NETAJI SUBHAS OPEN UNIVERSITY

STUDY MATERIAL

ELECTIVE BOTANY HONOURS

EBT 12

Practical Botany - III

Blocks 1-2

প্রাক্‌কথন

নেতাজি সুভাষ মুক্ত বিশ্ববিদ্যালয়ের স্নাতক শ্রেণির জন্য যে পাঠক্রম প্রবর্তিত হয়েছে, তার লক্ষণীয় বৈশিষ্ট্য হ'ল প্রতিটি শিক্ষার্থীকে তাঁর পছন্দমতো কোনও বিষয়ে সাম্মানিক (honours) স্তরে শিক্ষাগ্রহণের সুযোগ করে দেওয়া। এক্ষেত্রে ব্যক্তিগতভাবে তাঁদের গ্রহণক্ষমতা আগে থেকেই অনুমান করে না নিয়ে নিয়ত মূল্যায়ণের 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 বিশ্ববিদ্যালয়সমূহের পাঠক্রম অনুসরণ করে তার আদর্শ উপকরণগুলির সমন্বয়ে রচিত হয়েছে এই পাঠক্রম। সেই সঙ্গে যুক্ত হয়েছে অধ্যেতব্য বিষয়ে নতুন তথ্য, মনন ও বিশ্লেষণের সমাবেশ।

দূর-সঞ্চারী শিক্ষাদানের স্বীকৃত পদ্ধতি অনুসরণ করেই এই সব পাঠ-উপকরণ লেখার কাজ চলছে। বিভিন্ন বিষয়ের অভিজ্ঞ পন্ডিতমণ্ডলীর সাহায্য এ কাজে অপরিহার্য এবং যাঁদের নিরলস পরিশ্রমে লেখা, সম্পাদনা তথা বিন্যাসকর্ম সুসম্পন্ন হচ্ছে তাঁরা সকলেই ধন্যবাদের পাত্র। আসলে, এঁরা সকলেই অলক্ষ্যে থেকে দূরসঞ্চারী 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 কোনও 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 হ'তে পারবে। তার ওপর প্রতি পর্যায়ের শেষে প্রদত্ত অনুশীলনী ও অতিরিক্ত জ্ঞান অর্জনের জন্য গ্রন্থ-নির্দেশ শিক্ষার্থীর গ্রহণক্ষমতা 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 : ডিসেম্বর, 2011

ভারত সরকারের দূরশিক্ষা পর্ষদের বিধি অনুযায়ী এবং অর্থানুকূল্যে মুদ্রিত।
Printed in accordance with the regulations and financial assistance of the
Distance Education Council, Government of India.

পরিচিতি

বিষয় : উদ্ভিদবিদ্যা

সাম্মানিক স্তর

পাঠক্রম : পর্যায় : EBT 12 : 1 & 2

	রচনা	সম্পাদনা
একক 1-5	ড. রিতা কুণ্ডু	ড. অনাদি কুমার কুণ্ডু
একক 6-9	ড. কুণাল সেন	ড. অনাদি কুমার কুণ্ডু

ঘোষণা

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

অধ্যাপক (ড.) দেবেশ রায়
নিবন্ধক

নেতাজি সুভাষ মুক্ত বিশ্ববিদ্যালয়

EBT 12

(স্নাতক পাঠক্রম)

পর্যায়

1 & 2

ব্যবহারিক উদ্ভিদবিদ্যা – III

একক 1	❑ গড়, সাধারণ বিচ্যুতি ও সাধারণ ত্রুটি নির্ণয়	7-14
একক 2	❑ কাইস্কোয়ার (x^2) পদ্ধতি অবলম্বন করে সাযুজ্যতার উৎকর্ষ নির্ণয়	15-23
একক 3	❑ মাইটোসিস বিভাজনের মেটাফেজ দশার ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণের পদ্ধতি	24-34
একক 4	❑ মাইটোসিস বিভাজনের হার নির্ণয়	35-39
একক 5	❑ মিয়োসিস বিভাজনের বিভিন্ন দশা পর্যবেক্ষণ	40-43
একক 6	❑ সাইট্রিক, টারটারিক, অক্সালিক ও ম্যালিক অম্লের সনাক্তকরণ এবং উদ্ভিদ নমুনা থেকে টাইট্রেবল অম্লের পরিমাণ নির্ণয়	44-53
একক 7	❑ কার্বোহাইড্রেট ও প্রোটিনের সনাক্তকরণের পরীক্ষা	54-63
একক 8	❑ উদ্ভিদ নমুনা থেকে Ca, Mg, Fe ও S সনাক্তকরণ ও জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ নির্ণয়	64-69
একক 9	❑ ট্রাইট্রেশন পদ্ধতিতে ক্যাটালেজ উৎসেচক ও অ্যামাইনো নাইট্রোজেনের পরিমাণ নির্ণয়	70-76

একক 12.1 □ গড় (mean), সাধারণ বিচ্যুতি (Standard deviation) ও সাধারণ ত্রুটি (Standard error) নির্ণয়

গঠন

12.1.1 প্রস্তাবনা

উদ্দেশ্য

12.1.2 জীবমিতিতে ব্যবহৃত কয়েকটি পরিভাষা

12.1.3 গড় (mean) বা মধ্যমান নির্ণয়

12.1.4 সাধারণ বিচ্যুতি (Standard deviation) ও সাধারণ ত্রুটি (Standard error) নির্ণয়

12.1.5 প্রশ্নাবলি

12.1.1 প্রস্তাবনা

বিজ্ঞানের যে কোন শাখাতে পরীক্ষা-নিরীক্ষা একটি অত্যন্ত গুরুত্বপূর্ণ বিষয় এবং পর্যবেক্ষণের দ্বারা এই পরীক্ষালব্ধ ফলকে বিশ্লেষণ করেই সঠিক সিদ্ধান্তে উপনীত হওয়া সম্ভব। উদ্ভিদবিদ্যাতেও এইভাবে পরীক্ষা-পর্যবেক্ষণ-সিদ্ধান্তের সাহায্যে অনেক গুরুত্বপূর্ণ তথ্য ও তত্ত্ব প্রমাণ করা হয়েছে। এইসব পরীক্ষার ফলাফল বিশ্লেষণে সংখ্যাতত্ত্বের প্রায়শই প্রয়োগ ঘটে থাকে এবং এই এককটিতে আপনারা সংখ্যাতত্ত্বের কিছু প্রাথমিক ধারণা লাভ করবেন। ধরুন, একটি জেলায় উৎপন্ন ধানগাছের গড় দৈর্ঘ্য আপনি জানতে চান, সেক্ষেত্রে, প্রতিটি ক্ষেতের প্রতিটি গাছের দৈর্ঘ্য মেপে তার গড় করা আপনার পক্ষে সম্ভব নয়। এক্ষেত্রে আপনাকে সংখ্যাতত্ত্বের সাহায্য নিতে হবে। আপনি নির্দিষ্ট কয়েকটি অঞ্চলের কয়েকটি (যত বেশি সম্ভব) গাছের দৈর্ঘ্য মাপুন এবং তারপর তার গড় (mean) নির্ধারণ করুন। এরপর সংখ্যাতত্ত্বের সূত্রের সাহায্যে সাধারণ বিচ্যুতি (standard deviation) নির্ণয় করুন। এর দ্বারা আপনি সেই অঞ্চলের ধানগাছের গড় দৈর্ঘ্য এবং তা থেকে ধানগাছের দৈর্ঘ্যের বিস্তৃতি সম্বন্ধে একটি ধারণা করতে পারবেন। সুতরাং আমরা বুঝতে পারছি যে, যেখানে সমগ্র গোষ্ঠী একটি বিশাল সংখ্যক প্রতিনিধি নিয়ে তৈরি, সেখানে অল্পসংখ্যক বাছাই নমুনাকে নিয়ে কাজ করে সেই ফলাফলকে সংখ্যাতত্ত্বের সূত্রের সাহায্যে বিশ্লেষণ করাই একমাত্র উপায়।

উদ্দেশ্য : — এই এককটি পাঠ করলে, আপনি জানতে পারবেন —

- গড় কি, কিভাবে তা নির্ধারণ করা যায়

- সীমিত নমুনার ফলাফলকে কিভাবে বিশাল (বা অসীম) নমুনার উপযোগী বা গ্রহণযোগ্য করে তোলা যায়
- সাধারণ বিচ্যুতি (standard deviation) এবং সাধারণ ত্রুটি (standard error) কিভাবে নির্ধারণ করা যায় ও এদের গুরুত্ব কি, তাও জানতে পারবেন।

12.1.2 জীবমিতিতে ব্যবহৃত কয়েকটি পরিভাষা

প্রথমে আমরা জীবমিতিতে (Biometry) ব্যবহৃত কয়েকটি পরিভাষা সম্বন্ধে অবহিত হব, তারপর আমরা শিখব কি করে গড় নির্ধারণ করা যায়।

গোষ্ঠী : একই ধরনের বৈশিষ্ট্য সম্পন্ন জীবকুলের (প্রাণি / উদ্ভিদ) সমষ্টিকে গোষ্ঠী (population) বলে।

নমুনা : একে গোষ্ঠীর অন্তর্বিভাগ বলা যায়। গোষ্ঠী থেকেই নমুনা (sample) সংগ্রহ করা হয়। গোষ্ঠীর বিভিন্নতা ও স্বরূপ যেন সংগৃহীত নমুনাতে বজায় থাকে সেইজন্য এলোমেলো (randomly) ও পক্ষপাতশূন্য ভাবে নমুনা সংগ্রহ করা প্রয়োজন, যেমন ধরুন আপনি কোন একটি জেলার উচ্চশিক্ষার হার পরিমাপ করতে চান, সেক্ষেত্রে, আপনি যদি শুধু শহরাঞ্চল থেকে অথবা শুধু গ্রামাঞ্চল থেকে আপনার 'নমুনা' সংগ্রহ করেন, তবে তা পক্ষপাতদুষ্ট হবে এবং প্রকৃত প্রতিফলন তা থেকে পাওয়া সম্ভব হবে না।

চল / ভ্যারিয়েবল (variable) : জীবের যে যে বৈশিষ্ট্যগুলি পরিবর্তনশীল তাকে ভ্যারিয়েবল বলে। যেমন, উদ্ভিদের উচ্চতা, ফলনশীলতা ইত্যাদি। ভ্যারিয়েবল দুধরনের হতে পারে,

ক) অবিরাম চল — (continuous variable) — উচ্চতা, ওজন, ফলনশীলতা এই সকল বৈশিষ্ট্যগুলির পরিমাপ একটি নির্দিষ্ট সীমার মধ্যেকার যে কোনও একটি মান হতে পারে। যেমন, একটি মটরশুঁটি গাছের উচ্চতা 10 সেমি., 10.2 সেমি বা 15.9 সেমি ইত্যাদি হতে পারে।

খ) সবিরাম চল — (discontinuous variable) — কড়াইশুঁটির শুঁটিতে উপস্থিত বীজের সংখ্যা, অর্থাৎ কিনা যে বৈশিষ্ট্যগুলির কেবল মাত্র মান পূর্ণসংখ্যা দ্বারা প্রকাশ করা যায়, তারা এই ধরনের চল (variable)

Frequency distribution : যে কোন পরিসংখ্যান গ্রহণের সময় আমরা সাধারণত প্রতিটি আলাদা আলাদা ক্ষেত্রের আলাদা আলাদা পর্যবেক্ষণ লিপিবদ্ধ করি। কিন্তু এইভাবে গৃহীত পরিসংখ্যান থেকে সমগ্র নমুনা সম্পর্কে কোন সম্যক ধারণা করা সম্ভব হয় না। সেইজন্য, পরিসংখ্যান গ্রহণের আগে সমগ্র নমুনাটিকে কয়েকটি শ্রেণীতে ভাগ করে, তারপর সেই শ্রেণীতে নমুনাটির কতগুলি করে প্রতিনিধি রয়েছে তা জানা অত্যন্ত প্রয়োজন। ধরা যাক আমরা 10 টি মটর গাছের ফুলের রঙ পর্যবেক্ষণ করে একটি পরিসংখ্যান তৈরি করছি।

Table – 1

১ম মটর গাছ — সাদা ফুল
২য় ,, ,, — বেগুনি ফুল
৩য় ,, ,, — বেগুনি ফুল

Table – 2

সাদা ফুল — 6 টি
বেগুনি ফুল — 4 টি
[সাদা ফুল, বেগুনি ফুল — শ্রেণী

৪র্থ ,, ,, — সাদা ফুল
৫ম ,, ,, — সাদা ফুল
৬ষ্ঠ ,, ,, — সাদা ফুল
৭ম ,, ,, — বেগুনি ফুল
৮ম ,, ,, — বেগুনি ফুল
৯ম ,, ,, — সাদা ফুল
১০ম ,, ,, — সাদা ফুল

[6 টি, 4 টি — frequency বা শ্রেণীগত হার]

এভাবে প্রতিটি গাছের আলাদা আলাদা পর্যবেক্ষণ সমগ্র নমুনাটি সম্বন্ধে আমাদের কোন সুস্পষ্ট ধারণা দিতে অক্ষম। কিন্তু, আমরা যদি এই পর্যবেক্ষণের ওপর নির্ভর করে দুটি শ্রেণী তৈরি করি, এবং সেই শ্রেণীতে অন্তর্ভুক্ত গাছের সংখ্যা লিপিবদ্ধ করি, তবে সেই পরিসংখ্যানটি (Table - 2) আমাদের নমুনা সম্পর্কে একটি সুস্পষ্ট ধারণা দিতে পারে। অধিকসংখ্যক প্রতিনিধি নিয়ে গঠিত নমুনার ক্ষেত্রে শ্রেণীগত পর্যবেক্ষণই অধিক কার্যকর।

কোন শ্রেণীতে উপস্থিত সংখ্যাকে সেই শ্রেণীর ফ্রিকোয়েন্সি (frequency) বলে। যে ভাবে বিভিন্ন শ্রেণীর ফ্রিকোয়েন্সি পরিলক্ষিত হয় তাকে ফ্রিকোয়েন্সি বণ্টন (frequency distribution) বলে।

12.1.3 গড় (mean) নির্ণয়

গড় বা মধ্যমান নির্ণয় :

নীতি : প্রতিটি পর্যবেক্ষণের মানের সমষ্টির পাটীগণিতিয় গড়কে বলা হয় মধ্যমান (mean)।

যদি গৃহীত নমুনাটির সদস্যসংখ্যা কম হয়, তবে নিম্নলিখিত সূত্রের সাহায্যে সহজেই মধ্যমান নির্ণয় করা যায় —

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{N}$$

[$\bar{x}$ – মধ্যমান
$\sum x$ – পর্যবেক্ষিত সকল মানের সমষ্টি
N – পর্যবেক্ষিত সদস্য সংখ্যা]

কিন্তু, যেখানে নমুনাটি অনেক সদস্য নিয়ে গঠিত সেখানে এইভাবে মান নির্ণয় করা অসুবিধাজনক। সেক্ষেত্রে পর্যবেক্ষিত মানগুলিকে শ্রেণীবদ্ধ করে, তা থেকে মধ্যমান নির্ণয় করা হয়ে থাকে। যেক্ষেত্রে—

$$\bar{x} = \frac{\sum (fx)}{N}$$, যেখানে,

[$\bar{x}$ – মধ্যমান
f – শ্রেণীগত হার (frequency)
x – শ্রেণী মান
N – সদস্য সংখ্যা]

একটি উদাহরণের সাহায্যে আমরা ব্যাপারটি বুঝতে চেষ্টা করব।

উদা. ১ :— নীচে 50 টি পাতার দৈর্ঘ্য দেওয়া আছে, আমরা এর থেকে পাতার মধ্যমানটি জানার চেষ্টা করব :—

প্রাপ্ত তথ্য :— পাতার দৈর্ঘ্য (সেমিতে)

31	34	24	41	33	35	42	30	30	24
41	26	38	20	32	30	29	26	19	20
16	29	28	32	29	31	23	32	36	32
35	25	27	23	28	39	35	36	37	27
24	28	16	31	36	27	30	25	39	21

প্রাপ্ত পরিসংখ্যান অনুযায়ী আমরা 50 টি পাতার দৈর্ঘ্যকে কয়েকটি (9 টি) শ্রেণীতে শ্রেণীবদ্ধ করে তারপর তাদের শ্রেণীগত হার গণনা করব।

শ্রেণী (সেমিতে)	শ্রেণীমান (x)	শ্রেণীগত হার (f) frequency	fx
16 – 18	17	2	34
19 – 21	20	4	80
22 – 24	23	5	115
25 – 27	26	7	182
28 – 30	29	10	290
31 – 33	32	8	256
34 – 36	35	7	245
37 – 39	38	4	152
40 – 42	41	3	123
		$\sum f = n = 50$	$\sum fx = 1477$

গণনা :- $\bar{x} = \frac{\sum(fx)}{N}$

$= \frac{1477}{50}$ [N ও $\sum(fx)$ এর মান বসিয়ে]

$= 29.54$

সুতরাং প্রাপ্ত তথ্যের পরিসংখ্যান অনুযায়ী প্রদত্ত নমুনার দৈর্ঘ্যের মধ্যমান 29.54 পাওয়া।

12.1.4 সাধারণ বিচ্যুতি (standard deviation) ও সাধারণ ত্রুটি (standard error) নির্ণয়

কিন্তু শুধুমাত্র মধ্যমান ও সদস্য সংখ্যা (N) জ্ঞাত, সেক্ষেত্রে নমুনাটি সম্বন্ধে কোন স্পষ্ট ধারণা করা সম্ভব নয়। কেননা, নমুনার প্রতিটি সদস্যের মান মধ্যমান থেকে কত বেশি বা কত কম, বা নমুনাটির সদস্যগুলির মধ্যেকার উচ্চতম ও নিম্নতম/(বৃহত্তম ও ক্ষুদ্রতম) মানের পার্থক্যই বা কত, তা এই মধ্যমান থেকে বোঝা সম্ভব নয়।

যেমন, ধরা যাক তিনটি বালকের বয়স যথাক্রমে —

3, 5, 7 এবং তিনটি বালিকার বয়স যথাক্রমে

1, 4, 10, দুটি ক্ষেত্রেই বালক/বালিকাদের বয়সের গড়

$5\left[\left(\frac{3+5+7}{3}=\frac{15}{5}=5\right);\left(\frac{1+4+10}{3}=\frac{15}{3}=5\right)\right]$, কিন্তু

দুটি ক্ষেত্রে বয়সের বিস্তৃতি, উচ্চতম ও নিম্নতম মানের পার্থক্য ভিন্ন।

তাই শুধুমাত্র গড় মান বা মধ্যমানের উপর নির্ভর করে কোন নমুনা সম্বন্ধে বিশেষ কিছু জানা যায় না। এইভাবে প্রাপ্ত মধ্যমান প্রতিটি একক মান অপেক্ষা কত কম বা বেশি অথবা প্রতিটি মানের সাথে মধ্যমানের নৈকট্য বা প্রাপ্ত মানগুলির বিস্তৃতি (বৃহত্তম ও ক্ষুদ্রতম মানের প্রভেদ) জানবার জন্য সংখ্যাতাত্ত্বিক যে সংজ্ঞা বর্তমান, তাকে বলে সাধারণ বিচ্যুতি (standard deviation)। যে সূত্রের সাহায্যে তা জানা যায়, তা হল —

Standard deviation (সাধারণ বিচ্যুতি)

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum f d2}{N-1}}$$

f - শ্রেণীগত হার

N - সদস্য সংখ্যা

d - প্রতি পর্যবেক্ষণের একক মান থেকে মধ্যমানের পার্থক্য

কয়েকটি উদাহরণের সাহায্যে আমরা সাধারণ বিচ্যুতি কিভাবে নির্ণয় করতে হয় তা বুঝতে চেষ্টা করব।

উদাহরণ — ২ : নিচে সারণীতে পাতার দৈর্ঘ্য (সেমিতে) এবং তাদের শ্রেণীগত হার দেওয়া হল। এর থেকে আমরা সাধারণ বিচ্যুতি ও সাধারণ ত্রুটি (standard error) নির্ণয় করব।

শ্রেণী	হার	শ্রেণী	হার
8.1 – 8.5	1	10.6 – 11.0	9
8.6 – 9.0	3	11.1 – 11.5	5
9.1 – 9.5	5	11.6 – 12.0	4
9.6 – 10.0	10	12.1 – 12.5	2
10.1 – 10.5	11		

শ্রেণী	শ্রেণীমান x	হার f	fx	$\sum fx/N = \bar{x}$	$x - \bar{x} = d$	d^2	fd^2
8.1 – 8.5	8.3	1	8.3		– 2.06	4.243	4.243
8.6 – 9.0	8.8	3	26.4		– 1.56	2.433	7.300
9.1 – 9.5	9.3	5	46.5		– 1.06	1.123	5.618
9.6 – 10.0	9.8	10	98.0	10.36	– 0.56	0.313	3.136
10.1 – 10.5	10.3	11	113.3		– 0.06	0.003	0.039
10.6 – 11.0	10.8	9	97.2		0.44	0.193	1.742
11.1 – 11.5	11.3	5	56.5		0.94	0.883	4.418
11.6 – 12.0	11.8	4	47.2		1.44	2.073	8.294
12.1 – 12.5	12.3	2	24.6		1.94	3.763	7.527

গণনা : সূত্রানুযায়ী σ (সাধারণ বিচ্যুতি) $= \sqrt{\frac{\sum f d2}{N-1}}$

$= \sqrt{\frac{42.32}{50-1}}$

$= \sqrt{0.8636}$

$= \pm 0.93$

সাধারণ ত্রুটি (standard error) নিম্নলিখিত সূত্রটি থেকে জানা যায়

$$S.E = \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$$

$$= \frac{0.93}{\sqrt{50}}$$

$$= 0.0186$$

উদাহরণ — ৩ : নিচে সারণীতে ধানগাছের শীষের দৈর্ঘ্য ও তাদের শ্রেণীগত হার দেওয়া হল। সাধারণ বিচ্যুতি, সাধারণ ত্রুটি এবং মধ্যমান নির্ণয় করতে হবে।

