NETAJI SUBHAS OPEN UNIVERSITY

STUDY MATERIAL

ELECTIVE CHEMISTRY HONOURS

ECH - 12

PRACTICAL CHEMISTRY-III

প্রাক্‌কথন

নেতাজি সুভাষ মুক্ত বিশ্ববিদ্যালয়ের স্নাতক শ্রেণির জন্য যে পাঠক্রম প্রবর্তিত হয়েছে, তার লক্ষণীয় বৈশিষ্ট্য হল প্রতিটি শিক্ষার্থীকে তাঁর পছন্দমতো কোনো বিষয়ে সাম্মানিক (Honours) স্তরে শিক্ষাগ্রহণের সুযোগ করে দেওয়া। এ ক্ষেত্রে ব্যক্তিগতভাবে তাঁদের গ্রহণক্ষমতা আগে থেকেই অনুমান করে না নিয়ে নিয়ত মূল্যায়নের মধ্য দিয়ে সেটা স্থির করাই যুক্তিযুক্ত। সেই অনুযায়ী একাধিক বিষয়ে সাম্মানিক মানের পাঠ-উপকরণ রচিত হয়েছে ও হচ্ছে—যার মূল কাঠামো স্থিরীকৃত হয়েছে একটি সুচিন্তিত পাঠক্রমের ভিত্তিতে। কেন্দ্র ও রাজ্যের অগ্রগণ্য বিশ্ববিদ্যালয় সমূহের পাঠক্রম অনুসরণ করে তার আদর্শ উপকরণগুলির সমন্বয়ে রচিত হয়েছে এই পাঠক্রম। সেইসঙ্গে যুক্ত হয়েছে অধ্যেতব্য বিষয়ে নতুন তথ্য, মনন ও বিশ্লেষণের সমাবেশ।

দূর-সঞ্চারী শিক্ষাদানের স্বীকৃত পদ্ধতি অনুসরণ করেই এই সব পাঠ-উপকরণের লেখার কাজ চলছে। বিভিন্ন বিষয়ের অভিজ্ঞ পণ্ডিতমণ্ডলীর সাহায্য এ কাজে অপরিহার্য এবং যাঁদের নিরলস পরিশ্রমে লেখা, সম্পাদনা তথা বিন্যাসকর্ম সুসম্পন্ন হচ্ছে তাঁরা সকলেই ধন্যবাদের পাত্র। আসলে, এঁরা সকলেই অলক্ষ্যে থেকে দূর-সঞ্চারী শিক্ষাদানের কার্যক্রমে অংশ নিচ্ছেন; যখনই কোনো শিক্ষার্থী এই পাঠ্যবস্তুনিচয়ের সাহায্য নেবেন, তখনই তিনি কার্যত একাধিক শিক্ষকমণ্ডলীর পরোক্ষ অধ্যাপনার তাবৎ সুবিধা পেয়ে যাচ্ছেন।

এইসব পাঠ-উপকরণের চর্চা ও অনুশীলনে যতটা মনোনিবেশ করবেন কোনো শিক্ষার্থী, বিষয়ের গভীরে যাওয়া তাঁর পক্ষে ততই সহজ হবে। বিষয়বস্তু যাতে নিজের চেষ্টায় অধিগত হয়, পাঠ-উপকরণের ভাষা ও উপস্থাপনা তার উপযোগী করার দিকে সর্বস্তরে নজর রাখা হয়েছে। এরপর যেখানে যতটুকু অস্পষ্টতা দেখা দেবে, বিশ্ববিদ্যালয়ের বিভিন্ন পাঠকেন্দ্রে নিযুক্ত শিক্ষা-সহায়কগণের পরামর্শে তার নিরসন অবশ্যই হতে পারবে। তার ওপর প্রতি পর্যায়ের শেষে প্রদত্ত অনুশীলনী ও অতিরিক্ত জ্ঞান অর্জনের জন্য গ্রন্থ-নির্দেশ শিক্ষার্থীর গ্রহণ ক্ষমতা ও চিন্তাশীলতা বৃদ্ধির সহায়ক হবে।

এই অভিনব আয়োজনের বেশ কিছু প্রয়াসই এখনও পরীক্ষামূলক—অনেক ক্ষেত্রে একেবারে প্রথম পদক্ষেপ। স্বভাবতই, ত্রুটি-বিচ্যুতি কিছু কিছু থাকতে পারে, যা অবশ্যই সংশোধন ও পরিমার্জনার অপেক্ষা রাখে। সাধারণভাবে আশা করা যায়, ব্যাপকতর ব্যবহারের মধ্য দিয়ে পাঠ-উপকরণগুলি সর্বত্র সমাদৃত হবে।

অধ্যাপক (ড.) শুভ শঙ্কর সরকার
উপাচার্য

দ্বিতীয় পুনর্মুদ্রণ ঃ সেপ্টেম্বর, 2015

বিশ্ববিদ্যালয় মঞ্জুরি কমিশনের দূরশিক্ষা ব্যুরোর বিধি অনুযায়ী এবং অর্থানুকূল্যে মুদ্রিত।
Printed in accordance with the regulations and financial assistance of the Distance Education Bureau of the University Grants Commission.

পরিচিতি

বিষয় ঃ রসায়নবিদ্যা

সাম্মানিক স্তর

পাঠক্রম : পর্যায় : ECH 12

	রচনা	সম্পাদনা
একক 1–6 ❑	ড. অদিতি নাগ চৌধুরি	ড. মনোতোষ দাশগুপ্ত
	ও	ও
একক 7–9 ❑	ড. মনোতোষ দাশগুপ্ত	রাজর্ষি চ্যাটার্জি

প্রজ্ঞাপন

এই পাঠ সংকলনের সমুদয় স্বত্ব নেতাজি সুভাষ মুক্ত বিশ্ববিদ্যালয়ের দ্বারা সংরক্ষিত। বিশ্ববিদ্যালয় কর্তৃপক্ষের লিখিত অনুমতি ছাড়া এর কোন অংশের পুনর্মুদ্রণ বা কোনভাবে উদ্ধৃতি সম্পূর্ণ নিষিদ্ধ।

অধ্যাপক (ড.) দেবেশ রায়
নিবন্ধক

নেতাজি সুভাষ মুক্ত বিশ্ববিদ্যালয়

ECH–12

ব্যবহারিক রসায়নবিদ্যা—III

বিষয়

একক 1	❑	প্রাণরাসায়নিক অণুগুলির পরিচিতি নির্ণয় (সনাক্তকরণ)	7–14
একক 2	❑	প্রাণরাসায়নিক অণুগুলির পৃথকীকরণ	15–22
একক 3	❑	মাধ্যমের ঘনত্বের অবক্রমভিত্তিক সেন্ট্রিফিউগেশন পৃথকীকরণ	23–27
একক 4	❑	বর্ণালী শোষণভিত্তিক পরিমাপন পদ্ধতি	28–37
একক 5	❑	উৎসেচকের ক্রিয়াশীলতা ও বৈশিষ্ট্য নির্ণয়	38–41
একক 6	❑	অণুবীক্ষণ যন্ত্রে কোষ পরীক্ষা	42
একক 7	❑	বিক্রিয়া গতিতথ্য সমীক্ষণ	43–49
একক 8	❑	দ্রবণের তাড়িতিক পরিবাহিতা পরিমাপন	50–57
একক 9	❑	বিরঞ্জক চূর্ণে প্রাপ্তব্য ক্লোরিনের পরিমাণ নির্ধারণ	58–61

একক 1 ❑ প্রাণরাসায়নিক অণুগুলির পরিচিতি নির্ণয় (সনাক্তকরণ)ঃ

গঠন ঃ

1.1 উদ্দেশ্য

1.2 প্রস্তাবনা

1.3 পরীক্ষাসমূহ ঃ

1.3.1 অ্যামিনো অ্যাসিডের পরিচিতি নির্ণয় পরীক্ষা ঃ (এনিন হাইড্রিন পরীক্ষা)

1.3.2 প্রোটিনের পরিচিতি নির্ণয় পরীক্ষা ঃ (বাইইউরেট পরীক্ষা)

1.3.3 কার্বোহাইড্রেটের পরিচিতি নির্ণয় পরীক্ষা

1.3.3.1 মলিশ-এর পরীক্ষা

1.3.3.2 বেনেডিক্টের পরীক্ষা

1.3.3.3 সুক্রোজের জন্য বিশেষ পরীক্ষা

1.3.3.4 সেলিওয়ানফের পরীক্ষা

1.3.3.5 পলিস্যাকারাইডের পরীক্ষা

1.1 উদ্দেশ্য

যে কোন ফলিত বিজ্ঞানের একটি ব্যবহারিক দিক থাকে। ব্যবহারিক দিকটিতে প্রবেশাধিকার হবে তখনই, যখনই ঐ বিজ্ঞানের ব্যবহারিক পরীক্ষা নিরীক্ষাগুলি করায়ত্ত হবে। এই অধ্যায়ের উদ্দেশ্য হল কীভাবে অতি ব্যবহৃত প্রাণরাসায়নিক অনুগুলিকে চেনা যাবে।

1.2 প্রস্তাবনা

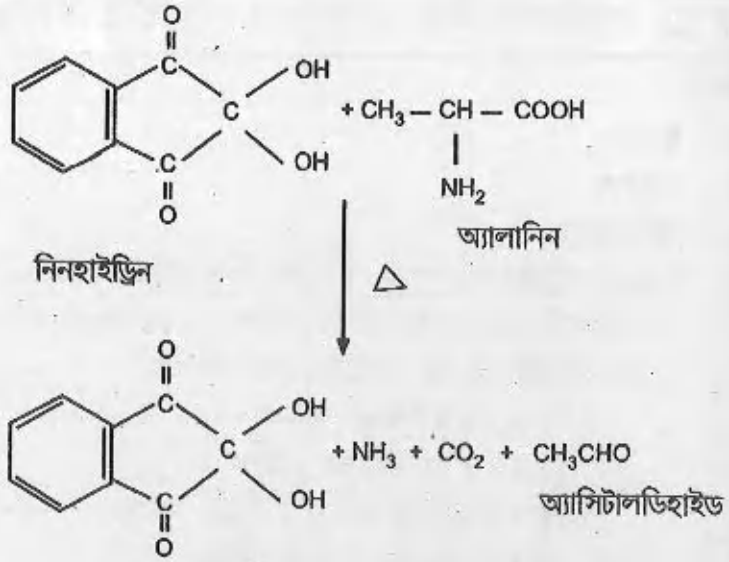
প্রাণরসায়নের তত্ত্ব ও তথ্যের মধ্যে প্রবেশ করবার জন্য আমরা প্রথমেই অ্যামিনো অ্যাসিড, কার্বোহাইড্রেট, প্রোটিন ও স্নেহ জাতীয় পদার্থের সংজ্ঞা, উদাহরণ ও ভৌত ও রাসায়নিক ধর্ম নিয়ে আলোচনা করেছি। সেই ধর্মগুলিকেই কাজে লাগিয়ে পরীক্ষাগারে ঐ অণুগুলিকে চেনবার চেষ্টা করব।

পরীক্ষাগারে পরীক্ষা করবার জন্য আমাদের কয়েকটি বিষয়ে সতর্কতা প্রয়োজন না হলে যে কোন মুহূর্তে দুর্ঘটনা ঘটতে পারে। কী কী বিষয়ে সতর্কতা নিতে হবে সেগুলি আগে দেখা যাক—

(ক) একটি লম্বাহাতওয়ালা সাদা কোট পকেটসহ—যাকে আমরা সাধারণতঃ 'এপ্রন' (Appron) অথবা 'ল্যাব কোট' বলে থাকি। এইটি ব্যতীত কোন ভালো পরীক্ষাগারে প্রবেশানুমতি মিলবে না। এইটি পরে পকেটে একটি ছোট তোয়ালে, সাবান, পরীক্ষানল ধারক, একটি দেশলাই বাক্স, একটি কলম ও একটি নোট বই নিতে হবে। পরীক্ষাগারে যে সকল নির্দেশ দেওয়া হবে ও যে সকল পরীক্ষালব্ধ ফল পাওয়া যাবে তা লিখবার জন্য চাই নোটবই ও কলম।

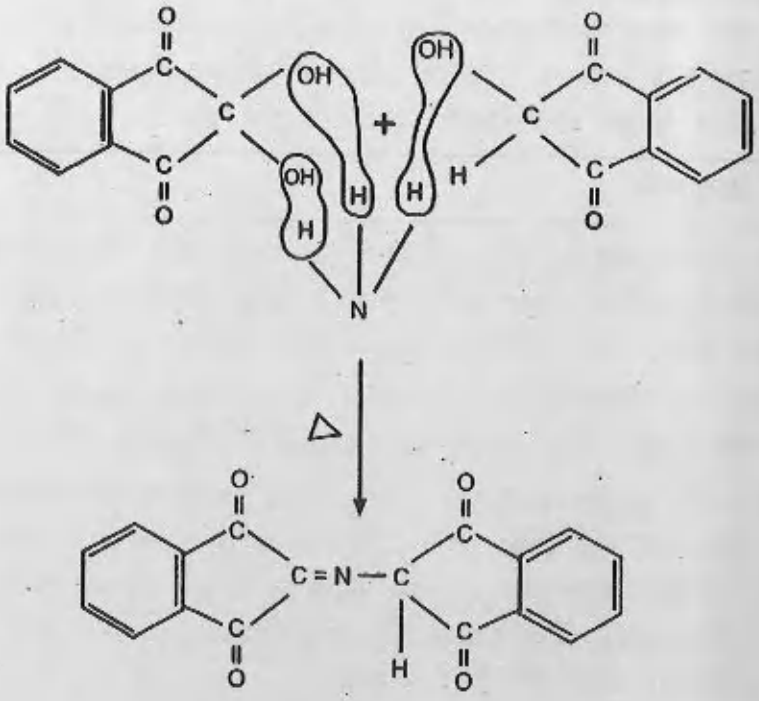
(খ) আমাদের প্রয়োজনীয় যৌগগুলি, বুনসেন দীপ, পরীক্ষানল আধার (Test tube stand) সাজিয়ে পরীক্ষা শুরু।

বিক্রিয়া :



হাইড্রিনড্যানটিন + অ্যামোনিয়া + কার্বন ডাই অক্সাইড + অ্যাসিটাল ডিহাইড।

বিক্রিয়া :

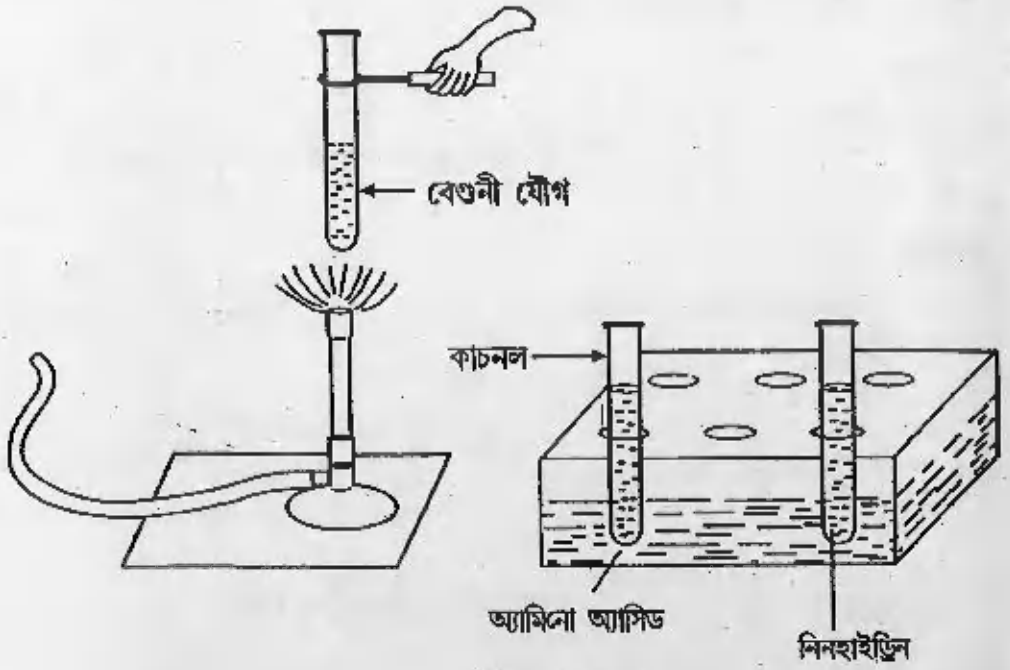


গোলাপী/বেগুনী রং-এর যৌগ

1.3 পরীক্ষাসমূহ ঃ

1.3.1 অ্যামিনো অ্যাসিডের পরিচিতি নির্ণয় পরীক্ষা ঃ (এনিন হাইড্রিন পরীক্ষা)

সূত্র ঃ অ্যামিনো অ্যাসিডের দ্রবণ যদি নিনহাইড্রিনের দ্রবণের সঙ্গে মিশিয়ে 105° সেলসিয়াসে উত্তপ্ত করা যায় তাহলে একটি গোলাপী অথবা বেগুনী রং-এর দ্রবণ উৎপন্ন হবে। প্রোটিন হলুদ যৌগ তৈরী করে—এইটিকে অ্যামিনো অ্যাসিড বলে।



চিত্র ঃ 1.1

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) যে কোন অ্যামিনো অ্যাসিড 1 গ্রাঃ/লি. দ্রবণ, প্রয়োজনবোধে আয়তনের করতে হবে। যদি মাত্র 1 মিলি প্রয়োজন হয় তবে 1 মিগ্রা./মিলি. দ্রবণ বানিয়ে নিতে হবে। প্রয়োজনমত পরীক্ষানল বা বিকার ব্যবহার করা যেতে পারে।

যে অ্যামিনো অ্যাসিডগুলি জলে ভালো দ্রবীভূত হবে না তাদের অ্যাসিটোন, অ্যালকোহল অথবা অহিসোপ্রপানল দ্রবণ নেওয়া হয়।

(2) সদ্যপ্রস্তুত নিনহাইড্রিন দ্রবণ (2 গ্রা./লি. অ্যাসিটোনে) এক্ষেত্রেও দ্রবণের মোট আয়তন প্রয়োজনবোধে বানাতে হবে। এই দ্রবণটি সঙ্গে সঙ্গে বানাতে হবে। আগে বানিয়ে রাখলে কাজ নাও হতে পারে।

অ্যামিনো অ্যাসিডের দ্রবণ আগে থেকে বানিয়ে রাখা যেতে পারে।

পদ্ধতি ঃ একটি পরীক্ষানলে 1 মিলি. অ্যামিনো অ্যাসিডের দ্রবণ নিয়ে তাতে পাঁচ ফোঁটা নিনহাইড্রিন দিয়ে 2 মিনিট ফোটালে রং দেখা যাবে। আরেকটি পরীক্ষানলে শুধু জল 1 মিলি. নিয়ে তাতে নিনহাইড্রিন দিয়ে একইরকম পরীক্ষা করলে পার্থক্য ধরা পড়বে। জলে কোন রং হবে না।

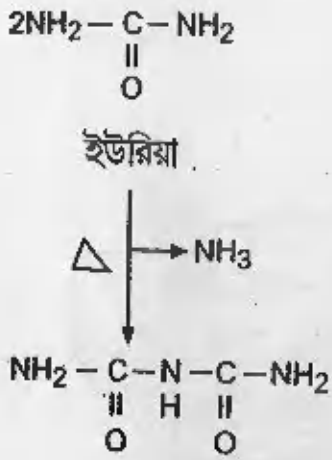
1.3.2 প্রোটিনের পরিচিতি নির্ণয় পরীক্ষা ঃ (বাইইউরেট পরীক্ষা)

সূত্র ঃ ক্ষারীয় কপার সালফেট দ্রবণ দুই অথবা ততোধিক পেপটাইড যোজক যুক্ত যৌগের সঙ্গে বিক্রিয়ায় বেগুনি রং-এর জটিল যৌগ প্রস্তুত করে। যত বেশী সংখ্যক পেপটাইড যোজক থাকে, রং-এর গাঢ়ত্বও সেইভাবে বৃদ্ধি পায়।

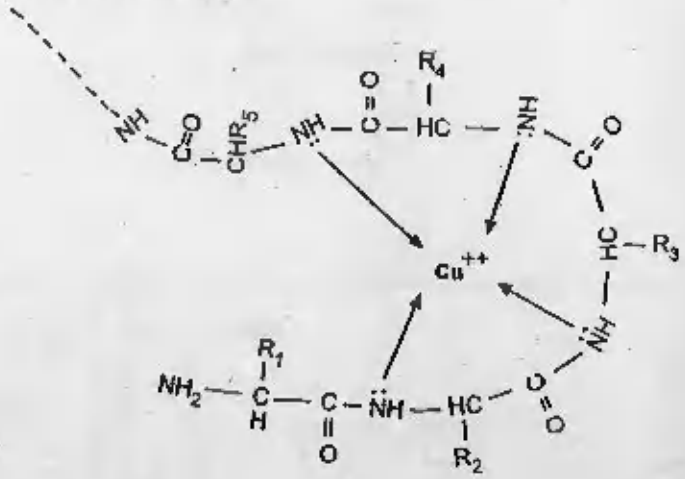
এইরকম ক্ষারীয় কপার সালফেট দ্রবণের সঙ্গে পেপটাইড বা প্রোটিন ব্যতীত একমাত্র বাইইউরেট যৌগটি বিক্রিয়ায় বেগুনি রং উৎপন্ন করতে পারে। বাইইউরেট যৌগটি দুটি ইউরিয়া অণু থেকে উত্তাপে প্রস্তুত হয়।

এই কারণে পরীক্ষাটির নাম বাইইউরেট পরীক্ষা।

বিক্রিয়া :



বাইইউরেট



বেগুনি রং-এর জটিল যৌগ

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) কপার সালফেট দ্রবণ (10 গ্রা./লি.)

(2) সোডিয়াম হাইড্রক্সাইড দ্রবণ (10 N)

(3) প্রোটিন দ্রবণ (5 গ্রা./লি. অ্যালবুমিন,/কেজিন/জিলেটিন)

পদ্ধতি ঃ ২ মিলি. প্রোটিন দ্রবণ একটি পরীক্ষা নলে নিয়ে তাতে 5 ফোঁটা কপার সালফেট দ্রবণ ও পরে 2 ফোঁটা সোডিয়াম হাইড্রক্সাইড দ্রবণ যোগ করলেই বেগুনী বর্ণটি দেখা যাবে। এক্ষেত্রেও শুধু জল নিয়ে একটি পরীক্ষা করে দেখা যেতে পারে—কোন রং সেখানে হবে না।

1.3.3 কার্বোহাইড্রেটের পরিচিতি নির্ণয় পরীক্ষা ঃ

কার্বোহাইড্রেটের মধ্যে মনোস্যাকারাইড হেক্সোজ আছে। যেমন— গ্লুকোজ, ফ্রুক্টোজ।

আবার, এদের মধ্যে গ্লুকোজ রিডিউসিং (বিজারণশীল) শর্করা, মনোস্যাকারাইড পেন্টোজও আছে।

যেমন—রাইবোজ, ডাইস্যাকারাইড ল্যাকটোজ রিডিউসিং (বিজারণশীল) শর্করা, কিন্তু সুক্রোজ অবিজারণশীল (নন রিডিউসিং) শর্করা।

এরা সকলেই জলে দ্রবণীয়; কিন্তু পলিস্যাকারাইড স্টার্চ ও গ্লাইকোজেন জলে দ্রবণীয় নয়।

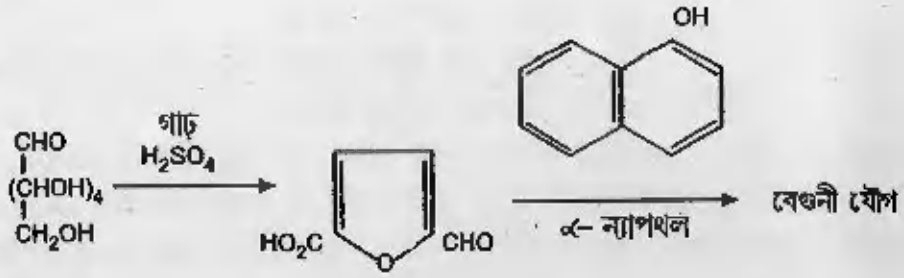
তাই বিভিন্ন কার্বোহাইড্রেটের সনাক্তকরণ পদ্ধতি বিভিন্ন।

রাইবোজ ও ডিঅক্সিরাইবোজ প্রাণরসায়নে গুরুত্বপূর্ণ স্থান দখল করে, যেহেতু ডি.এন.এ. ও আর.এন.এ তে এরা আছে।

1.3.3.1 মলিশ-এর পরীক্ষা (Molisch's test) :

সূত্র ঃ যদি মনোস্যাকারাইড হয় তাহলে সোজাসুজি না হলে ঘন সালফিউরিক অ্যাসিডের সাহায্যে গ্লাইকোসাইড যোজক ভেঙ্গে মনোস্যাকারাইড করে— তাকে শুষ্ক করে ফারফিউরাল বানানো হয়। ফারফিউরাল সালফোনেট α-ন্যাপথল এর সঙ্গে বিক্রিয়ায় বেগুনী রং-এর জটিল যৌগ করে।

বিক্রিয়া :



ফারফিউরাল

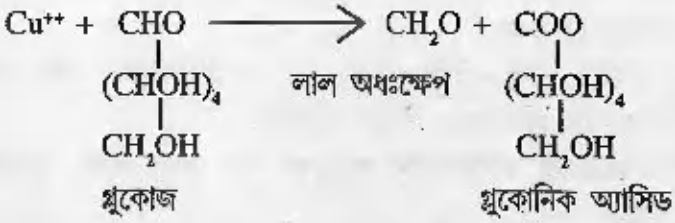
প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) কার্বোহাইড্রেট দ্রবণ (1 গ্রা./লি.)
(2) ঘন সালফিউরিক অ্যাসিড
(3) α-ন্যাপথল (50 গ্রা./লি, নতুন তৈরি করে ব্যবহার করতে হবে।)

পদ্ধতি ঃ 2 মিলি. কার্বোহাইড্রেট দ্রবণ একটি পরীক্ষানলে নিয়ে প্রতি 2 ফোঁটা α-ন্যাপথল দ্রবণ যোগ করা হল। 1 মিলি. ঘন সালফিউরিক অ্যাসিড পরীক্ষানলের ধার দিয়ে সাবধানে ধীরে ধীরে যোগ করা হল। দুটি তরল স্তর তৈরী হবে। যদি দুটি স্তরের মধ্যবর্তী স্থানে বেগুনি রং দেখা যায় তবে পরীক্ষাটির ফল ধনাত্মক। কার্বোহাইড্রেটের পরিবর্তে পরীক্ষানলে জল নিলে পরীক্ষাটি হবে না।

1.3.3.2 বেনেডিক্টের পরীক্ষা (Benedict's test) :

সূত্র ঃ কপার হাইড্রক্সাইড ক্ষারীয় দ্রবণে নিয়ে উত্তপ্ত করলে কালো কিউপ্রিক অক্সাইড (CuO) তৈরী হয়। যদি ঐ দ্রবণে কোন বিজারণশীল কার্বোহাইড্রেট থাকে তাহলে লাল রং-এর কিউপ্রাস (Cu_2O) অক্সাইড অধঃক্ষিপ্ত হবে।

বিক্রিয়া ঃ



প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) গ্লুকোজ দ্রবণ (1 গ্রা./লি.)

