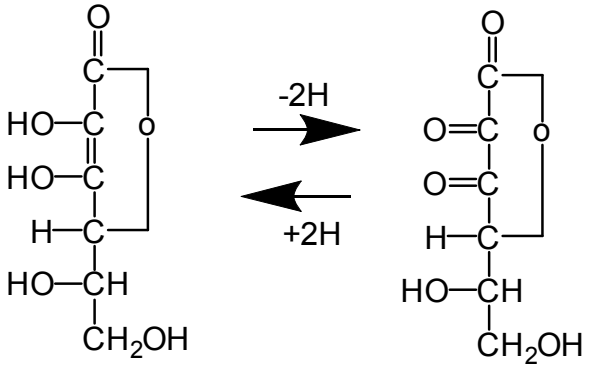
1. Ինչպիսի՞ պրոտեազներ են հայտնի և ինչպե՞ս են նրանք կատալիզում կենսաքիմիական ռեակցիաները:
2. Ինչպե՞ս են ազդում պրոտեինազները և պեպտիդազները սպիտակուցների վրա:
3. Նշել բուսական պրոտեինազների կատալիտիկ կենտրոնի առանձնահատկությունները:
4. Ինչպե՞ս են ազդում ամինապեպտիդազները, կարբոքսիպեպտիդազները և դիպեպտիդազները պեպտիդների վրա:
5. Ինչպե՞ս են ազդում պրոտեոլիտիկ ֆերմենտները բուսական հումքի վրա:
6. Ո՞րն է «Անսոնի» մեթոդով պրոտեինազների ակտիվության որոշման առանձնահատկությունը:
7. Ի՞նչ մեթոդով են ստանում ֆերմենտային լուծամզվածքը և ինչպե՞ս է իրականացվում սպիտակուցային սուբստրատի հետ ռեակցիան:
8. Ինչպե՞ս է հաշվարկվում պրոտեազների ակտիվությունը և ի՞նչ միավորով է արտահայտվում ֆերմենտների կատալիտիկ ակտիվությունը:

13. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ԱՍԿՈՐԲԻՆԱԹԹՎԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՅՈԴԱՅԻՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ

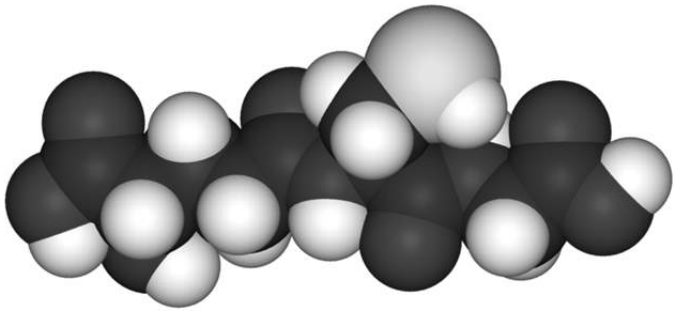
Վիտամինները ֆերմենտների կենսախթանիչներ են: Նրանք օժտված են հակաօքսիդանտային հատկությամբ (ասկորբինաթթու, վիտամին A, E), հետևաբար պաշտպանում են բջիջը մոլեկուլային վնասվածքներից:

Բուսական օրգանիզմները, օգտագործելով արևի էներգիան և անօրգանական միացությունները, առաջացնում են վիտամիններ: Բուսական հյուսվածքներում առաջացած վիտամինները բույսի համար ունեն կարևոր նշանակություն: Հայտնի է, որ որոշ վիտամինների բացակայության դեպքում բույսերի արմատները բնականոն չեն զարգանում, անհնարին է դառնում նաև սերմերի ծլումը: Ինչպես և կենդանիների օրգանիզմում, բույսերում վիտամինները կատարում են կատալիտիկ ֆունկցիա: Օրինակ՝ առանց ֆիլոքինոնի (վիտամին K_1) կարոտինոիդների մասնակցությունը ֆոտոսինթեզի գործընթացին անհնարին է: Որպես բուսական բջիջների հակաօքսիդանտային պաշտպանիչ հանդիսանում են ասկորբինաթթուն, կարոտինոիդները և տոկոֆերոլները:

Ասկորբինաթթվի (վիտամին C) L-ձևը սինթեզվում է գլյուկոզից կամ գալակտոզից, ցուցաբերում է կենսաբանական ակտիվություն: Հիդրոքսիլներից մեկի պրոտոնի դիսոցման արդյունքում ջրային լուծույթում ցուցաբերում է թթվային հատկություններ:



ասկորբինաթթու դեհիդրոասկորբինաթթու



Նկար 23. Ասկորբինաթթվի քիմիական բանաձևը ($C_6H_8O_6$)

Ասկորբինաթթվի հիմնական ֆունկցիան նրա մասնակցությունն է հիդրոքսիլացման ռեակցիաներում՝ որպես վերականգնող միացություններ, որոնց ընթացքում օդի թթվածինը միանում է օրգանական սուբստրատներին: Արդյունքում ասկորբինաթթուն օքսիդանում է դեհիդրոասկորբինաթթվի առաջացմամբ:

Դեհիդրոասկորբինաթթուն նույնպես օժտված է վիտամինային ակտիվությամբ, քանզի հեշտությամբ վերածվում է ասկորբինաթթվի: Շնորհիվ դյուրին օքսիդացման հատկությանը ասկորբինաթթուն պաշտպանում է այլ միացություններ օքսիդացումից:

Ասկորբինաթթուն բարձրացնում է օրգանիզմի դիմադրողականությունը վարակների նկատմամբ: Մարդու օրգանիզմում վիտամին C-ի երկարատև անբավարարության արդյունքում առաջանում է ցինգա հիվանդությունը: Օրգանիզմի բնականոն ֆունկցիաների պահպանման համար անհրաժեշտ է ընդունել օրական 30-70 մգ վիտամին C: Ասկորբինաթթուն չի սինթեզվում մարդու, կապիկների և ծովախոզուկների օրգանիզմներում, սակայն այլ կենդանիներ, ինչպես նաև թռչունները սինթեզում են այդ վիտամինը:

Ասկորբինաթթուն սինթեզվում է բույսերի տերևներում: Օնտոգենեզի ընթացքում տերևներում ասկորբինաթթվի քանակն աստիճանաբար նվազում է, իսկ ծաղկման ավարտից հետո՝ հիդրոլիտիկ գործընթացների ուժեղացման արդյունքում, կտրուկ նվազում է: Բույսերում ասկորբինաթթվի կոնցենտրացիան կախված է բնակլիմայական պայմաններից, ինչպես նաև բույսերի սննդային նյութերի պարունակությունից: Հարավային շրջաններում աճեցված շատ պտուղներ կուտակում են ավելի քիչ վիտամին C, քան հյուսիսային շրջաններում, ինչը պայմանավորված է եղանակի առանձնահատկություններով: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ զով ամռան պայմաններում բույսերի տերևներում և պտուղներում սինթեզվում է ավելի շատ ասկորբինաթթու: Ասկորբինաթթվով հարուստ են բույսերի տերևները, թարմ բանջարեղենները, պտուղները և հատապտուղները:

Աղյուսակում ներկայացված է որոշ բուսական մթերքներում վիտամին C-ի քանակությունը, մգ%:

Աղյուսակ 3

Սև հաղարջ	100-400	Կիտրոն	40-60
Մասուր	1000-4000	Պղպեղ քաղցր	100-400
Կաղամբ սպիտակ	20-60	Սմբուկ	2-10
Ծաղկակաղամբ	50-150	Դդմիկ	10-15
Կարտոֆիլ	10-25	Թրթնջուկ	50-70
Գազար	5-10	Բողկ	20-30

Լոլիկ	20-30	Բազուկ	5-20
Կանաչ սոխ	40-60	Խաղող	1-5
Վարունգ	2-10	Կանաչ ոլոռ	30-50
Մաղադանոս	100-200	Կանաչեղեն (չոր զանգվածը)	400-500
Սամիթ	150-200	Հապալաս	100-200
Խնձոր	5-30	Կաթ	1-2
Մորի, կարմիր հաղարջ	20-40	Բալ	5-15

Ասկորբինաթթու (վիտամին C) պարունակող դեղաբույսեր

Նկար 24. Ասկորբինաթթու պարունակող դեղաբույսեր

Վիտամին C-ի կոնցենտրացիան կտրուկ նվազում է բույսերի միկրո և մակրո տարրերի անբավարարության, ինչպես նաև ավելցուկային ազոտական սնուցման ժամանակ: Ասկորբինաթթվի զգալի կորուստ դիտվում է բուսական հումքի ջերմամշակման, չո-