শ্রেণী	শ্রেণীগত হার (f)	শ্রেণী	f	শ্রেণী	(f)
6.8 – 7.2	6	8.8 – 9.2	35	10.8 – 11.2	10
7.3 – 7.7	8	9.3 – 9.7	41	11.3 – 11.7	8
7.8 – 8.2	11	9.8 – 10.2	45	11.8 – 12.2	7
8.3 – 8.7	32	10.3 – 10.7	52	12.3 – 12.7	5

শ্রেণী	শ্রেণীমান (x)	হার (f)	fx	$x - \bar{x} = d$	d^2	fd^2
6.8 – 7.2	7.0	6	42.0	– 2.65	7.022	42.13
7.3 – 7.7	7.5	8	60.0	– 2.15	4.62	36.98
7.8 – 8.2	8.0	11	88.0	– 1.65	2.72	29.94
8.3 – 8.7	8.5	32	272.0	– 1.15	1.32	42.32
8.8 – 9.2	9.0	35	315.0	– 0.65	0.42	14.78
9.3 – 9.7	9.5	41	389.5	– 0.15	0.02	0.92
9.8 – 10.2	10.0	45	450.0	0.35	0.12	5.51
10.3 – 10.7	10.5	52	546.0	0.85	0.72	37.57
10.7 – 11.2	11.0	10	110.0	1.35	1.82	18.2
11.3 – 11.7	11.5	8	92.0	1.85	3.42	26.38
11.8 – 12.2	12.0	7	84.0	2.35	5.52	28.65
12.3 – 12.7	12.5	5	62.5	2.85	8.12	40.61

$N = \sum f = 260$

গণনা : — সূত্রানুযায়ী, $\bar{x} = \frac{\sum fx}{N}$

$= \frac{2511}{260}$ [$\sum fx = 2511$, $n = 260$, এদের মান বসিয়ে]

$= 9.65$

σ (সাধারণ বিচ্যুতি) $= \sqrt{\frac{\sum fd^2}{N-1}}$

$= \sqrt{\frac{333.99}{259}}$

$= \sqrt{1.2895}$

$= \pm 1.135$

সাধারণ ত্রুটি (S.E) $= \frac{\sigma}{\sqrt{N}}$ [মান বসিয়ে পাওয়া যায়]

$= \frac{1.135}{\sqrt{260}}$

$= 0.07$

12.1.5 প্রশ্নাবলি

1. নীচের দৈর্ঘ্য (cm) অনুসারে 50টি ধানগাছের শীষের পরিসংখ্যা নিম্নরূপ :

শীষের দৈর্ঘ্য - (cm)	গাছের সংখ্যা
12-14	5
15-17	12
18-20	16
21-23	8
24-26	9

উপরিউক্ত পরিসংখ্যা বিভাজনটির গড় (mean) , সাধারণ বিচ্যুতি (standard deviation) ও সাধারণ ত্রুটি (standard error) নির্ণয় করুন।

2. মোট 50টি গম গাছের উৎপাদনের (গ্রাম) গড় বা mean হল 16 গ্রাম ও সাধারণ বিচ্যুতি (standard deviation) হল 2.39 গ্রাম। সাধারণ ত্রুটির (standard error) মান নির্ণয় করুন।

3. উচ্চতা (সেমি) অনুসারে 50টি পাট গাছের পরিসংখ্যা বিভাজন নিম্নরূপ :

উচ্চতা (সে. মি.)	পরিসংখ্যা
50-54	12
55-59	13
60-64	15
65-69	7
70-74	3

গড় (mean), সাধারণ বিচ্যুতি (Standard deviation) ও সাধারণ ত্রুটি (standard error) নির্ণয় করুন।

একক 12.2 ▫ কাইস্কোয়ার (x^2), পদ্ধতি অবলম্বন করে সাযুজ্যতার উৎকর্ষ (goodness of fit) নির্ণয়

গঠন

12.2.1 প্রস্তাবনা

উদ্দেশ্য

12.2.2 কাইস্কোয়ার (x^2) পদ্ধতি

12.2.3 সাযুজ্যতার উৎকর্ষ নির্ণয়ের কয়েকটি উদাহরণ

12.2.4 প্রশ্নাবলি

12.2.5 উত্তরমালা

12.2.1 প্রস্তাবনা

বিভিন্ন প্রাণী বা উদ্ভিদে এক সংকর বা দ্বি সংকর জনন পরীক্ষার ফল বিশ্লেষণ করলে পরে দেখা যায় যে সব ক্ষেত্রেই প্রত্যাশিত পরিসংখ্যা বা expected frequency র থেকে অবেক্ষণীয় পরিসংখ্যা বা observed frequency-র তারতম্য বা fluctuation হয়। এই পার্থক্য অর্থবহ বা significant কিনা তা নির্ণয় করার দুটি পদ্ধতি রয়েছে। পদ্ধতি দুটি হল

1) স্ট্যান্ডার্ড এরর (Standard error) পদ্ধতি।

2) কাইস্কোয়ার (x^2) [Chi-square (x^2)] পদ্ধতি।

উপরোক্ত দুটি পদ্ধতিই হল সাযুজ্যতার উৎকর্ষ বা goodness of fit (অর্থাৎ অবেক্ষণীয় পরিসংখ্যা প্রত্যাশিত পরিসংখ্যার সঙ্গে সুপ্রযুক্ত বা good fit কিনা) নির্ণয় করার পদ্ধতি।

বর্তমান এককে আমরা কয়েকটি উদাহরণের সাহায্যে কাই স্কোয়ার (x^2) পদ্ধতি অবলম্বন করে সাযুজ্যতার উৎকর্ষ বা goodness of fit নির্ধারণ করতে সক্ষম হবো।

উদ্দেশ্য :

- প্রাপ্ত উদ্ভিদের সংখ্যা ও প্রকৃতি পর্যালোচনা করে অবেক্ষণীয় অনুপাত বা observed ratio মেন্ডেলের এক সংকর বা দ্বি সংকর জননের কোন অনুপাতের কাছাকাছি তা বিশ্লেষণ করতে পারবেন।

- x^2 এর সূত্রটি প্রয়োগ করে কাই স্কোয়ারের মান নির্ণয় করতে সক্ষম হবেন।
- স্বাতন্ত্র্য মাত্রা বা degrees of freedom কী তা ব্যাখ্যা করতে পারবেন।
- x^2 সারণী পর্যালোচনা করে কোন নির্দিষ্ট স্বাতন্ত্র্য মাত্রার নিরিখে x2-এর মানের সম্ভাব্যতা বা probability নির্ধারণ করতে শিখবেন।
- পরিশেষে পর্যবেক্ষিত অনুপাতের সঙ্গে প্রত্যাশিত অনুপাত সুপ্রযুক্ত কিনা তা জানতে পারবেন।

12.2.2 কাইস্কোয়ার (x^2) পদ্ধতি

x^2 পদ্ধতির সাহায্যে কোন বৈশিষ্ট্যের বিভিন্ন শ্রেণী বা বিভাগের পর্যবেক্ষিত বা অবেক্ষণীয় পরিসংখ্যার (observed number) সাথে কোন নির্দিষ্ট প্রকল্পের প্রত্যাশিত পরিসংখ্যার (expected number) পার্থক্য নিরূপণ করা হয়।

$$x^2 = \frac{\sum [\text{অবেক্ষণীয় পরিসংখ্যা (o)} - \text{প্রত্যাশিত পরিসংখ্যা (e)}]^2}{\text{প্রত্যাশিত পরিসংখ্যা (e)}}$$

অর্থাৎ $$x^2 = \frac{\sum (o-e)^2}{e}$$

যেখানে

o = Observed frequency
e = expected frequency
$\sum$ = Summation of all classes.

x^2 এর মান নির্ণয় করার পর স্বাতন্ত্র্য মাত্রা বা degrees of freedom (df) নির্ণয় করা জরুরি কারণ কার্ল পিয়ারসনের x^2 সারণী (সারণী 1) পর্যালোচনা করলে আপনারা দেখতে পাবেন যে উক্ত সারণীতে স্বাতন্ত্র্য মাত্রা (df) অনুসারে বিভিন্ন সম্ভাবনা মাত্রায় (probability) x^2 এর মান রয়েছে। স্বাতন্ত্র্যমাত্রা নির্ধারণ করা খুবই সহজ — যদি দুটি বিভিন্ন শ্রেণীর অনুপাত থাকে তাহলে স্বাতন্ত্র্যমাত্রা (df) হল 2 - 1 = 1, যদি তিনটি শ্রেণী থাকে তাহলে 3 - 1 = 2 ইত্যাদি। অর্থাৎ স্বাতন্ত্র্যমাত্রা (df) হল

স্বাতন্ত্র্যমাত্রা = শ্রেণীর সংখ্যা (n) – 1

কোন নির্দিষ্ট স্বাতন্ত্র্যমাত্রায় x^2 এর মানের সম্ভাবনা বা probability x^2 সারণী থেকে পর্যালোচনা করলে দেখতে পাবেন যে কোন এক নির্দিষ্ট স্বাতন্ত্র্যমাত্রায় x^2 এর মান যত বাড়ে সম্ভাবনা বা probability র মান তত কমে। যেমন এক স্বাতন্ত্র্যমাত্রায় (at 1 degrees of freedom) x^2 এর মান 0.148 এর সম্ভাব্যতা 70% কিন্তু x^2 মান 0.455 ও 1.074 এর সম্ভাব্যতা যথাক্রমে 50% ও 30%। এখন প্রশ্ন হলো x^2 এর মান কত হলে পর্যবেক্ষিত অনুপাত প্রত্যাশিত অনুপাতের সঙ্গে সুপ্রযুক্ত বা good fit হবে। x^2 এর মানের সম্ভাব্যতা বা probability যদি 0.05 (অর্থাৎ 5 শতাংশ) এর কম হয় তা হলে এই সিদ্ধান্তে আসতে হবে যে প্রত্যাশিত অনুপাতের সঙ্গে পর্যবেক্ষিত অনুপাত সুপ্রযুক্ত বা good fit নয়। x^2 মানের সম্ভাব্যতা 5 শতাংশের যত বেশি হবে পর্যবেক্ষিত অনুপাত তত বেশী প্রত্যাশিত অনুপাতের সঙ্গে সুপ্রযুক্ত হবে।

12.2.3 সাযুজ্যতার উৎকর্ষ নির্ণয়ের কয়েকটি উদাহরণ

প্রদত্ত বীজ (Seed sample) নমুনা থেকে x^2 পদ্ধতি অবলম্বন করে সাযুজ্যতার উৎকর্ষ (goodness of fit) নির্ণয় :

শ্রেণীকক্ষে নমুনা বা sample হিসাবে সাধারণত বিভিন্ন ধরনের বীজ সরবরাহ করা হয়। আপনাকে বীজের রং (seed colour), আকৃতিগত পার্থক্য ইত্যাদির ওপর ভিত্তি করে শ্রেণীবিন্যাস করার পর প্রকল্পটি বিচার করতে হবে।

ধরুন আপনাকে দুই ধরনের বীজ নমুনা হিসাবে দেওয়া হয়েছে। আপনি গুনে দেখলেন যে এর মধ্যে সাদা বর্ণযুক্ত বীজের সংখ্যা 68 ও কালো বর্ণযুক্ত বীজের সংখ্যা 60। অর্থাৎ মোট বীজের সংখ্যা হল 128। পর্যবেক্ষিত শ্রেণীর মোট সংখ্যা দুই হওয়ায় (দুধরনের বর্ণযুক্ত বীজ) আপনাকে ঠিক করতে হবে যে পর্যবেক্ষিত অনুপাতটি 1 : 1, 3 : 1, 9 : 7, 15 : 1 ও 13 : 3 এই শ্রেণীভুক্ত কোন অনুপাতটির সবচেয়ে কাছাকাছি।

1 : 1 এই অনুপাতের কাছাকাছি কি-না তা বিচার্য হলে আপনি 128 কে 2 দিয়ে ভাগ করে একের মান পাবেন অর্থাৎ $128 \div 2 = 64$.

সেক্ষেত্রে সাদা ও কালো বর্ণযুক্ত দুধরনের বীজের অনুপাত হবে 64 : 64

যদি 3 : 1 অনুপাতের কাছাকাছি মনে করেন তবে 4 দিয়ে মোট বীজ সংখ্যা অর্থাৎ এক্ষেত্রে 128 কে ভাগ করলে আপনি একের মান পাবেন অর্থাৎ $\frac{128}{4} = 32$

সেক্ষেত্রে প্রত্যাশিত সাদা বর্ণযুক্ত বীজের সংখ্যা হবে $32 \times 3 = 96$ আর কালো বর্ণযুক্ত বীজের সংখ্যা হবে $32 \times 1 = 32$,

আপনি যদি প্রদত্ত বীজের নমুনার অনুপাতটি 9 : 7, 15 : 1, 13 : 3 এর যে কোন একটির কাছাকাছি মনে করেন তবে আপনাকে মোট বীজ সংখ্যা অর্থাৎ 128 কে 16 দিয়ে ভাগ করে একের মান পেতে হবে অর্থাৎ $128 \div 16 = 8$

সেক্ষেত্রে 9 : 7 অনুপাত ধরলে প্রত্যাশিত সাদাবর্ণযুক্ত বীজের সংখ্যা হবে $9 \times 8 = 72$ ও কালো বর্ণযুক্ত বীজের সংখ্যা হবে $7 \times 8 = 56$

15 : 1 অনুপাতের ক্ষেত্রে হবে 128 : 8 ও 13 : 3 অনুপাতের ক্ষেত্রে হবে 104 ও 24,

প্রদত্ত নমুনাটিতে দুই ধরনের বীজের সংখ্যা যেহেতু 68 ও 60 সুতরাং উক্ত নমুনাটি —

1 : 1 (অর্থাৎ 64 : 64) অথবা 9 : 7 (অর্থাৎ 72 : 56) প্রত্যাশিত পরিসংখ্যার কাছাকাছি হবে। প্রকল্প বিচার করে x^2 মান নির্ণয় করার সময় আপনাকে এই দুটি প্রত্যাশিত অনুপাতের কথা মাথায় রেখে অগ্রসর হতে হবে।

Table : Table of Chi-Square (কাই স্কোয়ার সারণী)

Degrees of Freedom	P=0.99	0.95	0.80	0.70	0.50	0.30	0.20	0.05	0.01
1	0.00016	0.004	0.064	0.148	0.455	1.074	1.642	3.841	6.635
2	0.0201	0.103	0.446	0.713	1.386	2.408	3.219	5.991	9.210
3	0.115	0.352	1.005	1.424	2.366	3.665	4.642	7.815	11.341
4	0.297	0.711	1.649	2.195	3.357	4.878	5.989	9.488	13.277
5	0.554	1.145	2.343	3.000	4.351	6.064	7.289	11.070	15.086
6	0.872	1.635	3.070	3.828	5.348	7.231	8.558	12.592	16.812
7	1.239	2.167	3.822	4.671	6.346	8.383	9.803	14.067	18.475
8	1.646	2.733	4.594	5.527	7.344	9.524	11.030	15.507	20.090
9	2.088	3.325	5.380	6.393	8.343	10.656	12.242	16.919	21.666
10	2.558	3.940	6.179	7.267	9.342	11.781	13.442	18.307	23.209

উদাহরণ : ১ — দুটি ইভনিং প্রিমরোজ গাছের এক সংকর জনন পরীক্ষায় F2 জনুতে 79 টি গাছে গায়ে বেগুনি বর্ণের এবং 21 টি গাছে সাদা বর্ণের ফুল দেখা গেছে। এই পৃথকীভবনের অনুপাত মেন্ডেলের কোন অনুপাতের সঙ্গে সুপ্রযুক্ত ?

প্রকল্প : — প্রাপ্ত ফলাফল বিশ্লেষণ করলে দেখা যাচ্ছে যে এটি সম্ভবত এক সংকর জনন পরীক্ষা, যেখানে বেগুনি/সাদা বর্ণের ফুলের জন্য একটি জীনই দায়ী। এক্ষেত্রে আমরা জানি যে উৎপন্ন জনুতে বৈশিষ্ট্য 3 : 1 অনুপাতে প্রবাহিত হয়, সেই অনুসারে আমরা প্রত্যাশিত ফলাফল নির্ধারণ করব।

অবেক্ষণীয় পরিসংখ্যা = 79টি বেগুনি ফুল সহ গাছ + 21টি সাদা ফুল সহ গাছ

= 100

একে (3 + 1 =) 4 দিয়ে ভাগ করলে পাই — 25

অতএব, প্রত্যাশিত পরিসংখ্যা — $3 \times 25 = 75$ টি বেগুনি ও $(1 \times 25) = 25$ টি সাদা

	বেগুনি ফুল	সাদা ফুল
অবেক্ষণীয় পরিসংখ্যা (0)	79	21
প্রত্যাশিত পরিসংখ্যা (E)	$\frac{100}{4} \times 3 = 75$	$\frac{100}{4} \times 1 = 25$
পার্থক্য	+4	−4

সুতরাং, সূত্রানুযায়ী, $$x^2 = \frac{(79-75)^2}{75} + \frac{(21-25)^2}{25}$$

$$= \frac{(4)^2}{75} + \frac{(-4)^2}{25}$$

$$= \frac{16}{75} + \frac{16}{25}$$

$$= 0.213 + 0.64$$

$$= 0.853$$

উপরোক্ত উদাহরণটিতে শ্রেণীর সংখ্যা 2টি সুতরাং স্বাতন্ত্র্য মাত্রা

(degrees of freedom) = n - 1   [n = শ্রেণী সংখ্যা]
= 2 - 1
= 1

অতএব, 1 স্বাতন্ত্র্যমাত্রায় 5% সম্ভাব্যতায় x^2 এর মান 3.84 (সারণী হতে প্রাপ্ত)। এই মান অপেক্ষা আমাদের প্রাপ্ত মান (0.853) যেহেতু অনেক কম, সেহেতু নির্ণীত x এর মানের সম্ভাব্যতা 5% এর থেকে অনেক বেশি। সুতরাং পর্যবেক্ষিত অনুপাতটি প্রত্যাশিত 3 : 1 অনুপাতের সঙ্গে সুপ্রযুক্ত বা good fit.

উদাহরণ : ২ — দুটি মটর গাছের সংকরায়ণের ফলে F_2 জনুতে প্রাপ্ত মটরগাছগুলির মধ্যে 135 টি দীর্ঘ ও 125টি খর্ব। এই অনুপাত মেন্ডেলের কোন অনুপাতের সমতুল্য?

প্রকল্প : F_2 অপত্য জনুতে প্রাপ্ত ফলাফল বিশ্লেষণ করে বলা যেতে পারে যে, এটি একটি পরীক্ষামূলক (test cross) সংকর অতএব, F_2 জনুতে উৎপন্ন অপত্যগুলি 1 : 1 অনুপাতে বৈশিষ্ট্য বহন করবে।

গণনা : - প্রাপ্ত গাছের সংখ্যা = 135টি দীর্ঘ গাছ + 125টি খর্ব গাছ
= 260টি

একে, (1 + 1)2 দিয়ে ভাগ করলে পাওয়া যায় $\left(\frac{260}{2}\right)$ 130

সুতরাং প্রত্যাশিত অনুপাত : দীর্ঘ 1 × 130, খর্ব 1 × 130

		দীর্ঘ	খর্ব
প্রাপ্ত ফলাফল	(0)	135	125
প্রত্যাশিত ফলাফল	(E)	130	130
	পার্থক্য	+ 5	– 5

সূত্রানুযায়ী, $x^2 = \frac{(5)^2}{130} + \frac{(-5)^2}{130}$

$$= \frac{25}{130} + \frac{25}{130}$$

$$= 0.192 + 0.192$$

$$= 0.384$$

উপরের উদাহরণটিতে শ্রেণীর সংখ্যা 2, সুতরাং স্বাতন্ত্র্যমাত্রা (degrees of freedom) = n – 1, or, 2 – 1, or 1.