(2) বেনেডিক্টের বিকারক ঃ—

173 গ্রাঃ সোডিয়াম সাইট্রেট এবং 10 গ্রা. সোডিয়াম কার্বোনেট 800 মিলি. গরম জলে দ্রবীভূত করা হল। এর থেকে 100 মিলি পরিশ্রুত করে নিয়ে তাতে জল মিশিয়ে 850 মিলি. করা হল।

অন্য একটি বীকারে 17.3 গ্রা. কপার সালফেট 700 মিলি. জলে দ্রবীভূত করে আয়তন 150 মিলি. করা হল।

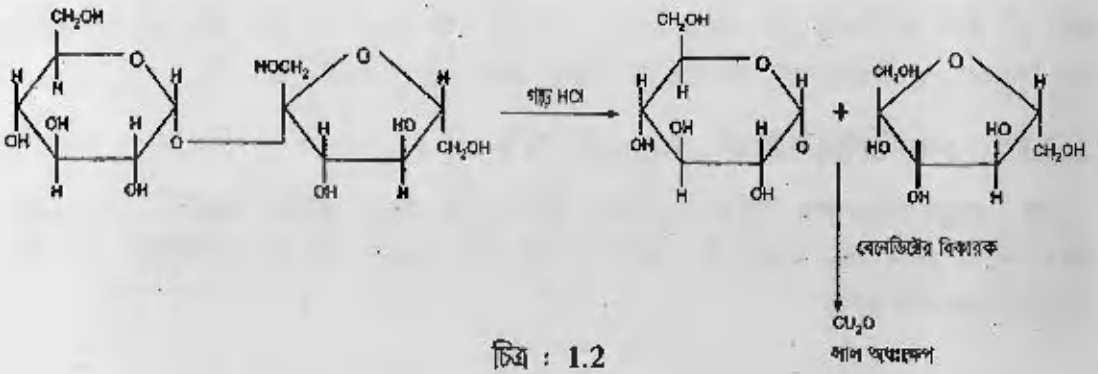
প্রথম দ্রবণের মধ্যে দ্বিতীয় দ্রবণটি আস্তে আস্তে নাড়তে নাড়তে যোগ করা হল। বেনেডিক্টের বিকারক প্রস্তুত হল।

পদ্ধতি ঃ 2 মিলি. বেনেডিক্টের বিকারকে পাঁচ ফোঁটা কার্বোহাইড্রেট দ্রবণ মেশানোর পরে পরীক্ষা নলটি একটি ফুটন্ত জলের বিকারে 5 মিনিট বসিয়ে রাখা হল। লাল অধঃক্ষেপ প্রমাণ করবে গ্লুকোজ বিজারণশীল কার্বোহাইড্রেট। সুক্রোজ বিজারণশীল নয়—সুক্রোজ দিলে লাল অধঃক্ষেপ পাওয়া যাবে না।

1.3.3.3 সুক্রোজের জন্য বিশেষ পরীক্ষা ঃ

সূত্র ঃ সুক্রোজে গ্লুকোজ ও ফ্রুক্টোজ তাদের কার্বোনিল কার্বনের দ্বারা যুক্ত তাই বিজারণশীল ধর্ম দেখাতে পারে না। যদি অ্যাসিড দিয়ে ওদের গ্লাইকোসাইডিক যোজক ভেঙ্গে দেওয়া যায় তাহলে গ্লুকোজ ও ফ্রুক্টোজ Cu^{++}-কে বিজারিত করে Cu_2O অধঃক্ষেপ ফেলবে।

বিক্রিয়া :



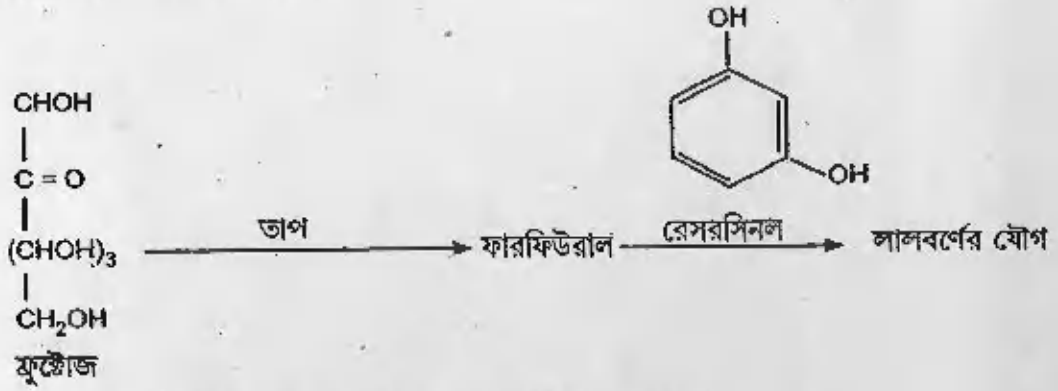
চিত্র : 1.2

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) সুক্রোজ দ্রবণ (1 গ্রা./লি.)
(2) বেনেডিক্টের বিকারক
(3) ঘন HCl
(4) NaOH (0.5N)

পদ্ধতি ঃ সুক্রোজ দ্রবণ একটি পরীক্ষা নলে নিয়ে বেনেডিক্টের পরীক্ষা করা হল। পরীক্ষাটি ব্যর্থ হবে। এরপরে সুক্রোজ দ্রবণে (5 মিলি.) পাঁচ ফোঁটা ঘন HCl দিয়ে ফুটন্ত গরম জলের বীকারে পরীক্ষানলটি 5 মিনিট রেখে উত্তপ্ত করা হল। ঠান্ডা করে NaOH কয়েক ফোঁটা এমনভাবে যোগ করা হল যাতে দ্রবণটি ক্ষারকীয় হয়। এরপরে যথারীতি বেনেডিক্টের পরীক্ষা এই পরীক্ষানলে করলে লাল অধঃক্ষেপ পাওয়া যাবে।

1.3.3.4 সেলিওয়ানফের পরীক্ষা (Seliwanoff's test) :

সূত্র ঃ ফ্রুক্টোজ একটি বিজারণশীল কিটোজ ও গ্লুকোজ একটি বিজারণশীল অ্যালডোজ। অ্যালডোজ থেকে কিটোজকে আলাদা করার জন্য এই পরীক্ষা। কিটোজ অ্যালডোজের তুলনায় তাড়াতাড়ি শুষ্ক হয় ও দ্রুত ফারফিউরাল প্রস্তুত করে। সেই ফারফিউরালটিকে রেসরসিনলের সঙ্গে বিক্রিয়া করালে একটি লাল রং-এর যৌগ গঠন করে।



প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) কার্বোহাইড্রেট (1 গ্রা./লি.) (ফ্রুক্টোজ)
(2) সেলিওয়ানফের বিকারক ঃ 0.5 গ্রা./লি. রেসরসিনলকে দ্রবীভূত করতে হবে। 0.3 (N) HCl-এ।

পদ্ধতি ঃ 2 মিলি. সেলিওয়ানফের বিকারক একটি পরীক্ষানলে নিয়ে তাতে 2 ফোঁটা ফ্রুক্টোজ দ্রবণ নিয়ে ফুটন্ত জলের বিকারে 1 মিনিট রাখলেই ঘন লাল রং-এর যৌগটি তৈরী হবে।

1.3.3.5 পলিস্যাকারাইডের পরীক্ষা ঃ

সূত্র ঃ পলিস্যাকারাইডের সঙ্গে আয়োডিন রঙিন যৌগ গঠন করে। আসলে আয়োডিন অধিশোষিত হয়। স্টার্চ নীল-এ ও গ্লাইকোজেনের লাল রঙ-এর অধিশোষিত যৌগ গঠন করে।

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) গ্লাইকোজেন/স্টার্চ (10 গ্রা./লি.)
(2) আয়োডিন দ্রবণ/(5 মিলিমোল/লি.)
(3) KI (30 গ্রা./লি.)

পদ্ধতি ঃ 2 মিলি. কার্বোহাইড্রেট দ্রবণটিকে একটু আম্লিক করে নিলে ভালো ফল পাওয়া যায়। তাতে কয়েক ফোঁটা আয়োডিন দ্রবণ যোগ করলে রং দেখা যাবে।

1.3.3.6 লিপিড বা স্নেহজাতীয় পদার্থের পরীক্ষা ঃ

সূত্র ঃ লিপিড জাতীয় পদার্থগুলি জলে দ্রবণীয় নয় এবং প্রায় সকলেই 95% (V/V)। ইথানলে দ্রাব্য। তাতে আবার একটু জল যোগ করলেই ছোট ছোট ফোঁটা আলাদা হয়ে যায়। তাতে সমস্ত দ্রবণটাই স্বচ্ছ হয়ে যায়। এটি লিপিডের একটি খুবই গুরুত্বপূর্ণ পরীক্ষা।

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) যে কোন ফ্যাট বা লিপিড বা স্নেহজাতীয় পদার্থ (তেল কোলেস্টেরল, ফ্যাটি অ্যাসিড)

(2) ইথানল [95%(V/V)]

পরীক্ষা ঃ একটি পরীক্ষানলে লিপিড জাতীয় পদার্থ কয়েক ফোঁটা অথবা যদি পাউডার হয়, তাহলে খুব সামান্য পরিমাণ নিয়ে তাতে ইথানল ১ মিলি. দিয়ে ঝাঁকালে পরিস্কার দ্রবণ তৈরী হবে। ঐ দ্রবণের একফোঁটা ফিল্টার পেপারে রেখে শুষ্ক করলে ইথানল থাকবে না, কিন্তু স্নেহজাতীয় পদার্থের দাগ থাকবে। ঐ পরীক্ষানলে কয়েকফোঁটা জল দিয়ে ঝাঁকালে দ্রবণটি অস্বচ্ছ হয়ে যাবে।

একক 2 □ প্রাণরাসায়ণিক অণুগুলির পৃথকীকরণ ঃ

গঠন ঃ

2.1 উদ্দেশ্য

2.2 প্রস্তাবনা

2.2.1 পেপার ক্রোমাটোগ্রাফি পদ্ধতিতে অ্যামিনো অ্যাসিডের পৃথকীকরণ ঃ

2.2.2 থিন লেয়ার ক্রোমাটোগ্রাফি পদ্ধতিতে লিপিডের পৃথকীকরণ ঃ

2.2.3 কলাম ক্রোমাটোগ্রাফি পদ্ধতিতে প্রোটিনের পৃথকীকরণ ঃ

2.1 উদ্দেশ্য

স্বাভাবিক অবস্থায় প্রাণরাসায়ণিক অণু, যেমন—অ্যামিনো অ্যাসিড, প্রোটীন, ভিটামিন, কার্বোহাইড্রেট বা লিপিড বিচ্ছিন্নভাবে বা পৃথকভাবে থাকে না। রক্তে অথবা কোষের সাইটোপ্লাজমে সকলেই জলে মিশে একত্রে থাকে। তাদেরকে পৃথক করতে হলে চিনতে হলে তাদের ধর্মগুলিকেই কাজে লাগিয়ে পৃথক করতে হবে। তাই বিভিন্ন পদার্থের পৃথকীকরণ পদ্ধতিগুলি বিভিন্ন।

2.2 প্রস্তাবনা

প্রাণরাসায়ণিক অণুগুলিকে পৃথকীকরণের জন্য যে পদ্ধতিগুলি অনুসরণ করা হয়, তার মধ্যে বিশেষভাবে উল্লেখযোগ্য কয়েকটি ক্রোমাটোগ্রাফিক (Chromatographic) পদ্ধতি।

2.2.1 পেপার ক্রোমাটোগ্রাফি পদ্ধতিতে অ্যামিনো অ্যাসিডের পৃথকীকরণ ঃ

সূত্র ঃ যখন কোন যৌগ জল ও জৈব দ্রবণে একই সঙ্গে বেশ ভালোভাবে দ্রবীভূত হয় তখন পার্টিশান ক্রোমাটোগ্রাফি পদ্ধতি প্রয়োগ করে ওদের পৃথক করা হয়। যদি একটি যৌগকে দুটি পরস্পরে অমিশ্রিত দ্রাবকে দ্রবীভূত করা হয় তাহলে যৌগটির কিছু অংশ একটি দ্রাবকে ও কিছু অংশ আরেকটি দ্রাবকে দ্রবীভূত হবে। এদের মধ্যে কিছুক্ষণের মধ্যেই একটি সাম্য অবস্থা আসবে। তখন দুটি দ্রাবকে যৌগটির ঘনত্বর অনুপাত হবে একটি ধ্রুবক। সেই ধ্রুবকটিকে বলে পার্টিশান কোয়েফিসিয়েন্ট (α)।

$$\text{অতএব } \alpha = \frac{x\text{-এর ঘনত্ব দ্রাবক 1-এ}}{x\text{-এর ঘনত্ব দ্রাবক 2-এ}}$$

সাধারণতঃ একটি দ্রাবক জলই হয়। সেটিকে কোন একটি স্থির মাধ্যমের উপরে একটি স্তম্ভাকারে অথবা পাতলা স্তরের মত করে রাখা হয়। অন্য দ্রাবকটি সচল—সেটি কোন জৈব দ্রাবক এবং ঐ বস্তুর জলীয় স্তরের ওপরে গতিশীল।

কোন একটি যৌগের মিশ্রণ থেকে যৌগগুলি পৃথক হবে তাদের α-এর ওপর নির্ভর করে।

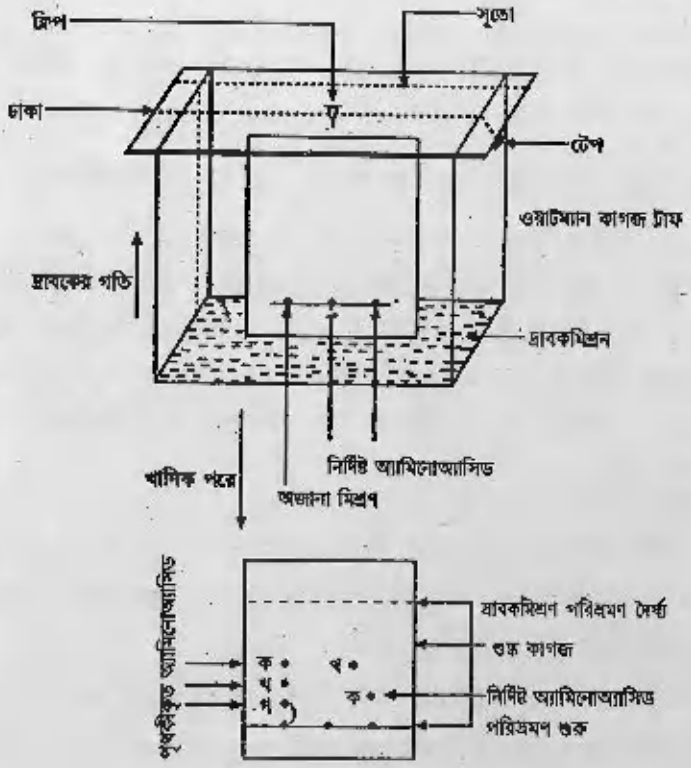
যদি স্থির মাধ্যমটি, যার ওপরে জলের একটি স্তর তৈরী হবে, সেটি কাগজ হয়, তাহলে পদ্ধতিটির নাম পেপার ক্রোমাটোগ্রাফি।

কাগজ তৈরি হয় সেলুলোজ দিয়ে। সেলুলোজের সঙ্গে হাইড্রোজেন বন্ধনী করে জল খুব ভালো একটি স্থির স্তর তৈরি করতে পারে।

কাগজের ওপরে অ্যামিনো অ্যাসিডের মিশ্রণের একটি ফোঁটা দেওয়া হয় ও কাগজটিকে জল ও জৈব দ্রাবকের (পরস্পরে অমিশ্রিত) ওপরে স্থাপিত করলে একটি স্থির জলের স্তর ও তার উপরে গতিশীল জৈব দ্রাবকের স্তর তৈরী হবে। গতিশীল দ্রাবক ও স্থির দ্রাবকের মধ্যে বিশেষ যৌগটি α-র ওপরে নির্ভর করে যৌগটিও গতিশীল হবে। যদি জৈব দ্রাবকে দ্রাব্যতা বেশি হয়, তবে ঐ বিশেষ যৌগটি জৈব দ্রাবকের সঙ্গে গতিশীল হবে। কিছু পরে কাগজটি শুষ্ক করে বিশেষ যৌগটির স্থান সনাক্ত করা হয়। দ্রাবক-এর পরিভ্রমণ ঐ কাগজের ওপরে কতদূর পর্যন্ত তা পরিমাপ করা হয়। যৌগের পরিভ্রমণ ও দ্রাবকের পরিভ্রমণের অনুপাত ও একটি ধ্রুবক হবে। তাকে বলে ঐ যৌগটির R_f (relative flow)। এই R_f কী কী দ্রাবক নেওয়া হয়েছে ও তাপমাত্রা কত তার ওপরে নির্ভর করে। বিভিন্ন অ্যামিনো অ্যাসিডের α বিভিন্ন। তাই তাদের সকলের R_f মানই আলাদা আলাদা বলে মিশ্রণ থেকে সকলে আলাদা হয়ে যাবে। যদি ঐ বিশেষ যৌগটির পরিশুদ্ধ কেলাস থাকে, তাহলে সেইটিকেও একইরকমভাবে ব্যবহার করে R_f মানের তুলনা করে বিশেষ যৌগটিকে সনাক্তকরণও সম্ভব।

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি : (1) হোয়াটম্যান নং 1 কাগজ। (Whatman no. 1)

(2) কাঁচের একটি আয়তকার বাক্স যার ওপরের মুখটি খোলা (Trough)।



চিত্র : 2.1

(3) দুটি পরস্পরে অমিশ্রিত দ্রাবক মিশ্রণ—[বিউটানল : জল : অ্যাসিটিক অ্যাসিড = 80 : 20 : 10]

(4) অ্যামিনো অ্যাসিডের মিশ্রণ (যেখান থেকে পৃথক করতে হবে।) (10 গ্রা./L-এর বেশী নয়)

(5) বিশুদ্ধ অ্যামিনো অ্যাসিড (R_f তুলনার জন্য)

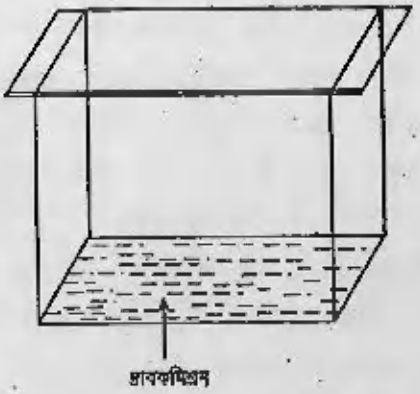
(6) নিনহাইড্রিনের দ্রবণ (ঘনত্ব একক-1 এ বলা আছে)

(7) একটি 105°C-এর উনুন।

অ্যামিনো অ্যাসিডের স্থান নির্বাচনের জন্য নিন হাইড্রিন ছড়িয়ে দিয়ে 105°C-এ গরম করা হয়েছে কাগজটিকে।

$$Rf = \frac{\text{পৃথকীকৃতি অ্যামিনো অ্যাসিড (ক/খ/গ)-এর পরিভ্রমণ দৈর্ঘ্য}}{\text{দ্রাবক মিশ্রণের পরিভ্রমণ দৈর্ঘ্য}}$$

পদ্ধতি : (1) ট্রাফে দ্রাবকের মিশ্রণ যোগ করে ঢাকা দিয়ে রাখতে হবে অন্ততঃ 24 ঘন্টা আগে, যাতে ট্রাফের ভিতরের ফাঁকা অংশে দ্রাবকের বাষ্প ভর্তি থাকে। নাহলে কাগজ থেকে দ্রাবক বাষ্পীভূত হয়ে ঐ অংশে যাবে এবং সম্পূর্ণ কাজটি হতে দেরি হবে। দেখতে হবে যাতে ট্রাফের তলায় $^1/_2$ ইঞ্চি পরিমাণ উচ্চতা দ্রাবক মিশ্রণ থাকে।

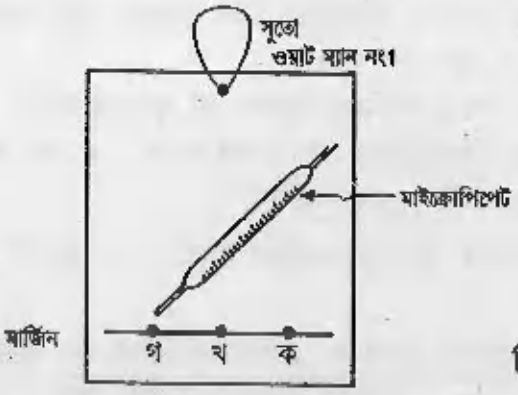


চিত্র : 2.2

(2) ওয়াটম্যান 1 নং কাগজ ট্রাফের মাপে কেটে নিতে হবে। কাগজটিকে নিয়ে কাজ করবার সময় সতর্কতা অবলম্বন করা দরকার, যাতে কাগজের প্রয়োজনীয় অংশে হাত না লাগে। ঘামের সঙ্গে সব সময় অ্যামিনো অ্যাসিড বেরোয়। তা যাতে কাগজে না লাগে খেয়াল রাখতে হবে।

(3) কাগজের পিছনে পেন্সিল দিয়ে ছাত্রের ক্রমিকসংখ্যা ও নাম লিখে রাখলে কাগজ খুঁজে পেতে সুবিধা হবে। কাগজের তলার দিকে 1 ইঞ্চি পরিমাণ জায়গা ছেড়ে একটি মার্জিন টানতে হবে পেন্সিল দিয়ে। ঐ মার্জিনের ওপরে পরীক্ষিত দ্রবণটির এক ফোঁটা (ক্যাপিলারি/মাইক্রোপিপেট ব্যবহার করে) যোগ করতে হবে। ধরা যাক, ঐ বিন্দুটির

নাম হল গ। আরও এইরকম কয়েকটি বিন্দু দেওয়া হল যেগুলি নির্দিষ্ট অ্যামিনো অ্যাসিড। ধরা যাক, খ এবং ক। এই বিন্দুগুলিকে শুষ্ক করতে হবে বাতাসে রেখে।



চিত্র ঃ 2.3

(4) এইবারে কাগজটির মাথায় ছিদ্র করে সুতো পরানো হল। কাগজটিকে চিত্রে দেখানোর মত করে ট্রাফে স্থাপন করে ট্রাফের মাথায় লাগানো সুতোর সঙ্গে ক্লিপ দিয়ে এমনভাবে কাগজটিকে ঝোলাতে হবে যাতে কাগজের শেষপ্রান্ত দ্রাবক মিশ্রণকে স্পর্শ করে ও কাগজটি সোজাভাবে ঝোলে। বেঁকে গেলে দ্রাবকের গতিও বেঁকা হবে সেক্ষেত্রে R_f মাপা যাবে না।

(5) ট্রাফটি ঢাকা দিতে হবে—কারণ, না হলে দ্রাবক বাষ্পীভূত হয়ে যাবে।

(6) কিছুক্ষণ পরে যখন দ্রাবক কাগজটির অপর প্রান্তের কাছাকাছি পৌঁছাবে। তখন কাগজটি বাইরে এনে দ্রাবক পরিভ্রমণ-এর দৈর্ঘ্যে একটি দাগ দিতে হবে পেন্সিল দিয়ে। কখনই কলম নয়—কারণ, কলমের কালি দ্রাবকে দ্রবীভূত হয়ে কাগজটিকে নোংরা করবে। বাতাসে কাগজ শুকিয়ে নিতে হবে।

(7) কাগজে নিনহাইড্রিন ছড়িয়ে দিয়ে কাগজটিকে উত্তপ্ত করলে বেগুনি রং-এর বিন্দু ফুটে উঠবে, যেখানে যেখানে অ্যামিনো অ্যাসিড আছে সেখানে সেখানে।

(8) তলার মার্জিন থেকে ওপরে দ্রাবক পরিভ্রমণের মার্জিনের দৈর্ঘ্য মাপতে হবে। তলার মার্জিন থেকে যে কোন বিন্দুর দৈর্ঘ্য আলাদা আলাদা করে মাপতে হবে। এই দুইটি থেকে R_f পাওয়া যাবে। জানা অ্যামিনো অ্যাসিডের R_f থেকে অজানা মিশ্রণে কি কি অ্যামিনো অ্যাসিড আছে তাও বলা যাবে।

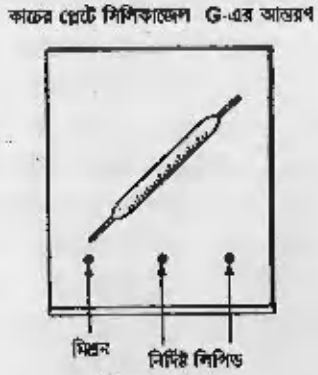
2.2.2 থিন লেয়ার ক্রোমাটোগ্রাফি পদ্ধতিতে লিপিডের পৃথকীকরণ ঃ