բացման և վերամշակման ընթացքում, ինչը պայմանավորված է նրանով, որ ասկորբինաթթուն ոչ կայուն միացություն է, այն հեշտությամբ քայքայվում է օքսիդիչների (օքսիդացված ֆերմենտներ, պղնձի կամ երկաթի հետքեր), բարձր ջերմաստիճանի, արևի ճառագայթների ազդեցությամբ, նաև հիմնային հիդրոլիզի արդյունքում: Որոշ միացություններ ապահովում են վիտամին C-ի կայունությունը (սպիտակուցներ, ամինաթթուներ, կերակրի աղ, շաքար, օսլա, ճարպեր): Բուսական հումքում ասկորբինաթթուն պարունակվում է վերականգնված (ասկորբինաթթու), օքսիդացված (դեհիդրոասկորբինաթթու) և ասկորբինագենի ձևով, որտեղ ասկորբինաթթուն կապված է այլ միացությունների հետ և կարող է անջատվել հիդրոլիզի ժամանակ: Կարոտինորիդները կանխում են ասկորբինաթթվի վերածումը դեհիդրո ձևի:

Հասուն պտուղներում և բանջարեղեններում հատկապես կուտակվում է ասկորբինաթթվի վերականգնված ձևը, իսկ չհասունացած և գերհասունացած պտուղներում մեծանում է դեհիդրոասկորբինաթթվի չափաբաժինը, որն ունի ցածր կայունություն օքսիդիչների նկատմամբ և բուսական հումքի պահպանման և մշակման արդյունքում տալիս է մեծ կորուստ: Կաղամբում ասկորբինաթթվի մեծ մասը պարունակվում է ասկորբինագենի ձևով, այդ պատճառով նրա պահպանման արդյունքում վիտամինի կորուստը զգալի չէ:

Ասկորբինաթթվի որոշման մեթոդները հիմնված են նրա վերականգնող հատկությունների վրա: Նրանցից է յոդատային մեթոդը:

Մեթոդի սկզբունքը: Կալիումի յոդատը ասկորբինաթթվի ազդեցությամբ վերականգնվում է ազատ յոդի, որը ներկում են օսլայի լուծույթով:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: Լաբորատոր կշեռք, 8-10 սմ տրամագծով ճենապակյա հավանգ, 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, ձագար, 100 մլ ծավալով կոնաձև կոլբաներ,

1-10 մլ ծավալով պիպետներ, 25 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, 100 մլ ծավալով ապակյա բաժակ:

Ռեակտիվներ: Խիտ աղաթթու (HCl), կալիումի յոդիտ (KJ), կալիումի յոդատ (KJO_3), ջրալուծ օսլա, թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: 2% HCl (0.45 մլ խիտ HCl-ը լուծել 10 մլ թորած ջրում):

1% KJ (0.5 գ KJ լուծել 50 մլ թորած ջրում):

0.001 Ն KJO_3 (0.0178 գ KJO_3 լուծել 50 մլ թորած ջրում): Ստացված լուծույթը նոսրացնել 10 անգամ (աշխատանքային լուծույթ):

0.5% օսլա (0,5 գ ջրալուծ օսլան լուծել 20 մլ թորած սառը ջրում, տեղափոխել ջերմակայուն բաժակի մեջ, որտեղ լցված է 80 մլ տաք ջուր (80°C)), անընդմեջ խառնելով տաքացնել մինչև օսլայի լիարժեք լուծվելը:

Աշխատանքի ընթացքը: 5 գ բուսական հումքը տրորել հավանգում թորած ջրով, տեղափոխել 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբայի մեջ, ծավալը հասցնել նիշին: Ստացված լուծույթը ֆիլտրել (ֆիլտրատն օգտագործել անմիջապես):

100 մլ ծավալով կոնաձև կոլբայի մեջ լցնել 10 մլ ֆիլտրատ, ավելացնել 1 մլ HCl, 0.5 մլ KJ, 2 մլ օսլայի լուծույթ և 10 մլ թորած ջուր: Ստացված խառնուրդը տիտրել 0.001 Ն KJO_3-ի լուծույթով մինչև կապույտ գունավորման առաջացումը: Զուգահեռ կատարել ստուգիչ նմուշի տիտրում, որտեղ ֆիլտրատի փոխարեն ավելացնում են թորած ջուր:

Արդյունքների մշակում: Ասկորբինաթթվի քանակությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$C = \frac{(V_1 - V_2)\cdot K\cdot 0.08806\cdot 100}{H},$$

որտեղ՝

C – 100 գ բուսական հումքում ասկորբինաթթվի քանակությունը, մգ%,

V_1 – ասկորբինաթթվի լուծույթի տիտրման համար ծախսված KJO_3-ի ծավալը, մլ,

V_2 – ստուգիչ նմուշի համար ծախսված KJO_3-ի ծավալը, մլ

K – KJO_3-ի լուծույթի տիտրման ուղղումը,

0.08806 – 0.001 Ն KJO_3-ի (մլ) վերահաշվարկի գործակիցը (մգ),

100 – վերահաշվարկի գործակիցը, մգ%,

H – բուսական հումքի կշիռը, որը համապատասխանում է 10 մլ ասկորբինաթթվի լուծույթին, գ:

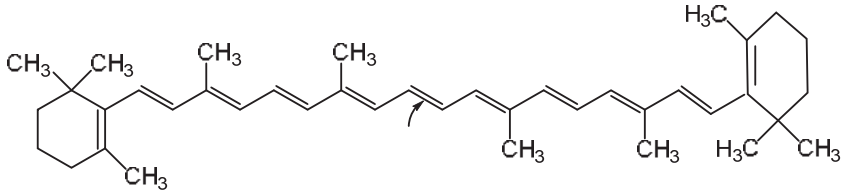
*Հաշվի առնել, որ ասկորբինաթթվի ընդհանուր ծավալը 100 մլ է, իսկ հետազոտման նպատակով վերցվել է 10 մլ:

Ստուգիչ հարցեր

1. Ո՞րն է ասկորբինաթթվի կենսաբանական դերը բույսերի, մարդու և կենդանիների օրգանիզմներում:
2. Ինչպե՞ս է աճման ընթացքում փոփոխվում ասկորբինաթթվի քանակությունը բույսերի տերևներում:
3. Ինչպե՞ս են ազդում բնակլիմայական պայմանները բույսերում ասկորբինաթթվի պարունակության վրա:
4. Ի՞նչ պայմաններում են տեղի ունենում ասկորբինաթթվի կորուստները:
5. Ի՞նչ է ասկորբինագենը:
6. Ինչպե՞ս են որոշում ասկորբինաթթվի քանակությունը բուսական հումքում:
7. Ի՞նչ ռեակցիա է տեղի ունենում կալիումի յոդատով ասկորբինաթթվի լուծույթի տիտրման ժամանակ:

14. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ԿԱՐՈՏԻՆԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ԳՈՒՆԱՉԱՓՄԱՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ

Մարդու և կենդանիների օրգանիզմներում վիտամին A-ն առաջանում է բուսական մթերքներից՝ կարոտիններից: Կարոտինները տարածված են բույսերում: Օքսիգենազ ֆերմենտի ազդեցությամբ կարոտինի մոլեկուլը ճեղքվում է կենտրոնական կրկնակի կապի հատվածում առաջացնելով ռետինալ (վիտամին A-ի ալդեհիդային ձևը): β-կարոտինի յուրաքանչյուր մոլեկուլ առաջացնում է վիտամին A-ի երկու մոլեկուլ, α և γ-կարոտինները՝ մեկական մոլեկուլ, ինչի արդյունքում β-կարոտինն օժտված է կրկնակի անգամ բարձր ակտիվությամբ: Կենդանիների և մարդու համար առավել արժեքավոր է բույսերի β-կարոտինը:



β-կարոտին (սլաքով նշված է կենտրոնական կրկնակի կապը)

A խմբի վիտամինները, ինչպես և կարոտինները, հեշտությամբ լուծվում են լիպոֆիլ լուծիչներում: Կենդանիների օրգանիզմում վիտամին A-ն պահեստավորվում է լյարդում: Մարդու և կենդանիների օրգանիզմներում վիտամին A-ն ապահովում է մաշկը ձևավորող էպիթելային հյուսվածքների, բերանի խոռոչի, աղիների, շնչառական ուղիների լորձաթաղանթների բնականոն վիճակը: Բույսերում ծաղկափոշու բողբոջման, ինչպես նաև բեղմնավորման համար անհրաժեշտ է կարոտինների բավականաչափ քանակություն:

Կարոտինները պարունակվում են ֆոտոսինթեզին չմասնակցող օրգաններում՝ տերևների քլորոպլաստներ և քրոմոպլաստներ

(նրանց սինթեզն առավել ակտիվ ընթանում է լույսի պայմաններում): Քլորոպլաստների թաղանթների կազմում լույսի ֆոտոքիմիական կլանման ժամանակ նրանք կատարում են լրացուցիչ գունակների դեր: Սինթեզվում են քլորոֆիլի հետ միասին և բջջի ներսում գտնվում են ճարպալուծ վիճակում կամ քլորոպլաստների և քրոմոպլաստների լիպիդ-սպիտակուց համալիրի ձևով: Վերցնելով քլորոֆիլից ավելցուկային էներգիան, կարոտինները պաշտպանում են ֆոտոսինթեզի ապարատը ֆոտոօքսիդացումից, ինչպես նաև ապաակտիվացնում են ֆոտոսինթեզի ընթացքում առաջացած բջջի համար վտանգավոր ակտիվ թթվածինը: Բարձրակարգ բույսերում β-կարոտինը նաև մասնակցում է ֆոտոտրոպիզմի երևույթներին:

Առավել շատ կարոտին պարունակվում է բույսերի տերևներում, գազարի արմատապտուղներում, չիչխանում, ծիրանում, լոլիկում և քաղցր պղպեղում: Կարոտինով հատկապես հարուստ է կանաչեղենը, սակայն վեգետացիայի շրջանում բույսի վեգետատիվ զանգվածում այդ վիտամինի պարունակությունը նվազում է: Գազարի արմատապտուղների ձևավորման ժամանակ կարոտինի կոնցենտրացիան բարձրանում է 3-5 անգամ: Կարոտինի քանակությունը բարձրանում է պտուղների և բանջարեղենների հասունացման շրջանում: Բույսերում կարոտինի կուտակումը կախված է բույսի աճեցման պայմաններից: Նրա պարունակությունը տերևներում զգալի նվազում է բույսերի ազոտային սնուցման ցածր մակարդակի դեպքում: Ազոտային պարարտանյութերով հարստացնելիս նրա քանակությունը կարող է բարձրանալ 1.5-2 անգամ: Պտուղներում և բանջարեղեններում կարոտինի բարձր քանակություն դիտվում է բույսի մակրո և միկրո տարրերով սնուցման ժամանակ:

Կարոտինը թթվածնի առկայությամբ քայքայվում է ուլտրամանուշակագույն ճառագայթների և բարձր ջերմաստիճանի ազդեցությամբ, այդ պատճառով բույսերը չորացնելիս արևի ճառա-

գայթների տակ կարոտինի մեծ մասը ենթարկվում է դեգրադացման և դիտվում է այդ նախավիտամինի զգալի կորուստ:

Աղյուսակում ներկայացված է որոշ բուսական մթերքներում կարոտինի պարունակությունը, մգ%:

Աղյուսակ 4

Գազար	6-8	Չիչխան	5-8
Սոխ	5-6	Չիչխանի յուղ	20-40
Հազարատերև	3-5	Կանաչեղեն	10-15
Մաղադանոս	10-12	Լոբազգի բույսերի տերևներ	5-9
Լոլիկ	1-2	Հաղարջ	0.5-1
Ծիրան	1-3	Ցորեն	0.02
Քաղցր պղպեղ	8-12	Բազուկ	2-5

Բույսերի բջիջներում կարոտինները լիպոպրոտեիդների հետ առաջացնում են համալիրներ, այդ պատճառով, հանդիսանալով պոլիչհագեցած միացություններ, ունեն բարձր կայունություն: Երբ խախտվում է բջիջների կառուցվածքը, կարոտիններն արագ քայքայվում են լույսի և օդի թթվածնի ազդեցությամբ:

Կարոտինների մոլեկուլներն օժտված են հիդրոֆոբ հատկությամբ և բուսական հումքից նրանց անջատում են ոչ բևեռացված լուծիչներով, մաքրում այլ գունանյութերից և քանակությունը որոշում գունաչափման եղանակով:

Մեթոդի սկզբունքը: Գունաչափման եղանակով կարոտինի որոշման համար այն բուսական հումքից անջատում են բենզինով և բենզինային լուծամզվացքը հոսեցնում ալյումինիումի օքսիդով լցված աշտարակով (այլ գունանյութերի կլանման նպատակով): Մաքրված կարոտինի բենզինային լուծամզվածքը (դեղին գունավորում) գունաչափում են և համեմատում հետազոտվող լուծույթի և կալիումի բիքրոմատի ստանդարտ լուծույթի օպտիկական խտությունները:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: 8-10 սմ տրամագծով ճենապակյա հավանգ, 30 սմ երկարությամբ և 1սմ

տրամագծով աշտարակ, լաբորատոր կշեռք, 50 և 100 մլ ծավալով չափիչ կոլբաներ, 1-10 մլ ծավալով պիպետներ, ԼԷԳ:

Ռեակտիվներ: Բենզին (թափանցիկ), ալյումինիումի օքսիդ (Al_2O_3),նատրիումի սուլֆատ (Na_2SO_4), կալիումի բիքրոմատ ($K_2Cr_2O_7$), թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: Al_2O_3 (կլանման ունակությունը ստուգում են աղտորբենտով լցված աշտարակի միջով գունանյութերի ծորեցմամբ):

Na_2SO_4 (ջրազրկում են շիկացմամբ):

$K_2Cr_2O_7$-ի ստանդարտ լուծույթ (720 մգ $K_2Cr_2O_7$-ը լուծել 100 մլ թորած ջրում): Ստանդարտ լուծույթի գունավորման ուժգնությունը համարժեք է բենզինային լուծամզվածքի օպտիկական խտությանը, որտեղ կարոտինի կոնցենտրացիան կազմում է 0.00416 մգ/մլ:

Աշտարակի պատրաստում: Աշտարակի ստորին հատվածում տեղադրել բամբակ (2 սմ), լցնել Al_2O_3-ի փոշի (2 սմ շերտով) և խտացնել ապակյա ձողիկով:

Աշխատանքի ընթացքը: 3 գ բուսական հումքը տրորել ճենապակյա հավանգում 5 մլ բենզինով 15 րոպե (իրականացնել քարշիչ պահարանում): Ստացված խառնուրդը տեղափոխել աշտարակի մեջ Al_2O_3-ի շերտի վրա: Հետևել, որպեսզի բենզինային լուծամզվածքը դանդաղ հոսի աշտարակով: Երեք անգամ լվանալ հավանգը 5-10 մլ բենզինով և ավելացնել աշտարակին: Անհրաժեշտ է հավաքել 50 մլ լուծամզվածք: Բենզինի վերջին կաթիլները պետք է լինեն անգույն: Եթե բենզինային լուծամզվածքը կանաչ է, անհրաժեշտ է այն նորից հոսեցնել աշտարակով:

Կարոտինի լուծամզվածքի օպտիկական խտությունը գունաչափել (ԼԷԳ, 440 նմ ալիքի երկարություն): Միաժամանակ չափել $K_2Cr_2O_7$-ի ստանդարտ լուծույթի օպտիկական խտությունը:

Տվյալների մշակում: Բուսական հումքում կարոտինի քանակությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$C = \frac{0.00416 \cdot V \cdot D_1 \cdot 100}{H \cdot D_2},$$

որտեղ՝

C – բուսական նմուշում կարոտինի քանակությունը, մգ%,

0.00416 – կարոտինի քանակությունը 1 մլ ստանդարտ լուծույթում, մգ,

V – կարոտինի բենզինային լուծույթի ծավալը (50մլ),

D_1 – բենզինում կարոտինի լուծույթի օպտիկական խտությունը,

100 – կարոտինի քանակության վերահաշվարկը, մգ%

H – բուսական հումքի կշիռը, գ,

D_2 – $K_2Cr_2O_7$-ի ստանդարտ լուծույթի օպտիկական խտությունը:

Ստուգիչ հարցեր

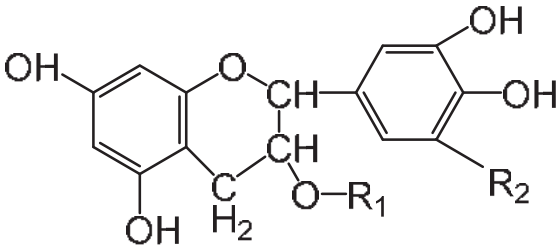
1. Ո՞րն է բույսերում կարոտինի կենսաբանական դերը, իսկ մարդու և կենդանիների օրգանիզմներում վիտամին A-ի դերը:
2. Ինչպե՞ս է փոխվում բույսերի տերևներում կարոտինի քանակությունը նրանց աճման և զարգացման շրջանում:
3. Ի՞նչ ազդեցություն է թողնում բույսի սնուցման ռեժիմը կարոտինի կուտակման վրա:
4. Ի՞նչ պայմաններում է դիտվում կարոտինի կորուստ:
5. Ինչպե՞ս է փոխվում կարոտինի պարունակությունը բանջարեղենների, պտուղների և հատապտուղների հասունացման շրջանում:
6. Ին՞չ եղանակով են որոշում բուսական հումքում կարոտինի քանակությունը:

15. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ՎԻՏԱՄԻՆ Բ-Ի ՈՐՈՇՈՒՄԸ

Բ-վիտամինային ակտիվությամբ օժտված միացություններն առաջին անգամ անջատվել են կիտրոնից և կոչվել ցիտրիններ: Օրգանիզմում այդ միացությունների ազդեցությունը կենսաքիմիական գործընթացների վրա սերտ կապված է ասկորբինաթթվի հետ: Վիտամին Բ-ի համալիրին պատկանում են ֆլավոնոիդային միացությունները, որոնք պատկանում են կատեխիններին, ֆլավանոններին և ֆլավոնոլներին: Առավել բարձր Բ-վիտամինային ակտիվությամբ օժտված են կատեխինները, որոնք պատկանում են վերականգնված ֆլավոնոիդների խմբին:

Կատեխինները, շնորհիվ ածխածնի երկու ասիմետրիկ ատոմների, բույսերում ներկայացված են չորս տարածական իզոմերների ձևով, որոնք որպես տեղակալիչներ պարունակում են հիդրոքսիլ խմբեր:

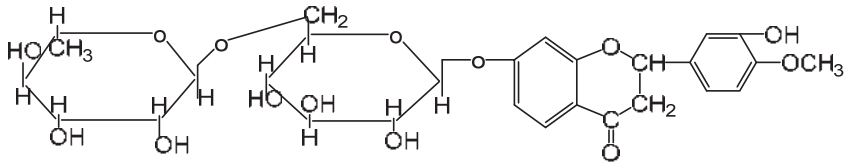
Կատեխինների կառուցվածքը:



(R_1 – H, R_2 – H կամ OH)

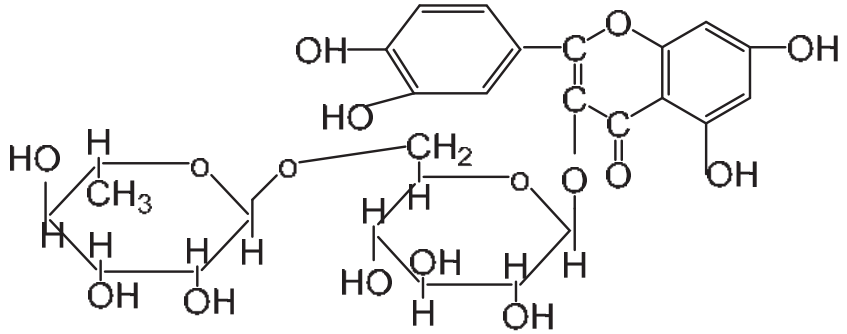
Բույսերում առավել տարածված են կատեխինը և էպիկատեխինը, որոնց ռադիկալները՝ R_1 և R_2, տեղակալված են ջրածնով: Ավելի քիչ քանակությամբ պարունակվում է գալակտոկատեխինը և էպիգալակտոկատեխինը, նրանց R_1 ռադիկալը տեղակալված է H-ով, իսկ R_2 – OH-ով: Կատեխինների մեծ մասն եթերների ձևով միանում են գալաթթվի հետ, որը փոխազդում է ցիկլիկ խմբերի հիդրոքսիլի հետ (R_1 –ը տեղակալվում է գալաթթվի մնացորդով):

Բույսերում գլիկոզիդների ձևով (ռուտին, գեսպերիդին) պարունակվող Ֆլավոնոիդային միացությունները նույնպես օժտված են P-վիտամինային բարձր ակտիվությամբ: Գեսպերիդինի մոլեկուլները կազմված են L-ռամնոզի, β-D-գլյուկոզի և մետոքսիֆլավանոնի մնացորդներից (գեսպերիտին), միացված O-գլիկոզիդային կապերով:



α-L- ռամնոզ β-D- գլյուկոզ գեսպերետին

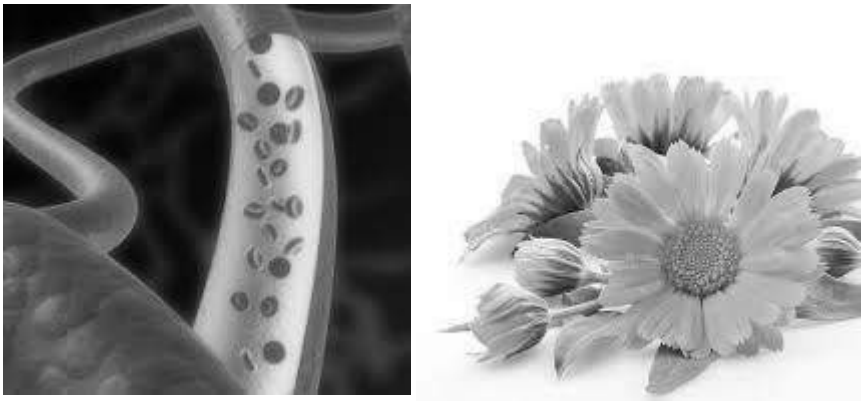
Ռուտինն իրենից ներկայացնում է կվերցետինի ածանցյալ՝ α-L- ռամնոզիլ- β-D- գլյուկոզիլ:



α-L- ռամնոզ β-D- գլյուկոզ կվերցետին

Վիտամին P համալիրին պատկանող միացությունները մասնակցում են օքսիդավերականգնման ռեակցիաներին: Շնորհիվ դյուրին օքսիդացման հատկությանը, նրանք պաշտպանում են այլ միացություններ օքսիդացումից: Վիտամին P-ի անբավարարության ժամանակ նվազում է արյան անոթների առաձգականու-

թյունը, ինչպես նաև մազանոթների թափանցելիությունը, ինչը հանդիսանում է կետային արյունազեղման պատճառ: Վիտամին P-ի օրական պահանջը կազմում է 25-50 մգ:



ա բ

Նկար 25. ա) արյունատար անոթ, բ) վաղենակ (*Calendula officinalis L.*)

Այս վիտամինի բարձր պարունակություն դիտվում է ասկորբինաթթվով հարուստ բուսական մթերքներում՝ սև հաղարջում, քաղցր պղպեղում, ցիտրուսայինների պտուղներում: Հայտնի են ասկորբինաթթվով ոչ հարուստ բուսական մթերքներ, սակայն նրանք հարուստ են ցիտրինով՝ թեյի տերևները, խնձորի որոշ տեսակները, հնդկաձավարը:

Աղյուսակ 5

Որոշ բուսական մթերքներում վիտամին P-ի քանակությունը, մգ%:

Խնձոր	20-45	Կաղամբ	30-50
Սմբուկ, կարմիր պղպեղ	50-250	Բալ	100-250
Սև հաղարջ	մինչև 1000	Լոռամիրգ	200-300

Կատեխինները պարունակվում են պտուղներում և հատապտուղներում՝ խնձոր, տանձ, սերկևիլ, դեղձ, ծիրան, բալ, ազնվա-

մորի, հաղարջ և այլն (աղ. 5): Հատկապես մեծ քանակությամբ կատեխիններ կուտակվում են թեյի տերևների ընձյուղներում (չոր զանգվածի մինչև 30%-ը): Գեսպերիդինի բարձր քանակություն դիտվում է ցիտրուսայինների պտուղներում՝ կիտրոն, նարինջ, մանդարին, ընդ որում՝ գեսպերիդինով հատկապես հարուստ է ցիտրուսայինների կեղևը: Ռուտինի մեծ քանակություն հայտնաբերված է կաղնու կեղևում, թեյի և խնձորենու տերևներում, գայլուկում, խաղողում: Գեսպերիդինը և ռուտինը վիտամինային ակտիվությամբ զիջում են կատեխիններին:

Մեթոդի սկզբունքը: P-վիտամինային ակտիվությամբ օժտված ֆլավոնոիդային միացություններն օքսիդանում են կալիումի պերմանգանատով: Որպես ցուցանշիչ ծառայում է ինդիգոկարմինը, որը ֆլավոնոիդների օքսիդացման արդյունքում կալիումի պերմանգանատի հետ առաջացնում է դեղին գունավորում:

Սարքավորումներ և անհրաժեշտ պարագաներ: Լաբորատոր կշեռք, ճենապակյա հավանգ, 150 մլ ծավալով ջերմակայուն կոնաձև կոլբաներ, ձագար, 10 մլ ծավալով պիպետներ, 20 մլ և 1լ ծավալով չափիչ գլաններ, ֆիլտրի թուղթ:

Ռեակտիվներ: Կալիումի պերմանգանատ ($KMnO_4$), խիտ ծծմբական թթու (H_2SO_4), ինդիգոկարմին ($C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$), թորած ջուր:

Լուծույթների պատրաստում: 0.01 Մ $KMnO_4$ (պատրաստվում է 0.1 Մ $KMnO_4$ ֆիքսանալից լուծելով 1 լ թորած ջրում): Թորած ջրով նոսրացնելիս ստանում են 0.01 Մ լուծույթ:

$C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$-ի լուծույթ (0.02գ $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$ լուծել 1 մլ խիտ H_2SO_4-ում): Տեղափոխել 20 մլ տարողությամբ կոլբայի մեջ, որում նախապես լցված է 14 մլ թորած ջուր, խառնել: Սառեցնելուց հետո լուծույթի ծավալը թորած ջրով հասցնել նիշին և ֆիլտրել:

Աշխատանքի ընթացքը: 1 գ բուսական հումքը տրորել հավանգում 50 մլ թորած ջրով: Ստացված լուծույթը եռացնել 5 րոպե, սառեցնել և ֆիլտրել:

150 մլ ծավալով կոնաձև կոլբայի մեջ լցնել 10 մլ ֆիլտրատ, ավելացնել 10 մլ թորած ջուր, 5 կաթիլ $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$-ի լուծույթ: Առաջանում է կապույտ գունավորում: Լուծույթը տիտրել 0.01 Մ $KMnO_4$-ով մինչև դեղին գունավորման առաջացումը, որը չի անհետանում 30 րոպեի ընթացքում:

Արդյունքների մշակում: Վիտամին Բ-ի քանակությունը հաշվարկում են հետևյալ բանաձևով.