সারণী হতে দেখা যায় 1 স্বাতন্ত্র্যমাত্রায় 5% সম্ভাব্যতায় x^2 এর মান 3.84।

এই মান অপেক্ষা আমাদের প্রাপ্ত মান (0.384) অনেক কম, অতএব নিঃসন্দেহে বলা যায় যে আমাদের প্রকল্পটি গ্রহণযোগ্য। এটি একটি পরীক্ষামূলক সংকরায়ণে (test cross) সৃষ্ট অনুপাতের সমতুল্য।

উদাহরণ : 3 – গোলাকৃতি, হলুদ বর্ণ মটর বীজের একটি গাছের সাথে ঈষৎ লম্বা সবুজ বর্ণ বিশিষ্ট মটরবীজ যুক্ত অপর একটি গাছের সংকরায়ণের ফলে F_2 জনুতে নিম্নলিখিত অপত্যগুলি পাওয়া গেল : —

গোলাকার হলুদ বর্ণ — 323
যুক্তবীজ
গোলাকার সবুজ বর্ণ — 112
ঈষৎলম্বা হলুদ বর্ণ — 105
ঈষৎলম্বা সবুজ বর্ণ — 36

x^2 বিচারের দ্বারা এটি পৃথকীভবনের কোন অনুপাতের সমতুল্যতা নির্ধারণ করুন।

প্রকল্প : F2 অপত্য জনুতে প্রাপ্ত ফলাফল বিশ্লেষণ করে মনে হয় এটি মেন্ডেলের দ্বিসংকর জনন এর 9 : 3 : 3 : 1 অনুপাতের সমতুল্য।

গণনা :- প্রাপ্ত গাছগুলির সংখ্যা = গোলাকার, হলুদ বর্ণ বীজ বিশিষ্ট গাছ +
গোলাকার সবুজ বর্ণ বীজ বিশিষ্ট গাছ +
ঈষৎ লম্বা হলুদ বর্ণ বীজ বিশিষ্ট গাছ +
ঈষৎ লম্বা সবুজ বর্ণ বীজ বিশিষ্ট গাছ

$= 323 + 112 + 105 + 36$

$= 576$

একে (9+3+3+1) = 16 দিয়ে ভাগ করলে পাই $= \left(\frac{576}{15}\right) = 36$

অতএব, প্রত্যাশিত ফলাফল

গোলাকার হলুদ বর্ণ — 9×36 – 324
গোলাকার সবুজ বর্ণ — 3×36 – 108
ঈষৎ লম্বা হলুদ বর্ণ — 3×36 – 108
ঈষৎ লম্বা সবুজ বর্ণ — 1×36 – 36

	গোলাকার হলুদ	গোলাকার সবুজ	ঈষৎলম্বা হলুদ	ঈষৎ লম্বা সবুজ
প্রাপ্ত ফল (O)	323	112	105	36
প্রত্যাশিত ফল (E)	324	108	108	36
পার্থক্য :	–1	+4	–3	0

সূত্রানুযায়ী, $x^2 = \frac{(1-2)^2}{324} + \frac{(4)^2}{108} + \frac{(-3)^2}{108} + \frac{(0)^2}{36}$

$= \frac{1}{324} + \frac{16}{108} + \frac{9}{108}$

$= 0.003 + 0.148 + 0.083$

$= 0.234$

উদাহরণ 3 এ আমরা দেখি যে, এখানে শ্রেণীর সংখ্যা 4,

অতএব, স্বাতন্ত্র্যমাত্রা = n - 1

= 4 - 1

= 3

x^2 সারণী থেকে পাওয়া যায় 3 স্বাতন্ত্র্যমাত্রায় 5% সম্ভাব্যতায় x^2 এর মান 7.81.

এই মান অপেক্ষা আমাদের পরীক্ষালব্ধ মান অনেক কম, সুতরাং আমরা বলতে পারি যে আমাদের প্রকল্পটি অবশ্যই গ্রহণযোগ্য এবং এটি দ্বিসংকর জননের 9 : 3 : 3 : 1 অনুপাতের সমতুল্য।

উদাহরণ 4 : বেটসন ও পানেট মটর গাছের সংকরায়ণ পরীক্ষায় F_2 অপত্য জনুতে 382 টি বেগুনী ও 269 টি সাদা ফুলযুক্ত গাছ পেয়েছেন। x^2 এর মাধ্যমে নিরূপণ করুন প্রাপ্ত ফলাফল কোন অনুপাতের সমতুল্য?

প্রকল্প : প্রাপ্ত ফলাফল বিশ্লেষণ করে অনুমান করা যায় যে এটি সম্ভবত একটি দ্বিসংকরায়ণের পরীক্ষা এবং একটি বৈশিষ্ট্য (ফুলের বর্ণ) দুই জোড়া জীন দ্বারা নিয়ন্ত্রিত। সম্ভবত এটি 9 : 7 অনুপাতের সমতুল্য (complementary factor).

প্রাপ্ত গাছের সংখ্যা = বেগুনি ফুলযুক্ত গাছ + সাদাফুল যুক্ত গাছ

= 382 + 269

= 651

একে (9+7) = 16 দিয়ে ভাগ করে পাওয়া যায় $\left(\frac{651}{16}\right) = 40.68$

অতএব, প্রত্যাশিত ফলাফল :—

বেগুনি ফুলসহ গাছ – $9 \times 40.68 = 366.18$

সাদা ফুলসহ গাছ – $7 \times 40.68 = 284.76$.

	বেগুনি ফুলসহ গাছ	সাদা ফুলসহ গাছ
প্রাপ্ত ফলাফল (0)	382	269
প্রত্যাশিত ফলাফল (E)	366.18	284.76
পার্থক্য :—	21.82	– 15.76

গণনা :— $x^2 = \frac{(21.82)^2}{366.18} + \frac{(-15.76)^2}{284.76}$

$= \frac{476.11}{366.18} + \frac{248.37}{284.76}$

$= 1.300 + 0.872$

$= 2.172$

উপরের উদাহরণটিতে শ্রেণী 2টি, অতএব স্বাতন্ত্র্যমাত্রা (n - 1) = 2 - 1 = 1 টি

প্রাপ্ত সারণী থেকে দেখা যায় 1 ডিগ্রী স্বাতন্ত্র্যমাত্রায় 5% সম্ভাব্যতার মান 3.84। পরীক্ষালব্ধ x^2 এর মান এই মান অপেক্ষা কম, অতএব, বলা যায় যে আমাদের প্রকল্পটি যথাযথ এবং প্রাপ্ত ফলাফল 9 : 7 অনুপাতের সমতুল্য।

আমারা আগেই উল্লেখ করেছি যে, শ্রেণীকক্ষে সাধারণত নমুনা হিসাবে বিভিন্ন প্রকার বীজ সরবরাহ করা হয়, সেক্ষেত্রে বীজের বর্ণবৈচিত্র্য আকৃতিগত পার্থক্য (shape) ইত্যাদি গুণের ওপর ভিত্তি করে বীজের শ্রেণীবিন্যাস করা হয় এবং সেইভাবে প্রকল্পটি নির্ধারণ করা হয়। নিচে এরকম কয়েকটি উদাহরণ দেওয়া হল —

উদাহরণ :— প্রদত্ত বীজগুলির মধ্যে দুধরনের আকৃতি পাওয়া যায়, এর 57টি বীজ বৃক্কাকৃতি এবং 18টি বীজ গোলাকৃতি। এই অনুপাতটি মেন্ডেলের কোন অনুপাতের সমতুল্য x^2 (কাইস্কোয়ার) এর সাহায্যে নির্ণয় করুন।

প্রকল্প : বীজের সংখ্যা বিশ্লেষণ করে বলা যেতে পারে যে এটি একটি একসংকর জনন (monohybrid cross) এর 3 : 1 অনুপাতের সমতুল্য।

গণনা :- প্রাপ্ত বীজগুলির সংখ্যা = বৃক্কাকৃতি বীজ + গোলাকৃতি বীজ

$= 57 + 18$

$= 75$

একে, (3 + 1) = 4 দিয়ে ভাগ করলে পাওয়া যায় $\left(\frac{75}{4}\right) = 18.75$

অতএব, প্রত্যাশিত ফলাফল,

বৃক্কাকৃতি বীজ $3 \times 18.75 = 56.25$

গোলাকৃতি বীজ $1 \times 18.75 = 18.75$

		বৃক্কাকৃতি বীজ	গোলাকৃতি বীজ
প্রাপ্ত ফলাফল	(0)	57	18
প্রত্যাশিত ফলাফল	(E)	56.25	18.75
		+ 0.75	- 0.75

সুতরাং সূত্রানুযায়ী, $x^2 = \frac{(57 - 56.25)^2}{56.25} + \frac{(18 - 18.75)^2}{18.75}$

$$= \frac{(0.75)^2}{56.25} + \frac{(-0.75)^2}{18.75}$$

$$= \frac{0.5625}{56.25} + \frac{0.5625}{18.75}$$

$$= 0.01 + 0.03$$

$$= 0.04$$

স্বাতন্ত্র্যমাত্রা $2 - 1 = 1$ এ x^2 এর মান 0.04. পরীক্ষালব্ধ x^2 এর মান 1 স্বাতন্ত্র্যমাত্রা 5% সম্ভাব্যতার x^2 এর মানের (3.84) থেকে অনেক কম হওয়ায় পর্যবেক্ষণীয় অনুপাত মেন্ডেলের এক সংকর জননের 3 : 1 অনুপাতের সঙ্গে সুপ্রযুক্ত, —

12.2.4 প্রশ্নবলি

1. আপনাকে বাদামি ও হালকা সবুজ রঙের বীজ দেওয়া হয়েছে। বাদামি রঙের বীজের সংখ্যা 244 ও হালকা সবুজ রঙের বীজের সংখ্যা 12। পর্যবেক্ষিত অনুপাতের সঙ্গে কোন অনুপাত সুপ্রযুক্ত হতে পারে বলে আপনার মনে হয়?

2. প্রদত্ত বীজের মোট সংখ্যা 64। এর মধ্যে হলদে রঙের বীজের সংখ্যা 54 ও বাদামি রঙের বীজের সংখ্যা 10। পর্যবেক্ষিত পরিসংখ্যা কোন অনুপাতের সঙ্গে সুপ্রযুক্ত?

12.2.5 উত্তরমালা

1. মোট বীজের সংখ্যা $244 + 12 = 256$ একে 16 দিয়ে ভাগ করলে পাই $\frac{256}{16} = 16$ দুটি শ্রেণী দিয়ে অনুপাত 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1, 9 : 7, 15 : 1 ও 13 : 3 রয়েছে। এর মধ্যে পর্যবেক্ষিত অনুপাতটি 1 : 1, 2 : 1 অথবা 3 : 1 হওয়ার কোন সম্ভাবনাই নেই বলে মোট বীজ সংখ্যাকে আমরা 2, 3 অথবা 4 দিয়ে ভাগ করে প্রত্যাশিত অনুপাত কী তা নির্ধারণ করার পথে গেলাম না।

   যদি প্রত্যাশিত অনুপাত 9 : 7 হয় তাহলে তা $9 \times 16 = 144$ ও $7 \times 16 = 112$ র কাছাকাছি হত 13 : 3 হলে তা $13 \times 16 = 208$ ও $3 \times 16 = 48$ এর কাছাকাছি হত আর যদি 15 : 1 হয় তাহলে $15 \times 16 = 240$ ও $1 \times 16 = 16$ র কাছাকাছি হত। সুতরাং পর্যবেক্ষিত অনুপাতটি 15 : 1 অনুপাতের সঙ্গে সুপ্রযুক্ত হবে ধরে নিয়ে x^2 মান নির্ণয় করা উচিত হবে।

2. মোট বীজের সংখ্যা 64 একে 16 দিয়ে ভাগ করুন $\frac{64}{16} = 4$

   $13 \times 4 = 52$ ও $3 \times 4 = 12$ সুতরাং এটি 13 : 3র কাছাকাছি হবে বলে মনে হয়।

একক 12.3 □ মাইটোসিস বিভাজনের মেটাফেজ দশার ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণের পদ্ধতি

গঠন

12.3.1 প্রস্তাবনা

উদ্দেশ্য

12.3.2 মাইটোসিস বিভাজনের মেটাফেজ দশা পর্যবেক্ষণের জন্য নমুনা প্রস্তুতকরণ

12.3.2.1 প্রাক অনুশীলন (Pretreatment)

12.3.2.2 স্থিতিকরণ (fixation) ও স্থিতিকারক রাসায়নিক (fixative)

12.3.2.3 রঞ্জক পদার্থ ও রঞ্জক দ্রবণ

12.3.3 স্কোয়াশ (Squash) ও স্মিয়ার (Smear) পদ্ধতি

12.3.4 পেঁয়াজের (*Allium cepa*) মেটাফেজ দশার ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণ

12.3.5 মুসুরীর (*Lens esculentus*) মেটাফেজ দশার ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণ

12.3.6 কয়েকটি উদ্ভিদের ক্রোমোজোম সংখ্যা

12.3.7 সতর্কতা

12.3.1 প্রস্তাবনা

জীবদেহে সাধারণত দুধরনের বিভাজন লক্ষ্য করা যায়, মাইটোসিস ও মিয়োসিস। মাইটোসিস হল এমন এক ধরনের বিভাজন যা শুধুমাত্র দেহকোষে দেখা যায়। এই প্রকার বিভাজনে মাতৃকোষের ক্রোমোজোম বিভাজিত হয়ে এমন ভাবে সংবাহিত হয় যাতে মাতৃকোষের ক্রোমোজোম সংখ্যা ও অপত্যকোষের ক্রোমোজোম সংখ্যা সমান থাকে। সেইজন্য এই বিভাজনকে সমবিভাজন (equational division) বলে। জীবদেহের বৃদ্ধি এই বিভাজন দ্বারাই ঘটে থাকে। উদ্ভিদের যে কোন বর্ধনশীল অঙ্গে এই বিভাজন লক্ষ্য করা যায়, যেমন — কাণ্ডের অগ্রভাগ, মূলের অগ্রভাগ, বা পাতার অগ্রভাগ ইত্যাদি। পাতা বা কাণ্ডের অগ্রভাগ ক্লোরোফিল যুক্ত হওয়ায় সাধারণত বর্ণহীন মূলই এই নিরীক্ষার জন্য নেওয়া হয়, তবে, অন্য যে কোনও অঙ্গের অগ্রভাগও এই নিরীক্ষার জন্য সমান উপযুক্ত।

মাইটোসিস কোষ বিভাজন পর্যবেক্ষণ করার জন্য উদ্ভিদ নমুনাটিকে বিশেষ উপায়ে প্রস্তুত করা হয় এবং বিশেষভাবে প্রস্তুত রঞ্জক দ্বারা রঞ্জিত করা হয়। মেটাফেজ দশার ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণ করার জন্য গৃহীত পদ্ধতিগুলি বর্তমান এককটিতে আলোচনা করা হয়েছে।

12.3.1 উদ্দেশ্য

এই এককটি পাঠ করলে, আপনি —

- মাইটোসিস বিভাজনের মেটাফেজ দশা পর্যবেক্ষণ করার জন্য প্রয়োজনীয় প্রস্তুতি সম্বন্ধে জানতে পারবেন।
- এই প্রস্তুতিতে ব্যবহৃত প্রয়োজনীয় রাসায়নিক উপাদানগুলি কি কি তা জানবেন।
- রাসায়নিক উপাদানগুলির ব্যবহারিক কার্যকারিতা ও গুণাগুণ সম্বন্ধে জানতে পারবেন।
- প্রয়োজনীয় দ্রবণ ও রঞ্জকগুলি কি কি ও তাদের প্রস্তুত প্রণালী সম্বন্ধে জানতে পারবেন।

12.3.2. মাইটোসিস বিভাজনের মেটাফেজ দশা পর্যবেক্ষণের জন্য নমুনা প্রস্তুতকরণ

মেটাফেজ দশায় ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণের জন্য যে বিশেষ প্রস্তুতি নেওয়া হয় তাকে কয়েকটি পর্যায়ে ভাগ করা যায়। নিচে তা বর্ণনা করা হল —

12.3.2.1 প্রাক অনুশীলন **(pretreatment)** - এই প্রক্রিয়ার ফলে —

i) সাইটোপ্লাজম পরিষ্কার হয়

ii) কোষের মধ্যপর্দাগুলিকে আলাদা করে ফলে কোষসমষ্টি নরম হয়

iii) ক্রোমোজোমের মুখ্য খাঁজ সুস্পষ্ট করে এবং তাদেরকে সাইটোপ্লাজমে বিক্ষিপ্ত করে।

প্রাক অনুশীলনের ফলে কোষের অভ্যন্তরে অবাঞ্ছিত সঞ্চিত বস্তু অপসৃত হয় ফলে ফিক্সেটিভ (fixative) দ্রুত কোষের ভেতরে প্রবেশ করতে পারে। এই প্রক্রিয়া কোষের সাইটোপ্লাজমের সান্দ্রতার (viscocity) পরিবর্তন করে, ফলে বেমতন্তু (spindle fibre) গঠিত হতে পারে না। প্রাক-অনুশীলনের ফলে ক্রোমোজোমগুলি অসমভাবে জলমুক্ত (dehydrated) হয়, ফলে ক্রোমোজোমের মুখ্য খাঁজগুলি সুস্পষ্ট হয় এবং তাদের আকৃতি (মেটাসেন্ট্রিক, অ্যাক্রোসেন্ট্রিক ইত্যাদি) স্পষ্টরূপে বোঝা যায়। এই প্রক্রিয়ার ফলে যেহেতু বেমতন্তু সংগঠিত হতে পারে না, সেহেতু ক্রোমোজোমের সেন্ট্রোমিয়ার অঞ্চলগুলি বেমতন্তুর সাথে সংযুক্ত না হওয়ায় নিজেদের কোষের বিষুবঅঞ্চলে সজ্জিত করতে পারে না। ফলে কোষটি বিভাজনের পরবর্তী পর্যায়ে (অর্থাৎ অ্যানাফেজ দশায়) যেতে পারে না, মেটাফেজ দশাতে আটকে থাকে, একে মেটাফেজ অ্যারেস্ট (metaphase arrest) বলা হয়। এভাবে মেটাফেজ দশায় উপনীত কোষকে পরবর্তী পর্যায়ে যেতে না দিয়ে এবং পূর্ববর্তী দশার কোষগুলিকে মেটাফেজ দশায় নিয়ে এসে, মেটাফেজ দশার হার বাড়ানো যেতে পারে। প্রাক অনুশীলনের ফলে এই ঘটনা ঘটে এবং এতে মেটাফেজ ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণ সুবিধা হয়।

প্রাক-অনুশীলনে ব্যবহৃত রাসায়নিক ঃ— প্রাক-অনুশীলনের জন্য বিভিন্ন রাসায়নিক বস্তু ব্যবহার করা যেতে পারে কিন্তু সকল রাসায়নিক পদার্থ সকল উদ্ভিদের ক্ষেত্রে সমানভাবে কার্যকরী নয়। বিভিন্ন উদ্ভিদে বিভিন্ন রাসায়নিক প্রয়োগ করলে সুফল পাওয়া যায়। প্রতিটি রাসায়নিকের ক্ষেত্রেও তাদের কার্যকরী ঘনত্ব, তাপমাত্রা ও সময় বিভিন্ন।

সাধারণত প্রাক-অনুশীলন নিম্ন তাপমাত্রায় করা হয়, কেন না এতে ধীর এবং একটি সুনির্দিষ্ট গতিতে ক্রোমোজোমগুলি ঘনীভূত ও সংকোচিত হয়, ফলে তাদের দৈর্ঘ্য হ্রাসপ্রাপ্ত হলেও আকারে কোন প্রকারবিকৃতি পরিলক্ষিত হয় না।

কিছু সাধারণ প্রাক-অনুশীলনের উপাদানের নাম তাদের কার্যকরী ঘনত্ব, ইত্যাদি নিচের সারণীতে দেওয়া হল।

উপাদান	কার্যকরী ঘনত্ব	ব্যবহারের সময়সীমা	উপযোগী তাপমাত্রা
অ্যাসকুলিন	সম্পৃক্ত / অর্ধসম্পৃক্ত	5 মি: - 24 ঘণ্টা	4 - 16^0 সেলসিয়াস
কলচিসিন	0.5% - 1%	30 মি: - 1 ঘণ্টা	8 - 16^0 সেলসিয়াসের মধ্যে
ক্যুমারিন	সম্পৃক্ত	3 - 6 ঘণ্টা	ঘরের তাপমাত্রা
প্যারা-ডাইক্লোরো বেনজিন	সম্পৃক্ত	3 - 5 ঘণ্টা	12 - 16^0 সেলসিয়াস
অক্সিকুইনোলিন	.002 (M)	3 - 4 ঘণ্টা	12 - 16^0 সেলসিয়াস
আলফা - ব্রোমো ন্যাপথালিন (α - Bromonaphthalene)	সম্পৃক্ত	1 -3 ঘণ্টা	10 - 16^0 সেলসিয়াস

12.3.2.2. স্থিতিকরণ (fixation) ও স্থিতিকারক রাসায়নিক (fixative)

যে প্রক্রিয়ায় কলা সমষ্টি অথবা তার উপাদানগুলি সুনির্বাচিতভাবে স্থিতিশীলতা লাভ করে তাকে স্থিতিকরণ বলে, এর উদ্দেশ্য হল কোষীয় উপাদানগুলির কোনরকম বিকৃতি না ঘটিয়ে কোষসমষ্টির মৃত্যু ঘটানো। এই প্রক্রিয়া কোষকে জীবাণু সংক্রমণ থেকে এবং কোষের নিজস্ব ধ্বংসকারী উৎসেচকের আক্রমণ থেকে সংরক্ষিত রাখে। ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণের জন্য স্থিতিকরণ হ'ল সর্বাপেক্ষা গুরুত্বপূর্ণ পর্যায়।

একটি উৎকৃষ্ট স্থিতিকারক রাসায়নিক পদার্থের যে বিশেষ গুণগুলি থাকা দরকার, তা হ'ল —

i) কোষের আভ্যন্তরীণ সেইসব উৎসেচককে নিষ্ক্রিয় বা বিনষ্ট করা যা কোষীয় উপাদানগুলিকে বিনষ্ট করে ও কোষটিকে ধ্বংস করে।

ii) কোষীয় উপাদানগুলিকে যতদূর সম্ভব (অদ্রবণীয়) অদ্রাব্য অবস্থায় রাখা, যাতে পরবর্তী পর্যায়ে তারা বিনষ্ট না হয়।

iii) কোষীয় পর্দার ভেদ্যতার পরিবর্তন ঘটানো যাতে পরবর্তী পর্যায়ে কোষগুলি অতিরিক্ত ফুলে না যায় অথবা সংকুচিত না হয়।

iv) কোষীয় প্রোটিনের ঘনীভবন এবং অধঃক্ষেপণের ফলে ক্রোমোজোমের প্রতিসরাঙ্ক (refractive index)'এর পরিবর্তন ঘটানো, যাতে ক্রোমোজোমগুলি আরো ভালোভাবে দেখা যায়।

v) স্থিতিকারক পদার্থটি যেন অতিদ্রুত কোষীয় পর্দা ভেদ করতে পারে এবং কোষের অভ্যন্তরে প্রবেশ করা মাত্রই কোষটিকে নির্জীব করতে সক্ষম হয়, এর ফলে কোষটি বিভাজনের যে দশায় আছে, সেই অবস্থাতেই আটকে থাকবে, পরবর্তী পর্যায়ে পৌঁছবে না।

vi) ক্রোমোজোমের ক্ষারের প্রতি আসক্তি বর্ধিত করবে, ফলে রঞ্জক ভালো ভাবে ক্রোমোজোমের সাথে সংযুক্ত হতে পারবে।