সূত্র ঃ [এখানেও পেপার ক্রোমাটোগ্রাফির যা সূত্র, তাই প্রযোজ্য। পার্টিশান কোয়েফিসিয়েন্ট-এর উপর নির্ভর করে মিশ্রণ থেকে পৃথক করতে হবে—দুটি বা ততোধিক পরস্পরে অমিশ্রিত দ্রাবক মিশ্রণ ব্যবহার করে।]

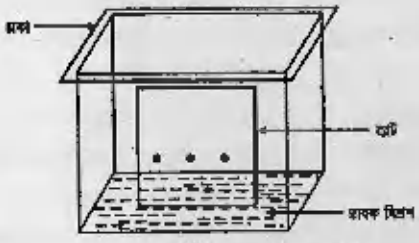
পার্থক্য শুধু, এক্ষেত্রে স্থির মাধ্যমটি কাগজ নয়। অ্যালুমিনা জেল, সিলিকা জেল ইত্যাদিকে কাচের ওপরে রেখে স্থির দ্রাবকের জন্য মাধ্যম ঠিক করা হয়।

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) কাচের ট্রাফ।
(2) কাচের প্লেট
(3) সিলিকা জেল
(4) লিপিডের মিশ্রণ (1 গ্রাম/100 মিলি ইথানল)
(5) দ্রাবক মিশ্রণ (পেট্রোলিয়াম ইথার (স্ফুটনাঙ্ক 60-70°C), ডাইইথাইল ইথার ঃ অ্যাসিটিক অ্যাসিড ; 80 : 20)
(6) আয়োডিন

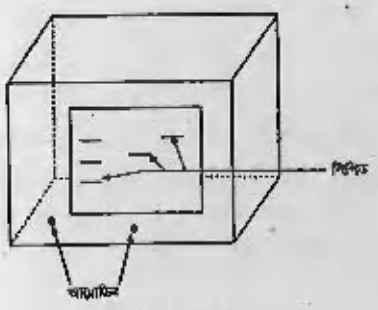
পদ্ধতি ঃ (1) কাচের ট্রাফে দ্রাবক মিশ্রণ ঢেলে ঢাকা দিয়ে রাখতে হবে 24 ঘন্টা আগে থেকে।



চিত্র ঃ 2.4



চিত্র ঃ 2.5



চিত্র ঃ 2.6

(2) কাচের প্লেট পরিস্কার করে শুকিয়ে নিতে হবে যাতে কোন তৈলাক্ত পদার্থ অথবা অন্য কোন পদার্থ না থাকে। কাচের প্লেট সিলিকা জেলের জলে মিশ্রণ (গ্রা./মিলি.) সমভাবে ঢেলে শুকোতে হবে যাতে কাচের ওপরে 250 মাইক্রোমিটার (106 মি.) পুরু একটি সিলিকাজেলের আস্তরণ পড়ে।

(3) প্লেটটিকে 110°-এর উনোনে 1 ঘন্টা রেখে সক্রিয় করতে হবে।

(4) প্লেটটিকে ঠান্ডা করে প্লেটের শেষপ্রান্ত থেকে 1 ইঞ্চি মত মার্জিনের জায়গা ছেড়ে লিপিড দ্রবণের এক ফোঁটা মাইক্রোপিপেটের সাহায্যে দিতে হবে। জানা লিপিডও একইভাবে এক ফোঁটা দিতে হবে এবং শুকিয়ে যাওয়া পর্যন্ত অপেক্ষা করতে হবে।

(5) শুকোনোর পরে ট্রাফে ঢুকিয়ে দিতে হবে এবং এমনভাবে রাখতে হবে যাতে প্লেটটি সোজা হয়ে থাকে।

(6) ট্রাফের ঢাকনা অবশ্যই দিতে হবে।

(7) প্লেটটির ওপরের প্রান্তের কাছাকাছি দ্রাবক মিশ্রণ দ্বারা ভিজে গেলে বার করে যতদূর দ্রাবক মিশ্রণ পরিভ্রমণ করেছে সেখানে একটা চিহ্ন দিয়ে রাখতে হবে। বাতাসে শুকিয়ে নিতে হবে।

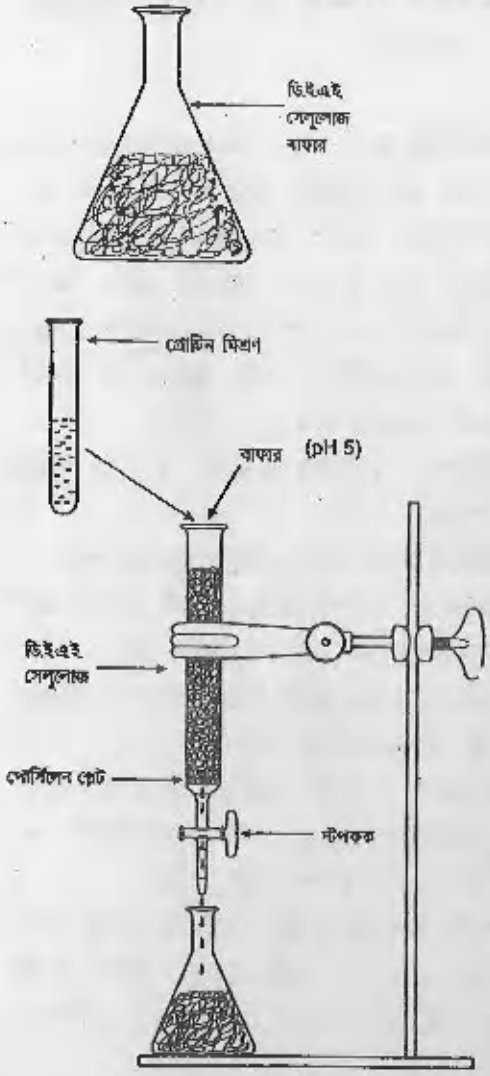
(8) এর পরে আরেকটি ট্রাফে কয়েকটি আয়োডিন কেলাস রেখে প্লেটটিকে রেখে ঢাকা দিয়ে কিছুক্ষণ রেখে দিলে যে লিপিড প্লেটের যতদূর পর্যন্ত উঠেছে সেখানে

আয়োডিন বাষ্প দ্রবীভূত হয়ে বাদামী রং দেখা যাবে। এতে লিপিডের পরিভ্রমণ দৈর্ঘ মাপা যাবে ও R_f নির্ণয় করা যাবে।

2.2.3 কলাম ক্রোমাটোগ্রাফি পদ্ধতিতে প্রোটিনের পৃথকীকরণ ঃ

সূত্র ঃ কলাম ক্রোমাটোগ্রাফি অনেক প্রকারের হয়। যেমন—মলিকুলার এক্সক্লুশন ক্রোমাটোগ্রাফি, অ্যাফিনিটি কলাম ক্রোমাটোগ্রাফি, আয়ন এক্সচেঞ্জ কলাম ক্রোমাটোগ্রাফি।

আয়ন এক্সচেঞ্জ কলাম ক্রোমাটোগ্রাফি এখানে আলোচিত হল।



চিত্র ঃ 2.7

এই পদ্ধতিতে একটি লম্বা কাচের নল (কলাম; অনেকটা বড় ব্যুরেটের মত দেখতে)-এর শেষ প্রান্তে একটি স্টপকক লাগানো আছে। তার ওপরের অংশে একটি পোর্সিলেনের ছিদ্রযুক্ত প্লেট আছে—যাতে জল বা দ্রবণ ঐ ছিদ্রপথে বেরিয়ে যেতে পারে। কলামটিকে কিছু নিষ্ক্রিয় পদার্থ (যার আণবিক ওজন অনেক বেশী—বেশীর ভাগ সময় পলিমার) দিয়ে ভর্তি করা হয়। ধরা যাক, কলামটিতে ডাইইথাইল অ্যামিনো ইথাইল সেলুলোজ (DEAE —Cellulose)—এই নিষ্ক্রিয় পদার্থ দিয়ে ভর্তি করা আছে। একে বলা হয় কলামবেড। কলাম বেডটিকে pH5 এর একটি বাফারে ভেজানো আছে। অ্যামিনো ইথাইল—এই গ্রুপটির জন্য pH5 এ সম্পূর্ণ বেডটি ধনাত্মক তড়িৎযুক্ত হয়ে থাকবে। এই অবস্থায় কলামে প্রোটিন মিশ্রণ (যেটিকেও pH5-এর রাখা আছে) ঢেলে দিলে যে প্রোটিনে ঋণাত্মক তড়িৎ থাকবে, সেটি ঐ কলামে আকৃষ্ট হয়ে থেকে যাবে এবং অন্যটি কলাম থেকে বেরিয়ে আসবে। সেটিকে কলামের নীচে সংগ্রহ করা হয়। কলামের নিচে যে তরল সংগৃহীত হয় তাকে ইলুয়েট (eluate) বলে। প্রতিমুহূর্তেই কলামবেডটিকে বাফার দিয়ে ভিজিয়ে রাখতে হবে। এক্ষেত্রে অতিরিক্ত বাফারও ইলুয়েট হিসাবে সংগৃহীত হবে। যে প্রোটিনটি আকৃষ্ট হয়নি সেটি সম্পূর্ণ বেরিয়ে এলে আবার বাফার ইলুয়েট হিসাবে আসবে। যে প্রোটিনটি কলামবেডে রয়ে গেল তাকে পেতে হলে বেশী ঘনত্বের সোডিয়াম ক্লোরাইড (0.2 M) দ্রবণ কলামে দিলে Cl-এর সঙ্গে ঋণাত্মক তড়িৎযুক্ত প্রোটিনের জায়গা বদল (exchange) হবে এবং প্রোটিনটি বেরিয়ে আসবে ও Cl-কলামবেডে থেকে যাবে। পরে আবার বাফার দিয়ে কালাম বেড ঠিক রাখতে হবে।

তাই পদ্ধতিটির নাম আয়ন এক্সচেঞ্জ কলাম ক্রোমাটোগ্রাফি।

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) ক্রোমাটোগ্রাফি কলাম (20 সেমি. × 1.5 সে.মি.)
(2) ডি.ই.এ.ই.— সেলুলোজ।
(3) সোডিয়াম অ্যাসিটেট বাফার (2M, pH=5)
(4) প্রোটিন মিশ্রণ—কালমোডুলিন ও হিস্টোন মিশ্রণ
(5) সোডিয়াম ক্লোরাইড দ্রবণ (2M)
(6) অনেক পরীক্ষানল।

পদ্ধতি ঃ (1) বাফার দিয়ে কালাম বেডটিকে কলামে ঢেলে দিতে হবে ফানেল ও কাচদন্ডের সাহায্য নিয়ে। তখন থেকে পরীক্ষার শেষ পর্যন্ত কলামের স্টপকক খোলা থাকবে। কিন্তু বেড কখনও শুকোবে না। বাফার চলতেই থাকবে।

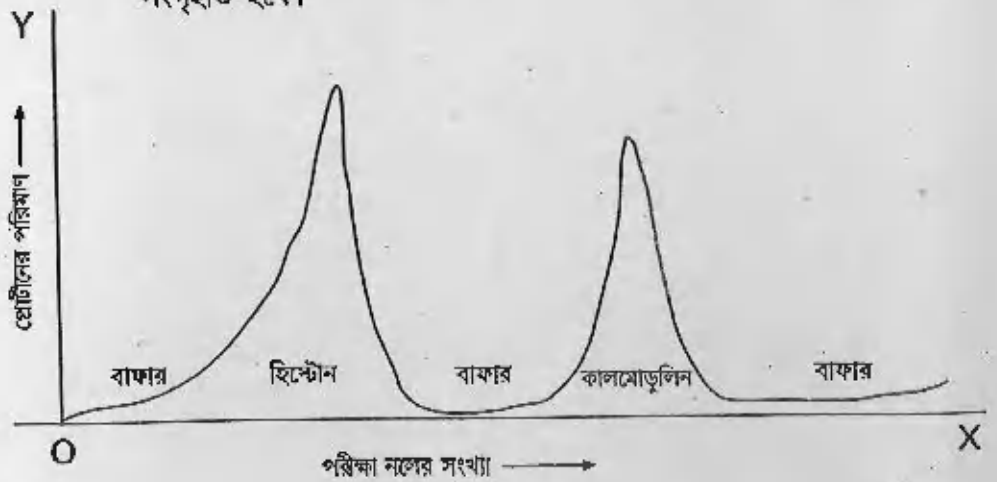
(2) প্রায় 1 লিটার মত বাফার ইলুয়েট হিসাবে সংগ্রহ করার পরে 2 মিলি. প্রোটিন মিশ্রণটি ঢালা হবে কলামে।

(3) কলামের নীচে পরীক্ষানলে সমস্ত ইলুয়েট 5 মিলি. আয়তন হিসাবে সংগৃহীত হবে। স্টপকর্কটিকে এমনভাবে ব্যবহার করতে হবে যাতে খুব তাড়াতাড়ি তরল কলাম থেকে বেরিয়ে না আসে, আবার খুব দেরিও না হয়।

(4) 5 মিলি. করে সংগৃহীত সমস্ত পরীক্ষানলেই প্রোটিনের অস্তিত্ব থাকতে পারে। প্রথমে কম থাকবে, তারপরে আস্তে আস্তে পরের পরীক্ষানলগুলিতে বাড়তে থাকবে। একটা সময়ে সব থেকে বেশি হয়ে আবার কমতে থাকবে।

(5) প্রোটিনের পরে আবারও বাফার ঢালা হবে বেডে। প্রায় 200 মিলি. মত বাফার ঢালবার পরে, 200 মিলি. সোডিয়াম ক্লোরাইড দ্রবণটি ঢালা হবে। প্রতিটি পরীক্ষানলে 5 মিলি. করে ইলুয়েট সংগৃহীত হবে।

(6) মোট 1000 মিলি. + 2 মিলি. + 200 মিলি. + 200 মিলি = 1462 মিলি তরল কলামে ঢালা হয়েছে। $\therefore \frac{1402}{5} = 281$ টি পরীক্ষানলে—5 মিলি. করে ইলুয়েট সংগৃহীত হবে।



চিত্র ঃ 2.8

(7) প্রথমদিকে থাকবে বাফার
দ্বিতীয় স্তরে থাকবে হিস্টোন
তৃতীয় স্তরে থাকবে বাফার
চতুর্থ স্তরে থাকবে কালমোডুলিন।

(8) যদি সব পরীক্ষানলে প্রোটিন মাপা যায় তাহলে একটি চিত্র আসবে।

একক 3 □ মাধ্যমের ঘনত্বের অবক্রম ভিত্তিক সেন্ট্রিফিউগেশন পৃথকীকরণ

গঠন ঃ

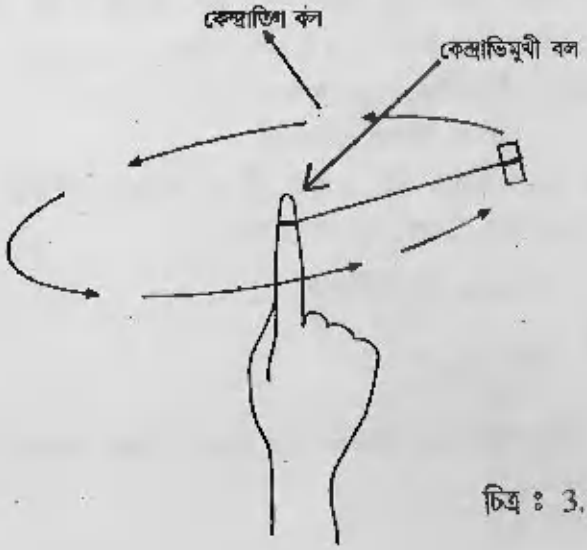
3.1 উদ্দেশ্য
3.2 প্রস্তাবনা
3.2.1 সূত্র ঃ

3.1 উদ্দেশ্য

প্রাণরাসায়ণিক অণুগুলি বেশীরভাগই ম্যাক্রোমলিক্যুল, তাই তাদেরকে কেন্দ্রাতিগ বল প্রয়োগ (Centrifugal force) করে একটি যন্ত্রে (Centrifuge) পরস্পরের থেকে আলাদা করা যায় তাদের ওজনের পার্থক্য হিসাবে। এই পদ্ধতিতে কোন একটি কোষের অঙ্গানু (Orgnelle) গুলিকে পৃথক করা যায়।

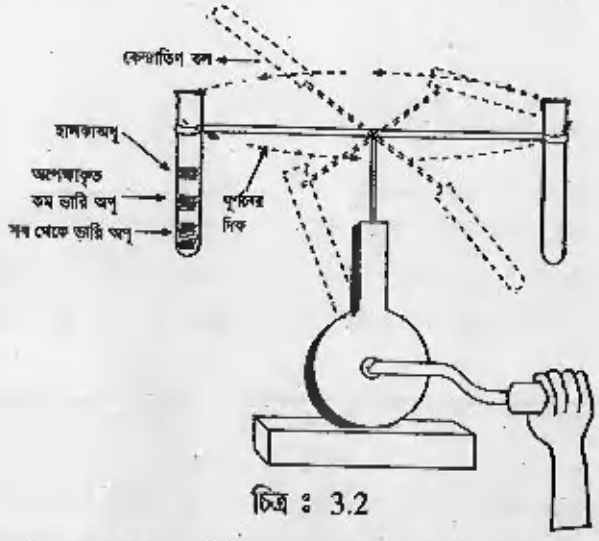
3.2 প্রস্তাবনা

যদি একটি পরীক্ষানলে জলীয় মাধ্যমে কোন ম্যাক্রোমলিক্যুল কিছুক্ষণ রেখে দেওয়া যায় তাহলে অভিকর্ষ বলের দরুন অণুটি নীচে থিতিয়ে পড়বে (Sedimentation) ধীরে ধীরে। যত বল প্রয়োগ করা হবে তত থিতিয়ে পড়বার গতি বাড়বে। যদি অভিকর্ষজ বলের তুলনায় বেশী বল প্রয়োগ করা যায় তাহলে অণুটির থিতিয়ে পড়বার গতি লক্ষ্য করার মত হবে। সেন্ট্রিফিউজ যন্ত্রটিতে তাই করা হয়। এতটাই কেন্দ্রাতিগ বল প্রয়োগ করা হয় যে অণুগুলির থিতিয়ে পড়ে অনেক তাড়াতাড়ি।



চিত্র ঃ 3.1

আমরা এক টুকরো কাঠ যদি সুতোয় বেঁধে সুতোর অপরপ্রান্ত ধরে গোল করে ঘোরাই তাহলে হাত ঐ বস্তুকে ভিতরের দিকে আকর্ষণ করে তাকে বলে কেন্দ্রাভিমুখী বল (Centripetal force)। নিউটনের বলের তৃতীয় সূত্র অনুযায়ী একটি সমান ও বিপরীতমুখী বল ও কাজ করবে। কিন্তু বাইরের দিকে এরই নাম কেন্দ্রাতিগ বল (Centrifugal force)। 'fugo' শব্দের অর্থ উড়ে যাওয়া (fly away)। এবারে ভাবা যাক্ একটি পিভট-এর ওপরে একটি দাঁড়ের দুপাশে দুটি পরীক্ষানল বসানোর ব্যবস্থা আছে।



চিত্র ঃ 3.2

পিভটের ওপর দাঁড়টিকে যান্ত্রিক বা বৈদ্যুতিক ওপারে ঘোরানো যায় তাহলে পরীক্ষানলে জলীয় দ্রবণে কিছু থাকলে তা 'উড়ে যাবে' অর্থাৎ পরীক্ষানলের তলদেশে চলে যাওয়ার চেষ্টা করবে কেন্দ্রাতিগ বলের জন্য। যে ম্যাক্রোমলিক্যুলের ওজন বেশি তার ওপরে বলের পরিমাণও বেশি তাই সে সবথেকে বেশি দূরে যাবে— এইভাবে অন্য অন্য অণু বা অঙ্গানুগুলি পরীক্ষানলে সজ্জিত হয়ে যাবে। এইবারে পিপেটের সাহায্যে অথবা অন্য কোন পদ্ধতিতে প্রয়োজনীয় স্তরটিকে সংগ্রহ করে বিশ্লেষণ করা অথবা অন্য কোন কাজে ব্যবহার করা যেতে পারে। এই পদ্ধতিটি (Centrifugation) সেন্ট্রিফিউগেশন।

3.2.1 সূত্র ঃ

কোন পদার্থ কত গতিতে থিতিয়ে পড়বে তা নির্ভর করে কত কেন্দ্রাতিগ বল প্রয়োগ করা হয়েছে তার ওপরে। কেন্দ্রাতিগ বলের মান আবার নির্ভর করে কৌণিক গতিবেগ (angular velocity) ও পিভট থেকে পরীক্ষানলের দূরত্ব অর্থাৎ সেন্ট্রিফিউজ যন্ত্রের ব্যাসার্ধ (r) এর ওপরে।

অর্থাৎ কেন্দ্রাতিগ বল $= \omega^2 r$. [ω = কৌণিক গতিবেগ]

যেহেতু, এক আবর্ত সমান 2π-রেডিয়ান, এই কোণিক গতিকে রেডিয়ান/সেকেন্ডে প্রকাশ করা যায়। আবার, প্রতি মিনিটে আবর্তসংখ্যাতেও প্রকাশ করা যায়। অর্থাৎ

$$\omega = \frac{2\pi \text{ আবর্ত/মি.}}{60}$$

$$\therefore \text{ কেন্দ্রাতিগ বল } = \frac{4\pi^2 \ (\text{আবর্ত/মি.})^2 \ .r}{3600}$$

ইহা সাধারণতঃ, পৃথিবীর অভিকর্ষজ বলের কতগুণ সেই হিসাবে প্রকাশ করা হয়, অর্থাৎ আপেক্ষিক

$$\text{কেন্দ্রাতিগ বলক্ষেত্র } = \frac{4\pi^2 \ (\text{আবর্ত/মি.})^2 \ .r}{3600 \times g}$$

মনে রাখতে হবে, অবশ্যই সকল কণা গোলাকার নয়, যেমন DNA, RNA মায়োডিন ইত্যাদি। এক্ষেত্রে কণা (particle) ও অণু (Macromolecule) একই অর্থে ব্যবহৃত।

যখন এই কেন্দ্রাতিগ বল প্রয়োগ করে বিভিন্ন প্রাণরাসায়ণিক অণু পৃথক করা হয়, তখন প্রযুক্ত বল ও অণুর ওজন দুই-এর ওপরেই নির্ভর করে তারা থিতোবে। আমরা যদি ধরে নিই যে, মোটামুটি অণুগুলি সকলেই গোলাকার তাহলে সেন্ট্রিফিউজ যন্ত্রে একটি অণুর ওপর প্রযুক্ত বল, যার দ্বারা অণুটি পরীক্ষানলের তলদেশে থিতোতে চাইবে $F = \frac{4}{3\pi} r_p^3 (\rho_p - \rho_m)\omega.^2 r$. অণু গোলাকার বলে ওর আয়তন $\frac{4}{3}\pi r_p^3$ একক (r_p= কণার/অণুর ব্যাসার্ধ)

ρ_p = পার্টিকেল অর্থাৎ ঐ অণুটির ঘনত্ব।

ρ_m = মাধ্যমের ঘনত্ব।

অণুটি মাধ্যমে তার আয়তন পরিমাণ মাধ্যমকে স্থানচ্যুত করবে। ফলে ঐ পরিমাণ মাধ্যম অণুটির ওপরে একটি উর্দ্ধঘাত (upthrust) সৃষ্টি করবে, আর্কিমিডিসের সূত্র অনুযায়ী।

তার পরিমাণ হবে $\frac{4}{3}\pi r_p^3 \rho_m$

বস্তুর ওজন $\frac{4}{3}\pi r_p^3 \rho_p$

∴ মোট ক্রিয়াশীল ওজন হবে কণাটির $\frac{4}{3}\pi r_p^3 (\rho_p - \rho_m)$। কণাটি মাধ্যমের মধ্যে ভ্রমণকালে একটি ঘর্ষণজাত বলও সৃষ্টি করবে এবং তার পরিমাণ হবে।

$$F_0 = v.f.$$

v = কণাটির গতি ও f ঘর্ষণজাত বলের সহগ (frictional coefficient) আবার, সাঙাতার স্টোকের (stokes) নিয়মানুসারে

$$f = 6\pi \eta r_p.$$

η = ঐ মাধ্যমের সান্দ্রতাঙ্ক (coefficient of viscosity) সুতরাং, উপরোক্ত বিপরীতধর্মী বল দুটি সাম্য অবস্থায় পৌঁছালে $F = F_0$

অথবা, $(P_m - P_p) . \omega^2 r = 6\pi \eta r_p . v$

or $v = \frac{\frac{4}{3} r_p^2 (\rho_m - \rho_p)}{6\eta}$

$\eta = \frac{2r_p^2 (\rho_m - \rho_p)}{9\eta}$

যদি $\rho_p = \rho_m$

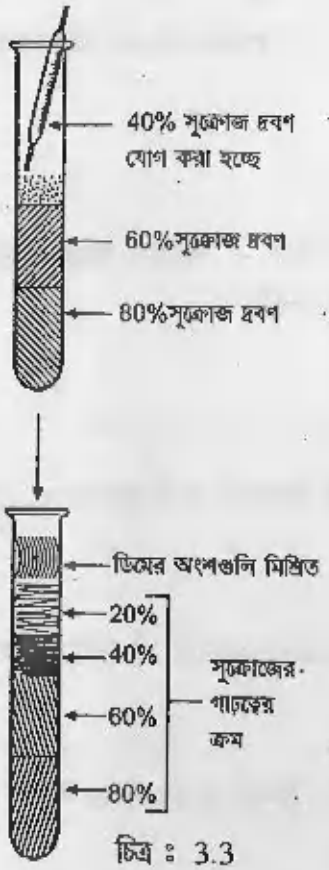
হত তবে $v = 0$

এইরকম সাম্যবস্থায় কণাটির ওপরে কোন ত্বরণ নাই, যেহেতু বিপরীতমুখী বলগুলি পরস্পরের সমান। কণাটি শুধু একটি নির্দিষ্ট বেগে থিতোবে। সেই বেগটিই ওপরে উল্লিখিত সমীকরণে দেওয়া আছে।