$$X = \frac{0.0064 \cdot V \cdot 50 \cdot 100}{10 \cdot H},$$

որտեղ՝

X – վիտամին Բ-ի քանակությունը վերահաշվարկած ռուտինի քանակի, մգ%,

0.0064 – ֆլավոնոիդների քանակը (մգ) վերահաշվարկած ռուտինի քանակի, որն օքսիդանում է ավելացնելով 1 մլ 0.01 Մ $KMnO_4$-ի լուծույթ,

V – տիտրման համար ծախսված 0,01 Մ $KMnO_4$-ի ծավալը, մլ,

50 – բուսական հումքից ստացված վիտամին Բ-ի լուծույթի ընդհանուր ծավալը, մլ,

100 – վիտամին Բ-ի վերահաշվարկի գործակիցը, մգ%,

10 – $KMnO_4$-ով տիտրման համար վերցված վիտամին Բ-ի ընդհանուր ծավալը, մլ,

H – բուսական հումքի կշիռը, գ:

Ստուգիչ հարցեր

1. Ո՞ր ֆլավոնոիդային միացություններն են պատկանում վիտամին P-ի համալիրին:
2. Ո՞րն է վիտամին P-ի կենսաբանական դերը:
3. Ո՞ր բուսական մթերքներում են պարունակվում մեծ քանակությամբ կատեխիններ:
4. Ո՞ր բուսական մթերքներն են հարուստ գեսպերիդինով և ռուտինով:
5. Որո՞նք են բուսական հումքում վիտամին P-ի որոշման մեթոդի առանձնահատկությունները:
6. Ի՞նչ մեթոդով է իրականացվում P-վիտամինային ակտիվությամբ ֆլավոնոիդային միացությունների անջատումը բուսական հումքից:
7. Ի՞նչ սկզբունքով է կատարվում բուսական նմուշներից P-վիտամինային ակտիվությամբ օժտված ֆլավոնոիդային միացությունների անջատումը և վիտամինային լուծամզվածքի տիտրումը կալիումի պերմանգանատով:

ՏԵՐՄԻՆՆԵՐԻ ԲԱՌԱՐԱՆ

Ալբումիններ – ջրալուծ պարզ սպիտակուցներ:

Ալկալոիդներ – բուսական օրգանիզմների նյութափոխանակության արգասիքներ, որոնք օժտված են ուժեղ ֆիզիոլոգիական ազդեցությամբ մարդու և կենդանիների օրգանիզմների վրա: Պարունակում են ազոտային հետերոցիկլիկ, որոշ դեպքերում նաև արոմատիկ (գորդենին, էֆեդրին) և ստերոիդ (սոլանիդին, սոլասոդին) խմբեր:

Ածխաջրեր – օրգանական միացություններ, բաժանվում են մոնոսախարիդների, օլիգոսախարիդների, պոլիսախարիդների և նրանց ածանցյալների:

Ամիլազներ – օսլայի մոլեկուլի գլիկոզիդային կապերի հիդրոլիզը կատալիզող ֆերմենտներ:

Ամիլոզ – օսլայի պոլիսախարիդ, որն ունի D-գլյուկոզների մնացորդներից կազմված չճյուղավորված շղթա, միացված α(1->4) կապերով:

Ամիլոպեկտին – օսլայի պոլիսախարիդ, որն ունի D-գլյուկոզի մնացորդներից կազմված ճյուղավորված շղթաներ, որոնք գծային շղթայում միացված են α(1->4), ճյուղավորված հատվածներում՝ α(1->6) կապերով:

Ամինապեպտիդազներ – պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ, որոնք կատալիզում են ամինաթթվային մնացորդների հիդրոլիտիկ ճեղքավորումը պոլիպեպտիդների N-ծայրից:

Անփոխարինելի ամինաթթուներ – ամինաթթուներ, որոնք չեն սինթեզվում մարդու և կենդանիների օրգանիզմներում, սակայն անհրաժեշտ են սպիտակուցային մոլեկուլների առաջացման համար:

Անփոխարինների ճարպաթթուներ – պոլիչհագեցած ճարպաթթուներ, պարունակում են երկու կամ երեք կրկնակի կապեր, չեն սինթեզվում մարդու և կենդանիների օրգանիզմներում:

Ասկորբինագեններ – քիմիական միացություններ, որտեղ ասկորբինաթթուն գտնվում է կապված վիճակում և կարող է անջատվել նրանց հիդրոլիզի ժամանակ:

Ասկորբինաթթու (վիտամին C) – ջրալուծ վիտամին, ցուցաբերում է կենսաբանական ակտիվություն և մասնակցում է հիդրոքսիլացման ռեակցիաներում, որոնց ընթացքում օդի թթվածինը միանում է տարբեր օրգանական սուբստրատներին: Վիտամին C-ն չի սինթեզվում մարդու օրգանիզմում:

Ացիլգլիցերիններ – գլիցերինի և ճարպաթթուների բարդ եթերներ:

Բուսական յուղեր – բուսական ճարպեր, գտնվում են հեղուկ վիճակում շնորհիվ ացիլգլիցերինների, որոնք առաջանում են չհագեցած ճարպաթթուների մասնակցությամբ:

Գեսպերիդին – ֆլավոնոիդային գլիկոզիդ, օժտված է P-վիտամինային ակտիվությամբ:

Գենետիկական գաղտնագրի կոդոններ – գենի կառուցվածքում երեք նուկլեոտիդային մնացորդներից կազմված հաջորդականություններ, որոնք սպիտակուցի պոլիպեպտիդներում գաղտնագրում են պրոտեինածին ամինաթթուների մնացորդները:

Գլիկոզիդազներ – գլիկոզիդների, օլիգո և պոլիսախարիդների մոլեկուլների գլիկոզիդային կապերի հիդրոլիզը կատալիզող ֆերմենտներ:

Գլիկոզիդներ – մոնո և օլիգոսախարիդների ածանցյալներ, որոնք առաջանում են կիսացետալային հիդրոքսիլի և ոչ ածխաջրային բնույթի միացությունների (ագլիկոն) փոխազդեցության արդյունքում:

Գլյուտաթիոն – կենսաբանորեն ակտիվ պեպտիդ, կազմված է գլուտամինաթթվի, ցիստեինի և գլիցինի մնացորդներից:

Դաբաղանյութեր – պոլիմեր ֆենոլային միացություններ, որոնք հիդրոլիզի արդյունքում առաջացնում են ֆենոլային և ոչ ֆենոլային բնույթի մոնոմերներ (գալաթթու, էլագաթթու, մոնոսա-

խարիդներ, կատեխիններ և լեյկոանտոցիաններ, խինաթթու և այլն):

Դեհիդրոասկորբինաթթու – ասկորբինաթթվի օքսիդացման արգասիք:

Դեհիդրոգենազներ – օքսիդավերականգնող ֆերմենտներ, որոնք կատալիզում են ջրածնի պոկումն օրգանական սուբստրատներից:

Դեքստրիններ – ամիլալիտիկ ֆերմենտների ազդեցությամբ օսլայի հիդրոլիզից առաջացած միջանկյալ արգասիքներ:

Դիպեպտիդազներ – պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ, կատալիզում են դիպեպտիդների մոլեկուլներում պեպտիդային կապերի հիդրոլիզը:

Եթերային յուղեր – դյուրին գոլորշիացող հեղուկներ, պայմանավորում են բուսական մթերքների բույրը, յուրահատուկ համը և հոտը: Եթերային յուղի կազմում հայտնաբերվել են մոնոտերպենների և սեսկվիտերպենների ածանցյալներ, ինչպես նաև ոչ տերպենային սպիրտներ, ալդեհիդներ, որոշ կարբոնաթթուներ և ածխաջրածիններ, բարդ եթերներ, կետոններ:

Երկրորդային նյութափոխանակության արգասիքներ – բուսական ծագման օրգանական միացություններ, որոնք չեն ենթարկվում ուժգին փոխակերպման, սակայն որոշ բույսերում որոշում են նյութափոխանակության առանձնահատկությունները:

Զիմոգեններ (նախաֆերմենտներ) – ֆերմենտի սինթեզին մասնակցող սպիտակուցի նախանյութեր, որոնք յուրահատուկ պրոտեազների, դիսուլֆիդային կապերի վերականգնիչների կամ կովալենտ ձևափոխման ազդեցությամբ վերածվում են կատալիտիկ ակտիվ մոլեկուլների:

Թիոլային պրոտեինազներ – պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ, որոնք ակտիվ կենտրոնում պարունակում են թիոլային խմբեր (HS-խմբեր):

Իզոֆերմենտներ – ֆերմենտի մոլեկուլային ձևեր, որոնք կատալիզում են միևնույն կենսաքիմիական ռեակցիաները, օժտված են միևնույն սուբստրատային յուրահատկությամբ, սակայն տարբերվում են սպիտակուցի մոլեկուլի առաջնային կառուցվածքով և ֆիզիկաքիմիական հատկությամբ:

Մակածվող ֆերմենտներ – ֆերմենտային սպիտակուցներ, որոնց սինթեզն իրականանում է տվյալ ֆերմենտների սուբստրատների ներթափանցման ընթացքում:

Լիպազներ – ացիլգլիցերոլների բարդ եթերային կապերի հիդրոլիզը կատալիզող ֆերմենտներ, որի արդյունքում առաջանում է գլիցերին և ազատ ճարպաթթուներ:

Լիպիդներ – օրգանական միացություններ՝ ճարպեր, ֆոսֆոլիպիդներ, գլիկոլիպիդներ, ստերոիդ լիպիդներ, մոմեր և նրանց ածանցյալները:

Լիպոպրոտեիդներ – սպիտակուցների տարատեսակներ, պարունակում են լիպիդային խմբավորումներ:

Կատալ – ֆերմենտի ակտիվության միավոր: 1 կատալը այն կատալիտիկ ակտիվությունն է, որը կատալիզում է 1 վայրկյանում 1 մոլ սուբստրատի վերածումը:

Կատալազ – ֆեմենտ, որը կատալիզում է ջրածնի պերօքսիդի ճեղքավորումը թթվածնի և ջրի:

Կատեխիններ – ֆլավոնոիդային միացություններ, պարունակվում են բույսերում չորս իզոմերների ձևով՝ կատեխին, գալլոկատեխին, էպիկատեխին, էպիգալոկատեխին: Օժտված են P-վիտամինային ակտիվությամբ:

Կարբօքսիպեպտիդազներ – պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ, կատալիզում են ամինաթթվային մնացորդների հիդրոլիտիկ ճեղքավորումը պոլիպեպտիդների C-ծայրից:

Կարոտինոիդներ – կարոտիններ և քսանտոֆիլներ պարունակող ջրալուծ գունանյութեր:

Կարոտիններ – տետրատերպեններ, պարունակվում են բույսերի և ջրիմուռների գունակային համալիրի ֆոտոհամակարգերում, հանդիսանում են վիտամին A-ի նախանյութեր:

Կոֆերմենտներ – երկբաղադրամաս ֆերմենտների կատալիտիկ կենտրոնների ակտիվ խմբեր:

Հեմ – երկաթ-պորֆիրինային խմբավորումներ պարունակող պրոստետիկ խմբեր:

Հիդրոլազներ – ջրի մոլեկուլի մասնակցությամբ քիմիական կապերի ճեղքավորումը կատալիզող ֆերմենտներ:

Ճարպեր – պահուստային լիպիդներ, գլիցերինի բարդ եթերների և ճարպաթթուների խառնուրդ:

Ճարպի թթվային թիվը – քիմիական ցուցանիշ, որն արտահայտում է ճարպում ազատ ճարպաթթուների պարունակությունը:

Ճարպի յոդային թիվը – քիմիական ցուցանիշ, որն արտահայտում է ացիլգլիցերիններում չհագեցած ճարպաթթուների մնացորդների պարունակությունը:

Մակրոէրգիկ միացություններ – օրգանական միացությունների ձևեր, ունեն ուժեղ բևեռացված կապեր, որոնց հիդրոլիզից անջատվում է մեծ քանակությամբ ազատ էներգիա (ստանդարտ պայմաններում ավելի քան 30 կՋ/մոլ):

Մելանիններ – քիմիական միացություններ, առաջանում են բուսական մթերքներում արոմատիկ ամինաթթուների և ֆենոլային միացությունների օքսիդացումից և պայմանավորում են մթերքների մգացումը:

Մելանոիդներ – քիմիական միացություններ, որոնք առաջանում են բուսական մթերքներում ամինաթթուների և վերականգնող շաքարների փոխազդեցության արդյունքում և առաջացնում են մթերքների մգացում:

Մոնոսախարիդներ – օրգանական միացություններ, կազմված 3-7 ածխածնի ատոմներից, պարունակում են հիդրոքսիլ, ալդեհիդային կամ կետոնային խմբեր:

Բազմաֆերմենտային համալիրներ – ֆերմենտային համակարգեր, որոնք օրգանիզմում տարբեր նյութերի սինթեզի ընթացքում կատալիզում են միջանկյալ արգասիքների փոխակերպումները:

Նիտրատռեդուկտազ – բույսերի և միկրոօրգանիզմների ֆերմենտ, կատալիզում է նիտրատների վերականգնումը նիտրիտների:

Շաքարներ – ջրում լուծվող մոնոսախարիդներ և օլիգոսախարիդներ:

Պեպտիդազներ – ֆերմենտներ, կատալիզում են պեպտիդների մոլեկուլներում պեպտիդային կապերի հիդրոլիտիկ ճեղքավորումը ամինաթթուների առաջացմամբ:

Պերօքսիդազներ – ֆերմենտներ, որոնք ջրածնի պերօքսիդի մասնակցությամբ կատալիզում են տարբեր սուբստրատների օքսիդացման ռեակցիաները:

Պոլիսախարիդներ – գծային կամ ճյուղավորված պոլիմերներ, պարունակում են բազմաթիվ մոնոսախարիդների մնացորդներ (10 -10000):

Պրոստետիկ խումբ – ֆերմենտային սպիտակուցի հետ ամուր կապված կոֆերմենտային խմբավորում:

Պրոտեազներ (պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ) – ֆերմենտներ, կատալիզում են սպիտակուցի մոլեկուլում պեպտիդային կապերի հիդրոլիտիկ ճեղքավորումը:

Պրոտեիդներ – սպիտակուցներ, բացի ամինաթթվային մնացորդներից պարունակում են նաև ոչ ամինաթթվային բնույթի խմբեր:

Պրոտեինազներ – ֆերմենտներ, որոնք սպիտակուցի մոլեկուլում կատալիզում են պեպտիդային կապերի հիդրոլիտիկ ճեղքավորումը, պեպտիդների և ամինաթթուների առաջացմամբ:

Պրոտեիններ – սպիտակուցներ, որոնց մոլեկուլները պարունակում են պեպտիդային կապերով միացված ամինաթթուներ, չեն պարունակում ոչ ամինաթթվային բնույթի խմբավորումներ:

Պրոտեինածին ամինաթթուներ – սպիտակուցի սինթեզին մասնակցող ամինաթթուներ, այդ ամինաթթուների մնացորդները գաղտնագրվում են գենետիկական գաղտնագրերի կոդոններով:

Սախարոզ – դիսախարիդ, որի մոլեկուլները կազմված են α-D-գլյուկոզի և β-D-ֆրուկտոզի մնացորդներից:

Սպիտակուցներ – կենսապոլիմերներ, որոնց մոլեկուլներն առաջանում են պեպտիդային կապերով միացված պրոտեինածին ամինաթթուների մնացորդներից:

Սպիտակուցի դենատուրացում – սպիտակուցի մոլեկուլի տարածական կառուցվածքի անդարձելի փոփոխություն, որն ուղեկցվում է բնական հատկությունների կորստով:

Սպիտակուցների կենսաբանական արժեք – ցուցանիշ, որն արտահայտում է սպիտակուցի մոլեկուլում անփոխարինելի ամինաթթուների հավասարակշռությունը:

Սպիտակուցի մոլեկուլի բնական կոնֆորմացիա – ֆիզիոլոգիական միջավայրում սպիտակուցի մոլեկուլի տարածական կայուն կառուցվածքը:

Ստերոիդ լիպիդներ – պատկանում են լիպիդների դասին, ցիկլոպենտանպերգիդրոֆենանտրենի ածանցյալներ:

Վերականգնող շաքարներ – մոնոսախարիդներ և օլիգոսախարիդներ, պարունակում են ազատ ալդեհիդային կամ կետոնային խմբեր, մասնակցում են օքսիդավերականգնման ռեակցիաներին:

Վիտամիններ – կենսաբանորեն ակտիվ միացություններ, որոնք քիչ քանակությամբ անհրաժեշտ են օրգանիզմների կենսագործունեության համար: Վիտամինների կենսաբանական ակտիվությունը պայմանավորված է նրանով, որ նրանք որպես ակտիվ խմբեր ընդգրկվում են ֆերմենտների կազմում:

Տերպեններ – բուսական ծագման օրգանական միացություններ, կազմված են իզոպրենի մնացորդներից:

Տոկոֆերոլներ – վիտամին E համալիրին պատկանող կենսաբանորեն ակտիվ միացություններ, պարունակում են հիդրոքինոնի և ֆիտոլի խմբեր:

Ցիտրին (վիտամին P) – ֆլավոնոիդային միացությունների համալիր՝ կատեխիններ, գեսպերիդին, ռուտին, օժտված են P-վիտամինային ակտիվությամբ:

Ռուտին – ֆլավոնոիդային գլիկոզիդ, օժտված է P-վիտամինային ակտիվությամբ: Որպես ագլիկոն՝ պարունակում է ֆլավոնոլ՝ կվերցետին, իսկ ածխաջրային խմբերից՝ դիսախարիդ, որն առաջանում է α-L-ռամնոզի և β-D-գլյուկոզի մնացորդներից, միացված O-գլիկոզիդային կապով կվերցետինի երրորդ ածխածնի ատոմի հետ:

Օլիգոսախարիդներ – օրգանական միացություններ, պարունակում են երկու կամ մի քանի մոնոսախարիդների մնացորդներ:

Օսլա – բույսերի պահուստային պոլիսախարիդ, որի մոլեկուլները կազմված են α-D- գլյուկոզի մնացորդներից:

Օքսիգենազներ – ֆերմենտներ, կատալիզում են թթվածնի միացումը տարբեր սուբստրատներին:

Ֆենոլային միացություններ – օրգանական միացություններ, պարունակում են արոմատիկ խմբեր, որտեղ ջրածնի մեկ և ավել ատոմներ տեղակալված են հիդրոքսիլ խմբերով:

Ֆերմենտի ակտիվ (կատալիտիկ) կենտրոն – ֆերմենտի մոլեկուլի հատվածը, որի հետ փոխազդում է սուբստրատը ֆերմենտային ռեակցիայի ընթացքում:

Ֆերմենտի մոլային ակտիվություն – կատալիտիկ ակտիվությունը 1 մոլ ֆերմենտի հաշվարկով:

Ֆերմենտի տեսակարար ակտիվություն – ֆերմենտի կատալիտիկ ակտիվությունը վերահաշվարկված ֆերմենտային պրեպարատի զանգվածի միավորի:

Ֆերմենտներ – կատալիտիկ ակտիվությամբ օժտված սպիտակուցի մոլեկուլներ:

Ֆերմենտների ակտիվություն – ֆերմենտային մոլեկուլների կատալիտիկ հատկությունները:

Ֆերմենտների արգելակիչներ – միացություններ կամ իոններ, որոնք ընկճում են ֆերմենտների կատալիտիկ ակտիվությունը:

Ֆերմենտների խթանիչներ – ֆերմենտների կատալիտիկ ակտիվությունը բարձրացնող միացություններ կամ իոններ:

Ֆերմենտների սպիտակուցային արգելակիչներ – սպիտակուցային մոլեկուլներ, որոնք կարող են ֆերմենտների հետ առաջացնել ոչ ակտիվ համալիրներ:

Ֆերմենտների սուբստրատներ – քիմիական միացություններ, որոնք ֆերմենտների ազդեցությամբ ենթարկվում են փոխակերպման:

Ֆլավոնոիդային միացություններ – պոլիցիկլիկ միացություններ, ֆլաֆանի ածանցյալներ:

Ֆոսֆոլիպազներ – հիդրոլիտիկ ֆերմենտներ, կատալիզում են ֆոսֆոլիպիդների մոլեկուլներում բարդ եթերային կապերի հիդրոլիզը:

Ֆոսֆոլիպիդներ – լիպիդներ, պարունակում են գլիցերինի, ճարպաթթուների, օրտոֆոսֆորական թթվի, ազոտային և այլ միացությունների մնացորդներ:

Հավելված

1. Որոշ քիմիական տարրերի ատոմային զանգվածները

Տարրի անվանումը	Սիմվոլ	Ատոմային զանգվածը	Տարրի անվանումը	Սիմվոլ	Ատոմային զանգվածը
Ազոտ	N	14.01	Մագնեզիում	Mg	24.31
Ալյումինիում	Al	26.98	Մանգան	Mn	54.94
Արգոն	Ar	39.95	Պղինձ	Cu	63.54
Բարիում	Ba	137.34	Մոլիբդեն	Mo	95.94
Բոր	B	10.81	Արսենիում	As	74.92
Բրոմ	Br	79.91	Նատրիում	Na	22.99
Ջրածին	H	1.01	Նիկել	Ni	58.71
Վոլֆրամ	W	183.85	Անագ	Sn	118.69
Հելիում	He	4.00	Պալադիում	Pd	106.40
Երկաթ	Fe	55.85	Պլատինում	Pt	195,09
Ոսկի	Au	196.97	Ռադիում	Ra	226.00
Յոդ	I	126.90	Սնդիկ	Hg	200.59
Կադմիում	Cd	112.40	Ռուբիդիում	Rb	85.47
Կալիում	K	39.10	Կապար	Pb	207.19
Կալցիում	Ca	40.08	Սելեն	Se	78.96
Թթվածին	O	16.00	Ծծումբ	S	32.06
Կոբալտ	Co	58.93	Արծաթ	Ag	107.87
Սիլիցիում	Si	28.09	Ստրոնցիում	Sr	87.62
Լանթան	La	138.91	Ծարիր	Sb	121.75
Լիթիում	Li	6.94	Ֆտոր	F	19.00
Տիտան	Ti	47.90	Քլոր	Cl	35.45
Ածխածին	C	12.01	Քրոմ	Cr	52.00
Ուրան	U	238.03	Ցեզիում	Cs	132.91
Ֆոսֆոր	P	30.97	Ցինկ	Zn	65.37

2. Բուֆերային լուծույթներ

0.2 Մ ացետատային բուֆեր (pH 3.6-5.8)

0.2 Մ $CH_3COONa\cdot 3H_2O$: 27.22 գ $CH_3COONa\cdot 3H_2O$ լուծել 1 լ թորած ջրում:

0.2 Մ CH_3COOH: 11.49 մլ խիտ CH_3COOH լուծել 1 լ թորած ջրում:

Պահանջվող pH-ով բուֆերային լուծույթներ ստանալու նպատակով խառնում են $CH_3COONa\cdot 3H_2O$ և CH_3COOH լուծույթները աղյուսակում նշված հարաբերակցություններով:

pH(18°C)	0.2 Մ CH_3COONa, մլ	0.2 Մ CH_3COOH, մլ	pH(18°C)	0.2 Մ CH_3COONa, մլ	0.2 Մ CH_3COOH, մլ
3.6	75	925	4.8	590	410
3.8	120	880	5.0	700	300
4.0	180	820	5.2	790	210
4.2	265	735	5.4	860	140
4.4	370	630	5.6	910	90
4.6	490	510	5.8	940	60

0.05 Մ ֆոսֆատային բուֆեր (pH 5.8-8.0):

0.05 Մ Na_2HPO_4: 17.911 գ $Na_2HPO_4\cdot 12H_2O$ լուծել 1լ թորած ջրում:

0.05 Մ NaH_2PO_4: 7.802 գ Մ $NaH_2PO_4\cdot 2H_2O$ լուծել 1լ թորած ջրում:

Պահանջվող pH-ով բուֆերային լուծույթներ ստանալու նպատակով խառնում են Na_2HPO_4 և NaH_2PO_4 լուծույթները աղյուսակում նշված հարաբերակցություններով:

pH	0.05 Մ Na_2HPO_4,մլ	0.05 Մ NaH_2PO_4,մլ	pH	0.05 Մ Na_2HPO_4,մլ	0.05 Մ NaH_2PO_4,մլ
5.8	80	920	7.0	610	390

6.0	123	877	7.2	720	280
6.2	185	815	7.4	810	190
6.4	265	735	7.6	870	130
6.6	375	625	7.8	915	85
6.8	490	510	8.0	947	53

1/15 Մ ֆոսֆատային բուֆեր (pH 4.8-8.0):

1/15 Մ Na_2HPO_4: 11.866 գ $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ լուծել 1լ թորած ջրում:

1/15 Մ KH_2PO_4: 9.073 գ KH_2PO_4 լուծել 1լ թորած ջրում:

Պահանջվող pH-ով բուֆերային լուծույթներ ստանալու նպատակով խառնում են Na_2HPO_4 և KH_2PO_4 լուծույթները աղյուսակում նշված հարաբերակցություններով:

pH	1/15 Մ Na_2HPO_4,մլ	1/15 Մ KH_2PO_4,մլ	pH	1/15 Մ Na_2HPO_4,մլ	1/15 Մ KH_2PO_4,մլ
4.8	3.5	996.5	6.6	371	629
5.0	9.5	990.5	6.8	492	508
5.2	18	982	7.0	612	388
5.4	30	970	7.2	726	274
5.6	49	951	7.4	818	182
5.8	79	921	7.6	885	115
6.0	121	879	7.8	936	64
6.2	184	816	8.0	969	31

0.05 Մ ֆոսֆատային բուֆեր (pH 5.8-8.0):

0.2 Մ NaOH: 8 գ NaOH լուծել 1 լ ջրում:

0.2 Մ KH_2PO_4: 27.218 գ KH_2PO_4 լուծել 1 լ ջրում:

Պահանջվող pH-ով բուֆերային լուծույթներ ստանալու նպատակով 50 մլ 0.2 Մ KH_2PO_4 խառնում են 0.2 Մ NaOH-ի համապատասխան ծավալի հետ համաձայն աղյուսակի: Բուֆերային լուծույթի ծավալը թորած ջրով հասցնում են 200 մլ-ի:

pH	0.2 Մ NaOH, մլ	0.2 Մ KH_2PO_4,մլ	pH	0.2 Մ NaOH, մլ	0.2 Մ KH_2PO_4,մլ
5.8	3.6	50	7.0	29.1	50
6.0	5.6	50	7.2	34.7	50
6.2	8.1	50	7.4	39.1	50
6.4	11.6	50	7.6	42.4	50
6.6	16.4	50	7.8	44.5	50
6.8	22.4	50	8.0	46.1	50