এই সমস্ত গুণ যদি কোন রাসায়নিক বস্তুতে পাওয়া যায়, তবে তাকে আমরা যথার্থ কার্যকারী স্থিতিকারক রাসায়নিক বলতে পারি। যেহেতু একটি রাসায়নিক পদার্থের মধ্যে এতগুলি গুণাগুণ পাওয়া খুবই দুর্লভ, তাই সাধারণত বিভিন্ন রাসায়নিক উপাদানের মিশ্রণে এমন একটি স্থিতিকারক প্রস্তুত করা সম্ভব যার মধ্যে উপরোক্ত গুণগুলির বেশির ভাগই উপস্থিত।

স্থিতিকারক সাধারণত দুধরনের হতে পারে, ধাতব এবং অধাতব। অধাতব স্থিতিকারক ব্যবহারের একটা সুবিধা এই যে ধাতব স্থিতিকারক ব্যবহারের পর নমুনাটিকে বার বার ধোওয়া প্রয়োজন; কিন্তু অধাতব স্থিতিকারক ব্যবহারে (কেবলমাত্র ফরম্যালিন বাদে) তার প্রয়োজন নেই।

নিচে সারণীতে বিভিন্ন স্থিতিকারকের নাম দেওয়া হ'ল —

	নাম		উপাদান		কার্যকরী তাপমাত্রা
১	কারণয়ের দ্রবণ	i)	অ্যাসিটিক অ্যাসিড	- ১ ভাগ	ঘরের তাপমাত্রার থেকে কম
	(Carnoy's solution)		ইথাইল অ্যালকোহল	- ৩ ভাগ	তাপমাত্রা
			ক্লোরোফর্ম	- ১ ভাগ	
		ii)	অ্যাসিটিক অ্যাসিড	- ১ ভাগ	
			ইথাইল অ্যালকোহল	- ২ ভাগ /	
			৩ ভাগ		
২.	লেভিটস্কির দ্রবণ		1% ক্রোমিক অ্যাসিডের		
	(Liwitsky's solution)		জলীয় দ্রবণ	- ১ ভাগ	
			10% ফরম্যালডিহাইড	- ১ ভাগ	
			[দুটি দ্রবণ আলাদা আলাদা করে প্রস্তুত		
			করে, ব্যবহারের আগে মিশ্রিত করতে হবে।]		
৩.	নাভাসিন দ্রবণ		নাভাসিন -এ		
	(Navaaschin's Solution)		ক্রোমিক অ্যাসিড	- 5 gm	
			গ্লেসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড	- 50 মিলিলি.	
			পাতিত জল	320 মিলিলি.	
			নাভাসিন -বি		
			ফরম্যালিন	- 200 মিলিলি.	
			পাতিত জল	- 275 মিলিলি.	
			[নাভাসিন-এ ও নাভাসিন-বি দুটি দ্রবণ পৃথকভাবে		
			প্রস্তুত করে রাখা হয়, ব্যবহারের সময় 1:1		
			অনুপাতে মিশ্রিত করা হয়।]		
৪.	ফরম্যালিন -		ফরম্যালিন	- 5 মিলিলি.	ঘরের তাপমাত্রা
	অ্যাসিটো অ্যালকোহল		গ্লেসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড	- 5 মিলিলি.	
	(FAA)		ইথাইল অ্যালকোহল	- 70 মিলিলি.	

অধাতব স্থিতিকারক (Non-metallic fixative)

i) ইথাইল অ্যালকোহল (ethyl alcohol) — এটি প্রয়োগ করা মাত্র তৎক্ষণাৎ কোষ পর্দা ভেদ করে কোষের অভ্যন্তরে প্রবেশ করতে সক্ষম। অ্যালকোহলের জল নিরূপণ (dehydration) ক্ষমতার জন্য কোষের কাঠিন্য বৃদ্ধি পায় এবং প্রোটিনের অপরিবর্তনীয় রূপান্তর ঘটে। যেহেতু এটি একটি বিজারক দ্রব্য এবং জারকের সংস্পর্শে অবিলম্বে এটি প্রথমে অ্যাসিটালডিহাইড এবং পরে অ্যাসিটিক অ্যাসিডে জারিত হয়, এবং কোন ধাতব স্থিতিকারকের সাথে ব্যবহার করা যায় না।

মূলত: এটি অ্যাসিটিক অ্যাসিড, ক্লোরোফর্ম ও ফরম্যালডিহাইডের সাথে যুক্তভাবে ব্যবহার করা যায়।

ii) অ্যাসিটিক অ্যাসিড (acetic acid) ঃ যে কোন প্রকার স্থিতিকারক রাসায়নিক পদার্থের সাথে একত্রে ব্যবহার করা যায়। এটিও খুব দ্রুত কোষপর্দা ভেদ করে কোষে প্রবেশ করতে পারে। এটি নিউক্লিক অ্যাসিডকে অধ:ক্ষিপ্ত করতে পারে এবং হিস্টোন প্রোটিনকে দ্রবীভূত করে কিন্তু সাইটোপ্লাজমীয় প্রোটিনকে স্থিত করতে অক্ষম।

এটি ব্যবহারের মূল উদ্দেশ্য হল ক্রোমোজোমের সংকোচন রোধ করে ক্রোমোজোমের গঠন অক্ষুণ্ণ রাখা। এটি সাধারণত অ্যালকোহলের সাথে ব্যবহার করা হয়।

iii) ফরম্যালডিহাইড (formaldehyde) ঃ সাধারণত এটি প্রোটিনের ওপর কাজ করে। স্থিতিকরণের জন্য 10% - 40% দ্রবণ (পাতিত জলে মিশ্রিত) ব্যবহার করা হয়।

ধাতব স্থিতিকারক (metallic fixative) :

ক্রোমিক অ্যাসিড (chromic acid) - এটি খুব ভালো ভাবে প্রোটিন অধঃক্ষিপ্ত করে কিন্তু কিছু কিছু ক্ষেত্রে নিউক্লিক অ্যাসিডের depolymerization ঘটায়। এটি ক্রোমোজোমের রঞ্জনক্ষমতা বৃদ্ধি করে।

12.3.2.3 রঞ্জক পদার্থ ও রঞ্জক দ্রবণ

রঞ্জক পদার্থ ও রঞ্জক দ্রবণ প্রস্তুত প্রণালী ঃ— বর্ণহীন ক্রোমোজোমগুলিকে পর্যবেক্ষণের জন্য তাদের রঞ্জিত করা প্রয়োজন, নিচে বিভিন্ন ধরনের রঞ্জকের প্রস্তুত প্রণালী দেওয়া হ'ল।

1% অ্যাসিটো অরসিন ঃ - এটি একটি গাঢ় কালচে লাল বর্ণের রঞ্জক। অরসিন (Orcein) অরসিনল (Orceinol) নামক যৌগ থেকে পাওয়া যায়। দুটি লাইকেন (*Lecanora porella* এবং *Rocella tinctoria*) থেকে অরসিনল পাওয়া যায়।

অরসিনের 1% দ্রবণ বা 2% দ্রবণ প্রস্তুত করতে হ'লে যা যা প্রয়োজন —

অ্যাসিটিক অ্যাসিড (45% ঘনত্ব) ~ 100 মিলিলি

অরসিন গুঁড়ো ~ 1gm (1%) / 2 gm (2%)

100 মিলিলিটার অ্যাসিটিক অ্যাসিড প্রস্তুত করার জন্য প্রথমে একটি মাপক চোঙে (measuring cylinder) 45 মিলিলি গ্লেসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড ঢালুন, তারপর পাতিত জল (distilled water) দিয়ে মাপক চোঙে 100 মিলিলি দাগ পর্যন্ত ভরুন। এইভাবে 45% অ্যাসিটিক অ্যাসিড প্রস্তুত করুন। এবার এই অ্যাসিটিক অ্যাসিড আপনি একটি 250 মিলি আয়তনের কনিকাল ফ্লাস্কে ঢেলে বুনসেন বার্নারে উত্তপ্ত করুন। অ্যাসিড দ্রবণ ফুটতে শুরু করলে আস্তে আস্তে অরসিন গুঁড়ো যোগ করুন এবং সমানে ফ্লাস্কটিকে নাড়াতে থাকুন। এর ফলে অরসিন ভালো ভাবে উত্তপ্ত অ্যাসিডে দ্রবীভূত হয়ে যাবে। মিশ্রণটি সম্পূর্ণ দ্রবীভূত হলে ফ্লাস্কটি বার্নার থেকে নামিয়ে রাখুন ও ফ্লাস্কের মুখ বন্ধ করে দিন। কয়েকঘণ্টা পরে মিশ্রণটি ঘরের তাপমাত্রায় নেমে এলে, ফিল্টার কাগজের সাহায্যে ছেঁকে নিন। এইভাবে অরসিনের স্টক দ্রবণ তৈরী করে কাচের বোতলে রেখে ভালো ভাবে ছিপি দিয়ে, দ্রবণে অরসিনের শতকরা ভাগ ও প্রস্তুতের তারিখ সহ লেবেল আটকে ঘরের তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করুন।

ব্যবহার করার সময় নয় ভাগ অরসিন দ্রবণের সাথে এক ভাগ 1(N) হাইড্রোক্লোরিক অ্যাসিড (HCl) মিশ্রিত করে কার্যকরী দ্রবণ (working solution) তৈরী করা হয়।

1% কারমিন দ্রবণ — এটি একটি গাঢ় লালবর্ণের রঞ্জক। কারমিন তৈরী করা হয় *Coccus cacte* নামক পতঙ্গ থেকে। কারমিনের 1% দ্রবণ তৈরীতে যা যা প্রয়োজন —

অ্যাসিটিক অ্যাসিড (45%) ~ 100 মিলিলি

কারমিন গুঁড়ো ~ 1 gm.

পূর্বের মতো পদ্ধতিতে 45% অ্যাসিটিক অ্যাসিড তৈরী করুন। তারপর 100 মিলি 45% অ্যাসিটিক অ্যাসিড একটি কনিকাল ফ্লাস্কে ঢেলে বুনসেন বার্নারে উত্তপ্ত করুন। অ্যাসিড অল্প অল্প ফুটতে শুরু করলে পূর্বে ওজন করা 1 gm কারমিন গুঁড়ো অল্প অল্প করে দ্রবণে যোগ করুন। সম্পূর্ণ দ্রবণটিতে কারমিন গুঁড়ো মিলে গেলে তাকে ঠাণ্ডা করুন এবং ফিল্টার কাগজের সাহায্যে ছেঁকে নিন। মিশ্রিত দ্রবণটি এবার ঘরের তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করুন।

ক্রিস্টাল ভায়োলেট দ্রবণ (crystal violet soln) - ক্রিস্টাল ভায়োলেট দ্রবণ প্রস্তুত করতে যা প্রয়োজন

ক্রিস্টাল ভায়োলেট গুঁড়ো — 1 gm.

পাতিত জল — 100 মিলিলি

100 মিলিলিটার পাতিত জল একটি কনিকাল ফ্লাস্কে নিয়ে বুনসেন বার্নারে উত্তপ্ত করুন। জল ফুটতে শুরু করলে পূর্বে ওজন করা ক্রিস্টাল ভায়োলেট গুঁড়ো অল্প অল্প করে ঢেলে দিন। মিশ্রণটি ঘরের তাপমাত্রায় নেমে এলে ফিল্টার পেপারের সাহায্যে ছেঁকে নিন ও ঘরের তাপমাত্রায় সংরক্ষণ করুন।

ফালগেন দ্রবণ (Feulgen solution) ঃ— ক্রোমোজোম রঞ্জিত করার সবথেকে কার্যকরী রঞ্জক পদার্থ বলে ফালগেন দ্রবণকে গণ্য করা হয়। ফালগেন দ্রবণ (ফুকসিন সালফিউরাস অ্যাসিড) বেসিক ফুকসিন (basic fuchsin) থেকে প্রস্তুত করা হয়।

এই রঞ্জক প্রস্তুত করতে যা প্রয়োজন —

পাতিত জল — 100 মিলিলিটার

বেসিক ফুকসিন — 0.5 (gm.) গ্রাম

1 (N) হাইড্রোক্লোরিক অ্যাসিড — 10 মিলিলিটার

পটাশিয়াম মেটাবাইসালফাইট — 0.5 গ্রাম

(অল্প সক্রিয় চারকোল, প্রয়োজন অনুযায়ী)

একটি কনিকাল ফ্লাস্কে 100 মিলিলিটার পাতিত জল নিয়ে তা বুনসেন বার্নারে উত্তপ্ত করুন, এতে 0.5 গ্রাম ফুকসিন গুঁড়ো যোগ করুন। সমস্ত ফুকসিনটি দ্রবণে মিশ্রিত হয়ে গেলে দ্রবণটি 58° সেলসিয়াসে নামিয়ে আনুন। এরপর দ্রবণটির উষ্ণতা 26° সেলসিয়াসে নেমে আসলে ফিল্টার কাগজের সাহায্যে দ্রবণটি ছেঁকে নিন। পরিশ্রুত দ্রবণে 10 মিলিলিটার 1 (N) Hcl এবং 0.5 গ্রাম পটাশিয়াম মেটাবাইসালফাইট যোগ করুন। এবার ফ্লাস্কটির মুখ ভালো করে বন্ধ করে (বায়ুনিরুদ্ধভাবে) কালো কাগজে মুড়ে সারারাত একটি ঠাণ্ডা জায়গায় (রেফ্রিজারেটারে) রাখুন। পরদিন যদি দেখেন সালফার ডাইঅক্সাইডের বিক্রিয়ায় ম্যাজেন্টা রঙের দ্রবণ ঈষৎ হলুদ বর্ণে রূপান্তরিত হয়েছে বুঝবেন দ্রবণ প্রস্তুত। কিন্তু যদি কিছুমাত্র ম্যাজেন্টা বর্ণ দ্রবণে থেকে থাকে তবে দ্রবণে অল্প পরিমাণে সক্রিয় চারকোল যোগ করুন এবং পরের দিন মিশ্রণটি সাবধানে ফিল্টার করে নিন। পরিশ্রুত, বর্ণহীন মিশ্রণটি বায়ুনিরুদ্ধ বোতলে সংগ্রহ করে নিম্নতাপমাত্রায় সংরক্ষণ করুন।

সতর্কতা ঃ বোতলগুলি অ্যাম্বার বর্ণের হওয়া বাঞ্ছনীয়, নতুবা কালো কাগজে আচ্ছাদিত হওয়া প্রয়োজন। আলোর সংস্পর্শে ফালগেন দ্রবণ বিনষ্ট হয়।

12.3.3 স্কোয়াশ (Squash) ও স্মিয়ার (Smear) পদ্ধতি

এতক্ষণ আপনারা বিভিন্ন রাসায়নিক উপাদান যা কিনা প্রাক-অনুশীলন, স্থিতিকারক এবং রঞ্জক হিসাবে ব্যবহৃত হয়, তাদের সম্বন্ধে ও তাদের প্রস্তুত প্রণালী সম্বন্ধে জেনেছেন। এবার আমরা দেখব যে 'কলা' থেকে আমাদের ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণ করতে হবে, সেই নমুনাটিকে কি ভাবে প্রস্তুত করা প্রয়োজন। এই প্রস্তুতি দু'ভাবে করা হয়ে থাকে, স্কোয়াশ ও স্মিয়ার

i) স্কোয়াশ :— মধ্যপর্দার পেক্টিক লবণ দ্রবীভূত করে কোষগুলিকে পৃথক করার জন্য এই পদ্ধতি নেওয়া হয়ে থাকে। এই পদ্ধতিতে পরীক্ষণীয় নমুনাটি অ্যাসিটো অরসিনের কার্যকরী দ্রবণে প্রায় 45 মিনিট থেকে 1 ঘণ্টা পর্যন্ত নিমজ্জিত রাখা হয়। দ্রবণে মিশ্রিত 1(N) হাইড্রোক্লোরিক অ্যাসিডের প্রভাবে কোষের মধ্যপর্দাটি নরম হয়ে যায়, এর ফলে নমুনাটি অল্প চাপ প্রয়োগে সহজেই স্লাইডের ওপর ছড়িয়ে যায়। পাতা, কাণ্ড বা মূলের অগ্রভাগের মাইটোটিক বিভাজন সহজেই এই পদ্ধতিতে পর্যবেক্ষণ করা যায়।

ii) স্মিয়ার ঃ— এই পদ্ধতিতে কোষগুলি সরাসরি স্লাইডের ওপর স্ক্যালপেলের সাহায্যে ছড়িয়ে দেওয়া হয়। এক্ষেত্রে কোষগুলি মধ্যপর্দা বিহীন হতে হবে, যেমন — পরাগ রেণু মাতৃকোষ ইত্যাদি। এই পদ্ধতিতে রঞ্জক পদার্থ — সরাসরি কোষগুলির ওপর দেওয়া হয় এবং নমুনাটিকে 'কভারস্লিপ' (coverslip) দিয়ে ঢেকে দেওয়া হয়।

উপরোক্ত দুটি পদ্ধতিতে তৈরী স্লাইডে নমুনাটি কভার স্লিপ দিয়ে ঢেকে তার চারদিক মোম দিয়ে বায়ু নিরুদ্ধভাবে বন্ধ করে অস্থায়ী স্লাইড তৈরী করা সম্ভব নয়। সেইজন্য, স্থায়ী স্লাইড তৈরী করা প্রয়োজন। স্থায়ী স্লাইড তৈরী করতে যে দুটি প্রধান বিষয় সর্বাধিক গুরুত্বপূর্ণ তা হল — নমুনাটিকে সম্পূর্ণরূপে জলমুক্ত (dehydrated) করতে হবে, এবং এমন একটি ভিত্তি মাধ্যম নমুনাটিকে স্থাপিত করতে হবে যা কভারস্লিপটিকে আটকে রাখবে স্লাইডের সাথে যথাযথভাবে এবং তার প্রতিসরাঙ্ক ও কাঁচের প্রতিসরাঙ্ক সমান হবে।

এরজন্য নিম্নলিখিত পর্যায়গুলি অনুসরণ করতে হবে —

1) অস্থায়ী প্রস্তুতিতে কভারস্লিপের চর্তুদিকে যে মোমের সিলিং তৈরী করা হয় তা ভালভাবে সরিয়ে ফেলতে হবে। দরকার হ'লে প্রথমে ব্লেড দিয়ে চেঁছে ফেলে তারপর অ্যাসিটোন দিতে মুছে ফেলতে হবে

2) এরপর স্লাইডটি উল্টো করে (কভারস্লিপটি দ্রবণে নিমজ্জিত হবে, এমনভাবে) গ্লেসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড ও ইথাইল অ্যালকোহলের (1:1 অনুপাতে) মিশ্রণে রাখতে হবে, যতক্ষণ পর্যন্ত কভার স্লিপটি স্লাইডের থেকে আলাদা হচ্ছে (এক্ষেত্রে দরকার হ'লে ব্লেড দিয়ে অল্প চাপ দিয়ে স্লাইড থেকে কভারস্লিপ আলাদা করা যেতে পারে।)

3) এর পরবর্তী পর্যায়ে কভারস্লিপ ও স্লাইডটি অ্যাবসল্যুট অ্যালকোহল ও n-বিউটাইল অ্যালকোহলের (1:1) মিশ্রণে পাঁচ মিনিট রাখতে হবে।

4) এর পর স্লাইড ও কভারস্লিপটি অ্যাবসল্যুট অ্যালকোহল ও n-বিউটাইল অ্যালকোহলের (1:3) মিশ্রণে পাঁচ মিনিট রাখতে হবে।

5) পরবর্তী পর্যায়ে স্লাইড ও কভারস্লিপটি n-বিউটাইল অ্যালকোহলে দশ মি: রেখে ডিপিএক্স (DPX) অথবা ইউপ্যারল (cuparol) এ মাউন্ট করতে হবে।

12.3.4. স্কোয়াশ বা পেষণ পদ্ধতি অবলম্বন করে পেঁয়াজের (*Allium cepa*) মেটাফেজ দশার ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণ

নমুনা : পেঁয়াজের (*Allium cepa*) মূল

উপকরণ : রাসায়ণিক — প্যারাডাইক্লোরোবেনজিন (প্রাক্-অনুশীলনের জন্য)
কার্ণয়'র দ্রবণ (অ্যাসিটিক অ্যাসিড ও ইথাইল অ্যালকোহলের মিশ্রণ স্থিতিকারক)
অরসিন (9:1 কার্যকরী দ্রবণ)

অন্যান্য :— ছোট নমুনা শিশি, ছিপিসহ; ফরসেপ ওয়াচগ্লাস, নিড্‌ল, স্লাইড, কভারস্লিপ, সিলিং করার মোম, পাস্তুর পিপেট