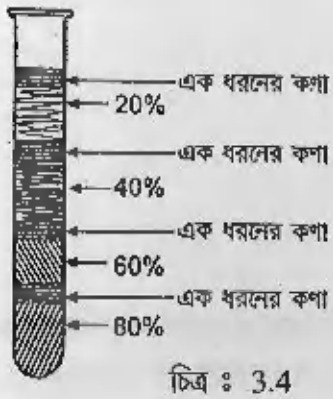
উপরে উল্লিখিত সমীকরণে স্পষ্ট বোঝা যায় যে যখন কণার ঘনত্ব ও মাধ্যমের ঘনত্ব এক হয় তখন, কণাটিতে কোন গতি থাকবে না ও কণাটি স্থির হয়ে যাবে ওই ঘনত্বের মাধ্যমে।

একটি বিশেষ মাধ্যম ও একটি বিশেষ কণার জন্য $\frac{4}{3}\pi p^3(\rho_p - \rho_m)$ এইটি নির্দিষ্ট হয়ে যাবে এবং তাকে যদি s দিয়ে প্রকাশ করা হয় তাহলে তবে

$$v = s\,\omega^2.r.$$



চিত্র ঃ 3.3



চিত্র ঃ 3.4

ঐই s কে বলা হয় থিতানোর সহগ বা সেডিমেন্টেশান কোয়েফিসিয়েন্ট (Sedimentation Coefficient) কিন্তু এই s-এর মান 10^{-13} second এই ধরনের হওয়ার জন্য একটি নতুন একক ব্যবহৃত হয় যার নাম সোয়েডবার্গ একক (Swedbug unit) এবং যেটি 10^{-13}s-এর সমান। একে বড় S দিয়ে লেখা হয়। অর্থাৎ একটি রাইবোজোমের নামের সঙ্গে 30S লেখা হওয়া মানে ঐ রাইবোজোমের সেডিমেন্টেশন কোয়েফিসিয়েন্ট জলে $20^{o}C$ তাপমাত্রায় 30×10^{-13} সেকেন্ড।

যদি সেন্ট্রিফিউজ পরীক্ষানলে বিভিন্ন মাধ্যম বিভিন্ন ঘনত্বের ব্যবহার করা হয় অর্থাৎ পরীক্ষানলে প্রথমে বেশি ঘনত্বের একটি মাধ্যম কয়েক মিলি. নিয়ে খুব সাবধানে আরেকটি ঘনত্বের একটি মাধ্যম ধীরে ধীরে যোগ করা হয় তাহলে ঝাঁকুনি না দিলে ঐ দুটি মাধ্যম পরস্পর মিশবে না। অনেক পরে বেশি তাপমাত্রায় স্বাভাবিকভাবে মিশে যাবে (Natural diffusion)—এছাড়া মাধ্যমগুলি নির্দিষ্ট সীমারেখা মেনে চলবে। এইভাবে আরো কয়েকটি মাধ্যম সাজিয়ে প্রয়োজনীয় কণাগুলিকে যোগ করে দেওয়া হয়। সেন্ট্রিফিউজ করলে যেখানে যে কণার $\rho_p = \rho_m$ হবে, সেই কণাটির গতি হবে শূন্য। অন্যরা চলতে/গতিশীল থাকবে। শেষ পর্যন্ত বিভিন্ন ঘনত্বের কণা বিভিন্ন মাধ্যমে আটকে যাবে ও সেন্ট্রিফিউগেশন শেষে তাদের সংগ্রহ করা যাবে।

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (১) একটি সেন্ট্রিফিউগেশন যন্ত্র বা সেন্ট্রিফিউজ।

(২) সুক্রোজ দ্রবণ—বিভিন্ন ঘনত্বের যথা 80%, 60%, 40%, 20% দ্রবণ।

(৩) একটি ডিম একটি মর্টার পেস্‌লে ভালোভাবে মেশান।

(৪) পিপেট।

পদ্ধতি ঃ সেন্ট্রিফিউজ নলে পিপেটের সাহায্যে খুব সাবধানে

বিভিন্ন ঘনত্বের দ্রবণ যোগ করে একটি ঘনত্বের অবক্রম তৈরি করে সাবধানে রাখতে হবে যাতে কোন ঝাঁকুনি না লাগে।

একটি ডিমকে মর্টার পেসলে ভালোভাবে মিশিয়ে সাবধানে 20% সুক্রোজ দ্রবণের ওপরে পিপেটের সাহায্যে যোগ করতে হবে।

এইবারে সেন্ট্রিফিউজ যন্ত্রে নলগুলি বসিয়ে 8000 — 10000 আবর্ত/মিঃ (45 মি. — 1 ঘন্টা) গতিতে ঘূর্ণনের ফলে ডিমের বিভিন্ন ঘনত্বের কণা বিভিন্ন ঘনত্বের মাধ্যমে স্থির হয়ে থাকবে।

একক 4 □ বর্ণালীশোষণ ভিত্তিক পরিমাপন পদ্ধতি

গঠন ঃ

4.1 উদ্দেশ্য

4.2 প্রস্তাবনা

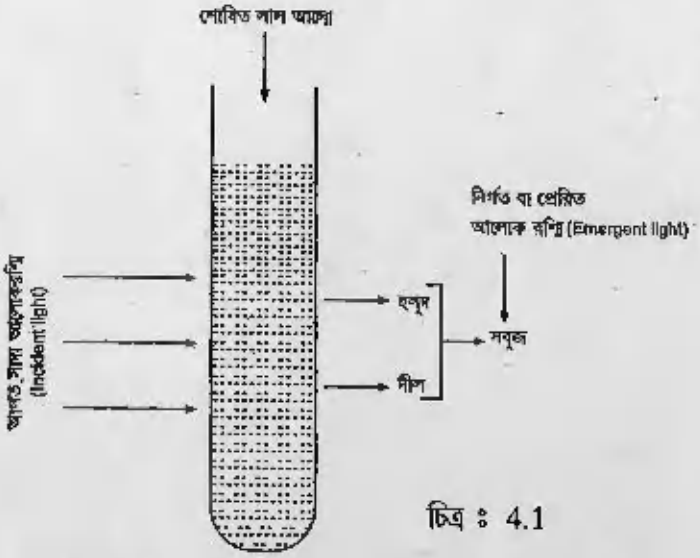
4.2.1 বাইইউরেট ব্যবহার করে প্রোটিন পরিমাপ (স্পেক্ট্রোফটোমিটারে)

4.2.2 নেলসন সমোগ্রি পদ্ধতিতে বিজারক শর্করার পরিমাপ

4.2.3 কোলেস্টেরল পরিমাপন পদ্ধতি

4.1 উদ্দেশ্য

বেশির ভাগ সময়ই প্রাণরাসায়নিক অণুগুলিকে মাপা হয় কোন একটি মিশ্রণে থাকা অবস্থায়। যেমন—রক্তের মধ্যে অজস্র পদার্থের মধ্যে একটি পদার্থকে মাপা হবে, অথবা মূত্রে, বা পিত্তরসে। সেক্ষেত্রে আলোক শোষণ পদ্ধতিটির অনেক সুবিধা। ধরা যাক্—সাদা আলো একটি দ্রবণের মধ্যে দিয়ে পাঠানো হল। দ্রবণে মিশ্রিত পদার্থগুলি কিছু বর্ণের আলোক শোষণ করবে ও বাকিগুলিকে নিজেদের মধ্যে দিয়ে চলে যেতে দেবে। যে আলোকগুলিকে শোষণ করবে, তাদেরকে বলা যেতে পারে শোষিত আলো (absorbed light) এবং যাদেরকে চলে যেতে দেবে, তাদের বলতে পারি প্রেরিত আলো (transmitted light)।



চিত্র ঃ 4.1

ওপরের ছবিতে একটি দ্রবণের মধ্য দিয়ে সাদা আলো (অর্থাৎ ৭টি বিভিন্ন তরঙ্গের আলোকরশ্মি একত্রে) পাঠানোর ফলে দ্রবণের পদার্থগুলি লাল বর্ণের আলোক রশ্মিটি শোষণ করেছে বাকি বর্ণের আলোকে রশ্মি মিলে নির্গত রশ্মির বর্ণ হয়েছে সবুজ এবং তাই দ্রবণের বর্ণ সবুজ।

অনেক সময় অণুগুলির কোন বর্ণ থাকেনা—অন্য কোন রাসায়নিকের সঙ্গে বিক্রিয়ায় রঙিন করে নেওয়া হয় যাতে তারা একটি বিশেষ বর্ণের আলোক তরঙ্গই শোষণ করতে পারে। অন্য আর সকল পদার্থ থেকে তাহলে পৃথক করা যাবে। এই বিক্রিয়াগুলিকে বাছাই করা হয় যাতে মিশ্রণের মধ্যে কোন বিশেষ একটির সাথেই বিক্রিয়া করে অন্যগুলির সাথে নয়। এই পদ্ধতিটি এতটাই সংবেদনশীল (Sensitive) যে মিলি মোল/লি.-এর ঘনত্বও মাপা সম্ভব। আলোক শোষণ ক্ষমতা মাপা হয় যে যন্ত্রে তার নাম স্পেক্ট্রোফটোমিটার (Spectrophotometer)।

4.2 প্রস্তাবনা

আলোক শোষণ ধর্মকে কাজে লাগিয়ে পরিমাপ করবার জন্য দুটি বিশেষ সূত্রের ওপর আমাদের নির্ভরশীল হতে হবে।

(1) ল্যাম্বার্টের সূত্র (Lambart's Law) : এই সূত্রানুসারে, যখন একটি নির্দিষ্ট তরঙ্গ দৈর্ঘ্যের আলোকরশ্মি (Monochromatic light ray) একটি মাধ্যমের মধ্যে দিয়ে যায় তখন সেই আলোকরশ্মির তীব্রতা (Intensity) মাধ্যমের ভেদিত দৈর্ঘ্যের সঙ্গে Exponentially বা সূচকক্রমে হ্রাসপ্রাপ্ত হয়।

অর্থাৎ I_0 = যদি আগত রশ্মির তীব্রতা হয়

I = যদি নির্গত রশ্মির তীব্রতা হয়

ও l = যদি মাধ্যমের ভেদিত দৈর্ঘ্য হয়

তবে সম্পর্কটি হবে

$I = I_0.e^{-k_1 l}$. [k_1 = একটি ধ্রুবক]

(2) বীয়ারের সূত্র (Beer's Law) : এই সূত্র বলে যে, যখন একটি নির্দিষ্ট তরঙ্গ দৈর্ঘ্যের আলোক রশ্মি (Monochromatic light ray) একটি মাধ্যমের মধ্যে দিয়ে যায় তখন সেই আলোকরশ্মির তীব্রতা (Intensity) ক্রমশঃ গাঢ়ত্ব (Concentration) বৃদ্ধির সঙ্গে সূচকক্রমে হ্রাসপ্রাপ্ত হয়।

অর্থাৎ I_0 = যদি হয় আগত রশ্মির তীব্রতা,

I = নির্গত রশ্মির তীব্রতা

এবং C = মাধ্যমের গাঢ়ত্ব

তবে $I = I_0.e^{-k_2 C}$ [k_2 = একটি ধ্রুবক]

তাহলে, বীয়ার ল্যাম্বার্টের একত্রিত সূত্রটি হবে— kcl. [k_1 ও k_2 একত্রে K নতুন ধ্রুবক]

$$I = I_0.\ e^{-kcl}$$

$$\text{or, } \frac{I}{I_0} = e^{-kcl}$$

$$\text{or, } \log_e \frac{I}{I_0} = -k.c.l.$$

or, $\log_e \frac{I_0}{I} = -k.c.l.$

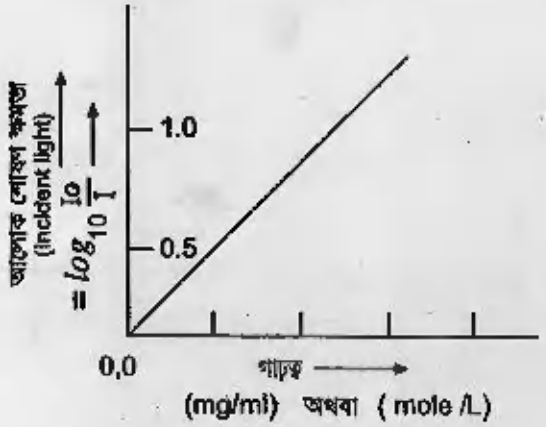
or, $2.303\log_{10} \frac{I_0}{I} = k.c.l.$

or, $\log_{10} \frac{I_0}{I} = \frac{k}{2.303}.c.l.$

$= K.c.L.$ [$\frac{k}{2.303}$ = আরেকটি ধ্রুবক]

এই $\log_{10} \frac{I_0}{I}$ -কে বলা হয় মাধ্যমের আলোক শোষণ ক্ষমতা (Absorbance)। এটি একটি অনুপাত বলে এর কোন একক নেই।

যদি একই যন্ত্র ব্যবহৃত হয় তবে একই নির্দিষ্ট পরীক্ষা নলে দ্রবণ নিতে হবে। আলোক শোষণ পরীক্ষার জন্য সেক্ষেত্রে I-স্থির হয়ে যাবে। তখন আলোক শোষণ ক্ষমতা নির্ভর করবে শুধুমাত্র মাধ্যমের গাঢ়ত্বের ওপরে। যদি একটি লেখচিত্র আঁকা যায় মাধ্যমের গাঢ়ত্ব ও আলোক শোষণ ক্ষমতার উপর নির্ভর করে তাহলে তা হবে, একটি মূলবিন্দুগামী সরলরেখা।



চিত্র : 4.2

চিত্র : 4.3

একই পদার্থের বিভিন্ন গাঢ়ত্বের দ্রবণ নিলে আমরা একটি লেখচিত্র পাব যেখানে মাধ্যমের গাঢ়ত্ব ও আলোক শোষণ ক্ষমতা দুই জানা থাকবে। আলোক শোষণ ক্ষমতা মাপা হবে স্পেক্ট্রো ফটোমিটারের মাধ্যমে। এইটিকে বলে প্রমাণ লেখচিত্র। যদি গাঢ়ত্ব জানা নেই এমন একটি দ্রবণের আলোক শোষণ ক্ষমতা স্পেক্ট্রোফটোমিটারের মাধ্যমে যায়, তাহলে এই প্রমাণ লেখচিত্রদের সাহায্যে গাঢ়ত্ব নির্ণয় করা সম্ভব।

তার জন্য প্রথমেই যা করতে হবে তা হলো, একটি নির্দিষ্ট তাপমাত্রায় নির্দিষ্ট নীতি অনুসরণ করে নির্দিষ্ট আয়তনের বিকারক ইত্যাদি ব্যবহার করে যে নির্দিষ্ট তরঙ্গদৈর্ঘ্যে সবথেকে বেশি আলোক শোষিত হয় সেই তরঙ্গ দৈর্ঘ্যটি বেছে নিয়ে একটি দ্রবণের বিভিন্ন গাঢ়ত্বের আলোক শোষণ ক্ষমতা যন্ত্র থেকে জেনে নিয়ে একটি প্রমাণ লেখচিত্র তৈরি করে নেওয়া।

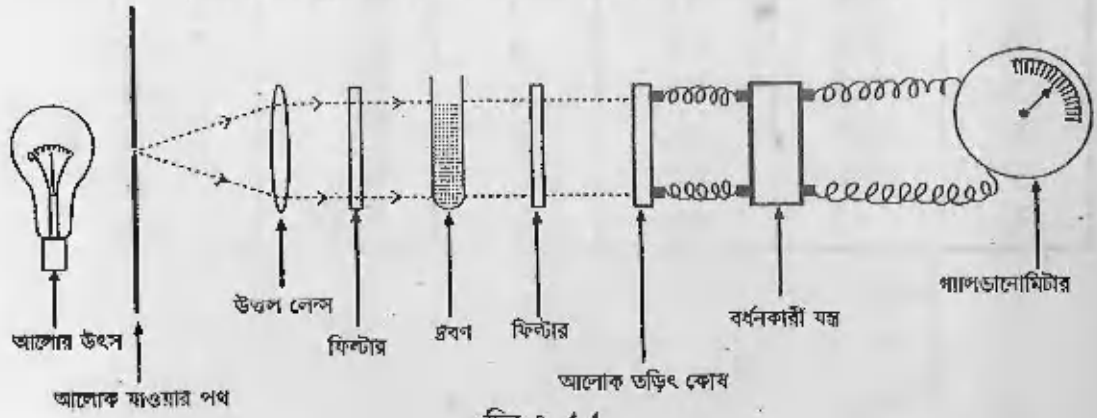
ধরা যাক, আপনি একটি অ্যামিনো অ্যাসিডের দ্রবণ বানিয়েছেন। এর 2 মিলি. নিয়ে তাতে 4 মিলি. নিনহাইড্রিন দ্রবণ দিয়ে আলোক শোষণ ক্ষমতা দেখলাম 'ক'। পরের বারে যদি 4.5 মিলি. নিনহাইড্রিন দ্রবণ যোগ করি, তবে অবশ্যই আলোক শোষণ ক্ষমতা 'ক' থাকবে না, হয়ে যাবে 'খ'। তাই প্রতিটি বিকারকের নির্দিষ্ট আয়তন থাকা খুবই জরুরী।

আবার, ধরা যাক নিনহাইড্রিন অ্যামিনো অ্যাসিডে যোগ করার ফলে যে গোলাপী বেগুনী রং হয় তাতে অবশ্যই দ্রবণটি সবুজ বর্ণের আলোক তরঙ্গ শোষণ করতে পারে। সবুজ বর্ণের আলোক তরঙ্গ 500μm হবে, আবার 530μm ও হবে। ঐ অ্যামিনো অ্যাসিড ও নিনহাইড্রিন মেশানো দ্রবণটিতে 500μm থেকে 530μm পর্যন্ত্য প্রতিটি তরঙ্গ দৈর্ঘ্যের আলোক পাঠিয়ে দেখতে হবে কোন দৈর্ঘ্যের আলোক তরঙ্গ সর্বাপেক্ষা বেশি শোষিত হচ্ছে। সেই তরঙ্গ দৈর্ঘ্যকে বলে **সর্বাধিক শোষণ দৈর্ঘ্য** (absorption maxima)। সবসময় ঐ দ্রবণের আলোক শোষণ ক্ষমতা ওই তরঙ্গদৈর্ঘ্যে মাপতে হবে। তা না হলে প্রমাণ লেখচিত্রটি মূলবিন্দুগামী সরলরেখা হবে না।

আমরা জানি যে, তাপমাত্রার সঙ্গে অণুর গতিশক্তি ও আলোক শোষণ ক্ষমতা দুইই সম্পর্কযুক্ত, তাই আপনাদের সবসময়ই নির্দিষ্ট তাপমাত্রায় ক্রটি নির্দিষ্ট পদার্থের আলোক শোষণ ক্ষমতা মাপতে হবে।

একটি স্পেক্ট্রোফটোমিটারের কার্যাবলীর চিত্র ঃ

(ফিল্টার সাহায্য করে নির্দিষ্ট তরঙ্গ দৈর্ঘ্যের আলোকরশ্মি পাঠাতে)



চিত্র ঃ 4.4

দ্রবণে আগত রশ্মির তীব্রতা মাপা হবে দ্রবণ না ব্যবহার করে। দ্রবণ কর্তৃক শোষিত হওয়ার পরে তীব্রতা মাপা হবে দ্রবণ থেকে নির্গত আলোকে। আলোক তড়িৎকোষে যে তড়িৎ উৎপন্ন করবে তাকে গ্যালভানোমিটারে মাপা হবে।

4.2.1 বাইইউরেট ব্যবহার করে প্রোটিন পরিমাপ (স্পেক্ট্রোফটোমিটারে) ঃ

সূত্র ঃ একক 1-এ প্রোটিনের পরিচয় নির্ণয়ক পরীক্ষায় আলোচনা করা হয়েছে।

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ (1) প্রমাণ গাঢ়ত্বের প্রোটিনের দ্রবণ (10 মিগ্রা/মিলি) (সাধারণতঃ গরুর সেরাম অ্যালবুমিন বা বোভাইল সেরাম অ্যালবুমিন (বি এস এ) (BSA) এই কাজে ব্যবহার করা হয়।

(2) বাইইউরেট রিএজেন্ট বা বাইইউরেট বিকারক (প্রথমে, 3 গ্রাম, $CuSO4, 5H_2O$ এবং 9 গ্রা. সোডিয়াম, পটাসিয়াম টারট্রেট (Na^+, 'K^{+}'-tartrate) 0.2 (M) NaOH দ্রবণে দ্রবীভূত করা হয়।

এবারে তাতে 5 গ্রা. KI যোগ করে দ্রবণের সম্পূর্ণ আয়তন করা হয় 1 লিটার 0.2 (M) NaOH দিয়ে (জল দিয়ে নয়) তৈরি হল বাইইউরেট বিকারক]

(3) 37°C এর জলের বিকার অথবা একটি ওভেন।

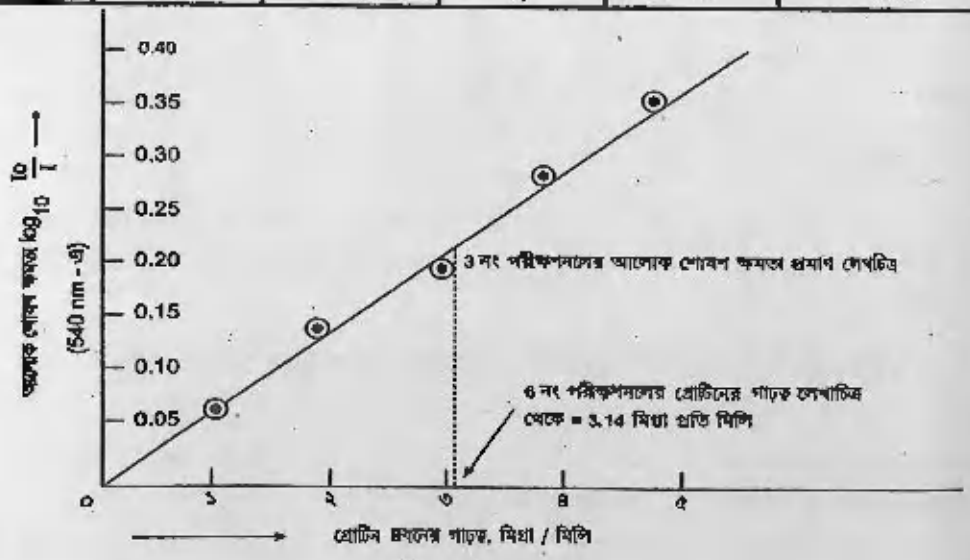
(4) লেখ কাগজ।

(5) 1 মিলি ও 5 মিলি.-এর দাগ কাটা পিপেট।

পদ্ধতি ঃ স্পেক্ট্রোফটোমিটারের সাহায্যে প্রথমে একটি প্রমাণ দ্রবণের লেখচিত্র তৈরি করে সেখান থেকে অজ্ঞাত দ্রবণের গাঢ়ত্ব নির্ণয় করতে হলে সবসময় নিম্নলিখিত সারণী অনুযায়ী একটি প্রয়োজনীয় সারণী তৈরী করে নিতে হবে।

সারণি ঃ 4.2.1.