3. Կարևոր բթվահիմնային ցուցանշիչներ

Ցուցանշիչների անվանումը	**Գունավորման փոփոխություն**		**pH-ի տիրույթը**	**Աշխատանքային լուծույթներ**
Ֆենոլֆտալեին	անգույն	կարմիր	8.0-9.6	0.1%, 50%-ոց էթիլ սպիրտում
Թիմոլֆտալեին	անգույն	կապույտ	9.3-10.5	0.1%, 80%-ոց էթիլ սպիրտում
Թիմոլային կապույտ	դեղին	կապույտ	8.0-9.6	0.1%-ոց ջրային լուծույթ
Բրոմթիմոլային կապույտ	դեղին	կապույտ	6.0-7.6	0.1%-ոց ջրային լուծույթ
Մեթիլ կարմիր	կարմիր	դեղին	4.2-6.2	0.2%-ոց ջրային լուծույթ
Մեթիլ օրանժ	կարմիր	նարնջագույն	3.1-4.4	0.1%-ոց ջրային լուծույթ

4. Խիտ թթուների ծավալները տոկոսային լուծույթների պատրաստման համար, մլ/լ

Թթուներ	**Տեսակա-րար կշիռը, 15°C, գ/սմ^3**	**Նյութի նախնական զանգվածը, %**	**25%**	**20%**	**10%**	**5%**	**2%**	**1%**
HCl	1.19	37.23	634.8	496.8	236.4	115.4	45.5	22.6
H_2SO_4	1.84	95.60	167.7	129.9	60.6	29.3	11.5	5.6
CH_3COOH	1.05	99.50	247.8	196.7	97.1	48.2	19.2	9.5

Հայաստանի էնդեմիկ բույսերը

Սրոհունդ հայկական
(*Hypericum armenum* Jaub.&Spach)
Իջևանի և Զանգեզուրի
ֆլորիստիկական շրջաններ

Զանգակ զանգեզուրի
(*Campanula zangezura*
(Lypsky)Kolak.&Serdyuk.)
Զանգեզուրի և Մեղրու
ֆլորիստիկական
շրջաններ

Արոսենի հայաստանյան
(*Sorbus hajastana* Gabrielian)
Սևանի, Ապարանի և Գեղամի
ֆլորիստիկական շրջաններ

Ճարճատուկ արարատի
(*Draba araratica* Rupr.)
Արագածի և Գեղամի
ֆլորիստիկական
շրջաններ

Կոմուխ անցողուն
(*Inula acaulis* Schott.& Kotschy ex Boiss.)
Սևանի և Դարեղեգեսի ֆլորիստիկական շրջաններ

Տերեփուկ երևանյան
(*Centaurea erivanensis* (Lipsky)Bordz)
Երևանի ֆլորիստիկական շրջան

Լվածաղիկ զանգեզուրի
(*Tanacetum zangezuricum* Ghandjian)
Զանգեզուրի և Մեղրու ֆլորիստիկական շրջաններ

Վաղենակ պարսկական
(*Calendula persica* C.A.Mey.)
Զանգեզուրի և Մեղրու ֆլորիստիկական շրջաններ

Սգնի,ալոճ զանգեզուրյան
(*Crataegus zangezura* Pojark.)
Զանգեզուրի ֆլորիստիկական շրջան

Մորենի, մոշենի Թախթաջյանի
(*Rubus takhtadjanii* Mulk.)
Զանգեզուրի ֆլորիստիկական շրջան

Կաթնուկ Թախտաջյանի
(*Lactuca takhtadzhianii* Sosn.)
Երևանի և Դարեղեգիսի
ֆլորիստիկական շրջաններ

Ջիվան հայկական
(*Cephalaria armeniaca* Bordz.)
Սյունիքի և Վայոց ձորի,
Դարեղեգիսի ֆլորիստիկական
շրջաններ

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. – М.: Медицина, 2002,- 528 с.
2. Давиденко Т.И., Романовская И.И., Бондаренко Г.И. Ферментативное восстановление нитросоединений. – М.: ВИНИТИ, 1990, - 120 с.
3. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. – М.: Мир, 1991, - 453 с.
4. Казаков Е.Д., Карпиленко Г.П. Биохимия зерна и хлебопродуктов. – СПБ.: Гиорд, 2005, - 510 с.
5. Красильникова Л.А. и др. Биохимия растений, Феникс, М., 2004,- 224 с.
6. Новиков Н.Н. Биохимия растений. – М.: Издательство МСХА, 2003, - 168 с.
7. Новиков Н.Н. Биохимия ферментов. – М.: Издательство РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, 2010, - 106 с.
8. Новиков Н.Н., Таразанова Т.В. Лабораторный практикум по биохимии растений. - М.: Издательство РГАУ – МСХА, 2012, - 96 с.
9. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос, 1985, - 255 с.
10. Щербаков В.Г., Лобанов В.П. Биохимия и товароведение масличного сырья. – М.: Колос, 2003, - 360 с.
11. Heldt H., Piechulla B.. Plant Biochemistry. Fourth edition, Academic Press is an imprint of Elsevier, 2011,- 622 p.
12. Robert A. Copeland. Enzymes: A Practical Introduction to Structure, Mechanism, and Data Analysis, 2000,- 391 p.
13. Sadasivam S., Manickam A. Biochemical Methods, Second edition, New Age International private Ltd Publishers, 2005,-207 p.

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ 3
ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱՅԻ ԼԱԲՈՐԱՏՈՐԻԱՅՈՒՄ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐԻ ԻՐԱԿԱՆԱՑՄԱՆ ԱՆՎՏԱՆԳՈՒԹՅԱՆ ՏԵԽՆԻԿԱՅԻ ԿԱՆՈՆՆԵՐԸ 5
ԲՈՒՍԱԿԱՆ ԲՋՋԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ 6
ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՀԱՆՔԱՅԻՆ ՄՆՆԴԱՌՈՒԹՅՈՒՆԸ 8
ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ ԱՇԽԱՏԱՆՔՆԵՐ 21
1. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ԱԶԱՏ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՖՈՐՄՈԼԱՅԻՆ ՏԻՏՐՄԱՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ 21
2. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ԲԻՈՒՐԵՏԻ ՄԵԹՈԴՈՎ 30
3. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ՍՊԻՏԱԿՈՒՑՆԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՍՊԵԿՏՐՈՖՈՏՈՄԵՏՐԻԿ ԵՂԱՆԱԿՈՎ 35
4. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ՇԱՔԱՐՆԵՐԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՖԵՆՈԼԱՅԻՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ 39
5. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՃԱՐՊԵՐԻ ԹԹՎԱՅԻՆ ԹՎԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ 52
6. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՃԱՐՊԵՐՈՒՄ ՅՈԴԱՅԻՆ ԹՎԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՀԱՆՈՒՍԻ ՄԵԹՈԴՈՎ 59
ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ 65
7. ՁԻԹԱՏՈՒ ԵՎ ՀԱՏԻԿԱՅԻՆ ԲՈՒՅՍԵՐԻ ՍԵՐՄԵՐՈՒՄ ԼԻՊԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ 68
8. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ԱՄԻԼԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ 72
9. ԿԱՏԱԼԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄՆ ԸՍՏ ԲԱԽԻ ԵՎ ՕՊԱՐԻՆԻ 83
10. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ՊԵՐՕՔՍԻԴԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ 90
11. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ՆԻՏՐԱՏՌԵԴՈՒԿՏԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ 96
12. ՊՐՈՏԵՈԼԻՏԻԿ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄԸ 106

13. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ԱՍԿՈՐԲԻՆԱԹՎԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ՅՈԴԱՅԻՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ 114
14. ԲՈՒՅՍԵՐՈՒՄ ԿԱՐՈՏԻՆԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ԳՈՒՆԱՉԱՓՄԱՆ ԵՂԱՆԱԿՈՎ..... 121
15. ԲՈՒՍԱԿԱՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ՎԻՏԱՄԻՆ Բ-Ի ՈՐՈՇՈՒՄԸ 126
ՏԵՐՄԻՆՆԵՐԻ ԲԱՌԱՐԱՆ 132
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 141
ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԷՆԴԵՄԻԿ ԲՈՒՅՍԵՐԸ 145
ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅԱՆ ՑԱՆԿ..... 148

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Ա. Ա. Աղաջանյան, Ա. Հ. Թռչունյան

ԲՈՒՅՍԵՐԻ ԿԵՆՍԱՔԻՄԻԱ

Ուսումնամեթոդական ձեռնարկ

Համակարգչային ձևավորումը՝ Կ. Չալաբյանի
Կազմի ձևավորումը՝ Ա. Պատվականյանի
Հրատ. սրբագրումը՝ Գ. Գրիգորյանի

Տպագրված է ՀՀ ԿԱ ՊԵԿ «Ուսումնական կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի
Հրատարակչական մասի տպարանում:
ք. Երևան Ահարոնյան 12/3

Ստորագրված է տպագրություն՝ 25.07.2017:
Չափսը՝ 60x84 $^{1}/_{16}$: Տպ. մամուլը՝ 9.5:
Տպաքանակը՝ 100:

ԵՊՀ հրատարակչություն
ք. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1
www.publishing.am

ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆ 2017
publishing.ysu.am