পদ্ধতি : মাইটোসিস বিভাজন উদ্ভিদের যে কোন বর্ধনশীল অঙ্গে ঘটে থাকে, যেমন, পাতার অগ্রভাগ, কাণ্ডের অগ্রভাগ কিংবা মূলের অগ্রভাগ। অতএব এর যে কোন একটি অংশ থেকেই বিভাজিত কোষের ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণ করা হয় কেননা পাতা ও কাণ্ডে উপস্থিত ক্লোরোফিল কণা অনেক সময় পর্যবেক্ষণের অন্তরায় হতে পারে। সেইজন্য প্রথমেই নমুনাটির মূলোদ্গমের ব্যবস্থা করতে হবে, এক্ষেত্রে পেঁয়াজের কন্দগুলির ওপরকার শল্কপত্রটি ফেলে দিয়ে, নীচের যে অংশ থেকে মূল উৎপন্ন হয় তা ব্লেড দিয়ে অল্প পরিষ্কার করে নিতে হবে। এরপর কন্দগুলিকে ভালভাবে ধুয়ে একটি টবে ভেজা কাঠের গুঁড়োর ওপর অল্প চাপ দিয়ে এমনভাবে বসিয়ে দিতে হবে যেন কন্দগুলি পুরোপুরি কাঠের গুঁড়োর ভেতর ডুবে না যায়। টবের ওপর একটি কাগজ বা যে কোন আচ্ছাদন দিয়ে একে একটি ঠাণ্ডা ও ছায়াচ্ছন্ন স্থানে রাখতে হবে। ২৮ থেকে ৩০ ঘণ্টার মধ্যে কন্দের তলদেশ থেকে গুচ্ছ গুচ্ছ মূল পাওয়া যাবে। এবার এই মূলগুলিকে আমরা পর্যবেক্ষণের জন্য প্রস্তুত করব।

প্রাক্-অনুশীলন (pertreatment) :- পেঁয়াজের কন্দ থেকে $^1/_2$ থেকে ১ সেমি পর্যন্ত লম্বা মূলগুলি কেটে নিয়ে একটি ওয়াচগ্লাসে রাখা হ'ল, এবার PDB'র একটি সম্পৃক্ত দ্রবণ একটি ছোট নমুনা শিশিতে নিয়ে মূলগুলি তার মধ্যে স্থানান্তরিত করা হ'ল। এইবার একে রেফ্রিজারেটারের একটি তাকে (যেখানে তাপমাত্রা 8-10^0 সে:) সাড়ে তিনঘণ্টা রাখতে হবে। এইসময়ে প্রাক্-অনুশীলন রাসায়নিক ধীরে ধীরে কোষের অভ্যন্তরে প্রবেশ করে তার ক্রিয়া করবে, ফলে মেটাফেজ দশায় উপনীত কোষগুলি ওই দশাতেই আটকে থাকবে অন্যদিকে প্রোফেজ দশার কোষগুলি ওই সময়ে মেটাফেজ দশায় উপনীত হবে এভাবে মেটাফেজ দশার কোষসংখ্যা বৃদ্ধি পাবে।

স্থিতিকরণ (fixation) : প্রাক-অনুশীলনের পরবর্তী পর্যায়ে এই প্রক্রিয়া অনুসরণ করা হয়। একটি দীর্ঘ নল পাস্তুর পিপেটের সাহায্যে প্রাক-অনুশীলন রাসায়নিক ধীরে ধীরে নমুনা শিশিটি থেকে বার করে নেওয়া হয়। অতঃপর মূলগুলিকে কয়েকবার পাতিত জল দিয়ে ধুয়ে নেওয়া হয়। এরপর নমুনা শিশিতে (মূলসহ) কার্ণয় দ্রবণ (1:2 অ্যাসিটিক অ্যালকোহল অথবা 1:3 অ্যাসিটিক অ্যালকোহল) ঢালা হয় এমনভাবে যেন মূলগুলি দ্রবণে ভালভাবে নিমজ্জিত থাকে। এই মিশ্রণে মূলগুলি সারারাত রাখা হয় (নিম্ন তাপমাত্রায়)।

স্কোয়াশ পদ্ধতি :-

স্থিতিকারক উপাদান থেকে এবার মূলগুলিকে নিড্‌লের সাহায্যে বার করে নিয়ে অপর একটি নমুনা শিশিতে স্থানান্তরিত করা হয়, এই শিশিটিতে এবার অরসিনের কার্যকরী দ্রবণে (9:1 মিশ্রণ) এমনভাবে যোগ করা হয় যেন মূলগুলি রঞ্জকের মধ্যে সম্পূর্ণ নিমজ্জিত থাকে। মূলগুলিসহ শিশিটি এবার বার কয়েক স্পিরিট ল্যাম্পের (বা বুনসেন বার্নার) সাহায্যে কয়েকবার সামান্য উত্তপ্ত করতে হবে। এরপর এটি ঘরের তাপমাত্রায় প্রায় 30 - 45 মিনিট রাখতে হবে।

পরবর্তী পর্যায়ে একটি পরিষ্কার স্লাইডে এক ফোঁটা 45% অ্যাসিটিক অ্যাসিডের দ্রবণের উপর একটি মূলের অগ্রভাগ স্থাপন করা হয়। ধারালো ব্লেডের সাহায্যে মূলের অগ্রভাগের সূঁচালো অংশটি রেখে বাকি অংশ বাদ দিয়ে দেওয়া হয়। এবার একটি কভারস্লিপ আস্তে আস্তে মূলের অগ্রভাগটির ওপর চাপা দিয়ে, বাঁহাতের দু-আঙুলের (বৃদ্ধাঙ্গুষ্ঠ ও তর্জনী) সাহায্যে কভারস্লিপটি ধরে রেখে ডানহাতের একটি আঙুলের ডগা দিয়ে চেপে সমানভাবে ঘসতে হবে। এরপর একটি ব্লটিং পেপার দিয়ে স্লাইডটি চাপা দিতে হবে, এরফলে অতিরিক্ত অ্যাসিটিক অ্যাসিড শোষিত হবে।

পরবর্তী পর্যায়ে মোম দিয়ে কভারস্লিপের চারিপাশ বায়ুনিরুদ্ধভাবে ঢেকে দিতে হবে। (এটি অস্থায়ী প্রস্তুতি) এইবার স্লাইডটি যৌগিক অণুবীক্ষণ যন্ত্রে দেখার উপযুক্ত।

পর্যবেক্ষণ :- নমুনাটি যৌগিক অণুবীক্ষণ যন্ত্রে পর্যবেক্ষণ করলে দেখা যায় —

ক) কোষগুলি সাধারণত আয়তাকার

খ) কোষের সাইটোপ্লাজম বর্ণহীন এবং ক্রোমোজোমগুলি গাঢ় গোলাপী বর্ণ ধারণ করেছে।

গ) বেশিরভাগ কোষ ইন্টারফেজ দশায় ও অল্পসংখ্যক কোষ বিভাজন দশায় বিদ্যমান।

ঘ) মেটাফেজ দশার ক্রোমোজোমগুলি খর্ব, সংকুচিত ( ), মুখ্য খাঁজগুলি স্পষ্ট এবং তারা কোষের মধ্যে ইতস্তত বিক্ষিপ্ত।

ঙ) ক্রোমোজোমগুলি গণনাযোগ্য। $2n = 16$ (চিত্র ১২.৩.১)

12.3.5 মুসুরীর (*Lens esculentus*) মেটাফেজ দশার ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণ

নমুনা : মুসুরীর (*Lens esculentus*) মূল

উপকরণ : রাসায়নিক - প্যারাডাইক্লোরোবেনজিন (PDB)র সম্পৃক্ত দ্রবণ
কার্ণয়'র দ্রবণ
অরসিনের কার্যকরী দ্রবণ

অন্যান্য - ছোট নমুনা শিশি (ছিপিসহ), ফরসেপ, ওয়াচগ্লাস, নিড্‌ল, স্লাইড, কভারস্লিপ, সিলিং করার মোম, পাস্তুর পিপেট

মুসুরীর মূল সংগ্রহ করার জন্য খোসাসহ আস্ত মুসুরী 20-30 মিঃ জলে ভিজিয়ে রাখতে হবে। তারপর জল থেকে তুলে একটি পেট্রিডিসে ব্লটিং পেপারে ছড়িয়ে দিতে হবে। ব্লটিং পেপারটি অল্প ভিজিয়ে দিতে হবে। পেট্রিডিশটি ঢাকা দিয়ে কোন ঠাণ্ডা জায়গায় (রেফ্রিজারেটারের নীচের তাকে) রাখা দরকার। 24-30 (Hrs.) ঘণ্টার মধ্যে মূলোদগম হয়। $^1/_2$ থেকে ১ সেমি পর্যন্ত দীর্ঘ মূল (সতেজ ও সোজা) পর্যবেক্ষণের জন্য ভাল।

প্রাক-অনুশীলন — প্যারাডাইক্লোরোবেনজিনের সম্পৃক্ত দ্রবণে সাড়ে তিনঘণ্টা, 8 থেকে 10^0 সেলসিয়াস তাপমাত্রায় রাখা হয়।

স্থিতিকরণ — কার্ণয়ের দ্রবণে (1:2 অ্যাসিটিক অ্যালকোহল) সারারাত নিম্ন তাপমাত্রায় রাখা হয়।

স্কোয়াশ ও অস্থায়ী স্লাইড তৈরীর পদ্ধতি :- অরসিনের কার্যকরী দ্রবণে মূলগুলিকে রঞ্জিত করে স্কোয়াশ পদ্ধতিতে স্লাইড প্রস্তুত করা হয় (বিশদভাবে জানতে ১২.৩.৪ দেখুন)।

পর্যবেক্ষণ :- যৌগিক অণুবীক্ষণ যন্ত্রে স্লাইডটি পর্যবেক্ষণ করলে দেখা যায় —

ক) কোষগুলি সাধারণত আয়তাকার

খ) কোষীয় সাইটোপ্লাজম বর্ণহীন এবং ক্রোমোজোম ও নিউক্লিয়াস গাঢ় গোলাপী বর্ণ গ্রহণ করেছে

গ) বিভাজিত কোষের সংখ্যা অল্প

ঘ) মেটাফেজ দশার ক্রোমোজোমগুলি খর্ব, সংকুচিত, সুস্পষ্ট মুখ্য খাঁজবিশিষ্ট এবং কোষীয় সাইটোপ্লাজমে ইতস্তত বিক্ষিপ্ত।

ঙ) ক্রোমোজোম সংখ্যা 2n = 14। (চিত্র ১২.৩.২)

12.3.6 কয়েকটি উদ্ভিদের ক্রোমোজোম সংখ্যা

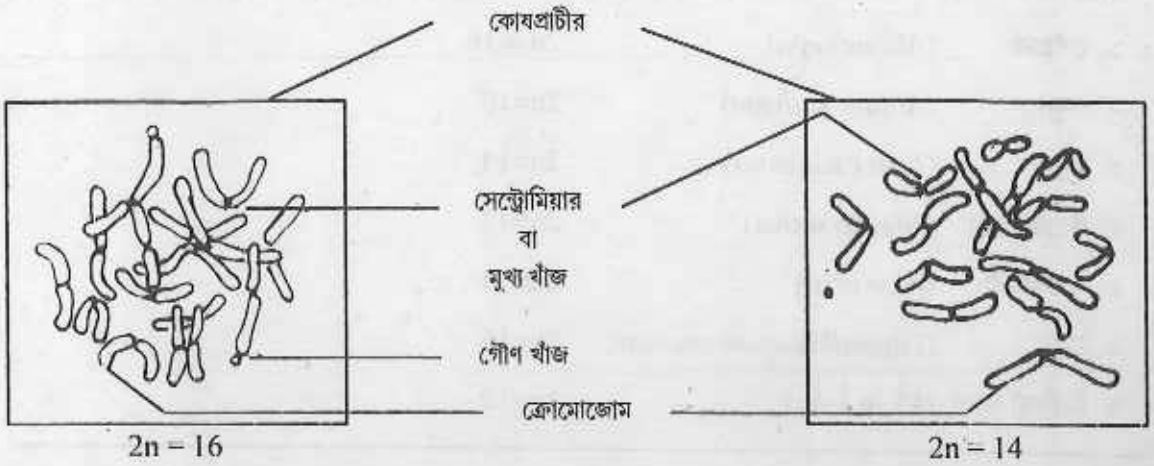
মাইটোটিক ক্রোমোজোম পর্যবেক্ষণের জন্য উপযুক্ত কয়েকটি আদর্শ উদ্ভিদের ক্রোমোজোম সংখ্যা নিম্নরূপ ঃ

১. পেঁয়াজ	(*Allium cepa*)	2n = 16
২. রসুন	(*Allium sativum*)	2n=16
৩. মুসুর	(*Lens esculentus*)	2n=14
৪. কালো জিরা	(*Nigella sativa*)	2n=12
৫. ঘৃতকুমারী	(*Aloe vera*)	2n=14
৬. মেথি	(*Trigonella foenum-graceum*)	2n=16
৭. ভিসিয়া ফাবা	(*Vicia faba*)	2n=12

12.3.7 সতর্কতা

- যে স্লাইডে স্কোয়াশ করবেন সেটি যেন সম্পূর্ণভাবে তৈলাক্ত পদার্থ মুক্ত থাকে।
- পিঁয়াজ, মুসুর, রসুন ইত্যাদি উদ্ভিদের ক্ষেত্রে সকাল দশটা থেকে বারোটার মধ্যে মূলের অগ্রভাগ কেটে প্রিট্রিটমেন্ট দ্রবণে দিলে ভালো হয়। মূলের অগ্রভাগ কাটার পর অযথা অনেকক্ষণ ধরে শুধু জলে রেখে দেবেন না।
- মূলে কোনোমতেই যেন কোন নোংরা বা বালি লেগে না থাকে। যদি নোংরা থেকে যায় তাহলে স্লাইডে স্কোয়াশ করবার সময় অসুবিধায় পড়বেন।
- একটি নমুনা শিশি থেকে আরও একটিতে স্থানান্তকরণের সময় যেন কোনোভাবেই মূলের অগ্রভাগের ক্ষতি না হয় কারণ শুধুমাত্র ঐ অঞ্চলেই বিভাজনক্ষম কোষগুলি পাওয়া যায়।
- প্রিট্রিটমেন্ট দ্রবণে যতক্ষণ রাখার কথা তার থেকে কম বা বেশী সময় রাখবেন না।
- ফিক্সেটিভ (fixative) দ্রবণ থেকে তুলে 9:1 অনুপাতে মিশ্রিত 1% অ্যাসিটো অরসিন ও নরম্যাল Hcl দ্রবণে মূলের অগ্রভাগটিকে নিমজ্জিত করে নমুনা শিশিটিকে মাত্র কয়েক সেকেন্ড (7 থেকে 12 সেকেন্ড) সামান্য গরম করবেন। গরম বেশী হয়ে গেলে নমুনাটি নষ্ট হয়ে যাবার সম্ভাবনা থাকে।
- স্কোয়াশ করার সময় আঙুলের ডগা দিয়ে ঘুরিয়ে ঘুরিয়ে এমনভাবে চাপ দেবেন যাতে নমুনাটি সমানভাবে ছড়িয়ে পড়ে।

- স্কোয়াশ করার পরেই অতিরিক্ত 45% অ্যাসেটিক অ্যাসিড ব্লটিং কাগজের সাহায্যে শুষে নিয়ে মোম দিয়ে কভার স্লিপ সিল করে দেবেন। দেরী করলে এয়ার বাবল (air bubble) ঢুকে নমুনাটি নষ্ট করে দিতে পারে।



চিত্র 12.3.1 পিঁয়াজের মাইটোসিস বিভাজনের মেটাফেজ দশা (2n = 16)

চিত্র 12.3.2 মুসুরীর মাইটোসিস বিভাজনের মেটাফেজ দশা (2n = 14)

একক 12.4 ❑ মাইটোসিস বিভাজনের হার (mitotic index) নির্ণয়

গঠন

12.4.1 প্রস্তাবনা

উদ্দেশ্য

12.4.2 প্রয়োজনীয় উপকরণ

12.4.3 পদ্ধতি

12.4.4 পর্যবেক্ষণ

12.4.5 মাইটোসিস বিভাজনের হার নির্ণয়

12.4.6 সতর্কতা

12.4.1 প্রস্তাবনা

বর্তমান এককটিতে আপনারা উদ্ভিদের মূলের বর্ধমান অঞ্চলে মাইটোসিস বিভাজনের বিভিন্ন পর্যায় বা দশা সম্বন্ধে জানতে পারবেন ও তাদের সনাক্ত করতে পারবেন। এর সাথে আপনারা আরো দেখতে পারবেন যে বর্ধনশীল অঞ্চলে কতগুলি কোষ একই সময়ে বিভাজন দশায় থাকে এবং কতগুলি কোষ স্থিতিশীল অবস্থায় থাকে। এই এককটিতে আপনাদের এই বিভাজিত কোষের সংখ্যা নিরূপণ করতে হবে এবং বিভাজিত কোষের শতকরা হার নির্ধারণ করতে হবে।

উদ্দেশ্য — এই এককটি পাঠ করলে আপনি —

★ মাইটোসিস বিভাজনের বিভিন্ন দশাকে সনাক্ত করতে পারবেন।

★ মাইটোসিস বিভাজনের একটি দশার সাথে অপর দশার পার্থক্য নিরূপণ করতে পারবেন।

★ যে কোন নমুনায় মাইটোসিস বিভাজনের হার নির্ণয় করতে পারবেন।

12.4.2 প্রয়োজনীয় উপকরণ

নমুনা : - ১/২ - ১ সেমি দীর্ঘ সতেজ পেঁয়াজের মূল

রাসায়নিক উপাদান : কার্ণয়'র দ্রবণ (1:2% অ্যাসিটিক অ্যালকোহল)

অরসিন দ্রবণ (1% অরসিনের 9 : 1 কার্যকরী দ্রবণ)

অন্যান্য : স্লাইড ও কভারস্লিপ, নিড্‌ল, ব্লটিং পেপার, সিলিংমোম

12.4.3 পদ্ধতি

সদ্য সংগৃহীত মূলগুলি কার্ণয়ের দ্রবণে সারারাত স্থিতিকরমের জন্য নিম্ন তাপমাত্রায় রাখুন। এরপর মূলগুলিকে অরসিনের কার্যকরী দ্রবণে দিয়ে বারকয়েক বুনসেন শিখায় উত্তপ্ত করে 45 মিনিট পর্যন্ত রাখুন। এরপরে মূলগুলির অগ্রাংশ (বর্ধনশীল অঞ্চল) স্কোয়াশ পদ্ধতিতে স্লাইডের ওপর প্রস্তুত করুন। অস্থায়ী ভাবে কভারস্লিপের চারিপাশ সিলিং মোম দিয়ে বায়ুনিরুদ্ধভাবে বন্ধ করে যৌগিক অণুবীক্ষণ যন্ত্রে পর্যবেক্ষণ করুন।

12.4.4 পর্যবেক্ষণ

যৌগিক অণুবীক্ষণ যন্ত্রে প্রথমে 10x অভিলক্ষ্যের নিচে স্লাইডটিকে রেখে কোষগুলিকে পর্যবেক্ষণ করুন। যখন দেখতে পাবেন, আয়তাকার বর্ণহীন কোষের মধ্যে গাঢ় গোলাপী বর্ণের নিউক্লিয়াস/ক্রোমোজোম দেখা যাচ্ছে, তখন আস্তে আস্তে 10x অভিলক্ষ্যের বদলে 45x অভিলক্ষ্যটি স্থাপন করুন। বিভাজিত কোষগুলির বৈশিষ্ট্যগুলি ভালোভাবে পর্যবেক্ষণ করুন ও তাদের সনাক্ত করার চেষ্টা করুন। নিচে বিভিন্ন দশার সনাক্তকারী বৈশিষ্ট্যগুলি দেওয়া হ'ল, এর সাথে আপনার পর্যবেক্ষণ মিলিয়ে নিন।

প্রফেজ (চিত্র : 12.4.1a) এই দশায় কোষে নিউক্লিয়াস বর্তমান থাকে। বর্ণহীন কোষীর সাইটোপ্লাজমে গোলাকৃতি নিউক্লিয়াস লক্ষ্য করা যায় যা গাঢ় গোলাপী বর্ণ গ্রহণ করে।

নিউক্লিয়াসের মধ্যে এক বা একাধিক গোলাকৃতি নিউক্লিওলাস দেখা যায়।

প্রফেজের প্রথম দশায় (early stage) নিউক্লিয়াসের মধ্যে সরু, দীর্ঘ ও প্যাঁচানো সুতোর মতো ক্রোমাটিন তন্তু দেখা যায়।

প্রফেজের মধ্য ও অন্তিম দশায় এই ক্রোমাটিনগুলি জল-বিয়োজনের ফলে যথেষ্ট খর্ব ও স্থূল আকার ধারণ করে, ফলে ক্রোমোজমগুলি অনেকাংশে স্পষ্ট হয়ে ওঠে।

মেটাফেজ (চিত্র : 12.4.1b) এই দশায় কোষে নিউক্লিয়াস পর্দা বিলুপ্ত হয়, ফলে গোলাকৃতি নিউক্লিয়াস দেখা যায় না। জলবিয়োজনের ফলে ক্রোমোজোমগুলি যথেষ্ট খর্ব ও স্থূল আকার ধারণ করে।

ক্রোমোজোমগুলি কোষের বিষুব অঞ্চলে অবস্থান করে। ক্রোমোজোমের সেন্ট্রোমিয়ার অংশ বেমযন্ত্রের (spindle) বেমতন্তু (spindle fibre) দ্বারা যুক্ত থাকে এবং বেমতন্তুর সাথে সেন্ট্রোমিয়ারের সংযোগের ফলেই ক্রোমোজোমগুলি বিষুব অঞ্চলে নিজেদের সজ্জিত রাখে। অরসিন দ্বারা বেমতন্তু রঞ্জিত করা যায় না। ফলে আমরা কেবলমাত্র দেখি যে ক্রোমোজোমগুলি কোষের বিষুব অঞ্চলে ভাসমান রয়েছে।

অ্যানাফেজ (চিত্র : 12.4.1c) এই দশায় দেখা যায় যে ক্রোমোজোমগুলি কোষের দুই দিকে চালিত হয়। আমরা জানি যে সেন্ট্রোমিয়ার অংশের বিভাজন সম্পন্ন হ'লে বেমতন্তুগুলির দুধরনের চলনের জন্য এইভাবে

ক্রোমোজোমগুলি কোষের দুই দিকে বিপরীতমুখে চালিত হয়। কিছু বেমতন্তু, যারা মেরু থেকে মেরু পর্যন্ত বিস্তৃত, (PMT) তারা এই সময় প্রসারিত হয়, ফলে মেরুগুলির দূরত্ব বৃদ্ধি পায়, আর আরেকদল বেমতন্তু, যারা মেরু থেকে সেন্ট্রোমিয়ার পর্যন্ত বিস্তৃত (KMT - কাইনেটোকোর মাইক্রোটিউবিউল) তারা সংকুচিত হয়, ফলে ক্রোমোজোমগুলি মেরুর দিকে আকৃষ্ট হয়।

টেলোফেজ (চিত্র : 12.4.1d) এই দশায় ক্রোমোজোমের মেরুর দিকে চলনের পরিসমাপ্তি ঘটে। ক্রোমোজোমগুলি মেরুতে পৌঁছয় এবং পুনরায় তারা জলযোজিত (rehydrated) হতে থাকে, এর ফলে তারা দৈর্ঘ্যে বৃদ্ধি পায় ও তাদের আকৃতির পরিবর্তন ঘটে। এই দশার অন্তিম পর্যায়ে পুনরায় নিউক্লিয়ার পর্দা ও নিউক্লিওলাসের আবির্ভাব ঘটে।

12.4.5 মাইটোসিস বিভাজনের হার (mitotic index) নির্ণয়

পর্যবেক্ষণের দ্বারা সকল বিভাজিত কোষকে সনাক্ত করতে সম্ভব হলে আপনি এবার বিভাজিত কোষের প্রতিটি পর্যায়ের সংখ্যা লিপিবদ্ধ করুন ও মোট বিভাজিত কোষের শতকরা হার নির্ণয় করুন।

তারজন্য, আপনি অণুবীক্ষণ যন্ত্রের সাহায্যে আপনার স্লাইডটি দেখুন, দেখবেন আপনি একটি গোলাকার অংশ দেখতে পাচ্ছেন। এই গোলাকার অংশটি হ'ল আপনার আণবীক্ষণিক ক্ষেত্র। এই ক্ষেত্রে সকল কোষের সংখ্যা গণনা করুন এবং তার মধ্যে কি কি বিভাজিত কোষ রয়েছে তা সারণীতে লিপিবদ্ধ করুন।

বোঝার সুবিধার জন্য একটি নমুনা সারণী নিচে দেওয়া হ'ল এবং কি করে বিভাজিত কোষের শতকরা হার নির্ণয় করতে হবে তাও দেখানো হ'ল :—

পর্যবেক্ষণ সংখ্যা	আণবীক্ষণিক ক্ষেত্রে উপস্থিত কোষের সংখ্যা	বিভাজিত কোষের সংখ্যা				সমগ্র বিভাজিত কোষের সংখ্যা
		প্রফেজ	মেটাফেজ	অ্যানাফেজ	টেলোফেজ	
1.	120	7	4	2	1	14
2.	143	11	3	3	–	17
3.	105	4	2	–	1	7
4.	169	9	5	2	1	17
5.	128	3	2	1	1	7
6.	177	12	5	3	3	23
7.	149	7	5	–	–	12
8.	103	4	2	1	1	8

গণনা : আটটি পর্যবেক্ষণের পরে আণবীক্ষণিক ক্ষেত্রে নির্ণীত

সমগ্র কোষের সংখ্যা :- (120 + 143 + 105 + 169 + 128 + 177 + 149 + 103) = 1094.