পরীক্ষানলের গায়ে সংখ্যা	প্রমাণ দ্রবণ এবং অজ্ঞাত দ্রবণ (প্রোটিন দ্রবণ মিলি.)	মোট আয়তন 1 মিলি. করার জন্য প্রয়োজনীয় জল (মিলি.)	বাইইউরেট দ্রবণ, মিলি.	১০ মিনিট সময়, 37°C তাপমাত্রায়	540μm তরঙ্গ দৈর্ঘ্যের আলোক শোষণ ক্ষমতা, পাঠ
0	0.0	0.1	4	সবগুলি পরীক্ষানলই রাখতে হবে	0.08
1	0.1	0.9	4		0.15
2	0.2	0.8	4		0.22
3	0.3	0.7	4		0.29
4	0.4	0.6	4		0.36
5	0.5	0.5	4		0.43
6	1	0.0	4		0.30



চিত্র ঃ 4.5

(বাইইউরেট বিকারক যোগ করলে যে বেগুনী বর্ণ হয় তার আলোক শোষণ ক্ষমতা সর্বাধিক 540 μm তরঙ্গ দৈর্ঘ্যের আলোকে)

গণনা ঃ প্রমাণ প্রোটিন দ্রবণ দেওয়া হয়েছে 10 মিগ্রা./মিলি.। ∴ এই দ্রবণ থেকে 0.1 মিলি (সারণীতে 1 নং পরীক্ষানলে) নিলে তাতে প্রোটিন থাকবে 10 × 0.1 = 1 মি.গ্রা.। এই দ্রবণে 0.9 মিলি জলে যোগ করে দ্রবণের আয়তন হয়েছে 1 মিলি. তবে ঐ পরীক্ষানলে প্রোটিনের গাঢ়ত্ব = 1 মিগ্রা./মিলি.। 2 নং পরীক্ষানলে প্রোটিনের পরিমাপ = 10 × 0.2 = 2 মিগ্রা.। ওখানেও 0.4 মিলি জলযোগ করে 1 মিলি করা হয়েছে। অতএব ঐ পরীক্ষানলে প্রোটিন দ্রবণের গাঢ়ত্ব = 2 মিগ্রা./মিলি. এইভাবে 3,4,5 নং পরীক্ষানলে আছে 3 মিগ্রা./মিলি. 4 মিগ্রা./মিলি. ও 5 মিগ্রা./মিলি. প্রোটিন দ্রবণ। সবকটিতেই 4 মিলি বাই ইউরেট বিকারক ব্যবহার করা হয়েছে ঐটিকে হিসাবে বাহিরে রাখা হল। 0 নং পরীক্ষানলে শুধু 1 মিলি জল আছে। অতএব ঐ পরীক্ষানলে প্রোটিন দ্রবণের গাঢ়ত্ব 0 মিগ্রা./মিলি.। কিন্তু সেখানেও একটি পাঠ আছে 0.08 সেটি বাই ইউরেট বিকারক ইত্যাদির জন্য। আলোক শোষণ সবগুলি পরীক্ষা-নলেই হবে। তাই এইটি যদি সবগুলি পরীক্ষানল থেকে বাদ দেওয়া যায় তাহলে

0 নং পরীক্ষানলের পাঠ হবে 0.08 – 0.08 = 0

1 নং পরীক্ষানলের আলোকশোষণক্ষম তার পাঠ হবে 0.15 – 0.08 = 0.07

2 নং পরীক্ষানলের আলোকশোষণক্ষম তার পাঠ হবে 0.22 – 0.08 = 0.14

3 নং পরীক্ষানলের আলোকশোষণক্ষম তার পাঠ হবে 0.29 – 0.08 = 0.21

4 নং পরীক্ষানলের আলোকশোষণক্ষম তার পাঠ হবে 0.36 – 0.08 = 0.28

5 নং পরীক্ষানলের আলোকশোষণক্ষম তার পাঠ হবে 0.43 – 0.08 = 0.35

6 নং পরীক্ষানলের আলোকশোষণক্ষম তার পাঠ হবে 0.30 – 0.08 = 0.22

এই পরীক্ষানলের প্রাণীদের দ্রবণের গাঢ়ত্ব জানা নেই।

0 নং থেকে 5 নং পর্যন্ত পরীক্ষানলের আলোকশোষণ ক্ষমতা ও প্রোটিন দ্রবণের গাঢ়ত্ব নিয়ে ওপরের লেখচিত্রটি আঁকা হল।

ঐ লেখচিত্র অবশ্যই হবে একটি মূলবিন্দুগামী সরলরেখা।

ঐ সরলরেখায় 6 নং (অজ্ঞাত দ্রবণ) পরীক্ষানলের পাঠ বসালে তার উপযুক্ত গাঢ়ত্বটিও পাওয়া যাবে। এখানে ঐ দ্রবণের গাঢ়ত্ব = 3.14 মিগ্রা./মিলি.।

4.2.2. নেলসন সমোগাই পদ্ধতিতে বিজারক শর্করার পরিমাপ ঃ (Estimation of reducing sugar by Nelson Somogyi Method) :

সূত্র ঃ বিজারক শর্করার ক্ষারীয় $CuSO_4$ দ্রবণে বিজারক ক্ষমতার কথা আলোচনা করা হয়েছে একক 2.এ।

বিজারক শর্করা উদাহরণ স্বরূপ গ্লুকোজ ক্ষারীয় কপার সালফেট দ্রবণ থেকে Cu_2O অধঃক্ষেপ তৈরী করে। ঐ Cu_2O আবার আরসেনো মলিবডেট দ্রবণের সঙ্গে বিক্রিয়ায় একটি নীল রং-এর জটিল যৌগ উৎপন্ন করে যেটির আলোক শোষণ ক্ষমতা সর্বাধিক 500μm তরঙ্গদৈর্ঘ্যে।

(স্পেক্ট্রোফটোমিটার অধঃক্ষেপ মাপা করে না। তাই ঐ অধঃক্ষেপ দিয়ে আরেকটি রঙিন দ্রবণ প্রস্তুত করে মাপা হয়। তাই আর্সেনো মলিবডেটের ব্যবহার।)

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ

(1) ক্ষারীয় কপার সালফেট দ্রবণ ঃ —

(ক) দ্রবণ A : 25 গ্রা. অনার্দ্র Na_2CO_3, 25 গ্রা. Na^+, K^+ টারট্রেট, 20 গ্রা. $NaHCO_3$ এবং 200 গ্রা. অনার্দ্র Na_2SO_4, যোগ করা হল 400 মিলি পাতিত জলে। পরে দ্রবণটিতে আরও 200 মিলি পাতিত জল যোগ করে মোট 1 লিটার বানানো হল। এই দ্রবণটিকে 20-22°C তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করতে হয়। যদি অধঃক্ষেপ পড়ে, তাহলে তা পরিস্রুত করে ব্যবহার করতে হয়।

(খ) দ্রবণ B : 15% $CuSO_4$, $5H_2O$ দ্রবণ বানিয়ে তাতে ½ ফোঁটা ঘন H_2SO_4 যোগ করে রাখা হয়।

ব্যবহারের সময় 25 ভাগ দ্রবণ A-র সঙ্গে 1 ভাগ দ্রবণ B মিশিয়ে **ক্ষারীয় কপার সালফেট দ্রবণ** প্রস্তুত করা হয়।

(2) আর্সেনো মলিবডেট দ্রবণ ঃ 25 গ্রাম. অ্যামোনিয়াম মলিবডেট 450 মিলি জলে দ্রবীভূত করা হল। তাতে 21 মিলি. ঘন H_2SO_4 যোগ করা হল। আলাদাভাবে আরেকটি পাত্রে ডাইসোডিয়াম অর্থোআর্সেনেট (Na_2HAsO_4, $7H_2O$) 3 গ্রা. দ্রবীভূত করা হল 25 মিলি জলে। এটিকে অ্যামোনিয়াম মলিবডেট দ্রবণে যোগ করা হয় ও ক্রমাগত বাড়ানো হয় মিশ্রণটিকে। এই দ্রবণটিকে 37°C তাপমাত্রায় 24-48 ঘণ্টা রেখে দেওয়া হয় ব্যবহারের আগে। এই দ্রবণ সংরক্ষণ এর জন্য বাদামী রং-এর কাঁচের বোতল ব্যবহার করা হয়।

(৩) প্রমাণ গ্লুকোজ দ্রবণ ঃ 10-15 মিলি. 0.2%; বেনজয়িক অ্যাসিড দ্রবণে দ্রবীভূত করে, পরে সম্পূর্ণ দ্রবণটির আয়তন করা হয় 100 মিলি—0.2% বেনজয়িক অ্যাসিড মিশিয়ে (জল মিশিয়ে নয়)।

এই দ্রবণ থেকে 1 মিলি নিয়ে আবার 100 মিলি 0.2% বেনজোয়িক অ্যাসিড যোগ করা হয়। এইটিকেই প্রমাণ দ্রবণ হিসাবে ব্যবহার করা হয়।

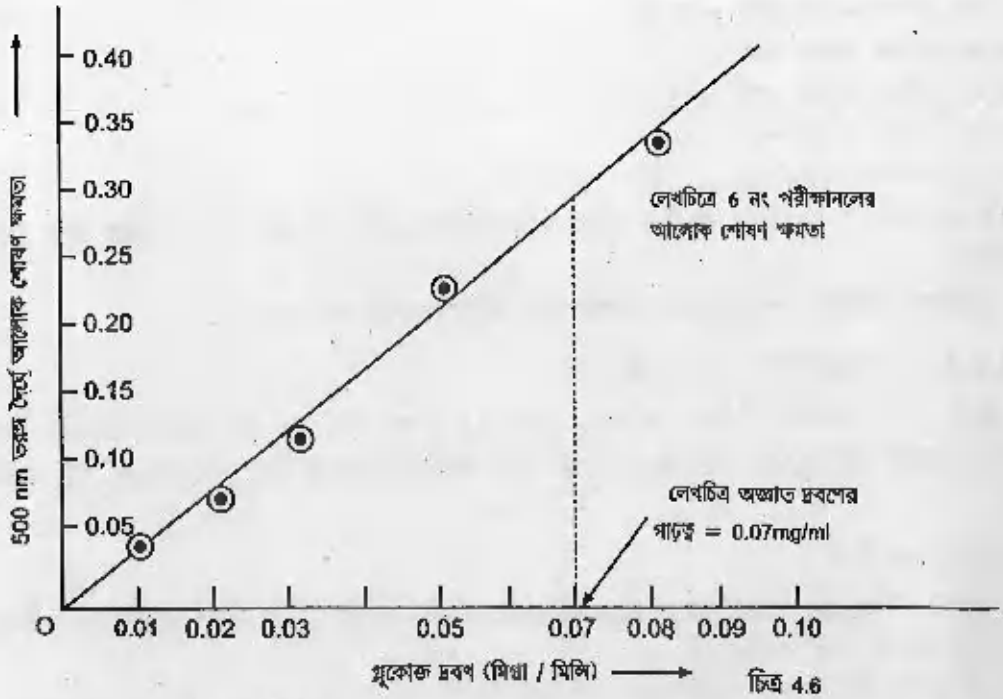
(৪) ১ মিলি ও ১০ মিলি.-এর দাগ কাটা পিপেট;

(৫) রেখচিত্র কাগজ।

পদ্ধতি ঃ প্রমাণ রেখচিত্র করার জন্য এখানে নিম্নলিখিত সারণিটি অনুসরণ করা হয়।

পরীক্ষা নলের গায়ের সংখ্যা	গ্লুকোজ প্রমাণ দ্রবণের আয়তন (মি.লি.)	জলের আয়তন মিলি.	ক্ষারীয় কপার সালফেট দ্রবণ (মি.লিঃ)	ফুটন্ত জলের বীকারে 20 মিনিট	পরীক্ষা নলকে ঠাণ্ডা করে কক্ষের তাপমাত্রায় আসতে হবে	আর্সেনের থলির ডেট দ্রবণ (মিলি)	জল মিলি	560 nm তরঙ্গের পাঠ
0	0.0	1.0	2	সবগুলি পরীক্ষা নলের মুখে একটি মার্বেল দিয়ে রাখা হবে।	সবগুলি পরীক্ষানলকেই।	1	1	0.05
1	0.1	0.9	2			1	1	0.10
3	0.2	0.8	2			1	1	0.5
4	0.3	0.7	2			1	1	0.20
5	0.5	0.5	2			1	1	0.50
6	1.0	0.0	2			1	1	0.55
(অজ্ঞাত দ্রবণ)	1.0	0.0	2			1	1	0.40

(আনুমানিক পাঠ)



চিত্র 4.6

গ্লুকোজ দ্রবণ (মিগ্রাম/মিলি.)

গণনা ঃ গ্লুকোজ প্রমাণ দ্রবণে গ্লুকোজের গাঢ়ত্ব প্রথমে ছিল 1 গ্রাম. 100 মিলি। এখানে থেকে 1 মিলি. নিলে তাতে আবার 99 মিলি. 2% বেনজোয়িক অ্যাসিড যোগ করে 100 মিলি. করা হলে সেই দ্রবণের গাঢ়ত্ব হবে 1 গ্রা/1 মিলি. অর্থাৎ 0.001/ মিলি. অর্থাৎ 0.1 মিগ্রা./মিলি।

এই দ্রবণ থেকে 1 নং পরীক্ষা নলে নেওয়া হল 0.1 মিলি.

অতএব 1নং পরীক্ষার নলের গ্লুকোজ পরিমান 0.1× 0.1= 0.01 মিগ্র। এটিতে পরে 0.9 মিলি জল দিয়ে 1 মিলি করা হয়েছে। সুতরাং 1নং পরীক্ষা নলের গ্লুকোজ দ্রবণের গাঢ়ত্ব = 0.01 মিগ্রা/মিলি.

এইরকমভাবে, 2 নং পরীক্ষানলের গ্লুকোজ দ্রবণের গাঢ়ত্ব = 0.2 × 1 = 0.2 মিগ্রা/মিলি.

3 নং পরীক্ষা নলের গ্লুকোজ দ্রবণের গাঢ়ত্ব = 0.3 × 0.1 = 0.03 মিগ্রা/মিলি

4 নং পরীক্ষা নলের গ্লুকোজ দ্রবণের গাঢ়ত্ব = 0.5× 1 = 0.5 মিগ্রা/মিলি.

5 নং পরীক্ষানলের গ্লুকোদ্রণের গাঢ়ত্ব = 1 × 0.1 = 0.10 মিগ্রা/মিলি.

6 নং পরীক্ষা নলের গ্লুকোজ দ্রবণের গাঢ়ত্ব অজ্ঞাত। সেটিকে প্রমাণ রেখাচিত্রের সাহায্যে নির্ণয় করতে হবে।

0 নং পরীক্ষানলের পাঠটি বিকারকের দ্বারা আলোক শোধিত হওয়ার জন্য। অতএব ঐ পাঠকে সব পরীক্ষানলের পাঠ থেকে বাদ দিতে হবে। অতএব 0 নং পরীক্ষানলের পাঠ = 0

1 নং পরীক্ষা নলের পাঠ = 0.05

2 নং পরীক্ষা নলের পাঠ = 0.10
3 নং পরীক্ষা নলের পাঠ 0.15
4 নং পরীক্ষা নলের পাঠ = 0.25
5 নং পরীক্ষা নলের পাঠ = 50
6 নং পরীক্ষা নলের পাঠ = 0.35

এই মান গুলিকে রেখচিত্রে বসালে 6 নং পরীক্ষানলে অজ্ঞাত দ্রবণের গাঢ়ত্ব পাওয়া যাবে 0.07 মিগ্রা/মিলি.

(এক্ষেত্রেও বিচারক -এর আয়তন অগ্রাহ্য করা হয়েছে একই কারণে)

4.2.3. কোলেস্টেরল পরিমাপন পদ্ধতি ঃ

সূত্র ঃ সকল স্টেরলই ফেরিক ক্লোরাইড ($FeCl_3$) ও ঘন H_2SO_4-এর সঙ্গে বিক্রিয়ায় একটি বেগুনি/গোলাপী বর্ণের যৌগ গঠন করে যা আমরা স্পেক্ট্রোফটোমিটারে 540 μm তরঙ্গ দৈর্ঘ্য মাপতে পারি।

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাটি ঃ

1) কোলেস্টেললের প্রমাণ দ্রবণ (100 মিগ্রা/100 মিলি) অর্থাৎ 1মিগ্রা/মিলি অ্যাসিটিক অ্যাসিডে [কোলেস্টেরল জলে অদ্রবণীয়]
2) 0.125% $FeCl_3$ দ্রবণ গ্লেসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিডে।
3) ঘন H_2SO_4
4) 1মিলি ও 10 মিলি-এর দাগকাটা পিপেট ও পিপেট হোল্ডার রেখচিত্র কাগজ।

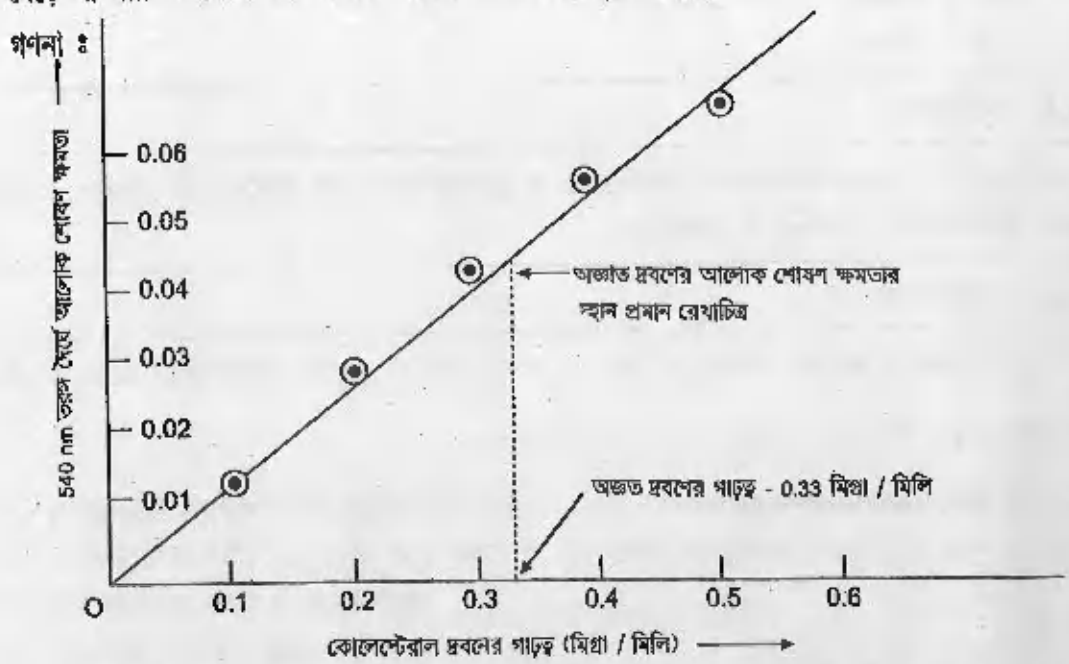
পদ্ধতি ঃ এক্ষেত্রে আমরা নিম্নলিখিত সারমী অনুযায়ী পরীক্ষা গুলিতে দ্রবণ গুলি যোগ করে 540m তরঙ্গদৈর্ঘ্যে আলোক শোষণ ক্ষমতা পরিমাপ করব ও তাই অনুযায়ী প্রমাণ রেখাচিত্র তৈরী করে অজ্ঞাত দ্রবণের গাঢ়ত্ব নির্ণয় করব।

সারণি 4.2.3

পরীক্ষা নলের গায়ে সংখ্যা	কোলেস্টেরল প্রমাণ দ্রবণ আয়তন (মিলি.)	গ্লেসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড আয়তন (মিলি)	0.125 $Fecl_3$ দ্রবণ (মিলি) হতে	15মি. সময় মিশ্রিত হতে দিতে হবে	ঘন H_2SO_4 অয়তন (মিলি)	৩০মি. সময় মিশ্রিত হবার	540μm তরঙ্গ দৈর্ঘ্যে আলো শোষণ ক্ষমতা, পাঠ
0	0	1.0	1	সবগুলি পরীক্ষা নলই একই ভাবে রাখতে হবে।	5	সবগুলি পরীক্ষা নলই একই ভাবে রাখতে হবে।	.005
1	0.1	0.9	2		5		0.17
2	0.2	0.8	2		5		0.29
3	0.3	.07	2		5		0.41
4	0.4	0.6	2		5		0.53
5	0.5	0.5	2		5		0.45
6 (অজ্ঞাত দ্রবণ)	0.10	0.0	2		5		(আনুমানিক পাঠ)

এইসব বিকারক সোজাসুজি পিপেটে না তুলে পিপেট হোল্ডার অথবা পিস্যোস ব্যবহার করা অবশ্য কর্তব্য। নাহলে যেকোন মুহূর্তে এই সব বিকারক মুখে নিয়ে সাঙ্ঘাতিক দুর্ঘটনা ঘটাতে পারে।

ঘন সালফিউরিক অ্যাসিড দেওয়ার সময় সাবধানে আস্তে আস্তে যোগ করতে হবে তাপমাত্রা খুব বেড়ে না যায় ও যৌগ গুলি থেকে কার্বন না উৎপন্ন হতে পারে।



কোলেস্টেরল প্রমাণ দ্রবণের গাঢ়ত্ব = 1মিগ্রা/মিলি। এই দ্রবণ থেকে 1নং পরীক্ষা নলে নেওয়া হয়ে 0.1 মিলি অর্থাৎ 1নং পরীক্ষা নলে কোলেস্টেরল আছে 1× 0.1 = 0.1 মিগ্রা এবং ঐ পরীক্ষা নলের দ্রবণের মোট আয়তন করা হয়েছে 1 মিলি অ্যাসিটিক অ্যাসিড 0.9 মিলি যোগ করে।

অতএব, 1নং পরীক্ষা নলে কোলেস্টের দ্রবণের গাঢ়ত্ব যথাক্রমে 0.3, 0.4 ও 0.5 মিগ্রা/মিলি। 6 নং পরীক্ষানলের দ্রবণের গাঢ়ত্ব অজ্ঞাত নির্নয় করতে হবে। ০নং পরীক্ষানলে দ্রবেণর গাঢ়ত্ব = 0 ; 0 নং পরীক্ষা নলে যে আলোক শোষন ক্ষমতার পাঠ পাওয়া যায় তা শুধুই বিকারকগুলির জন্য। অতএব ঐপাঠ অন্য সব পরীক্ষানল থেকে বাদ দিতে হবে।

অতএব, 1নং পরীক্ষা নলের পাঠ হবে 0.17-0.05 = 0.12

2 নং পরীক্ষা নলের পাঠ হবে 0.29-0.05 = 0.24

3 নং পরীক্ষা নলের পাঠ হবে = 0.41 - 0.05 = 0.36

4 নং পরীক্ষানলের পাঠ হবে 0.53-0.05 = 0.48

5 নং পরীক্ষা নলের পাঠ হবে 0.65 - 0.05 = 0.60

6 নং পরীক্ষা নলের পাঠ হবে 0.45 - 0.5 = 0.40

প্রমাণ রেখচিত্রে 6 নং পরীক্ষানলের পাঠ বসিয়ে পাওয়া যায় অজ্ঞাত দ্রবণের গাঢ়ত্ব = 0.33 মিগ্রা/মিলি.

একক 5 ❑ উৎসেচকের ক্রিয়াশীলতা ও বৈশিষ্ট্য নির্ণয়

গঠন ঃ

5.1 উদ্দেশ্য

5.2 প্রস্তাবনা

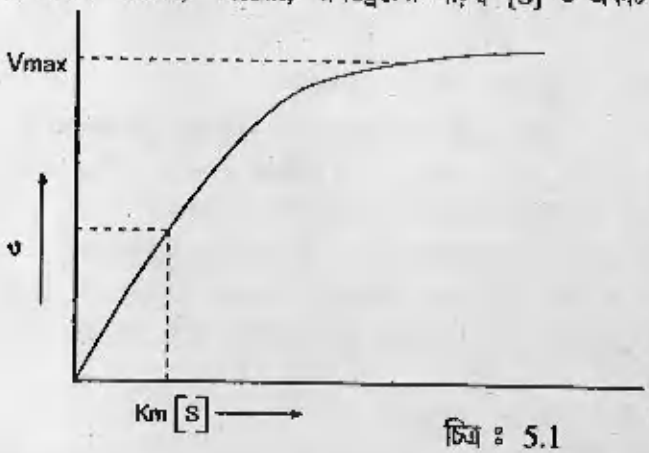
5.1 উদ্দেশ্য

এই পাঠের উদ্দেশ্যে উৎসেচকের ক্রিয়াশীলতা ও বৈশিষ্ট্য নির্ণয় করা উৎসেচকের গতিবেগ, Km ধ্রুবক, সর্বোচ্চ গতি (Vmax) ও রেখচিত্র ঃ

5.2 প্রস্তাবনা

আমরা আমাদের তাত্ত্বিক (Theory) পাঠক্রম থেকে জানতে পেরেছি মাইকেলিস মেন্টেন একটি সমীকরণ প্রস্তুত করেছেন, যেখানে $v = \frac{Vmax.\ [S]}{Km + [S]}$,

সময়ে উৎসেচকের ক্রিয়াশীলতার বেগ v, তার সর্বোচ্চ বেগ (অর্থাৎ যখন সবগুলি উৎসেচকের অণু ক্রিয়াশীল থাকবে) Vmax, সাবস্ট্রেটের গাঢ়ত্ব [S] ও একটি ধ্রুবক Km [ধ্রুবকটি মাইকোলিস মেন্টেন ধ্রুবক নামে পরিচিত] অ্যালোমেস্টারিক উৎসেচক এই সমীকরণ অনুযায়ী ফল দেয় না। যে উৎসেচকগুলি উপরিউক্ত সমীকরণ অনুযায়ী ক্রিয়াশীলতা দেখায় তাদের মাইকোলিস মেন্টেন উৎসেচক ও বলা হয়। তারা একটি হাইপারবোলিক রেখচিত্র তৈরী করে ক্রিয়াশীলতার সঙ্গে সাবস্ট্রেটের গাঢ়ত্ব-এর সাব্স্ট্রেটের ওপরেই উৎসেচক ক্রিয়াশীল তা দেখায়। সর্বোচ্চ ক্রিয়াশীলতার অর্ধেক গতিবেগ থাকে কোন একটি সময়ে তবে সমীকরণটি হবে



চিত্র ঃ 5.1

$$\frac{1}{2}V\max = \frac{Vmax.[S]}{K_m + [S]}$$

অথবা, 2[S] = Km + [S]

অর্থাৎ km = [S]

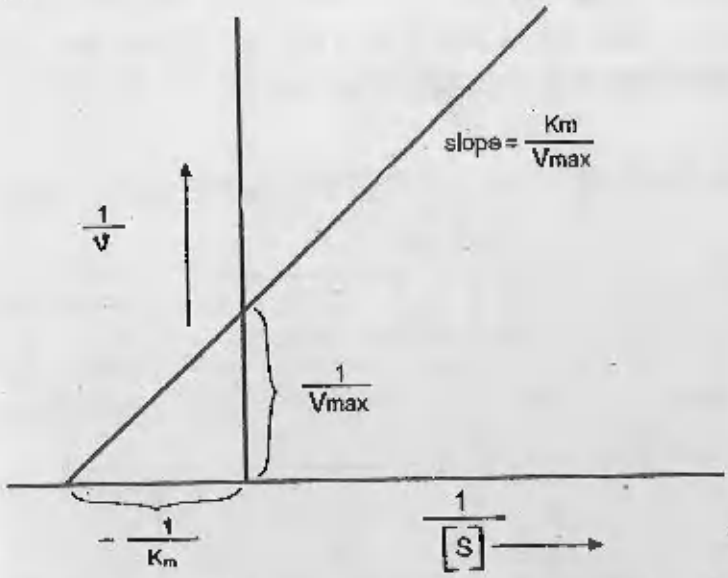
সুতরাং সেক্ষেত্রে সাবস্ট্রেটের গাঢ়ত্বই ধ্রুবক km,

এই হাইপারবোলিক রেখচিত্রের স্পর্শক টেনে তাই করতে হবে। এক্ষেত্রে, গণনা নির্ভুল হয় না। তাই লাইনওয়েভার ও বার্ক (Lineweavers-Burk) রেখচিত্রের ধারণা দেন যেখান থেকে সহজেই Km ও Vmax নির্ণয় করা হয়। লাইনওয়েভার ও বার্কের লেখচিত্র (Linewears Bark plot) : যদি মাইকেলিস মেন্টেন-এর সমীকরণটির অন্যোন্যক (reciporcal) নেওয়া হয় তাহলে হবে।

$$\frac{1}{v} = \frac{Km[S]}{Vmax + [S]} = \frac{Km}{Vmax[S]} + \frac{1}{Vmax}$$

$$= \frac{1}{V\max} + \frac{Km}{Vmax} \cdot \frac{1}{[S]}$$

সমীকরণের $\frac{1}{v}$ ও $\frac{1}{[S]}$ কে নিয়ে যদি রেখচিত্র আঁকা যায় $\frac{1}{V\max}$ একটি নির্দিষ্ট উৎসেচক এর জন্য নির্দিষ্ট এবং $\frac{km}{V\max}$ হবে রেখচিত্রটির নতি; অতএব সমীকরণটি হবে একটি সরলরেখার $y = C + mx$.



চিত্র : 5.2

এই রেখচিত্রটি থেকে সরাসরি km ও Vmax- এর মান পাওয়া যাবে স্পর্শক আঁকতে হবে না ও ভুল হবার সম্ভাবনা কমে যাবে। এই রেখচিত্রটির নাম লাইমওয়েভার বার্ক প্লট।

আমরা উপরিউক্ত রেখচিত্র, সমীকরণ ইত্যাদি ব্যবহার করে অ্যামাইলেজ নামক উৎসেচকটির km ও Vmax নির্ণয় করব।

α অ্যামাইলেজ উৎসেচকটি আমাদের লালারসে (Saliva) - থাকে। এর কাজ $\alpha(1 \rightarrow 4)$ গ্লাইকোসাইড সংযোজনটির আর্দ্র বিশ্লেষণ করে স্টার্চ অথবা গ্লাইকোজেন থেকে অনেক গ্লুকোজ ও মল্টোজ অনু প্রস্তুত করা। গ্লুকোজ অথবা মল্টোজ বিজারক শর্করা। বিজারক শর্করা 3,5-ডাইনাইট্রো স্যালিসাইলেটের সঙ্গে বিক্রিয়ায় একটি বেগুনি বা গোলাপী বর্ণের যৌগ গঠন করে যাবে

540μm তরঙ্গদৈর্ঘ্য পরিমাপ করা সম্ভব। অর্থাৎ উৎসেচক বিক্রিয়ার গতিশীলতার পরিমাপ করবার জন্য প্রয়োজনীয় উৎপন্ন দ্রব্যের ([P]) গাঢ়ত্ব ও আমরা পরিমাপ করতে পারব। [S] অর্থাৎ সাবস্ট্রেটের গাঢ়ত্ব আমরাই নির্দিষ্ট করব। নির্দিষ্ট সময় (t) পরে উৎপন্ন দ্রব্য-এর গাঢ়ত্ব প্রতি একক সময়ে প্রতি মিগ্রা প্রোটিন (উৎসেচক) দ্বারা প্রস্তুত-এর দ্বারা আমরা v কে পরিমাপ করব।

প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ

1) লালারস সংগ্রহ করে বরফে রাখা থাকবে। প্রয়োজনে 6 গুণ/8 গুণ বাড়িয়ে লালারসে উৎসেচকের ঘনত্ব কমিয়ে নেওয়া যেতে পারে;

2) স্টার্চ সাবস্ট্রেট (5 গ্রা./লি. ফসফেট বাফারে প্রথমে 5 গ্রা. স্টার্চ 50 মিলি.) বাফারে একটি পেস্ট বানানো হল। একটি বিকারে ফুটন্ত 500 মিলি. ফসফেট বিকারে এই পেস্টটি আস্তে আস্তে নেড়ে নেড়ে যোগ করা হল। 1মিনিট ফুটিয়ে ঠাণ্ডা করতে দেওয়া হল ঃ এরপরে আরও বাফার যোগ করে মোট 1 লিটার আয়তন করা হল। এতে এবার 1গ্রা. NaCl যোগ করা হল।)

3) ফসফেট বাফার (0.1M, pH 6.7)

4) ডাই নাইট্রো স্যালিসাইলেট বিকারক (10 গ্রা. 3, 5-ডাই-নাইট্রো স্যালিসাইলেট 200 মিলি. 2(M) NaOH এ দ্রবীভূত করা হল। এইটি দ্রবণ A দ্রবণ B প্রস্তুত করা হয় 500 মিলি. জলে 300 গ্রা. Na^+ + K^+ টারট্রেট দ্রবীভূত করে। দ্রবণ A ও B মিশ্রিত করে জল দিয়ে সমগ্র মিশ্রণ-এর আয়তন 1লিটার করা হয়।)

পদ্ধতি ঃ উৎসেচকের ক্রিয়াশীলতা মাপবার জন্য নিম্নলিখিত সারণীটি অনুসরণ করা হল।

সারণী 5.2.1

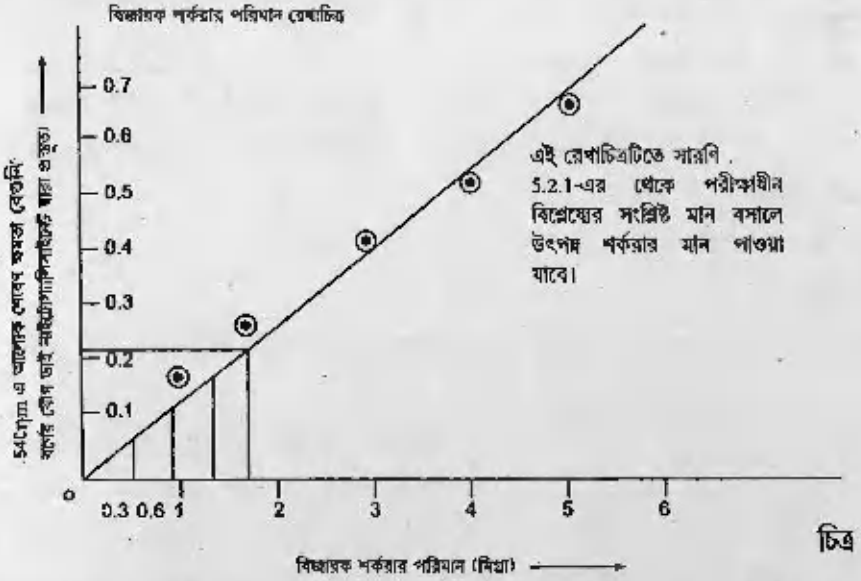
পরীক্ষানলের গায়ে সংখ্যা	তরলীকৃত লালারস আয়তন (মিলি.)	সাবস্ট্রেট স্টার্চদ্রবণ আয়তন (মিলি.)	জল আয়তন (মিলি)	37°C তাপমাত্রা রাখতে হবে 1 ঘণ্টা	3,5 ডাইনাইট্রো স্যালিসাইলেট দ্রবণ (মিলি)	ফুটন্ত জলের বিকারে 15মি.	540μm তরঙ্গদৈর্ঘ্য পাঠাতে হবে।	বিজারক শর্করার পরিমাণ mg/ml.	সাবস্ট্রেট গাঢ়ত্ব (S) mg/ml.	$\frac{1}{[S]}$
0	3	0.0	2.0	সবগুলি পরীক্ষা নলই রাখতে হবে। উৎসেচকের বিক্রিয়ার জন্য	1	সবগুলি পরীক্ষা নলই রাখা হবে এর তৈরী করার জন্যে।	0.05	0.00	0.00	(আনুমানিক পাঠ)
1	3	0.1	1.9		1		0.10	0.33	0.5	
2	3	0.2	1.8		1		0.15	0.66	1.0	
3	3	0.3	1.7		1		0.20	0.99	1.5	
4	3	0.4	1.6		1		0.25	1.32	2.0	
5	3	0.5	1.6		1		0.30	1.65	2.5	
6	3	1.0	1.5		1		0.39	2.31	5.0	
7	3	1.5	1.0		1		0.42	2.44	7.5	
			0.5							

এই দ্রবণটি বিক্রিয়া বন্ধ করে এবং রঙও তৈরি করে বিজারক শর্করা গ্লুকোজ বা মল্টোজের সঙ্গে। বিজারক শর্করার পরিমাণ জানবার জন্য বিজারক শর্করা গ্লুকোজ-এর সঙ্গে ৩,৫ ডাই নাইট্রো

স্যালিসিলাইলেট বিকারকটির নিম্নলিখিত বিক্রিয়া করে একটি প্রমাণ রেখচিত্র প্রস্তুত করতে হবে। সেই রেখচিত্রে ওপরে লিখিত বিজারক শর্করার পাঠগুলি বসিয়ে বিজারক শর্করার পরিমাণ জানতে হবে।

সারণী 5.22

পরীক্ষা নলের গায়ে সংখ্যা	বিজারক গ্লুকোজ দ্রবণ (1গ্রা/100 মিলি এর	জলের আয়তন (মিলি)	3,5-ডাই নাইট্রো স্যালিসাইলেট দ্রবণ	ফুটন্ত জলের বীকারে 15 মি.	540μm তরঙ্গদৈর্ঘ্যে পাঠ	বিজারক শর্করার পরিমাণ মিগ্রা.	
0	0.0	5.0	1	সবকটি পরীক্ষানলেই রাখতে হবে	0.05	0	ওপরের সারণীতে যেহেতু মোট আয়তন 5 মিলি তাই এখানেও মোট আয়তন 5 মিলি করা হয়েছে।
1	0.1	4.9	1		0.20	1	
2	0.2	4.8	1		0.35	2	
3	0.3	4.7	1		0.50	3	
4	0.4	4.6	1		0.65	4	
5	0.5	4.5	1		0.80	5	



চিত্র : 5.3

আরেকটি কাজ বাকি। তা হল, লালারসে প্রোটিনের পরিমাপ করা। বাইনাইট্রেট পদ্ধতিতে মেপে প্রোটিনের প্রমাণ রেখচিত্রে বসিয়ে পরিমাণ পাওয়া যাবে।

এখন কোন মুহূর্তে v (উৎসেচকের গতিশীলতা/সক্রিয়তা)

$$= \frac{\text{মিগ্রা. শর্করা উৎপাদিত}}{\text{মিগ্রা প্রোটিন (3 মিলি তরলীকৃত লালারসে)}} \text{ প্রতি ঘণ্টায়}$$

প্রত্যেকটি পরীক্ষানলের জন্য মোট 6টি 'v' পাওয়া যাবে। এবারে $\frac{1}{[S]}$ বনাম $\frac{1}{v}$ রেখাচিত্রটি এঁকে $\frac{1}{km}$ ও $\frac{1}{V\,max}$ নির্ণয় করা যাবে।

একক 6 □ অণুবীক্ষণ যন্ত্রে কোষ পরীক্ষা ঃ

গঠন ঃ

6.1 উদ্দেশ্য

6.2 প্রস্তাবনা

6.2.1 অনুবীক্ষণ যন্ত্রে পর্যবেক্ষণ

6.2.1.1 প্রাণীকোষ

6.2.1.2 উদ্ভিদ কোষ

6.1 উদ্দেশ্য

প্রাণবিদ্যার সঙ্গে অনুবীক্ষণ যন্ত্রে কোষ দেখা অঙ্গাঙ্গীভাবে জড়িত। কোষ কোন রঞ্জক পদার্থ দিয়ে রঞ্জিত করে নিলে দেখতে সুবিধা হয়। ক্যান্সার জাতীয় রোগে কোষের আকৃতি ও প্রকৃতি বদলে যায়। এবং তা অণুবীক্ষণ যন্ত্রের সাহায্যেই ধরা হয়। একে আমরা বায়োপ্‌সি বলি। (Biopsy)

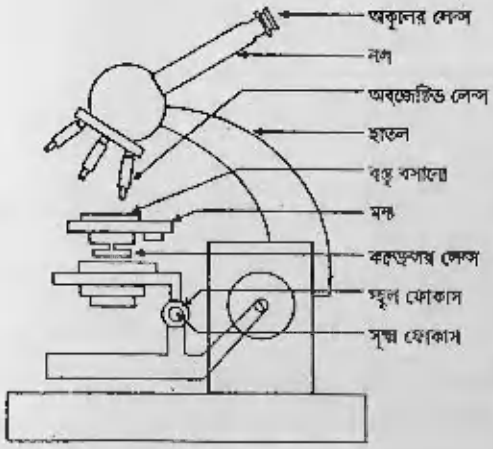
6.2 প্রস্তাবনা

বায়োপ্‌সি শিখবার আগে একটি অনুবীক্ষণযন্ত্র কিভাবে ব্যবহার করতে হয় জানা দরকার। জানা দরকার অনুবীক্ষণ যন্ত্রের বিভিন্ন অংশের নাম। নিম্নে একটি দুটি অনুবীক্ষণ যন্ত্র অর্থাৎ যাতে অনেকগুলি লেন্স ব্যবহার করা হয়েছে কার ছবি দেওয়া হল।

6.2.1. অনুবীক্ষণ যন্ত্রে পর্যবেক্ষণ

6.2.1.1 প্রাণীকোষ ঃ

মুরগীর লিভারের একটি অংশ খুব পাতলা করে ধারালো ব্লেড দিয়ে কেটে ভালোভাবে ধুয়ে নিতে হবে।



চিত্র 6.1

তারপরে সেটিকে একটি কাচের স্লাইডে বসিয়ে অনুবীক্ষণ যন্ত্রের সাহায্যে দেখা হল। এরপরে এটিতে 1 ফোঁটা 1% মিথিলিন ব্লু দিয়ে 1 মিনিট রেখে অ্যালকোহলে ধুয়ে ফেলে আবার দেখা হল। ছবিটি এঁকে রাখতে হবে।

৬.২.১.২ উদ্ভিদ কোষ ঃ

ছোট্ট একটি চারা গাছের মূল ভালোভাবে ধুয়ে ধারালো ব্লেড দিয়ে খুব পাতলা করে কেটে একবার মিথিলিন ব্লু না দিয়ে আরেকবার দিয়ে কাচের স্লাইডে নিয়ে অনুবীক্ষণ যন্ত্রের সাহায্যে দেখতে হবে। তারপর ছবিটি এঁকে রাখতে হবে।

একক 7 ❑ বিক্রিয়া-গতিতথ্য (Reaction-kinetic) ও তার সমীক্ষণ (Study of Reaction-kinetic)

গঠন ঃ

7.1 এস্টারের আর্দ্রবিশ্লেষণ বিক্রিয়ার গতিপথ সমীক্ষণ

7.1.1 নীতি

7.1.2 প্রয়োজনীয় রাসায়নিক দ্রব্যাদি

7.1.3 প্রয়োজনীয় বীক্ষণাগারিক সরঞ্জাম

7.1.4 পদ্ধতি ঃ

7.1.5 প্রশ্নাবলি ঃ

7.2 পোলারিমিটার ব্যবহার করে ইক্ষু-শর্করার বাস্তুভবন-এর গতিতথ্য সমীক্ষণ

7.2.1 নীতি

7.2.2 পদ্ধতি

7.2.3 প্রশ্নাবলি

7.1 এস্টারের আর্দ্রবিশ্লেষণ বিক্রিয়ার গতিপথ সমীক্ষণ To study the reaction-kinetic of hydrolysis of ester.

7.1.1 নীতি (Theory) :

প্রথম ক্রমের বিক্রিয়ার গতি বিক্রিয়কের গাঢ়ত্বের প্রথম ঘাতের সমানুপাতিক। প্রথম ক্রমের (first order) বিক্রিয়াকে নিচের মত প্রকাশ করা যায় ঃ

$$A \rightarrow \text{উদ্ভূত পদার্থসমূহ} \qquad \text{.....(1)}$$

এর বিক্রিয়ার হার (reaction rate) হবে ঃ

$$\frac{-dC_A}{dt} = K_1 C_A \qquad \text{.....(2)}$$

বা,

$$\int \frac{-dC_A}{C_A} = K_1 \int dt \qquad \text{.....(3)}$$

K_1 = গতিধ্রুবক, এবং C_A = t-সময়কালে A-র আণব গাঢ়ত্ব, K_1-এর একক সময়। t=0, C_A=0 এবং $t = f$, $C_A = Ct$ —এই সীমার মধ্যে সমাকলন করে পাই ঃ

$$K_1 = \frac{2.303}{t} \log \frac{C_0}{C_t} \qquad \text{.....(4)}$$

RCOOR' —এস্টারটি আর্দ্রবিশ্লিষ্ট হবে এইভাবে ঃ

$$\underset{\text{(এস্টার)}}{R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OR'} + H_2O \text{ — } \underset{\text{(অ্যালকোহল)}}{R'OH} + \underset{\text{(অ্যাসিড)}}{R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OH} \qquad \text{..... (5)}$$

আপাতদৃষ্টিতে মনে হয় যে বিক্রিয়াটি দ্বি-অণুক (bimoleculer)। কিন্তু গতিতত্ত্ব অনুযায়ী এটি এস্টারের সাপেক্ষে প্রথম ক্রমের দ্বারা জলের (H_2O)-পরিমাণ খুবই বেশি। আর তাই গাঢ়ত্ব অপরিবর্তিত। 5 নং বিক্রিয়াটি সাধারণতঃ খুবই ধীর; তীব্র অ্যাসিড (যেমন HCl বা H_2SO_4) একে প্রভাবিত করে। কোনও এস্টার (যেমন মিথাইল/ইথাইল অ্যাসিটেট)-এর জ্ঞাত ওজনের নমুনা নিয়ে জ্ঞাত ওজনের তীব্র অ্যাসিডের উপস্থিতিতে আর্দ্রবিশ্লেষণ ঘটালে, বিক্রিয়ার অগ্রগতি খুব সহজেই সমীক্ষা করা যায়। বিভিন্ন সময়ান্তরে বিক্রিয়া মিশ্রণ থেকে নির্দিষ্ট আয়তনের নমুনা বা অ্যালিকট (aliquot) সংগ্রহ করে ফিলপথ্যালাইন সূচকের উপস্থিতিতে প্রমাণ ক্ষার দ্রবণের সঙ্গে অনুমন্দ্রিত করতে হয়। কোনও সময়কালে নির্দিষ্ট আয়তনের সংগৃহীত নমুনার প্রশমনে প্রয়োজনীয় প্রমাণ ক্ষার দ্রবণের আয়তন উপস্থিত তীব্র অ্যাসিড (প্রভাবক) ও উৎপন্ন মৃদু অ্যাসিডের যোগফলের তুল্য পরিমাণ।

ধরা যাক ঃ

প্রারম্ভে অর্থাৎ t=0 হলে নির্দিষ্ট আয়তনের নমুনার জন্য

প্রয়োজনীয় প্রমাণ ক্ষার দ্রবণের আয়তন =Vo

সময়কালে ঐ আয়তন =Vt

এবং বিক্রিয়া শেষে অর্থাৎ অনন্ত সময়কাল পরে ($T=\infty$) ঐ আয়তন = $V\infty$

সেক্ষেত্রে, এস্টারের প্রারম্ভিক গাঢ়ত্ব = (Vt – Vo) .....(6)

(Vt – Vo) = ব্যয়িত এস্টারের পরিমাণ – উৎপন্ন মৃদু অ্যাসিডের পরিমাণ

∴ বাকী এস্টারের গাঢ়ত্ব $\equiv (V\infty - Vo) - (Vt - Vo)$

$$\equiv (V\infty - Vt) \equiv C_1$$

$$\therefore\ K_1 = \frac{2.303}{t}\log\left[\frac{V\infty - Vo}{V\infty - Vt}\right]$$

$$\therefore\ \log\left[\frac{V\infty - Vo}{V\infty - Vt}\right] = \frac{k_1}{2.303}.t$$

তাহলে করণীয় দাঁড়াচ্ছে ঃ *Vo*, *Vt* ও $V\infty$ মেপে নিতে হবে ; তারপর $\log\frac{V\infty - Vo}{V\infty - Vt}$ কে t- র প্রেক্ষিতে লেখচিত্রে উপস্থাপিত করতে হবে; মূলবিন্দুগামী প্রাপ্ত সরলরেখার প্রবণতা বা নতি (gradient/slope) বের করতে হবে।

$$K_1 = 2.303 \times \text{নতি।}$$

7.1.2 প্রয়োজনীয় রাসায়নিক দ্রব্যাদি ঃ

কস্টিক সোডা, হাইড্রোক্লোরিক অ্যাসিড, ফিনলথ্যামাইন দ্রবণ (100 ml 1:1 ইথানল-এ 0.5g দ্রাবের দ্রবণ), এস্টার (ইথাইল বা মিথাইল অ্যাসিটেট) বরফ।

7.1.3 প্রয়োজনীয় বীক্ষণাগারিক সরঞ্জাম ঃ

বিকার (100, 250, 500 মিলি), বোতল, স্প্যাচুলা থার্মোস্ট্যাট, পিপেট (50.5, 2 মিলি), ত্রিকোণাকৃতি ফ্লাস্ক (100 ও 250 মিলি), স্টপ্ ওয়াচ, ব্যুরেট স্ট্যান্ড, ব্যুরেট ধারক, ত্রিপদ স্ট্যান্ড, তারজালি, বুনসেন দীপ, শুষ্কীকরণের জন্য গরম/ঠান্ডা বায়ু প্রবাহক (চুল শুকাবার জন্য ব্যবহৃত 'হেয়ার ড্রায়ার'-এ চলবে) বা বায়ুচুল্লী ধৌতি বোতল, বায়ুশীতক (air condenser)।

7.1.4 পদ্ধতি ঃ

1. 250 মিলি ~0.1(N) কস্টিক সোডা দ্রবণ এবং 100 মিলি ~1N বা ~0.5N হাইড্রোক্লোরিক অ্যাসিড দ্রবণ প্রস্তুতি করুন। ঈপ্সিত তাপমাত্রার জলগাহে দ্রবণগুলি ডুবিয়ে রাখুন। বর্তমান ক্ষেত্রে (বীক্ষণাগরিক তাপমাত্রায় পরীক্ষাটি করা হচ্ছে বলে) দ্রবণগুলিকে এক বড় জলপাত্রে রাখলেই হবে।
2. একটি 100 মিলি. শুষ্ক ত্রিকোণাকৃতি ফ্লাস্কে 20 মিলি প্রভাবক (HCl) অ্যাসিড দ্রবণ নিয়ে নির্দিষ্ট চাপমাত্রার গাত্রে রাখুন। একটি 5 মিলি পিপেটের সাহায্যে ঐ আয়তনের এস্টার যোগ করুন; অর্ধ-নিঃসরণের সময় নোট করুন। মিশ্রণ ভালোভাবে মিশিয়ে নিন।
3. মিশিয়ে নেবার পরক্ষণে 2 মিলি পিপেটের সাহায্যে ঐ আয়তনের মিশ্রণাংশ (অ্যালিকটি) তুলে নিয়ে একটি 250 মিলি ত্রিকোণাকৃতি ফ্লাস্কে রক্ষিত 50 মিলি বরফজলে মিশিয়ে নিন। অর্ধ-নিঃসরণের সময় নোট করুন। সঙ্গে সঙ্গে 0.1(N) কস্টিক সোডা দ্রবণ দিয়ে অনুজ্ঞাপিত করুন। সূচক হবে ফিনলথ্যালাইন। এই টাইটার $= V_o$।
4. নির্দিষ্ট সময়ান্তরে (অর্থাৎ 5, 10, 15, 20, 25 মিনিট) পর্যায়-এর পরীক্ষাটি করুন। টাইটার মান (Vt) সারণি-আকারে লিপিবদ্ধ করুন।
5. উপযুক্ত পর্যায়ের পরীক্ষা শেষ হলে মিশ্রণের শেষাংশ ~60°C তাপমাত্রার বায়ু কন্‌ডেনসারযুক্ত জলগাহে ~30 মিনিট ধরে গরম করুন। ঠান্ডা করে ঘরের তাপমাত্রায় আনুন। 1 মিলি মিশ্রণাংশ পিপেটের সাহায্যে সংগ্রহ করে আগের মত ফিনাথ্যালাইন সূচক ব্যবহার করে 0.1(N) NaOH দিয়ে অনুজ্ঞাপিত কারণ। টাইটার মান V_∞।
6. $\log(V_\infty - V_o)/(V_a - V_t)$— উপাত্তগুলিকে t-এর প্রেক্ষিতে পৃথকীকাজে উপস্থাপিত করুন। মূলবিন্দু ও উপস্থাপিত বিন্দুগামির মধ্য দিয়ে সর্বোত্তম সরলরেখা আঁকুন। সরলরেখাটির নতি নির্ণয় করুন।

7.1.4 প্রশ্নাবলি ঃ

1. ভৌত রসায়ন Reaction Kinetics (বিক্রিয়া-গতিতথ্য) অংশে কী আলোচিত হয়?
2. বিক্রিয়ার ক্রম বলতে কী বোঝেন?
3. প্রথম ক্রমের বিক্রিয়ার সাহিত্যম্য-সমীকরণ কী হবে? এক্ষেত্রে গতি ধ্রুবকের একক কী হবে?
4. থার্মোস্ট্যাটের কাজ কী?
5. বিক্রিয়ার ক্রম (order) ও অণুকতা (molecularity)-র মধ্যে পার্থক্য কী?
6. ছদ্ম-একানুক বিক্রিয়া কী? উদাহরণ দিন।
7. বিক্রিয়ার অর্ধসময়কাল কী? প্রথম ক্রমের বিক্রিয়ার অর্ধসময়কাল সম্পর্কিত সমীকরণটি কি ছিল?

উত্তর ঃ নীতি অংশ এবং/বা তাত্ত্বিক অংশের পাঠোপকরণ দেখুন ; নিজে চেষ্টা করুন।

7.2 পোলারিমিটার ব্যবহার করে ইক্ষু-শর্করার বাস্তুভবন-এর গতিতথ্য সমীক্ষণ To study the kinetics of Inversion of Cane Sugar using a Polarimeter.