সমগ্র বিভাজিত কোষের সংখ্যা :- (14 + 17 + 7 + 17 + 7 + 23 + 12 + 8) = 105

সুতরাং বিভাজিত কোষের শতকরা হার = $\frac{105}{1094} \times 100$ 9.59%

প্রফেজ দশার শতকরা হার = $\frac{57}{1094} \times 100$ 5.2

মেটাফেজ দশার শতকরা হার = $\frac{28}{1094} \times 100$ 2.55%

অ্যানাফেজ দশার শতকরা হার = $\frac{12}{1094} \times 100$ 1.09%

টেলোফেজ দশার শতকরা হার = $\frac{8}{1094} \times 100$ 0.73%

সিদ্ধান্ত :- এই পরীক্ষা হতে আমরা জানতে পারি যে প্রদত্ত পেঁয়াজের (Alliumcepa) মূলের অগ্রভাগে মাইটোসিস বিভাজনের হার শতকরা 9.59 (অর্থাৎ যে কোন সময় কেবলমাত্র দশভাগ কোষ বিভাজন দশায় থাকে) প্রফেজ দশার শতকরা হার 5.2, মেটাফেজ দশার শতকরা হার 2.55, অ্যানাফেজ ও টেলোফেজ দশার শতকরা হার যথাক্রমে - 1.09 ও 0.73.

12.4.6 সতর্কতা

১। কেবলমাত্র সোজা ও সতেজ মূলই সংগ্রহ করতে হবে।

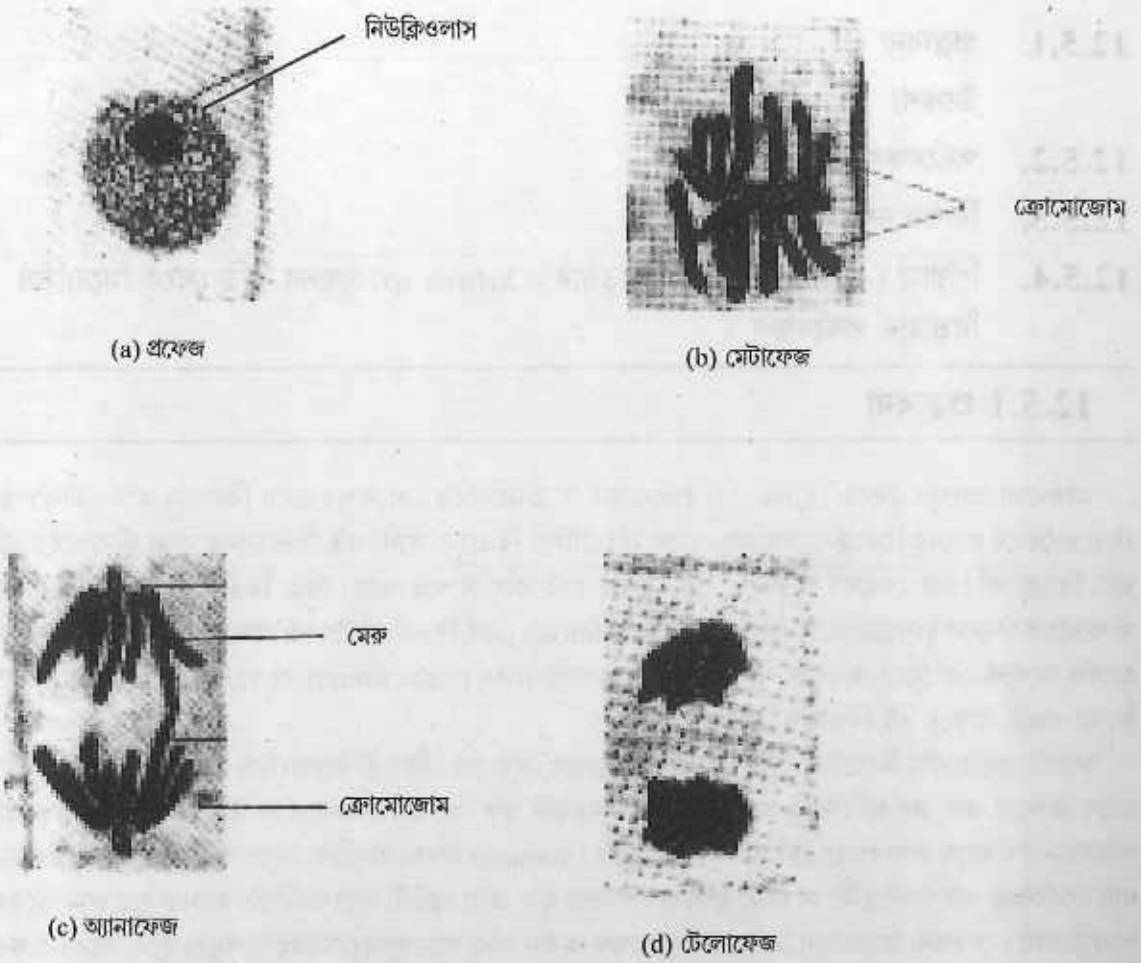
২। কোষ বিভাজন একটি শারীরবৃত্তিয় প্রক্রিয়া এবং তা সুনির্দিষ্ট সময় অন্তর আবৃত্ত হয় তাই মূল সংগ্রহ করার জন্য দিনের প্রথমার্ধই উৎকৃষ্ট।

৩। যে নমুনা শিশিতে মূলগুলি স্থিতিকরমের জন্য রাখা হবে তা যে ভালভাবে বন্ধ করা যায়, নতুবা উদ্বায়ী অ্যালকোহল দ্রবণ থেকে বিমুক্ত হয়ে যাবে।

৪। মূলগুলি অরসিন দ্রবণে দিয়ে উত্তপ্ত করার সময় খেয়াল রাখতে হবে তা যেন অতিরিক্ত উত্তপ্ত না হয় বা প্রয়োজনের তুলনায় কম উত্তপ্ত না হয়। অধিক উত্তাপে ক্রোমোজোমগুলি ভেঙে যাওয়ার সম্ভাবনা থাকে, আবার কম উত্তাপে ক্রোমোজোমগুলি ঠিকমতো রঞ্জক গ্রহণ করে না, ফলে বর্ণহীন দেখায়। এছাড়াও কোষের মধ্যপ্রাচীরগুলি হাইড্রোলিসিস ঠিকমতো না হওয়ায় পরস্পর সংযুক্ত থেকে যায়, ফলে ঠিকভাবে স্কোয়াশ করা সম্ভব হয় না।

৫। স্কোয়াশ করার সময় খেয়াল রাখতে হবে যে কোষগুলি যেন কেবলমাত্র একটি স্তরে বিস্তৃত হয় এবং কোনভাবেই যেন একটি স্তর আরেকটি স্তরের উপর সমাপতিত না হয়।

৬। সিলিং করার সময় খেয়াল রাখতে হবে যেন অধিক অ্যাসিটিক অ্যাসিড কভার স্লিপের ভেতরে থেকে না যায় এবং কোন বায়ু বুদবুদ যেন ভেতরে না থাকে।



চিত্র 12.4.1 উদ্ভিদকোষে মাইটোসিস বিভাজনের বিভিন্ন দশা

একক 12.5 □ মিয়োসিস বিভাজনের বিভিন্ন দশা পর্যবেক্ষণ পদ্ধতি

গঠন

12.5.1. প্রস্তাবনা

উদ্দেশ্য

12.5.2. পর্যবেক্ষণ পদ্ধতি

12.5.3. বিভিন্ন দশা পর্যবেক্ষণ

12.5.4. পিঁয়াজ (*Allium cepa*) ও ধুতুরার (*Datura sp*) ফুলের কুঁড়ি থেকে মিয়োসিস বিভাজন পর্যবেক্ষণ

12.5.1 প্রস্তাবনা

আপনারা আগের এককে (Unit : 3) জেনেছেন যে জীবদেহের কোষে দুধরনের বিভাজন ঘটে। জীবদেহের দেহকোষে যে ধরনের বিভাজন দেখা যায় তাকে মাইটোসিস বিভাজন বলে। এই বিভাজনের ফলে জীবদেহের বৃদ্ধি ঘটে কিংবা ক্ষতিগ্রস্ত কোষের পরিবর্তে নতুন কোষ সেই কার্য সম্পন্ন করে। কিন্তু দ্বিতীয় প্রকার বিভাজন ঘটে জীবদেহের জননমাতৃকোষে। একে বলে মিয়োসিস (Meiosis), এই বিভাজনে উৎপন্ন অপত্যকোষগুলি মাতৃকোষের অর্ধেক সংখ্যক ক্রোমোজোম লাভ করে, তাই একে হ্রাসবিভাজন (reductional) বলে। জীবদেহের ক্রোমোজোম সংখ্যা বজায় রাখতে এই বিভাজন অতি প্রয়োজনীয়।

আগেই বলা হয়েছে মিয়োসিস উদ্ভিদের জননমাতৃকোষে দেখা যায়। কিন্তু উদ্ভিদের (উচ্চ শ্রেণীর) স্ত্রীরেণুমাতৃকোষ থাকে ডিম্বকে এবং এর চারিদিকে অঙ্গজ কোষের কয়েকটি স্তর বিদ্যমান। অপরপক্ষে উদ্ভিদের পুংরেণুমাতৃকোষ পরাগধানীতে থাকে এবং পরাগধানীগুলি পরাগদন্ডের (Stamen) মাথায় অবস্থিত, ফলে অতি সহজেই সংগ্রহ করা যায়। অধিকন্তু পরাগধানীগুলি সংখ্যায় একাধিক পাওয়া যায় এবং প্রতিটি পরাগধানীতে অনেক পুংরেণুমাতৃকোষ পাওয়া যায়। সেইজন্য মিয়োসিস বিভাজন পর্যবেক্ষণ করার জন্য পুংরেণুমাতৃকোষই উপযুক্ত বলে বিবেচনা করা হয়।

মিয়োসিস বিভাজনে বিভাজিত কোষগুলিকে পর্যবেক্ষণের জন্য কোন প্রাক-অনুশীলনের প্রয়োজন হয় না, তবে প্রয়োজন অনুসারে স্থিতিকরণ করা যেতে পারে। এক্ষেত্রে যেহেতু পুংরেণুমাতৃকোষগুলি মধ্যপর্দা দ্বারা পরস্পর সংযুক্ত নয় তাই স্লাইডে ছড়িয়ে দেবার জন্য হাইড্রোলিসিস করার কোন প্রয়োজন নেই। স্মিয়ার পদ্ধতির দ্বারা কোষগুলিকে স্লাইডের ওপর একইসাথে রঞ্জিত ও বিস্তৃত করা হয়। সিলিং মোম দ্বারা সিল করে যৌগিক অণুবীক্ষণ যন্ত্রে পর্যবেক্ষণ করা হয়।

উদ্দেশ্য — এই এককটি পাঠ করলে আপনি —

- মিয়োসিস বিভাজনের বিভিন্ন পর্যায় পর্যবেক্ষণ করার জন্য প্রয়োজনীয় প্রস্তুতি গ্রহণ করতে পারবেন,
- বিভাজনের বিভিন্ন পর্যায়গুলির সনাক্তকারী বৈশিষ্ট্যের সাহায্যে সেই পর্যায়ভুক্ত কোষগুলিকে সনাক্ত করতে পারবেন,
- একটি পর্যায়ের বৈশিষ্ট্যের সাথে অপর পর্যায়ের বৈশিষ্ট্যগুলি পৃথক করতে পারবেন,
- মাইটোসিস বিভাজনের সাথে মিয়োসিস বিভাজনের তুলনামূলক পার্থক্য নিরূপণ করতে সক্ষম হবেন।

12.5.2 পর্যবেক্ষণ পদ্ধতি

মিয়োসিস দশার বিভাজন পর্যবেক্ষণ করার জন্য সদ্য সংগ্রহ করা নমুনা (ফুলের পুংকেশর) যেমন ব্যবহার করা যায় তেমনি পূর্বে সংগ্রহ করে স্থিতিকরণ (fixed) করা নমুনাও ব্যবহার করা যেতে পারে। মিয়োসিস বিভাজন পর্যবেক্ষণ করার জন্য ফুলের কুঁড়ি নেওয়া হয়। শুধুমাত্র পুংধানীগুলিকে পৃথকভাবে স্লাইডের ওপর স্থাপন করা হয়।

মিয়োসিস বিভাজন পর্যবেক্ষণের জন্য কোষগুলিকে স্কিয়ার পদ্ধতিতে প্রস্তুত করা হয়।

স্কিয়ার পদ্ধতি — স্লাইডে পৃথকীকৃত পুংধানী (anther) স্থাপন করুন। এর ওপর এক ফোঁটা কারমিন (1%) দ্রবণ ঢালুন। এবার একটি স্ক্যালপেলের সাহায্যে পুংধানীগুলিকে স্লাইডের ওপর পিষ্ট ও একইসঙ্গে বিস্তৃত করার চেষ্টা করুন। দেখবেন, স্ক্যালপেলের গায়ে কুঁড়ির / পরাগধানীর আবরণী ও অন্যান্য অপ্রয়োজনীয় অংশ সংলগ্ন হয়ে আছে। যদি অপ্রয়োজনীয় অংশ স্লাইডে থেকে যায় তবে, একটি নিড্‌লের সাহায্যে তা সরিয়ে নিতে হবে। স্ক্যালপেলের আয়রন এক্ষেত্রে মরড্যান্ট এর কাজ করে ফলে কারমিন গাঢ় ভাবে ক্রোমোজোমগুলিকে রঞ্জিত করে। এবার একটি কভার স্লিপ আস্তে আস্তে কোষগুলির ওপর চাপা দিন ও ব্লটিং কাগজ দিয়ে অতিরিক্ত কারমিন শুষে নিয়ে মোম দিয়ে ভালভাবে সীল করুন। এরপর স্লাইডটি যৌগিক অণুবীক্ষণ যন্ত্রের নীচে রেখে পর্যবেক্ষণ করুন।

12.5.3 বিভিন্ন দশা পর্যবেক্ষণ

মিয়োসিস বিভাজন দুটি ধাপে সম্পন্ন হয়, প্রথম মিয়োসিস বিভাজন ও দ্বিতীয় মিয়োসিস বিভাজন। প্রতিটি বিভাজনেই প্রফেজ, মেটাফেজ, অ্যানাফেজ ও টেলোফেজ এই চারটি পর্যায় পর্যবেক্ষণ করা যায়। এর মধ্যে প্রথম মিয়োসিস বিভাজনের প্রথম প্রফেজটি দীর্ঘস্থায়ী এবং একে বিভিন্ন উপদশায় ভাগ করা হয়, যেমন — লেপ্টোটিন, জাইগোটিন, প্যাকিটিন, ডিপ্লোটিন ও ডায়াকাইনেসিস।

লেপ্টোটিন (চিত্র ঃ 12.5.1.a) এই উপদশায় ক্রোমোজোমগুলি সরু সুতোর মতো দেখতে মনে হয়। নিউক্লিয়ার পর্দা ও নিউক্লিওলাস বিদ্যমান।

জাইগোটিন (চিত্র 12.5.1.b) এই উপদশাতেও নিউক্লিয়ার পর্দা ও নিউক্লিওলাস বিদ্যমান থাকে। এই দশাতে ক্রোমোজোমগুলি জোড়ায় জোড়ায় উপস্থিত থাকে। ক্রোমোজোম জোড়াগুলি দুটি সমসংস্থ ক্রোমোজোম দ্বারা গঠিত হয় এবং একে বাইভ্যালেন্ট বলে।

প্যাকিটিন (চিত্র 12.5.1.c) নিউক্লিয়াস উপস্থিত থাকে, তার মধ্যে বাইভ্যালেন্টগুলি ইতস্তত বিক্ষিপ্ত অবস্থায় থাকে। ক্রোমোজোমের সংকোচনের ফলে বাইভ্যালেন্টগুলি খর্ব ও স্থূল দেখায়। এই উপদশায় অনেক সময় লক্ষ্য করা যায় যে নির্দিষ্ট ক্রোমোজোমের সাথে নিউক্লিওলাস সংযুক্ত হয়ে আছে।

ডিপ্লোটিন (চিত্র 12.5.1.d) এই উপদশায় ক্রোমোজোমগুলি ঘনীভবণের (condensation) ফলে আরো খর্ব ও স্থূল হয়ে ওঠে। এই উপদশায় বাইভ্যালেন্টের জোড়দুটির মধ্যে কায়াসমা (Chiasma) বা X আকৃতির গঠন লক্ষ্য করা যায়। এই ঘটনাকে ক্রসিংওভার (crossing over) বলা হয়, এতে বাইভ্যালেন্টের অভগ্নী ক্রোমাটিড দুটির মধ্যে ক্রোমাটিড খণ্ডের বিনিময় ঘটে থাকে।

ডায়াকাইনেসিস (চিত্র 12.5.1.e) এই উপদশার অন্তিম পর্যায়ে নিউক্লিয়ার পর্দা ও নিউক্লিওলাস অদৃশ্য হয়ে যায়। ক্রোমোজোমগুলি আরো খর্বত্ব অর্জন করে এবং মধ্যবর্তী কায়াসমাগুলি সাধারণত বাইভ্যালেন্টের প্রান্তের দিকে সরে যায়, একে কায়াসমা টারমিনালাইজেশন (Chiasma terminalization) বলা হয়। এই উপদশাতে ক্রোমোজোমগুলি গণনা যোগ্য।

মেটাফেজ-I (চিত্র : 12.5.1.f) এই দশায় ক্রোমোজোমগুলি সবচেয়ে বেশী ঘনীভূত অবস্থায় থাকে। বাইভ্যালেন্টের

সেন্ট্রোমিয়াবগুলি বেমতন্তুর সাথে সংযুক্ত হয়, ফলে বাইভ্যালেন্টগুলি কোষের নিরক্ষীয় অঞ্চলে এমনভাবে সজ্জিত হয় যেন বাইভ্যালেন্টের একটি নিরক্ষীয় রেখার ওপরে এবং অন্যটি নিরক্ষীয় রেখার নীচে অবস্থান করে। এই দশাতেও ক্রোমোজোম গণনাযোগ্য।

অ্যানাফেজ - I (চিত্র : 12.5.1.g) বাইভ্যালেন্ট জোড়ার সমসংস্থ ক্রোমোজোম দুটি, দুটি বিপরীত মেরুর দিকে চালিত হয়। ফলে মেরুদুটি সমগ্র ক্রোমোজোম সংখ্যার অর্ধেক ক্রোমোজোম লাভ করে।

টেলোফেজ -I (চিত্র : 12.5.1.h) এই দশায় ক্রোমোজোমগুলি পুনরায় জলযোজিত হয় ও নিউক্লিয়ার পর্দা ও নিউক্লিওলাসের পুনরাবির্ভাব ঘটে। কখনও কখন সাইটোকাইনোসিস দেখা যায়। কখনও বা প্রথম টেলোফেজ দশায় ক্রোমোজোমগুলি মেরুতে উপনীত হওয়ার সাথে সাথেই দ্বিতীয় ধাপের বিভাজন শুরু হয়ে যায়।

দ্বিতীয় মিয়োসিস বিভাজন — এটি মাইটোসিস পদ্ধতির ন্যায় সমবিভাজন প্রক্রিয়া। এটিও চারটি দশাতে বিভক্ত।

প্রফেজ - II (চিত্র : 12.5.1.J) এই দশাটি স্বল্পস্থায়ী এবং প্রথম প্রফেজের ন্যায় জটিল নয়। এই দশায় ক্রোমোজোমগুলিকে কুণ্ডলীকৃত ও খর্ব দেখায়। নিউক্লিওলাস ও নিউক্লিয়ার পর্দা বর্তমান থাকে, কিন্তু দশার অন্তিম পর্যায়ে বিলুপ্ত হয়।

মেটাফেজ - II (চিত্র : 12.5.1.k) নিউক্লিয়ার পর্দা ও নিউক্লিওলাস থাকে না, ক্রোমোজোম খুবই ঘনীভূত অবস্থায় দেখা যায়। ক্রোমোজোমগুলির আকৃতি (মেটাসেন্ট্রিক, অ্যাক্রোসেন্ট্রিক ইত্যাদি) স্পষ্ট বোঝা যায় না। ক্রোমোজোমগুলি কোষের নিরক্ষীয় অঞ্চলে সজ্জিত হয়।

অ্যানাফেজ - II (চিত্র : 12.5.1.l) সেন্ট্রোমিয়ারের বিভাজন সম্পন্ন হওয়ার ফলে ক্রোমাটিড দুটি বিচ্ছিন্ন হয়ে বিপরীত মুখে চালিত হয়।

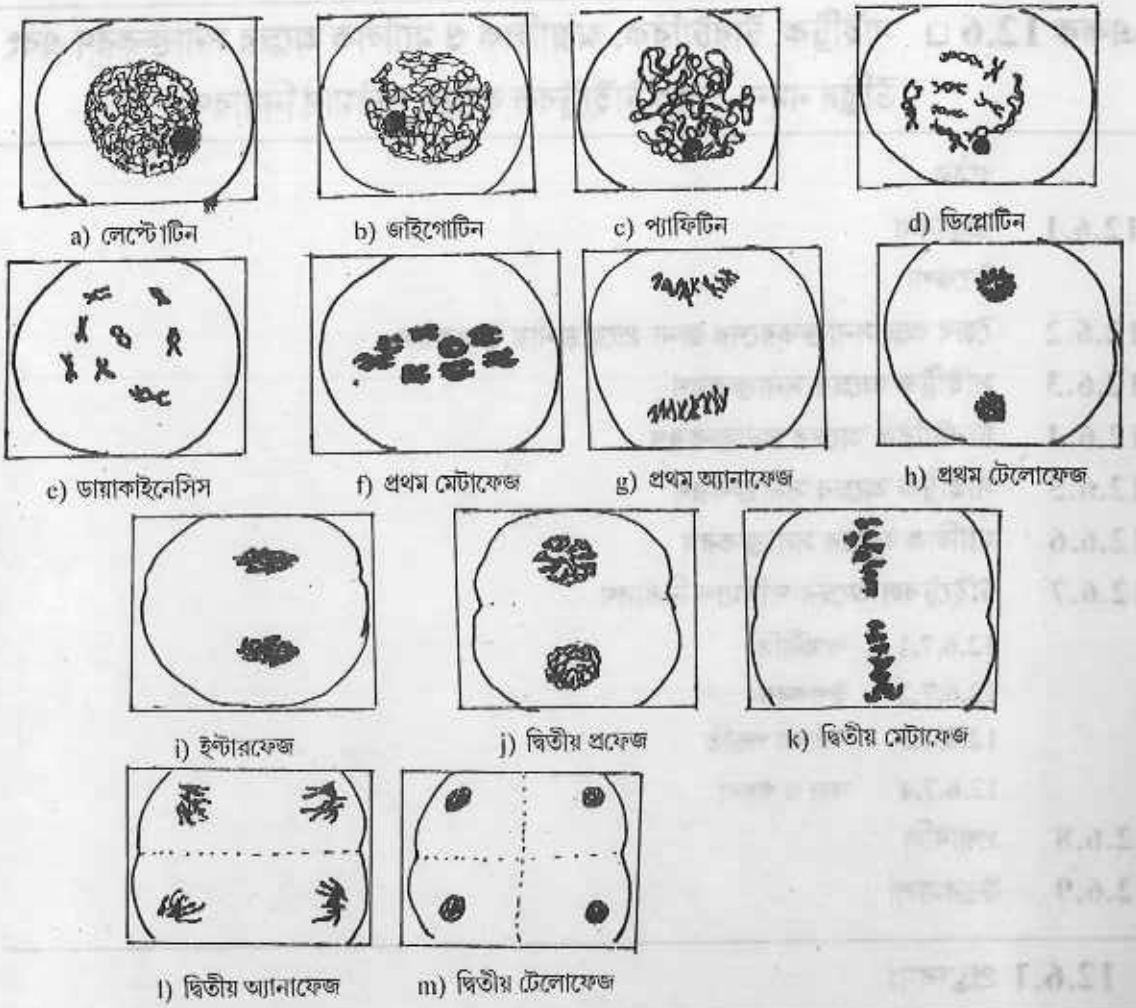
টেলোফেজ - II (চিত্র : 12.5.1.m) এই দশায় পুনরায় নিউক্লিয়ার পর্দা ও নিউক্লিওলাস দেখা যায়। ক্রোমোজোমের ঘনীভূত , সংকোচিত অবস্থার পরিবর্তন ঘটে। ক্রোমোজোমগুলি পুনরায় সুতোর ন্যায় প্যাঁচানো অবস্থায় দেখা যায়। এই অবস্থায় নিউক্লিয়ার পর্দা দ্বারা এরা আবৃত হয়।

12.5.4 পিঁয়াজ *(Allium cepa)* ও ধুতুরার *(Datura sp.)* ফুলের কুঁড়ি থেকে মিয়োসিস বিভাজনের বিভিন্ন দশা পর্যবেক্ষণ

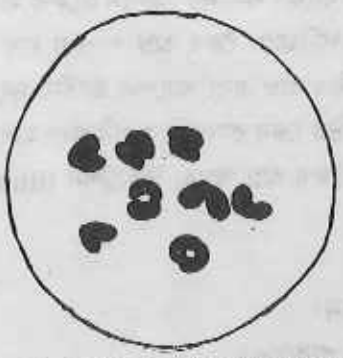
আপনারা পরীক্ষাগারে পিঁয়াজ ও ধুতুরার কুঁড়ি থেকে পরাগধানী বের করে স্মিয়ার পদ্ধতির সাহায্যে অতি সহজেই মিয়োসিস বিভাজনের বিভিন্ন দশা পর্যবেক্ষণ করতে সক্ষম হবেন। ঠিক কোন কুঁড়িটি (flower bud) নির্বাচন করলে আপনি মিয়োসিস বিভাজনের প্রথম মেটাফেজ দশা দেখতে পাবেন সে সম্বন্ধে আপনার ব্যবহারিক জ্ঞান থাকা প্রয়োজন। যে কোনো একটি কুঁড়ি নির্বাচন করে যদি আপনি দেখতে পান যে তারা ইতিমধ্যেই পরাগরেণু বা pollen grain তৈরী করে ফেলেছে তাহলে আপনাকে বুঝে নিতে যে আপনাকে আরও ছোট কুঁড়ি নির্বাচন করতে হবে। এর জন্য প্রথমেই আপনারা যে কোন একটি স্লাইডের ওপর আপনাকে যে ফুলের কুঁড়িগুলি দেওয়া হয়েছে সেগুলো আকার অনুযায়ী পরপর সাজিয়ে রাখুন। এর ফলে সঠিক কুঁড়ি নির্বাচন করতে আপনার সুবিধা হবে।

ফুলের কুঁড়িতে যে পরাগধানী বা anther আছে সেগুলি স্মিয়ার করার জন্য প্রথমে আপনি সামান্য 1% কারমিন দ্রবণ স্লাইডের মাঝখানে নেবেন। স্ক্যালপেন দিয়ে পরাগধানীর প্রাচীর ফাটিয়ে পরাগরেণু মাতৃকোষগুলি বেরিয়ে এসে কারমিন দ্রবণে রঞ্জিত হবে। এরপর আপনাকে ব্লটিং কাগজের সাহায্যে অতিরিক্ত কারমিন শুষে নিয়ে মোম দিয়ে সিল করতে হবে।

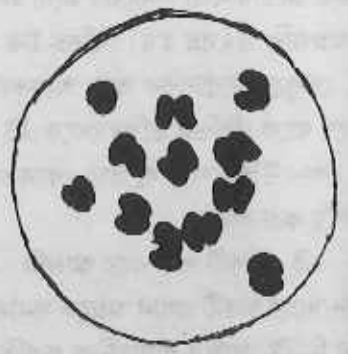
পিঁয়াজের প্রথম মেটাফেজ দশায় ৪টি বাইভ্যালেন্ট (চিত্র : ১২.৫.২.) ও ধুতুরার প্রথম মেটাফেজ দশায় ১২টি বাইভ্যালেন্ট (১২.৫.৩) দেখতে পাবেন।



চিত্র : 12.5.1 - উদ্ভিদ রেণু মাতৃ কোষে মিয়োসিসের বিভিন্ন দশা



চিত্র : 12.5.2 পিঁয়াজের মিয়োসিস বিভাজনের প্রথম মেটাফেজ দশা (n = 8)



চিত্র : 12.5.3 ধুতুরার মিয়োসি বিভাজনের প্রথম মেটাফেজ দশা (n = 12)

একক 12.6 □ সাইট্রিক, টারটারিক, অক্সালিক ও ম্যালিক অম্লের সনাক্তকরণ এবং উদ্ভিদ নমুনা থেকে টাইট্রেবল অম্লের পরিমাণ নির্ধারণ

গঠন

12.6.1 প্রস্তাবনা

উদ্দেশ্য

12.6.2 জৈব অম্ল সনাক্তকরণের জন্য প্রয়োজনীয় উপকরণ

12.6.3 সাইট্রিক অম্লের সনাক্তকরণ

12.6.4 টারটারিক অম্লের সনাক্তকরণ

12.6.5 সাইট্রিক অম্লের সনাক্তকরণ

12.6.6 ম্যালিক অম্লের সনাক্তকরণ

12.6.7 টাইট্রেবল অম্লের পরিমাণ নির্ধারণ

- 12.6.7.1 কার্যনীতি
- 12.6.7.2 উপকরণ
- 12.6.7.3 পরীক্ষা পদ্ধতি
- 12.6.7.4 ফল ও গণনা

12.6.8 প্রশ্নাবলি

12.6.9 উত্তরমালা

12.6.1 প্রস্তাবনা

যে জৈব যৌগগুলিতে কার্বক্সিল মূলক (-COOH) থাকে তাদের জৈব অম্ল বলা হয়। উদ্ভিদেহে শ্বসন ও অন্যান্য বিপাকীয় কার্যের ফলে বিভিন্ন জৈব অম্লের সৃষ্টি হয়। এই জৈব অম্লগুলি কোষরসে সঞ্চিত হতে পারে অথবা র‍্যাফাইড জাতীয় বর্জ্য পদার্থের মধ্যে লবণরূপে সঞ্চিত থাকে। শ্বসনের ক্রেবস চক্রের মাধ্যমেই উদ্ভিদের প্রধান জৈব অম্লগুলি উৎপন্ন হয়। বিভিন্ন টক ফলে সর্বাধিক পরিমাণে জৈব অম্ল পাওয়া যায় যেমন লেবুতে সাইট্রিক অম্ল, তেঁতুলে টারটারিক অম্ল, আমরুল পাতায় অক্সালিক অম্ল এবং আপেল জাতীয় ফলে ম্যালিক অম্ল পর্যাপ্ত পরিমাণে থাকে। বিভিন্ন উদ্ভিদ থেকে এই অম্লগুলিকে বিভিন্ন জৈব রাসায়নিক পরীক্ষার মাধ্যমে সনাক্ত করা যায়। এছাড়া কোন উদ্ভিদ অঙ্গ বা তার কোষরসে কি পরিমাণ জৈব অম্ল আছে, টাইট্রেশন (titration) পদ্ধতির মাধ্যমে তা নির্ণয় করা যায়।

উদ্দেশ্য — এই এককটি পাঠ করে আপনি

1. উদ্ভিদদেহের চারটি প্রধান অম্লকে সনাক্ত করতে পারবেন।
2. কোন নির্দিষ্ট অম্লের রাসায়নিক প্রকৃতি সম্বন্ধে জানতে পারবেন।
3. টাইট্রেশনের মাধ্যমে লেবু বা অন্যান্য টক জাতীয় ফলের রসে কি পরিমাণ জৈব অম্ল আছে তা নির্ণয় করতে পারবেন।

12.6.2 প্রয়োজনীয় উপকরণ

I. জৈব অম্ল সনাক্তকরণের জন্য নিম্নলিখিত উপকরণগুলি প্রয়োজন

A. কাচের উপকরণ ও অন্যান্য যন্ত্রপাতি

বীকার, ফানেল, টেস্টটিউব, কাঁচের রড, কাঁচের বোতল, পরিমাপক চোঙ (Measuring Cylinder), টেস্টটিউব হোল্ডার, টেস্ট টিউব র‍্যাক, বুনসেন বার্নার বা স্পিরিট ল্যাম্প, তারজালি, জলগাহ (Water bath), রাসায়নিক তুলাযন্ত্র, ওজন বাক্স।

B. রাসায়নিক উপাদান

5% সাইট্রিক, টারটারিক, অক্সালিক ও ম্যালিক অম্লের জলীয় দ্রবণ, 10% Na_2CO_3, NH_4OH, (অ্যামোনিয়াম হাইড্রক্সাইড), 5% $CaCl_2$ (ক্যালসিয়াম ক্লোরাইড), গ্ল্যাসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড বা CH_3COOH, 25%HCl (হাইড্রোক্লোরিক অম্ল) 5% লেড অ্যাসিটেট $[(CH_3COO_2)Pb$, 5%$KMnO_4$ (পটাসিয়াম পারমাঙ্গানেট) 25% H_2SO_4 (সালফিউরিক অম্ল), 5% $AgNO_3$ (সিলভার নাইট্রেট) 25%HNO_3 (নাইট্রিক অম্ল), 5% $CdCl_2$ (ক্যাডমিয়াম ক্লোরাইড), 2% $FeSO_4$ (ফেরাস সালফেট), H_2O_2 (হাইড্রোজেন পারঅক্সাইড) 5%NaOH (সোডিয়াম হাইড্রক্সাইড), 2% রেসরসিনল, ঘন H_2SO_4, 95%C_2H_5OH (ইথানল), 2% ফেরিক ক্লোরাইড ($FeCl_3$), ডেনিজেস (Denigc's), দ্রবণ, পাতিত জল।

অন্যান্য উপকরণ

ফিল্টার পেপার, ওজন করার কাগজ, চামচ (spatula), কাঁচে লেখার কলম (Glass marking pen), দেশলাই এবং pH পেপার।

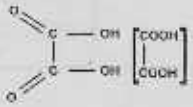
12.6.3 অক্সালিক অম্লের সনাক্তকরণ

অম্লের প্রশমীকরণ যে কোন জৈব অম্লে মুক্ত কার্বক্সিল মূলক (-COOH) থাকলে সনাক্তকরণের পরীক্ষাগুলিতে সঠিকভাবে সাড়া দেয় না। এই কারণে যে কোন অম্লকে সনাক্ত করার সময় তাকে নিম্নলিখিত ভাবে প্রশমিত করবেন —

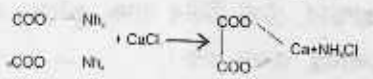
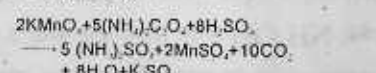
প্রথমে একটি বীকারে 5% অক্সালিক অম্লের দ্রবণ নেওয়া হল। সেই দ্রবণে ধীরে ধীরে 5%NH_4OH এর দ্রবণ ঢালা হল। কিছুক্ষণ পর পর pH পেপারের সাহায্যে মিশ্রণটির pH দেখতে হবে। মিশ্রণটি যখন সামান্য ক্ষারীয় হবে তখন NH_4OH দ্রবণ ঢালা বন্ধ করতে হবে। এরপর বার্নারের উপর মিশ্রণটিকে বসিয়ে ধীরে ধীরে উত্তপ্ত করা হল যতক্ষণ পর্যন্ত না অ্যামোনিয়ার গন্ধ অপসারিত হয়। এই দ্রবণটিকে প্রশম দ্রবণ হিসাবে ব্যবহার করা হবে।

অক্সালিক অম্ল

উৎস — কচুজাতীয় গাছে র‍্যাফাইড জাতীয় বর্জ্য পদার্থে Ca-অক্সালেট কেলাস থাকে। আমরুল পাতা অক্সালিক অম্লের আদর্শ উৎস।

রাসায়নিক সংকেত 

দ্রবণীয়তা - জলে দ্রবণীয়, অ্যালকোহলে অধিক দ্রবণীয়, ইথারে সামান্য দ্রবণীয়।

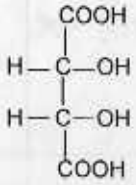
পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
1. $CaCl_2$ এর পরীক্ষা		
1a) 2ml অক্সালিক অম্লের দ্রবণে 5% $CaCl_2$ দ্রবণ মেশানো হল।	সাদা অধ:ক্ষেপ লক্ষ্য করা যায়।	অধ:ক্ষেপটি ক্যালসিয়াম অক্সালেটের ও এইক্ষেত্রে বিক্রিয়াটি নিম্নরূপ :- 
1b) অধ:ক্ষেপটির মধ্যে সমপরিমাণ গ্ল্যাসিয়াল অ্যাসিটিক অম্ল মিশ্রিত করে মিশ্রণটিকে উত্তপ্ত করা হল।	তাপপ্রয়োগে অধ:ক্ষেপটি দ্রবীভূত হয়।	ক্যালসিয়াম অক্সালেটের অধ:ক্ষেপ উত্তপ্ত অ্যাসিটিক অম্লে দ্রবণীয়।
1c) অধ:ক্ষেপটির মধ্যে 25% HCl মিশ্রিত করা হল।	অধ:ক্ষেপ দ্রবীভূত হতে দেখা গেল।	ক্যালসিয়াম অক্সালেটের অধ:ক্ষেপ খনিজ অম্লে দ্রবণীয়।
2. লেড অ্যাসিটেটের পরীক্ষা		
5ml প্রশমিত অক্সালিক অম্লের দ্রবণে কয়েক ফোঁটা 5% লেড অ্যাসিটেট ঢালা হল।	সাদা অধ:ক্ষেপ লক্ষ্য করা গেল।	এইক্ষেত্রে লেড অক্সালেট সৃষ্টি হয়েছে যা জলে অদ্রবণীয়। অক্সালিক অম্ল উপস্থিত।
3. পটাসিয়াম পারম্যাঙ্গানেটের পরীক্ষা		
5ml প্রশমিত দ্রবণের মধ্যে 5% $KMnO_4$ সম পরিমাণে মিশ্রিত করা হল। দ্রবণটিকে উত্তপ্ত করার পর তার মধ্যে ধীরে ধীরে 25% H_2SO_4 ঢালা হল।	$KMnO_4$ এর রং অদৃশ্য হতে দেখা গেল।	এই বিক্রিয়ায় অক্সালেট লবণটি জারিত হয় এবং $KMnO_4$ বিজারিত হয়। 
4. সিলভার নাইট্রেটের পরীক্ষা		
5ml প্রশম দ্রবণে 2ml 5% $AgNO_3$ মেশানো হল।	সাদা থকথকে অধ:ক্ষেপ লক্ষ্য করা যায়।	অধ:ক্ষেপটি $Ag_2C_2O_4$ কারণ এই যৌগটি জলে অদ্রবণীয়।

12.6.4 টারটারিক অম্লের সনাক্তকরণ

টারটারিক অম্ল

উৎস - সাধারণ ফলের মধ্যে তেঁতুলে সর্বাধিক পরিমাণে পাওয়া যায়। এছাড়া টম্যাটো, আনারস প্রভৃতি ফলেও এই অম্ল থাকে।

রাসায়নিক সংকেত



দ্রবণীয়তা - জলে দ্রবণীয়, ইথাইল অ্যালকোহলে সামান্য দ্রবণীয় কিন্তু ইথারে অদ্রবণীয়।