7.2.1 নীতি (Theory) :

ইক্ষু শর্করা দক্ষিণবর্তী (আপেক্ষিক আবর্তন $[\alpha]^D$ 298+66°.5) যৌগ। H_3O+ আয়নের উপস্থিতিতে এর আর্দ্রবিশ্লেষণ ঘটে। প্রতি অণু সুক্রোজ থেকে পাওয়া যায় এক অণু গ্লুকোজ (দক্ষিণবর্তী; আপেক্ষিক আবর্তন +52.7°) এবং এক অণু ফ্রুক্টোজ (বামাবর্তী; আপেক্ষিক আবর্তন–92°C)। কাজেই আর্দ্রবিশ্লেত (hydrolysato)-এর আবর্তনের দিক পরিবর্তন ঘটে। এজন্যেই প্রক্রিয়াটির নাম ব্যস্তভবন (Inversion) বা উৎকর্ষ।

$$\underset{\text{(সুক্রোজ)}}{C_{12}H_{22}O_{11}} + H_2O \xrightarrow{H^+} \underset{\text{গ্লুকোজ}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{ফ্রুক্টোজ}}{C_6H_{12}O_6}$$

বিক্রিয়ার গতিবিষয়ক তত্ত্বানুযায়ী বিক্রিয়াটির গতি নির্ভর করার কথা সুক্রোজ, জল ও হাইড্রোজেন আয়নের গাঢ়ত্বের উপর। কিছু জল এত বেশি পরিমাণে থাকে যে তার গাঢ়ত্ব অপরিবর্তিত থাকে। হাইড্রোজেন আয়ন অনুঘটকের কাজ করে, বিক্রিয়ায় এটি ব্যয়িত হয় না; এর গাঢ়ত্বও তাই অপরিবর্তিত থাকে। বিক্রিয়া (1)-এর গতিবেগ সে কারণে শুধুমাত্র সুক্রোজের গাঢ়ত্বের উপর নির্ভরশীল এবং গতির ক্রম অনুযায়ী এর ক্রম প্রথম। এরকম বিক্রিয়াকে ছদ্ম একাণুক (psedu unimolecular) বলে। গতি-সূত্র প্রকাশিত হতে পারে ঃ

গতি হার $= \frac{d}{dt}$ [সুক্রোজ] $= K_1$ [সুক্রোজ]

(ঋণাত্মক চিহ্ন সময়ের সঙ্গে গাঢ়ত্বের হ্রাস সূচিত করছে)

[ ] = আণব গাঢ়ত্ব (মোল লি$^{-1}$)

K_1= প্রথম ক্রমের গতি-ধ্রুবক (একক ঃ সময়$^{-1}$)।

মনে করা যাক ঃ

a = সুক্রোজের প্রারম্ভিক (t=0) গাঢ়ত্ব,

x = t সময়কালে সুক্রোজের ব্যয়িত গাঢ়ত্ব,

∴ a–x = t-তম মুহূর্তে অবশিষ্ট সুক্রোজের গাঢ়ত্ব।

∴ গতিহার সমীকরণ চিহ্ন নিম্নলিখিতভাবে প্রকাশ করা যায় ঃ

$$\frac{-d}{dt}(a-x) = K_1(a-x) \qquad \text{..... (2)}$$

বা,

$$\frac{dx}{dt} = K_1(a-x) \qquad \text{.....(3)}$$

t = o, t এবং x = 0, (a–x) সীমায় সমাকলন করে পাই,

$$\log\frac{a}{a-x} = \frac{k_1 t}{2.303} \qquad \text{.....(4)}$$

এখন যদি t_1, t_2, t_3..... সময়ান্তরে x_1, x_2, x_3..... বা $a-x_1, a-x_2, a-x_3$..... ইত্যাদি মানগুলি নির্ণয় করা যায়, তবে সমীকরণ (5)-এর পুনর্বিন্যাসে পাওয়া যাবে ঃ

$$\log\left(\frac{a-x_1}{a-x_n}\right)=\frac{K_1}{2.303}(t_n-t_1) \qquad \text{.....(5)}$$

যদি α_0 ও α_∞ যথাক্রমে প্রারম্ভিক মুহূর্তে (t=0) এবং অন্তিমমুহূর্তে (t=∞) সংশোধিত আবর্তন কোণ হয়, এবং α_1 ও α_n, যথাক্রমে t_1 ও t_n-এর সাপেক্ষে এই কোণ হয় তবে $(\alpha_0-\alpha_\infty)$ প্রারম্ভিক গাঢ়ত্ব 'a'-এর সমানুপাতিক হবে। অনুরূপে $(\alpha_1-\alpha_\infty) \propto (a-x_n)$।

সেক্ষেত্রে সমীকরণ (S) রূপান্তরিত হয়ে হবে ঃ

$$K=\frac{2.303}{t_n-t_1}\log\left(\frac{\alpha_1-\alpha_\infty}{\alpha_n-\alpha_\infty}\right) \qquad \text{.....(6)}$$

সমীকরণ (6)-এর $\log\left(\frac{\alpha_1-\alpha_\infty}{\alpha_n-\alpha_\infty}\right)$ রাশিকে (t_n-t_1)-এর সাপেক্ষে ছক কাগজে উপস্থাপিত করলে প্রাপ্ত সরলরেখার 'নতি' থেকে 'K' পাওয়া যাবে।

অণুঘটকরূপে ব্যবহৃত তীব্র অ্যাসিড পরীক্ষাকালীন গাঢ়ত্বে সম্পূর্ণরূপে বিয়োজিত হয় বলে এই তীব্র অ্যাসিডের দুটি বিভিন্ন গাঢ়ত্বে বিক্রিয়ার গতি ধ্রুবক নির্ণয় করলে প্রাপ্ত ধ্রুবক দুটির (K_I ও K_{II}) অ্যাসিডের গাঢ়ত্বের সমানুপাতিক হবে।

$$\frac{k_I}{k_{II}}=\frac{[\text{অ্যাসিড}]_I}{[\text{অ্যাসিড}]_{II}} \qquad \text{.....(7)}$$

এভাবে দুটি বিভিন্ন অ্যাসিড গাঢ়ত্বে বিক্রিয়ার গতি-ধ্রুবক নির্ণয় করে তাদের অনুপাত নিলে, এই অনুপাত অ্যাসিড দ্রবণতার গাঢ়ত্বে অনুপাত প্রকাশ করবে।

7.2.2 পদ্ধতি ঃ

1. ~25 গ্রা. সুক্রোজ ওজন করে একটি আয়তনিক ফ্লাস্কে 100 মিলি 25% (W/V) দ্রবণ প্রস্তুত করুন।
2. 100 মিলি. ~ (N) HCl দ্রবণ প্রস্তুত করুন। এর সঠিক লঘুকরণ প্রক্রিয়ায় 50 মিলি. ~(N/2) দ্রবণ প্রস্তুত করুন।
3. 25 মিলি. সুক্রোজ দ্রবণ একটি শঙ্কু আকৃতি ফ্লাস্কে নিন। এতে 25 মিলি (~N) HCl দ্রবণ যোগ করুন। অর্ধ-নিঃসরণ মুহূর্তে স্টপ্-ওয়াচ্ চালু করুন। দ্রবণ দুটি ভালোভাবে মিশিয়ে নিন।
4. পোলারিমিটার নল বিক্রিয়া-মিশ্রণ দিয়ে ভর্তি করে যন্ত্রের মধ্যে যথাস্থানে সন্নিবিষ্ট করুন। আবর্তন কোণ এবং সময় লক্ষ্য করে নথিবদ্ধ করুন। (দ্রবণ মিশ্রণ আলোক-উৎস থেকে দূরে রাখুন)।
5. 2, 5, 10, 15, 25 মিনিট (ক্রমবর্ধমান) সময়ান্তরে পূর্ববর্তী পর্যায়-নির্দেশিত পদ্ধতিতে আবর্তন কোণ নির্ণয় করুন। এভাবে করতে থাকুন যতক্ষণ না সময়ের সঙ্গে আবর্তন কোণ আপাতদৃষ্টিতে অপরিবর্তিত থাকে। (α_n, t_n) উপাত্তগুলি নথিবদ্ধ করুন।

6. পোলারিমিটার নল পাতিত জলে ভালো করে ধুয়ে নিন। এবার (N/2) HCl দ্রবণ ব্যবহার করে 3-5 পর্যায়ের পরীক্ষা সম্পন্ন করুন।

7. এবার আপনাকে অনন্ত (Infinite) সময়ের আবর্তন কোণ (α_∞) বের করতে হবে। আপনার কাছে যে দুটি বিক্রিয়া মিশ্রণ আছে, তাদের ~60° সেলসিয়াস তাপমাত্রার জলগাহে ~45 মিনিট ধরে গরম করুন। এসময়টা দ্রবণ আলোড়িত করতে থাকবেন। ঘরের তাপমাত্রায় ঠান্ডা করে আনুন। আগের পর্যায়ের নির্দেশানুসারে আবর্তন-কোণ নির্ণয় করুন।

8. এখন ছক কাগজে ভুজ বরাবর (t_n–t) ও কোটি বরাবর $\log\left[\frac{\alpha_1-\alpha_\infty}{\alpha_n-\alpha_\infty}\right]$ উপস্থাপিত করে K_I ও K_{II}-র মান বের করুন (যথাক্রমে N ও N/2 HCl দ্রবণদ্বয়ের সাপেক্ষে)।

$\frac{K_I}{K_{II}}$-র মান নির্ণয় কর।

7.2.3 প্রশ্নাবলি ঃ

1. (6) নং সম্পর্কটি প্রতিষ্ঠা করুন।

উত্তর ঃ মনে করা যাক সুক্রোজের গাঢ়ত্ব a মোল/V মিলি। বিক্রিয়ার সম্পূর্ণ সময় ধরে V অপরিবর্তিত থাকবে।

আরও মনে করা যাক্ ঃ

Ms = সুক্রোজের আণব ভর।

(i) Mg = গ্লুকোজের আণব ভর।

Mf = ফ্রুক্টোজের আণব ভর।

পরীক্ষাধীন তাপমাত্রা ও ব্যবহৃত সক্ষম সমবর্তিত আলোক তরঙ্গে

$[\alpha]_s$ = সুক্রোজের আপেক্ষিক (specific) আবর্তন।

(ii) $[\alpha]_g$ = গ্লুকোজের আপেক্ষিক (specific) আবর্তন।

$[\alpha]_f$ = ফ্রুক্টোজের আপেক্ষিক (specific) আবর্তন।

আরও মনে করা যাক,

সময়কাল (t)	আবর্তন কোণ
t_0	α_0
t_1	α_1
t_n	α_n
∞	α_∞

t = 0—তে $\alpha_0 = [\alpha]_s . M_s\left(\frac{a}{v}\right)$

t = t—তে $\alpha_t = \{[\alpha]_s M_s(a-x) + ([\alpha]_g M_g + [\alpha]_f M_f)x\}$

t = α—তে $\alpha_\infty = \{[\alpha]_g M_g + [\alpha]_f M_f\}\frac{a}{v}$

$$\therefore \quad \alpha_0 - \alpha_\infty = \frac{a}{v}\left\{[\alpha]_s M_s - [\alpha]_g M_g - [\alpha]_f M_f\right\}$$

$$\alpha_t - \alpha_\infty = \frac{a-x}{V}\left\{[\alpha]_s M_s - [\alpha]_g M_g [\alpha]_f M_f\right\}$$

$$\therefore \quad \frac{\alpha_0 - \alpha_\infty}{\alpha_t - \alpha_\infty} = \frac{a}{a-x}$$

এবং $\frac{\alpha_1 - \alpha_\infty}{\alpha_{11} - \alpha_\infty} = \frac{a - x_1}{a - x_{11}}$

একক 8 ❑ দ্রবণের তাড়িতিক পরিবাহিতা পরিমাপন (Measurement of electrical conduction of Solution)

গঠন ঃ

8.1 তত্ত্ব ও নীতি

8.2 প্রমাণ কস্টিকসোডা দ্রবণ ব্যবহার করে পরিবাহিতা মাপনের দ্বারা দ্রবণের গাঢ়ত্ব নির্ণয়

8.2.1 নীতি

8.2.2 প্রয়োজনীয় যন্ত্রপাতি

8.2.3 প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি

8.2.4 পদ্ধতি

8.2.5 ফল ও গণনা

8.3 প্রমাণ কস্টিক সোডা দ্রবণ ব্যবহার করে অ্যাসিটিক অ্যাসিড দ্রবণের সংজ্ঞা নির্ণয়

8.3.1 নীতি

8.3.2 ও 8.3.3 প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি

8.3.4 ও 8.3.5 পদ্ধতি, ফল ও গণনা

8.4 প্রমাণ কস্টিক সোডা দ্রবণ ব্যবহার করে কন্ডাক্টোমিতিক পদ্ধতিতে HCl ও CH_3COOH-এর মিশ্রণে উভয়ের মাত্রা পরিমাপন।

8.4.1 নীতি

8.4.2 ও 8.4.3 পদ্ধতি

8.4.4 পদ্ধতি, ফল ও গণনা

8.4.5 প্রশ্নাবলি

8.1 তত্ত্ব ও নীতি (Theory and principle)

পরিবাহিতা কোষে তড়িৎ বিশ্লেষ্যের একটি দ্রবণ নিয়ে তড়িৎদ্বারদ্বয়ের মাঝখানে স্থাপিত করলে দ্রবণের পরিবাহিতা (C) হবে ঃ

$$C = k\frac{a}{l} \qquad \text{.....(1)}$$

এখানে; K (কাপ্পা, kappa) = দ্রবণের পরিবাহিতাঙ্ক।

$\frac{a}{l}$ = ধ্রুবক।

a = তড়িৎদ্বার দুটির প্রস্থচ্ছেদের ক্ষেত্রফল (সেমি^{2})

l = তড়িৎদ্বার দুটির মধ্যবর্তী দূরত্ব (সেমি.)

C-এর একক ওহম (ohm)$^{-1}$ বা মো (mho)।

K-এর একক ওহম$^{-1}$ সেমি$^{-1}$ (Ohm^{-1}, Cm^{-1}).

প্রকৃতপক্ষে 1 সেমি বাহু (edge) বিশিষ্ট ঘনকে রক্ষিত দ্রবণের পরিবাহিতাই K। 1 সেমি দূরে অবস্থিত দুটি সমান্তরাল অসীম আকৃতি (dimension)-র তড়িৎদ্বারের মধ্যবর্তী এক গ্রাম তুল্যাঙ্ক পরিমাণ তড়িৎ বিশ্লেষ্যের পরিবাহিতা হল তুল্যাঙ্ক পরিবাহিতা (equivalent conductance, Λ)। তুল্যাঙ্ক পরিবাহিতা (L) ও পরিবাহিতাঙ্ক (k) নিজেদের মধ্যে সম্পর্কিত এভাবে ঃ

$$\Lambda = 1000k/C \qquad \text{.....(2)}$$

e = 1000 সেমি^{3} (অর্থাৎ 1 লিটার) দ্রবণে দ্রবীভূত তড়িৎবিশ্লেষ্যের গ্রামতুল্যাঙ্ক—সংখ্যা

সুতরাং Λ-র একক হবে ওহম$^{-1}$ সেমি^{2} গ্রা-তুল্যাঙ্ক (ohm^{-1} cm^2 g. equiv^{-1})।

এখন, যেহেতু $\frac{1000}{C}$ হচ্ছে আয়তন (সেমি^{3}-এ)—যাতে 1 গ্রা তুল্যাঙ্ক তড়িৎ বিশ্লেষ্য থাকবে, সংখ্যাগত মানে Λ হবে। 1 সেমি দূরে স্থাপিত V সেমি^{2} ক্ষেত্রফলবিশিষ্ট দুটি সমান্তরাল তড়িৎ দ্বারের অন্তর্বর্তী স্থানে V সেমি^{3} আয়তনে 1 গ্রাম তুল্যাঙ্ক পরিমাণ তড়িৎবিশ্লেষ্যের পরিবাহিতা।

পরিবাহিতাঙ্ক (K) উপস্থিত আয়নসমূহের গাঢ়ত্ব ও মোবিলিটি [Mobility, একক বিভব-অবক্রম (potential gradient)-এ দ্রুতি]-র সঙ্গে সমানুপাতিক।

অপরদিকে তুল্যাঙ্ক পরিবাহিতা Λ এক গ্রামতুল্যাঙ্ক পরিমাণ তড়িৎ বিশ্লেষ্যের থেকে প্রাপ্ত মোট আয়ন-সংখ্যা এবং তাদের মোবিলিটি সমান্তরাল। তীব্র তড়িৎবিশ্লেষ্য সব গাঢ়ত্বেই ~100% বিয়োজিত হয়। লঘুকরণের ফলে আয়ন-সংখ্যার গাঢ়ত্ব হ্রাসপ্রাপ্ত হয় কিছু মোট আয়ন-সংখ্যার (গ্রাম তুল্যাঙ্ক পিছু পরিবর্তন ঘটে না। আন্তরায়নিক আকর্ষণ লঘুকরণের ফলে হ্রাসপ্রাপ্ত হয় এবং ফলে আয়ণের মোবিলিটি সামান্য বাড়ে। অসীম লঘুতায় তুল্যাঙ্ক পরিবাহিতা এটি নির্দিষ্ট মানে পৌঁছায় একে অসীম লঘুতায় তুল্যাঙ্ক পরিবাহিতা (equivalent and conductance at infinite dilution, Λ) বলা হয়ে থাকে।

মৃদু তড়িৎ বিশ্লেষ্য দ্রবণে আংশিক পরিমাণে আয়নিত হয়। লঘুকরণের সঙ্গে এদের বিয়োজন মাত্রা (degree of dissociation) উল্লেখযোগ্যভাবে বাড়ে। লঘুকরণের ফলে তাই আয়নের গাঢ়ত্ব ভেদ বাড়েই, এক গ্রাম তুল্যাঙ্ক পরিমাণ মৃদু তড়িৎবিশ্লেষ্য থেকে প্রাপ্ত আয়ণের মোট সংখ্যাও বাড়ে। লঘুকরণের ফলে আয়ণের দ্রুতিও সামান্য হলেও বাড়ে। এই বাড়ার কারণ আন্তরায়নিক আকর্ষণের হ্রাস।

তাহলে মোটের উপর দাঁড়াল লঘুকরণের ফলে K কমে, কিন্তু Λ বাড়ে। তাই Λ একটি নির্দিষ্ট মানের দিকে অভিসারিত হয় না।

8.2 প্রমাণ কস্টিকসোডা দ্রবণ ব্যবহার করে পরিবাহিতা মাপনের দ্বারা HCl দ্রবণের গাঢ়ত্ব নির্ণয় (to determine the concentration of an HCl solution conductometrically using caustic soda solution.

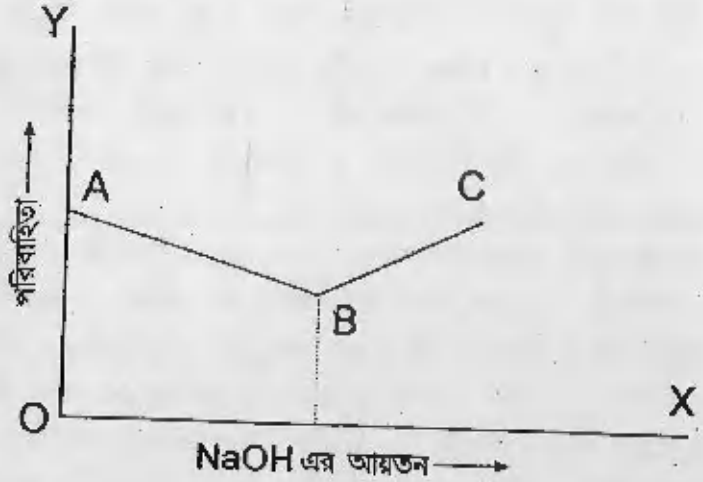
8.2.1 নীতি (Thory) :

তীব্র অ্যাসিড HCl-কে তীব্র ক্ষার NaOH দিয়ে অনুমাপিত করলে H^+ আয়ন ক্রমাগত অনেক কম মোবিলিটি সম্পন্ন Na^+ আয়ন দিয়ে প্রতিস্থাপিত হতে থাকে; আয়নের মোট সংখ্যার কোনও পরিবর্তন ঘটে না।

$$H^+ + Cl^- + Na^+ + OH^- \rightarrow Na^+ + Cl^- + H_2O.$$

অর্থাৎ লক্ষণীয় পরিবর্তন/বিক্রিয়া ঃ $H^+ + OH \rightarrow H_2O$.

ফলে দ্রবণের পরিবাহিতা সরলরৈখিকভাবে কমতে থাকবে। তুল্যবিন্দুর পরে Na^+ ও OH^- $\left[NaOH \rightleftharpoons Na^+ + OH^-\right]$ তন্ত্রে যুক্ত হয়। সে কারণে পরিবাহিতা ক্রমাগত বাড়তে থাকে। আগের ও পরের পরিবাহিতার মানগুলিকে ক্ষারের আয়তনের সাপেক্ষে লেখচিত্রে উপস্থাপিত করলে যে দুটি সরলরেখা পাওয়া যাবে সেগুলিকে বর্ধিত করলে একটি V-আকৃতির সমন্বয় পাওয়া যাবে। এর নিম্নতম বিন্দুটি তুল্যবিন্দু নির্দেশ করবে (চিত্র-8.1)



চিত্র ঃ 8.1

8.2.2 প্রয়োজনীয় যন্ত্রপাতি :

(i) পরিবাহিতা মাপক যন্ত্র (Conductivity bridge)
(ii) পরিবাহিতা কোষ (Conductivity cell),
(iii) বীকার,
(iv) ব্যুরেট
(v) আয়তনিক ফ্লাস্ক
(vi) ত্রিকোণাকৃতি ফ্লাস্ক
(vii) ফানেল।

8.2.3 প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ

(i) A.R. মানের অক্সালিক অ্যাসিড, (ii) কস্টিক সোডা (NaOH), (iii) হাইড্রোক্লোরিক অ্যাসিড, (iv) ফিনপথ্যালাইন সূচক (v) কন্ডাক্টোমিতিক জল।

8.2.4 পদ্ধতি ঃ

(i) বৈশ্লেষিক তুলাযন্ত্রে ওজন করে 100 মিলি. অক্সালিক অ্যাসিডের 0.05 (N) ক্রমের একটি মুখ্য প্রমাণ দ্রবণ প্রস্তুত করুন।

(ii) সাধারণ তুলাযন্ত্রে ওজন করে 250 মিলি – NaOH দ্রবণ প্রস্তুত করে একে প্রমাণ অ্যাসিড দ্রবণের সাহায্যে প্রমাণীকৃত (Standardised) কারণ (ফিনপথ্যালাইন সূচক ব্যবহার করুন। প্রমাণীকরণের সময় 10 মিলি NaOH দ্রবণকে আয়তনিক ফ্লাস্কে 100 মিলি লঘু করে এই লঘু দ্রবণ অনুমাপিত করুন।

(iii) 250 মিলি –0.05N HCl দ্রবণ প্রস্তুত করুন।

(iv) পরিবাহিতা কোষ ও বিকার কন্ডাক্টেমিডিক জলে ভালো করে ধুয়ে নিন।

(v) HCl দ্রবণে পিপেটকে আলতোভাবে ধুয়ে নিন। পরিবাহিতা দ্রবণকে একটি বীকারে স্থাপন করুন 10 বা 25 মিলি HCl দ্রবণ পরিবাহিতা কোষে পিপেটের সাহায্যে স্থানান্তরিত করুন। তড়িৎদ্বার যাতে দ্রবণে সম্পূর্ণ ডুবে থাকে সেই দিকে লক্ষ্য রেখে প্রয়োজন হলে জল যোগ করতে পারেন। কোষকে পরিবাহিতামাপক যন্ত্রে যোগ করে যন্ত্রের সঙ্গে পরিবাহিতা মাপুন।

(vi) ব্যুরেটটিকে NaOH দ্রবণ দিয়ে আলতোভাবে ধুয়ে এটিকে ঐ দ্রবণ দিয়ে ভর্তি করুন। ব্যুরেটের 1 মিলি অংশাঙ্কনে কয় ফোঁটা দ্রবণ থাকে বের করে, তা থেকে এক ফোঁটার আয়তন নির্ণয় করুন।

(vii) এবার ব্যুরেট থেকে প্রতিবার বীকারের দ্রবণে 3-5 ফোঁটা NaOH দ্রবণ যোগ করে বীকারটিকে আলতোভাবে সাবধানে নাড়িয়ে নিয়ে মিশ্রণের পরিবাহিতা মাপুন। এই পরীক্ষার পুনরনুষ্ঠান করতে থাকুন, যে পর্যন্ত না প্রান্তবিন্দুর পরেও গোটা পাঁচেক উপাত্ত পান। প্রথম দিকে হ্রাসমান উপাত্তের পরে পরিবাহিতার লক্ষনীয় বৃদ্ধি থেকেই বুঝবেন যে প্রান্তবিন্দু অতিক্রান্ত হয়েছে।]

(viii) ছক কাগজে সংযুক্ত অনুমাপকের ফোঁটা সংখ্যাও ভুজ (abscissa) ও পরিবাহিতাকে কোটি (ordinate) ধরে প্রাপ্য উপাত্তগুলি উপস্থাপিত করুন। এগুলির মধ্য দিয়ে আঁকা সর্বোত্তম সরলরেখা দুটি থেকে প্রান্তবিন্দু নির্ণয় করুন।

(ix) এ থেকে HCl দ্রবণের মাত্রা নির্ণয় করুন।

8.2.5 ফল ও গণনা (Results and Calculation)

ছক - 1

অক্সালিক অ্যাসিডের মুখ্য প্রমাণ দ্রবণ প্রস্তুতি

প্রারম্ভিক ওজন (গ্রাম)	অন্তিম ওজন (গ্রাম)	গৃহীত অক্সালিক অ্যাসিডের ওজন (গ্রাম)	মুখ্য প্রমাণ অক্সালিক অ্যাসিড দ্রবণের মাত্রা (N)
.....	.....	.....	.....

ছক - 2

NaOH দ্রবণের প্রমাণীকরণ

পর্য্যবেক্ষণ সংখ্যা	ব্যুরেট-পাঠ (মিলি)		প্রয়োজনীয় আয়তন (মিলি.)	গাঢ় আয়তন মিলি.	NaOH দ্রবণের মাত্রা S_1 (N)
	প্রারম্ভিক	অন্তিম			
1.			...	...	...
2.	...	...	...		
3.	...	...	...		

ছক - 3

এক ফোঁটা NaOH দ্রবণের আয়তন

পর্য্যবেক্ষণ সংখ্যা	NaOH দ্রবণের আয়তন মিলি (V)	ফোঁটার সংখ্যা (n)	এক ফোঁটার আয়তন $\frac{V}{n}$ মিলি	গড় আয়তন মিলি.
1.	...	...	...	
2.	...	...	...	...
3.	...	...	...	

ছক - 4

জ্ঞাত মাত্রায় NaOH দ্রবণের সাহায্যে পরিবাহিতা মাপনের মাধ্যমে অজ্ঞাত মাত্রার HCl দ্রবণের অনুমাপন।

পর্যবেক্ষণ সংখ্যা	NaOH দ্রবণের সংযুক্ত ফোঁটার সংখ্যা	পরিবাহিতা (mho)
1.	0	...
2.	....	...
3.	....	...
4.	....	...
5.		

HCl দ্রবণের মাত্রা গণনা ঃ

গৃহীত HCl দ্রবণের আয়তন = V_1 মিলি.

প্রশমনের জন্য প্রয়োজনীয় NaOH দ্রবণের ফোঁটা সংখ্যা = n

প্রশমনের জন্য প্রয়োজনীয় NaOH দ্রবণের আয়তন $= \frac{V}{n} \times n_1$ মিলি.

HCl দ্রবণের মাত্রা $= S_{HCl} = \frac{Vn_1}{n} \cdot \frac{S_1}{V_1}$ (N)

8.3 প্রমাণ কস্টিক সোডা দ্রবণ ব্যবহার করে অ্যাসিটিক অ্যাসিড দ্রবণের সংজ্ঞা নির্ণয় (To determine the concentration of an acetic acid solution conductometrically using caustic soda solution)

8.3.1 নীতি (Thory) :

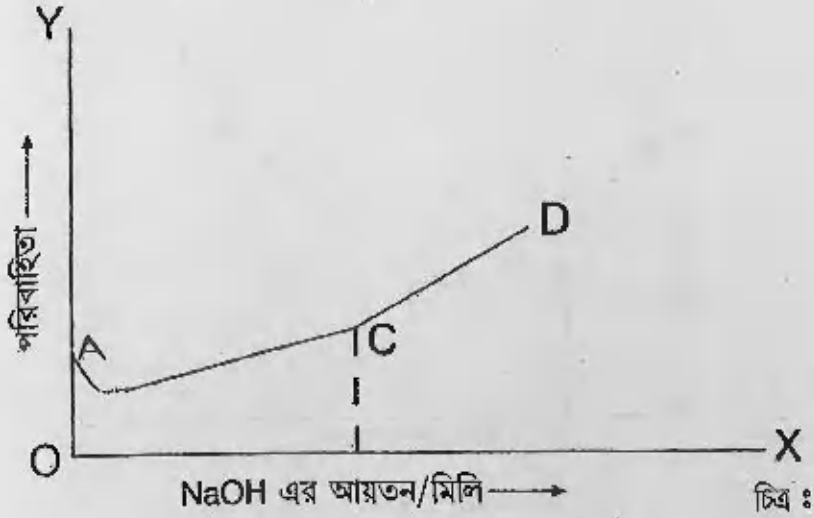
অ্যাসিটিক অ্যাসিড দ্রবণে NaOH দ্রবণ যোগ করলে প্রশমন শুরু হতে থাকে। উৎপন্ন হয় সম্পূর্ণ বিয়োজিতব্য সোডিয়াম অ্যাসিটেট ($CH_3COO\ Na^+$) এবং অবিয়োজিত H_2O।

$$CH_3COOH + (NaOH) = (CH_3COO^- + Na) + H_2O$$

সাধারণ আয়ন প্রভাব (Common ion effect)-এ CH_3COOH-এর সাম্য ধ্রুবক ($CH_3COOH \rightleftharpoons CH_3COO^- + H^+$) কিছুটা বাঁদিকে সরে যায় এবং মিশ্রিত দ্রবণের পরিবাহিতা সামান্য কমে। কিন্তু তার পরে আবার বাড়তে থাকে (কারণ CH_3COOH-এর পরিবর্তে CH_3COONa দ্রবণে ঢোকে)।

সংশ্লিষ্ট আয়নগুলির মোবিলিটির ক্রম H+>OH–>> Na > CH_3COO–।

তুল্যবিন্দু অতিক্রম করলে পরিবাহিতার মান আরও দ্রুত বাড়তে থাকে। কারণ তখন অতিরিক্ত ক্ষারের থেকে OH আয়ন মিশ্রণে যুক্ত হয়। তুল্যবিন্দুতে অবশ্য কেবল সোডিয়াম অ্যাসিটেট থাকে, এটি দ্রবণে আর্দ্রবিশ্লিষ্ট হয়; $CH_3COO^- + H_2O = CH_3COOH + OH^-$। কাজেই এই অংশে লেখবিন্দু সমন্বয় একটু বাঁকা (rounded) হয়। বেশি বেশি ক্ষার যুক্ত হলে আর্দ্রবিশ্লেষণ চাপা পড়ে যায়। (চিত্র : 8.2)



চিত্র : 8.2

লেখচিত্রতন্ত্রের স্পর্শক দুটি যেখানে পরস্পরকে ছেদ করে, সেই বিন্দু থেকে অনুমানের প্রয়োজনীয় ক্ষারের আয়তন পাওয়া যাবে।

8.3.2 ও 8.3.3 প্রয়োজনীয় দ্রব্যাদি ঃ

৮.২-এর অনুরূপ। শুধু হাইড্রোক্লোরিক অ্যাসিডের স্থলে অ্যাসিটিক অ্যাসিড ব্যবহৃত হবে।

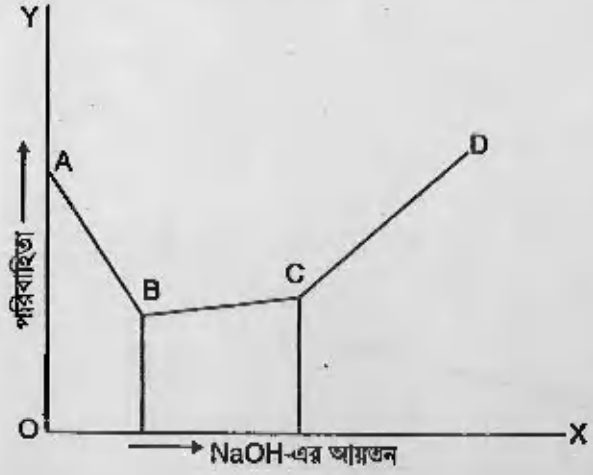
8.3.4 ও 8.3.5. পদ্ধতি, ফল ও গণনা ঃ

একক ৮- এর মতই। হাইড্রোক্লোরিক অ্যাসিডের স্থলে অ্যাসেটিক অ্যাসিড পড়তে হবে। (মনে রাখতে হবে গ্লেসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিডের মাত্রা ~17N)।

8.4 প্রমাণ কস্টিক সোডা দ্রবণ ব্যবহার করে কন্ডাক্টোমিতিক পদ্ধতিতে HCl ও CH_3COOH -এর মিশ্রণে উভয়ের মাত্রা পরিমাপন। (To determine the concentrations of both of HCl and CH_3COOH in a mixture conductometrically using standardised caustic soda solution)

8.4.1 নীতি (Thory) :

HCl তীব্র অ্যাসিড এবং CH_3COOH মৃদু অ্যাসিড। তীব্র অ্যাসিড HCl সম্পূর্ণ বিয়োজিত হয়, উৎপন্ন H+ এর সাধারণ আয়ন প্রতিক্রিয়া (Common ion effect)-র দরুন CH_3COOH এর বিয়োজন চাপা পড়ে যায়। এ অবস্থায় NaOH দ্রবণ যোগ করলে $NaOH + HCl = NaCl + H_2O$ বা $(Na^+ OH^- + H^+Cl^-) = (Na^+Cl^-) + H_2O$ বিক্রিয়া ঘটে। মোটের উপর দ্রবণে H^+ আয়ন Na+ দিয়ে প্রতিস্থাপিত হয়। H^+ এর মোবিলিটি >> Na^+ এর মোবিলিটি। সে কারণে দ্রবণের পরিবাহিতা কমতে থাকবে, এবং ক্ষার দ্রবণের আয়তন পরিবাহিতা লেখচিত্র হবে, ঋণাত্মক নতিযুক্ত সরলরেখা AB (চিত্র 8.3) উভয়ের ছেদবিন্দু তুল্যবিন্দু নির্দেশ করবে।



চিত্র ঃ 8.3

তীব্র অ্যাসিডের প্রশমন সম্পূর্ণ হলে যখন NaOH দ্রবণ যুক্ত হবে, তখন অ্যাসিটিক অ্যাসিড প্রশমিত হতে থাকবে। এর ফলে উৎপন্ন CH_3COONa সম্পূর্ণ বিয়োজিত হবে ($CH_3COONa \rightleftharpoons CH_3COO^- + Na^+$) এবং উৎপন্ন CH_3COO^- কমন আয়ন প্রতিক্রিয়ায় CH_3COOH- এর বিয়োজনকে কমিয়ে দেবে ($CH_3COOH = CH_3COO^- + H+$) ; ফলস্বরূপ, পরিবাহিতা সামান্য কমে যায়, আবার তারপরই তা অপেক্ষাকৃত দ্রুতগতিতে বাড়ে, কারণ বিয়োজিত $CH_3COO^- Na^+$ এর পরিবাহিতা মৃদু অ্যাসিড CH_3COOH-এর পরিবাহিতাকে ছাপিয়ে যায়। তাই তুল্যবিন্দুর পরে সোড়িয়াম অ্যাসিটেট ও অ্যাসিটিক অ্যাসিডের বাফার-ক্রিয়ার ফলেও এই বৃদ্ধির হার কমে যায়। তাই অ্যাসিটিক অ্যাসিডের প্রশমন ক্রিয়ার তুল্যবিন্দু পর্যন্ত যে সরলরেখাটি (BC) পাওয়া যাবে তা ধনাত্মক নতিযুক্ত এবং নতিও কম।

তুল্যবিন্দু C-এর পরে দ্রবণের পরিবাহিতা দ্রুত বৃদ্ধি পায়। কারণ এক্ষেত্রে দ্রবণে Na^+ ও OH^- (NaOH-এর বিয়োজন থেকে আগত) আয়ন যুক্ত হয়। আয়নের মোবিলিটি >> CH_3COOH^--এর মোবিলিটি। এ অবস্থায় দ্রবণে উপস্থিত থাকে Na^+, CH_3COO^-, Cl^- ও OH^-। আয়তন পরিবাহিতা লেখ CD একটি ধনাত্মক নতিযুক্ত সরলরেখা—উন্নতি BC অপেক্ষা বেশি। লক্ষণীয় NaOH দ্রবণের মাত্রা যেহেতু অনুমাপনীয় দ্রবণের মাত্রার প্রায় 10 গুণ, তাই আনুমাপনকালে আয়তন পরিবর্তন অগ্রাহ্য করা যায়।

এবার চিত্র অনুযায়ী প্রথম তুল্যবিন্দু পর্যন্ত সংযোজিত NaOH-র আয়তন V_1 মিলি ও দ্বিতীয় তুল্যবিন্দু পর্যন্ত সংযোজিত NaOH দ্রবণের আয়তন V_2 হলে HCl-এর জন্য প্রয়োজনীয় NaOH দ্রবণের আয়তন হবে V_1 মিলি ও CH_3COOH এর জন্য প্রয়োজনীয় আয়তন হবে (V_2-V_1) মিলি।

8.4.2 ও 8.4.3. পদ্ধতি ঃ

8.2 ও 8.3 এর অনুরূপ।

8.4.4 পদ্ধতি ; ফল ও গণনা ঃ

8.2 ও 8.3-এর অনুরূপ।

8.4.5 প্রশ্নাবলি ঃ

1. পরিবাহিতাঙ্ক (specific conductance) তুল্যাঙ্ক পরিবাহিতা (equivalent conductance), মোবিলিটি (আয়নের) বলতে কি বোঝেন?
2. কন্ডাক্টোমিতিক অনুমাপনের তত্ত্ব ব্যাখ্যা করুন।
3. কন্ডাক্টোমিতিক পদ্ধতিতে নিচের অনুমাপনের লেখচিত্রগুলি দেখান ঃ
   (i) তীব্র অ্যাসিড বনাম তীব্র ক্ষার; (ii) মৃদু অ্যাসিড বনাম তীব্র ক্ষার; (iii) মৃদু অ্যাসিড বনাম মৃদু ক্ষার।
4. কন্টাক্টোমিতিক অনুমাপনে অনুমাপকের মাত্রা অনুমাপকের (analyto) মাত্রায় ~10 গুণ করা হয় কেন? সাধারণ আয়তনমিতিতে এদের মাত্রা প্রায় সমান করা হয় কেন?
5. কন্ডাক্টোমিতিতে এ. সি. ব্যবহৃত হয় কেন?
   উত্তর ঃ নীতি অংশগুলি এবং/বা তাত্ত্বিক পাঠোপকরণ দেখুন।

একক 9 ❑ বিরঞ্জক চূর্ণে প্রাপ্তব্য ক্লোরিণের পরিমাণ নির্ধারণ (Estimation of available chlorine in bleaching powder.)

গঠন ঃ

9.1 নীতি

9.2 প্রয়োজনীয় রাসায়নিক দ্রব্যাদি

9.3 পদ্ধতি

9.4 প্রয়োজনীয় যন্ত্রপাতি

9.1 নীতি (Theory)

বিরঞ্জক চূর্ণে লঘু খনিজ অ্যাসিড যোগ করলে যে পরিমাণ ক্লোরিণ নির্গত হয় তা-ই বিরঞ্জক চূর্ণের প্রাপ্তব্য ক্লোরিণ। বিরঞ্জক চূর্ণের ওজনের শতকরা হিসাবে এটি প্রকাশিত হয়। সংঘটিত বিক্রিয়া নিম্নরূপ ঃ

$$Ca(OCl)Cl + 2HCl = CaCl_2 + Cl_2 + H_2O \qquad .....(1)$$

নির্গত ক্লোরিণ পটাসিয়াম আয়োডাইড দ্রবণ থেকে আয়োডিন উৎপন্ন করে; এই আয়োডিনকে সোডিয়াম থায়োসালফেট দ্রবণ দিয়ে স্টার্চ সূচকের উপস্থিতিতে অনুমাপন (titration) করা যায়। ভালো বিরঞ্জক চূর্ণের নমুনায় 30-35% প্রাপ্তব্য ক্লোরিণ থাকে।

গণনা ঃ পুরো বিক্রিয়াক্রম নিম্নরূপ ঃ

$$OCl^- + Cl^- + 2H^+ = Cl_2 + H_2O$$

$$Cl_2 + 2I^- = I_2 + 2Cl^-$$

$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} = S_4O_6^{2-} + 2I^-$$

$\therefore$ $Ca(OCl)Cl \equiv Cl_2 = I_2 = 2S_2O_3^{2-}$ অর্থাৎ 2 তুল্যাঙ্ক পরিমাণ ক্লোরিণ।

$\therefore$ 1000 মিলি (N) থায়োসালফেট দ্রবণ = 35.46 গ্রা. ক্লোরিণ

$\therefore$ 1 মিলি (N) থায়োসালফেট দ্রবণ = 0.03546 গ্রা. ক্লোরিণ

9.2 প্রয়োজনীয় রাসায়নিক দ্রব্যাদি

(a) A.R মানের পটাসিয়াম ডাইক্রোমেট ($K_2Cr_2O_7$)

(b) সোডিয়াম থায়োসালফেট ($Na_2S_2O_3,5H_2O$)

(c) পটাসিয়াম আয়োডাইড (KI)

(d) স্টার্চ

(e) সালফিউরিক অ্যাসিড (H_2SO_4)

(f) গ্লেসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড (CH_3COOH)

(g) একটি বিরঞ্জক চূর্ণের নমুনা

9.3 পদ্ধতি ঃ

A. বিভিন্ন দ্রবণ প্রস্তুতকরণ ঃ

1. $K_2Cr_2O_7$-এর মুখ্য প্রমাণ দ্রবণ ঃ
   সঠিক তৌলকরণের মাধ্যমে 250 মিলি ~ দ্রবণ প্রস্তুতকরণ। এজন্য আপনাকে ~ 0.6125 গ্রা. (ওজন সঠিক জানতে হবে) $K_2Cr_2O_7$ ওজন করতে হবে [$K_2Cr_2O_7$-এর আণবিক ওজন ও তুল্যাঙ্কভার যথাক্রমে 294 ও 49]

   যদি ω_1 গ্রা. ডাইক্রোমেট নিয়ে থাকেন তবে, দ্রবণের মাত্রা হবে $\frac{\omega_1}{0.6125}\left(\frac{N}{20}\right)$

2. সোডিয়াম থায়োসালফেটের গৌণ প্রমাণ দ্রবণ ($\sim N/_{20}$) । সাধারণ তুলাদন্ডে ~3.4 গ্রা. সোডিয়াম থায়োসালফেট ওজন করুন। একটি 250 মিলি বীকার নিন। মাপনী চোঙে 250 মিলি. পাতিত জল নিন। মাপনী চোঙের জল থেকে অল্প অল্প করে জল নিন। ওজন করা থায়োসালফেট দ্রবীভূত করে একটি বোতলে ঢালুন। পরে বাকী জলটা ঢেলে নিয়ে নেড়ে দিন। এটিই হল ঈপ্সিত দ্রবণ।
   [$Na_2S_2O_3$, $5H_2O$-র আণবিক ওজন ও তুল্যসম্ভার = 248]
3. 10% KI-এর জলীয় দ্রবণ প্রস্তুত করুন।
4. 1% স্টার্চ দ্রবণ ঃ
   মাপনী চোঙে 100 মিলি. পাতিত জল নিন। একটি ছোট বীকারে (50 বা 100 মিলি) 1 গ্রা. স্টার্চ সাধারণ তুলায় ওজন করে নিন। 10 মিলি জল দিয়ে একটা অবদ্রব (suspension) তৈরি করুন। একটি 250 মিলি বিকারে বাকী 90 মিলি জল ফুটান। ঐ জলে অবদ্রবটি নাড়তে নাড়তে যোগ করুন।
   [প্রয়োজনমত আয়তনের দ্রবণ তৈরি করে নিন]
5. 4 (N) H_2SO_4 দ্রবণ।
   800 মিলি পাতিত জল বরফে ঠান্ডা করুন। এর মধ্যে নাড়তে নাড়তে সাবধানে 100 মিলি গাঢ় H_2SO_4 যোগ করুন। দ্রবণ গরম থাকলে ঠান্ডা করে ব্যবহার করবেন। [প্রয়োজনমাফিক দ্রবণ তৈরি করে নিন]

B. অনুমাপন ঃ

1. প্রমাণ $\left(\sim\frac{N}{20}\right)$ $K_2Cr_2O_7$ দ্রবণ ব্যবহার করে সোডিয়াম থায়োসালফেট দ্রবণ প্রমাণীকরণ ঃ
   পিপেটের সাহায্যে 20 মিলি প্রমাণ $K_2Cr_2O_7$ দ্রবণ যেটি প্রস্তুত করেছেন একটি 500 মিলি ত্রিকোণাকৃতি ফ্লাস্কে স্থানান্তরিত করুন। 25 মিলি 4(N)H_2SO_4 দ্রবণ যোগ করুন। 10% KI দ্রবণের 10 মিলি যোগ করুন। ফ্লাস্কটিকে নেড়ে নিয়ে ঢাকা অবস্থায় 2-3 মিনিট অন্ধকারে রাখুন। ফ্লাস্কটিকে বের করে এনে 200 মিলি পাতিত জল দিয়ে ভিতরের দেয়াল ও ঢাকাটিকে ধুয়ে মিশ্রণকে লঘু করুন। এরপর ব্যুরেট থেকে সোডিয়াম থায়োসালফেট

ঢেলে মিশ্রিত দ্রবণের অনুমাপন ঘটান। লক্ষ্য রাখবেন মিশ্রণের বর্ণ যাতে খড়ের মত হাল্কা হলুদ বর্ণ (Straw yelllow) ধারণ করে। এবার 2 মিলি স্টার্চ দ্রবণ যোগ করুন। মিশ্রিত দ্রবণের বর্ণ হবে গাঢ় নীল। থায়োসালফেট দ্রবণ দিয়ে অনুমাপন ঘটাতে থাকুন— যে পর্যন্ত না দ্রবণের নীল বর্ণ অন্তর্হিত হয়ে ফিকে সবুজ রং দেখা যায় ব্যুরেট পাঠ নিয়ে নিন (V_1 মিলি.)।

2. বিরঞ্জক চূর্ণের প্রাপ্তব্য ক্লোরিণ নির্ধারণ ঃ

বৈশ্লেষিক তুলাদণ্ডে ~2.5g. (ω_2; সঠিক ওজন নিতে হবে) বিরঞ্জক চূর্ণ ওজন করে একটি কাচের খল (mortar)-এ নিয়ে অল্প জলে দিয়ে ভালো করে মিশিয়ে একটি লেই তৈরি করে নিন। থিতাতে দিন। উপরের পরিস্কার তরল একটি 250 মিলি আয়তনিক ফ্লাস্কে ঢালুন। যতক্ষণ না সম্পূর্ণ নমুনা এভাবে ফ্লাস্কে স্থানান্তরিত হয় ততক্ষণ বারবার প্রক্রিয়াটি করতে থাকুন। এরপর ফ্লাস্কে স্থানান্তরিত তরল ভালো করে ঝাঁকিয়ে পাতিত জল দিয়ে দাগ পর্যন্ত আয়তন করে আবার ভালো করে মিশিয়ে নিন। লেবেল লাগিয়ে পরিচায়িতকরণের ব্যবস্থা করে রাখুন।

এই দ্রবণের 50 মিলি একটি পিপেটের মাধ্যমে ত্রিকোণাকৃতি (500 মিলি) ফ্লাস্কে স্থানান্তরিত করুন। 25 মিলি পাতিত জল মিশান। 20 মিলি KI (10%) দ্রবণ ও 10 মিলি গ্রেসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড যোগ করুন। উৎপন্ন আয়োডিনকে প্রমাণীকৃত থায়োসালফেট দ্রবণ দিয়ে অনুমাপিত করুন। স্টার্চ দ্রবণ সূচক হিসাবে ব্যবহৃত হবে। প্রাপ্তবিন্দু বর্ণহীন (টাইট্রার মান = V_2 মিলি.)।

C. সংগৃহীত উপাত্তের সাহায্যে বিরঞ্জক চূর্ণের নমুনায় প্রাপ্তব্য ক্লোরিণের শতকরা মাত্রা বের করুন।

D. গণনা ঃ

পটাসিয়াম ডাইক্রোমেটের মুখ্য প্রমাণ দ্রবণের মাত্রা = $\frac{\omega_1}{0.6125}\left(\frac{N}{20}\right)$

থায়োসালফেট দ্রবণের গৌণ প্রমাণ দ্রবণের মাত্রা = $\frac{\omega_1 \times 25}{0.6125 \times V_1}\left(\frac{N}{20}\right)$

প্রাপ্তব্য ক্লোরিণের শতকরা পরিমাণ = $V_2 \times 0.03546 \times \frac{\omega_1 \times 25 \times 100}{0.6125 \times V_1 \times 20 \times \omega_2}$

অর্থাৎ $\frac{0.3546 \times 25 \times 100}{0.6125 \times 20} \cdot \frac{\omega_1 V_2}{\omega_2 V_1}$ বা $7.2367 \frac{\omega_1 V_2}{\omega_2 V_2}$

9.4 প্রয়োজনীয় যন্ত্রপাতি ঃ

ওজন বোতল, ফানেল, 250 মিলি. আয়তন ফ্লাস্ক, 250 মিলি ও 100 মিলি. বিকার, মাপনী চোঙ (250 মিলি মাপা যায় এমন), কাচের আলোড়ক দন্ড, কাচের বোতল, 25 মিলি পিপেট, ব্যুরেট, 500 মিলি ত্রিকোণাকৃতি ফ্লাস্ক, ওয়াচ গ্লাস, বুনসেন দ্বীপ, দ্বিপদ স্ট্যান্ড, তারজালি, ব্যুরেট স্ট্যান্ড, ব্যুরেট ধারক (Clamp)।

প্রশ্নাবলি ঃ

১। আমরা 2.5 গ্রা. নমুনা নিচ্ছি কেন?

২। আয়োডোমিতিতে থায়োসালফেট দ্রবণ দিয়ে আয়োডিনের অনুমাপকের সময় প্রথমেই স্টার্চ দ্রবণ যোগ করা হয় না কেন?

৩। ডাইক্রোমেট দ্রবণের সাহায্যে থায়োসালফেট দ্রবণের প্রমাণীকরণের ক্ষেত্রে অম্লীকৃত ডাইক্রোমেট দ্রবণে K1 যোগ করে মিশ্রণকে অন্ধকারে রাখা হয় কেন?

৪। সোডিয়াম থায়োসালফেট, পটাসিয়াম ডাইক্রোমেট আয়োডিন-এর তুল্যাঙ্কভার কত?

৫। বর্তমান পরীক্ষায় পটাসিয়াম ডাইক্রোমেট-এর পরিবর্তে সোডিয়াম ডাইক্রোমেট ব্যবহার করা যায় কী? আপনার উত্তরের পক্ষে যুক্তি দিন।

উত্তর ঃ

নীতি অংশ দেখুন। নিজে চেষ্টা করুন।

NOTES

NOTES

NOTES

মানুষের জ্ঞান ও ভাবকে বইয়ের মধ্যে সঞ্চিত করিবার যে একটা প্রচুর সুবিধা আছে, সে কথা কেহই অস্বীকার করিতে পারে না। কিন্তু সেই সুবিধার দ্বারা মনের স্বাভাবিক শক্তিকে একেবারে আচ্ছন্ন করিয়া ফেলিলে বুদ্ধিকে বাবু করিয়া তোলা হয়।

—রবীন্দ্রনাথ ঠাকুর

ভারতের একটা mission আছে, একটা গৌরবময় ভবিষ্যৎ আছে; সেই ভবিষ্যৎ ভারতের উত্তরাধিকারী আমরাই। নতুন ভারতের মুক্তির ইতিহাস আমরাই রচনা করছি এবং করব। এই বিশ্বাস আছে বলেই আমরা সব দুঃখ কষ্ট সহ্য করতে পারি, অন্ধকারময় বর্তমানকে অগ্রাহ্য করতে পারি, বাস্তবের নিষ্ঠুর সত্যগুলি আদর্শের কঠিন আঘাতে ধূলিসাৎ করতে পারি।

—সুভাষচন্দ্র বসু

Any system of education which ignores Indian conditions, requirements, history and sociology is too unscientific to commend itself to any rational support.

—Subhas Chandra Bose

Price : Rs. 150.00

(NSOU-র ছাত্রছাত্রীদের কাছে বিক্রয়ের জন্য নয়)

Published by : Netaji Subhas Open University, DD-26, Sector-I, Salt Lake Kolkata-700 064
and Printed at SEVA MUDRAN, 43, Kailash Bose Street, Kolkata-700 006