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
1. $CaCl_2$ এর পরীক্ষা		
a) প্রশমিত টারটারিক অম্লের দ্রবণে 5% $CaCl_2$ মেশানো হল। এরপরে দ্রবণের মিশ্রণকে কিছুক্ষণ জোরে ঝাঁকান হল।	প্রাথমিক অবস্থায় কোন অধঃক্ষেপ দেখা যায় না। কিন্তু মিশ্রণটিকে ঝাঁকাবার ফলে ধীরে ধীরে অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হতে দেখা গেল।	টারটারিক অম্ল বর্তমান। $[CH(OH)COONa]_2 + CaCl_2 \xrightarrow{\text{[illegible]}} [CH(OH)COO]_2Ca + 2NaCl$
b) অধঃক্ষেপটি পৃথক করে তার মধ্যে গ্লাসিয়াল অ্যাসিটিক অম্ল বা লঘু HCl ঢালা হল।	অধঃক্ষেপ অ্যাসিটিক অম্ল ও HClএ দ্রবণীয়।	Ca-টারটারেট যৌগটি অ্যাসিটিক অম্ল ও HCl এ দ্রবণীয়। টারটারিক অম্ল বর্তমান।
2. ডেনিজেসের পরীক্ষা প্রশম টারটারিক অম্লের দ্রবণে (5ml), 1ml ডেনিজেস বিকারক মিশ্রিত করা হল। এরপর ধীরে ধীরে উষ্ণ মিশ্রণে $KMnO_4$ (5%) ঢালা হল।	$KMnO_4$ এর বেগুনি বর্ণ মিশ্রণে পড়ার পরে অদৃশ্য হয়ে যেতে দেখা যায়।	টারটারিক অম্ল বর্তমান।
3. পটাসিয়াম অ্যাসিটেটের পরীক্ষা 5ml টারটারিক অম্লের প্রশমিত দ্রবণে প্রথমে গ্লাসিয়াল অ্যাসিটিক অম্ল মেশানো হল ও পরে 1 ml 5% পটাসিয়াম	সাদা অধঃক্ষেপ পড়তে দেখা গেল।	অধঃক্ষেপটি পটাসিয়াম হাইড্রোজেন টারটারেটের অর্থাৎ অম্লটি টারটারিক অম্ল।

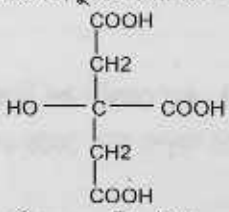
পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
অ্যাসিটেট উক্ত মিশ্রণে ঢালা হল।		
4. <u>রেসরসিনলের পরীক্ষা</u> প্রশমিত দ্রবণে কয়েক ফোঁটা রেসরসিনল (2%) ঢালা হল ও পরে 3 ml লঘু H_2SO_4 মেশানো হল।	দ্রবণের মিশ্রণটি প্রথমে গোলাপী বর্ণের হয় ও পরে বেগুনি বর্ণে রূপান্তরিত হয়।	টারটারিক অম্ল উপস্থিত।
5. <u>সিলভার নাইট্রেটের পরীক্ষা</u> প্রশমিত টারটারিক অম্লের দ্রবণে প্রথমে NH_4OH পরে পর্যাপ্ত পরিমাণে 5% $AgNO_3$ (সিলভার নাইট্রেট) ঢালা হল। এরপর মিশ্রণটিকে জলগাহে উত্তপ্ত করা হল।	টেস্ট টিউবের গায়ে রূপার চকচকে স্তর সৃষ্টি হয় যাকে 'সিলভার মিরর' (Silver Mirror) বলা হয়।	সিলভারের আবরণটি $AgNO_3$ বিজারিত হবার ফলে সৃষ্টি হয় বিজারণধর্মী টারটারিক অম্ল উপস্থিত।

12.6.5 সাইট্রিকঅম্লের সনাক্তকরণ

সাইট্রিক অম্ল

উৎস - সমস্ত টক জাতীয় ফলে পর্যাপ্ত পরিমাণে সাইট্রিক অম্ল থাকে। কমলালেবু ও বিভিন্ন জাতীয় লেবুতে সর্বাধিক পরিমাণে সাইট্রিক অম্ল থাকে।

রাসায়নিক সংকেত



দ্রবণীয়তা - জলে সম্পূর্ণভাবে দ্রবণীয়, ইথানলে আংশিক ও ইথারে অদ্রাব্য।

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
1. <u>$CaCl_2$ এর পরীক্ষা</u>		
a) একটি টেস্ট টিউবে সাইট্রিক অম্লের প্রশমিত দ্রবণ নিয়ে তার মধ্যে সমপরিমাণে $CaCl_2$	কোন অধ:ক্ষেপ লক্ষ্য করা যায় না।	বিক্রিয়ার ফলে উৎপন্ন ক্যালসিয়াম সাইট্রেট জলে দ্রবণীয় কিন্তু উচ্চ তাপমাত্রায় অদ্রবণীয়।

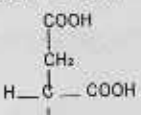
পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
মিশ্রিত করা হল।		
b) উক্ত মিশ্রণকে ঝাঁকানো হল।	কোন অধ:ক্ষেপ সৃষ্টি হল না।	
c) দ্রবণমিশ্রণকে 10 মিনিট জলগাহে উত্তপ্ত করা হল।	গাঢ় সাদা অধ:ক্ষেপ দেখা গেল।	ক্যালসিয়াম সাইট্রেটের যৌগটি আবার গ্ল্যাসিয়াল অ্যাসিটিক অম্লে দ্রবণীয়।
উক্ত অধ:ক্ষেপে গ্ল্যাসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড ঢালা হল।	অধ:ক্ষেপ ধীরে ধীরে দ্রবীভূত হল।	সাইট্রিক অম্ল উপস্থিত।
2. ডেনিজেসের পরীক্ষা		
প্রদত্ত নমুনা দ্রবণটিতে 1ml ডেনিজেস বিকারক ঢেলে ধীরে ধীরে উত্তপ্ত করা হল। এরপর উত্তপ্ত মিশ্রণে 5% $KMnO_4$ দ্রবণ ধীরে ধীরে ঢালা হল।	$KMnO_4$ এর বেগুনি বর্ণ অদৃশ্য হয়ে যায় কিন্তু তার সাথে সাথে সাদা অধ:ক্ষেপ পরে।	সাইট্রিক অম্ল উপস্থিত।
3. লেড অ্যাসিটেটের পরীক্ষা		
a) নমুনা দ্রবণে কয়েক ফোঁটা লেড অ্যাসিটেট প্রয়োগ করা হল	ঘন সাদা অধ:ক্ষেপ সৃষ্টি হল।	লেড সাইট্রেট জলে অদ্রবণীয়।
b) সৃষ্ট অধ:ক্ষেপে সম-পরিমাণ গ্ল্যাসিয়াল অ্যাসিটিক অম্ল মিশ্রিত করে মিশ্রণটিকে উত্তপ্ত করা হল।	অধ:ক্ষেপটি ধীরে ধীরে দ্রবীভূত হয়ে গেল।	লেড সাইট্রেট জলে অদ্রবণীয় হলেও উত্তপ্ত গ্ল্যাসিয়াল অ্যাসিটিক অম্লে দ্রবণীয়। নমুনাটিতে সাইট্রিক অম্ল উপস্থিত।
4. ক্যাডমিয়াম ক্লোরাইডের পরীক্ষা		
প্রদত্ত নমুনা দ্রবণটিতে 5% ক্যাডমিয়াম ক্লোরাইড মিশ্রিত করা হল।	সাদা জিলেটিনের ন্যায় অধ:ক্ষেপ লক্ষ্য করা গেল	সাইট্রিক অম্ল উপস্থিত।

12.6.6 ম্যালিক অম্লের সনাক্তকরণ

ম্যালিক অম্ল

উৎস - টম্যাটো, আপেল প্রভৃতি ফলে ম্যালিক অম্ল পাওয়া যায়। এছাড়া ক্রাসুলেসী, ক্যাকটেসী প্রভৃতি () গোত্রের উদ্ভিদেও প্রচুর পরিমাণে ম্যালিক অম্লের উপস্থিতি লক্ষ্য করা যায়।

রাসায়নিক সংকেত



দ্রবণীয়তা - ম্যালিক অম্ল জলে দ্রবণীয় হলেও ইথার জাতীয় দ্রাবকে আংশিকরূপে দ্রাব্য।

পরীক্ষা		পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
c)	$CaCl_2$ এর পরীক্ষা		
a)	নমুনা দ্রবণটিতে সম পরিমাণ $CaCl_2$ মিশ্রিত করা হল।	কোন অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল না।	ক্যালসিয়াম ম্যালেট স্বাভাবিক বা উচ্চ তাপমাত্রায় দ্রবণীয়
b)	দ্রবণটিকে উত্তমরূপে ঝাঁকানো হল।	কোন অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল না।	কিন্তু অ্যালকোহলের উপস্থিতিতে দ্রবণীয়।
c)	মিশ্রণটিকে উত্তপ্ত করা হল।	কোন অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল না।	
d)	মিশ্রণটিকে স্বাভাবিক তাপমাত্রায় রেখে 95% ইথাইল অ্যালকোহল ঢালা হল।	সাদা অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল।	প্রদত্ত নমুনাতে ম্যালিক অম্ল উপস্থিত।
2.	লেড-অ্যাসিটেটের পরীক্ষা		
a)	প্রদত্ত প্রশমিত অম্লটির দ্রবণে সামান্য পরিমাণ লেড অ্যাসিটেট ঢালা হল।	সাদা অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল।	লেড ম্যালেট জলে অদ্রাব্য।
b)	অধঃক্ষেপযুক্ত দ্রবণটিতে 1 ml গ্ল্যাসিয়াল অ্যাসিটিক অ্যাসিড প্রয়োগ করে মিশ্রণটিকে উত্তপ্ত করা হল।	অধঃক্ষেপটি দ্রবীভূত হতে দেখা গেল।	লেড ম্যালেট গ্ল্যাসিয়াল অ্যাসিটিক অম্লে দ্রাব্য।
3.	ফেরিক ক্লোরাইডের পরীক্ষা		
	প্রদত্ত প্রশম নমুণা দ্রবণটিতে 2 $FeCl_3$ মিশ্রিত করা হল	দ্রবণটির বর্ণ হলুদ হতে দেখা গেল।	প্রদত্ত নমুণা অম্লটি ম্যালিক অম্ল।

12.6.7 টাইট্রেবল অম্লের পরিমাণ নির্ধারণ

12.6.7.1. কার্যনীতি :— কোন জৈব যৌগে কার্বক্সিল মূলক (-COOH) থাকলে যৌগটি আম্লিক হয়। এই অম্লে তীব্রতা pH এর মাধ্যমে নির্ণয় করা যায়। pH হল হাইড্রোজেন আয়নের (H^+) ঘনত্বের ঋণাত্মক লগারিদম। প্রশম দ্রবণের pH 7.0 হয় এবং দ্রবণটি যত আম্লিক হয় তার pH এর মানও তত কমতে থাকে। অ্যাসিড ও ক্ষার দ্রবণ পরস্পরের সংস্পর্শে আসলে তাদের মধ্যে রাসায়নিক বিক্রিয়া হয় এবং লবণ ও জল উৎপন্ন হয়। এই পদ্ধতিকে প্রশমন ক্রিয়া বলে। মনে রাখবেন যে সম তুল্যাঙ্কের (Equivalent weight) অ্যাসিড ও ক্ষারের মিশ্রণ ঘটলেই প্রশমন ক্রিয়াটি সম্পূর্ণ হয়। যে প্রক্রিয়ায় অজ্ঞাতমাত্রা অ্যাসিড দ্রবণের নির্দিষ্ট আয়তন নিয়ে তাকে প্রমাণ ক্ষার দ্রবণ (Standard basic solution) দ্বারা প্রশমিত করে অম্লের মাত্রা বা তীব্রতা নির্ণয়ের পদ্ধতিকে অম্লমিতি বলে।

লেবু জাতীয় টক ফলে পর্যাপ্ত পরিমাণে সাইট্রিক অম্ল থাকায় লেবুর নির্যাসটি আম্লিক হয়। নির্দিষ্ট পরিমাণ লেবুর রসকে জ্ঞাত তীব্রতার NaOH দ্বারা প্রশমিত করে লেবুর রসের অম্লত্ব নির্ধারণ করা যায়। এই ক্ষেত্রে ফেনলপথ্যালিন

(Phenolphthalein) যৌগকে প্রশম নির্দেশ পদার্থ (Neutralisation indicator) হিসাবে ব্যবহার করা হয়। দ্রবণের অম্লত্বকে নর্মালিটি (N) বা মিলিতুল্যাঙ্কে (Mili equivalent) নির্ণয় করা হয়।

12.6.7.2. উপকরণ

A) সজীব উপকরণ - লেবু

B) কাঁচের উপকরণ ও অন্যান্য যন্ত্রপাতি — বীকার (100ml এর 3টি), ছোট ফানেল, পরিমাপক চোঙ, রিয়েজেন্ট বোতল, কাচের রড, বুরেট (100 ml.), পিপেট (10ml.), পিপেট স্ট্যান্ড, ইলেকট্রিক তুলাযন্ত্র, ক্ল্যাম্প ও স্ট্যান্ড, খল ও নুড়ি

C) রাসায়নিক উপকরণ — সোডিয়াম হাইড্রক্সাইড, অ্যালকোহল, ফেনলপ্থ্যালিন

D) অন্যান্য উপকরণ — ফিল্টার কাগজ, ওজন মাপার কাগজ, স্প্যাচুলা, গ্লাস মার্কিং পেন, পাতিত জল।

12.6.7.3 পরীক্ষা পদ্ধতি

A) লেবুর আম্লিক দ্রবণ প্রস্তুতকরণ — সতেজ লেবুর নির্দিষ্ট পরিমাণ (10 gm) রসালো অংশ কেটে নেওয়া হল। এরপর লেবুর রসালো তন্তুকে খল-নুড়ির সাহায্যে ভালোভাবে পিষে নিয়ে তরল অংশকে ফিলটার কাগজের সাহায্যে ছেঁকে পরিস্রুত তরলটি সংগ্রহ করা হল। এই তরলকে পাতিত জলে মিশ্রিত করে 100 ml আম্লিক দ্রবণ তৈরী করা হল।

B) $\frac{N}{10}$ NaOH দ্রবণ প্রস্তুতকরণ — 1 লিটার দ্রবণে যদি কোন পদার্থের এক তুল্যাঙ্কভার মিশ্রিত থাকে তাহলে সেই দ্রবণকে নরম্যাল দ্রবণ বলা হয়।

আমরা জানি যে কোন ক্ষারের তুল্যাঙ্কভার $= \frac{\text{ক্ষারের আণবিক গুরুত্ব}}{\text{ক্ষারের অম্লগ্রাহিতা}}$

যেহেতু কোন ক্ষারের অণুর OH এর সংখ্যাই সেই ক্ষারের অম্লগ্রাহিতা তাই তুল্যাঙ্কভার $= \frac{\text{ক্ষারের আণবিক গুরুত্ব}}{\text{OH এর সংখ্যা}}$

NaOH এর তুল্যাঙ্কভার $= \frac{40}{1}$ (NaOH এর আণবিক গুরুত্ব = 40)

অর্থাৎ 40 gm NaOH 1 লিটার দ্রবণে থাকলে 1(N) দ্রবণ তৈরী হবে। এই কারণে, 4 gm NaOH জলে দ্রবীভূত করে 1 লিটার $\frac{N}{10}$ NaOH দ্রবণ তৈরী করা হয়।

C) টাইট্রেশন পদ্ধতি — 100 ml এর বুরেটকে প্রথমে পাতিত জল দিয়ে ধৌত করা হল। এরপর সামান্য $\frac{N}{10}$ NaOH দিয়ে বুরেটটিকে ধোয়া হল। বুরেটের স্টপার বন্ধ করে ফানেলের সাহায্যে বুরেটে শূন্য চিহ্ন (০) পর্যন্ত $\frac{N}{10}$ NaOH পূর্ণ করা হল ও বুরেটটিকে স্ট্যান্ড ও ক্ল্যাম্পের সাহায্যে লম্বভাবে আটকানো হল।

তিনটি ধৌত ও শুষ্ক কনিকাল ফ্লাস্ক নেওয়া হল ও প্রতিটি ফ্লাস্কে 10 ml করে লেবুর আম্লিক নির্যাস নেওয়া হল। প্রতিটি ফ্লাস্কে দু'তিন ফোঁটা ফেনলপ্থ্যালিন দ্রবণ দেওয়া হল। এইক্ষেত্রে 1% ফেনলপ্থ্যালিন (1 gm ফেনলপ্থ্যালিনকে 100ml 80% অ্যালকোহলে দ্রবীভূত করা হয়) নির্দেশক হিসাবে ব্যবহার করা হয়।

ফ্লাস্কের আম্লিক দ্রবণে এই নির্দেশক বর্ণহীন থাকে। এইবার বুরেটের স্টপার বা স্টপককটি খুলে NaOH দ্রবণটি ধীরে ধীরে ফ্লাস্কে ঢালতে হবে এবং অন্য হাতে ফ্লাস্কটি ধীরে ধীরে নাড়াতে হবে যাতে NaOH দ্রবণটি, ফ্লাস্কটির আম্লিক দ্রবণে সমসত্বভাবে মিশে যায়। ফ্লাস্কের আম্লিক দ্রবণটি প্রশম হবার সাথে সাথে নির্দেশকটির প্রভাবে দ্রবণটি গোলাপী বর্ণ ধারণ করবে। এই সময়ে বুরেটের স্পটারটি বন্ধ করে চোখ ও বুরেটের দ্রবণের তলকে সমান্তরাল রেখায় রেখে বুরেটের পাঠ নেওয়া হল এবং বুরেট থেকে কত আয়তন $\frac{N}{10}$ NaOH ব্যবহৃত হল তা খাতায় নথিভুক্ত করা হল।

একইভাবে অন্য দু'টি কনিকাল ফ্লাস্কের আম্লিক দ্রবণের একই পদ্ধতিতে প্রশমন ঘটান হল এবং প্রতি ক্ষেত্রেই প্রাথমিক ও চূড়ান্ত পাঠ নেওয়া হল।

12.6.7.4. ফল ও গণনা

পরীক্ষার ফল (ফলাফল কাল্পনিক বা অনুমানভিত্তিক)

টাইট্রেশন সংখ্যা	আম্লিক দ্রবণের আয়তন	বুরেট পাঠ		ব্যবহৃত $\frac{N}{10}$ NaOH এর আয়তন	$\frac{N}{10}$ NaOH এর গড় আয়তন
		প্রারম্ভিক	শেষ		
1	10 ml	0 ml	5.1 ml	5.1 ml	
2	10 ml	5.1 ml	10.1 ml	5 ml	5 ml
3	10 ml	10.1 ml	15 ml	4.9 ml	

গণনা

10 ml লেবুর নির্যাস $\equiv$ 5ml $\frac{N}{10}$ NaOH

$V_1S_1 = V_2S_2$ বসিয়ে পাওয়া যায় যে, [V_1 = লেবুর নির্যাসের পরিমাণ, S_1= লেবুর নির্যাসের অম্লত্ব - যা নির্ণেয়, V_2= ব্যবহৃত $\frac{N}{10}$ NaOH এর আয়তন ও S_2= NaOH এর ক্ষারত্ব ($\frac{N}{10}$)]

$10 \times S_1 \equiv 5 \times \frac{N}{10}$

অথবা $10 \times S_1 \equiv 5 \times 1(N)$

সুতরাং $S_1 \equiv \frac{5 \times 1}{10} N$

অর্থাৎ অজ্ঞাত লেবুর রসের অম্লত্ব = .05(N)

লেবুর রসের অম্লত্বকে নিম্নলিখিত গণনার মাধ্যমে মিলিইকিউভ্যালেন্সও প্রকাশ করা যায়

10 ml লেবুর নির্যাস $\equiv$ 5ml $\frac{N}{10}$ NaOH

বা, 0.5ml 1(N)NaOH

10 gm লেবু থেকে 100 ml নির্যাস তৈরী করা হয়েছিল

$\therefore$ 1gm লেবু থেকে 10ml নির্যাস হয়েছিল।

$\therefore$ 1gm লেবুর রসকে প্রশমিত করতে 0.5 ml 1(N)NaOH ব্যবহৃত হয়

$\therefore$ 1 gm লেবুর অম্লত্ব $= 0.5 \times 10^3$ মিলিইকিউভ্যালেন্স

$= 500$ মিলিইকিউভ্যালেন্স

12.6.8 প্রশ্নাবলি

1. জৈব অম্লতে কি মূলক থাকে?
2. কোন অম্লটি স্বাভাবিক তাপমাত্রায় $CaCl_2$ এর উপস্থিতিতে অধঃক্ষেপ সৃষ্টি করে।

3. সিলভার নাইট্রেট পরীক্ষাটি কোন অম্লকে সনাক্তকরণের জন্য ব্যবহৃত হয়?
4. CAM উদ্ভিদে কোন অম্লটি সংশ্লিষ্ট হয়?
5. ডেনিজেসের বিক্রিয়ায় $KMnO_4$ এর বর্ণ অদৃশ্য হয় কেন?
6. 'সিলভার মিরর' পরীক্ষায় $AgNO_3$ কিভাবে টেস্টটিউবের গায়ে চকচকে প্রলেপ তৈরী করে?
7. 100ml $\frac{N}{10}$ NaOH করতে হলে কত গ্রাম NaOH ব্যবহার করতে হবে?
8. ফেনলপথ্যালিন নির্দেশকটি কোন্ মাধ্যমে বর্ণহীন ও কোন্ মাধ্যমে গোলাপী বর্ণ ধারণ করে?

12.6.9 উত্তরমালা

1. কার্বক্সিল (-COOH) মূলক।
2. অক্সালিক অম্ল
3. টারটারিক অম্ল — এক্ষেত্রে সিলভার মিরর সৃষ্টি হয়।
4. ম্যালিক অম্ল।
5. $KMnO_4$ বিজারিত হয় বলে এর বর্ণ অদৃশ্য হয়।
6. টারটারিক অম্ল $AgNO_3$ বিজারিত করে সিলভারের অধঃক্ষেপ ফেলে বলে।
7. 400 mg।
8. আম্লিক মাধ্যমে বর্ণহীন ও ক্ষারীয় মাধ্যমে গোলাপী বর্ণ ধারণ করে।

একক 12.7 □ কার্বোহাইড্রেট ও প্রোটিনের সনাক্তকরণের পরীক্ষা

গঠন

12.7.1 প্রস্তাবনা ও উদ্দেশ্য

12.7.2 কার্বোহাইড্রেটের পরীক্ষার প্রয়োজনীয় উপকরণ

12.7.3 গ্লুকোজ সনাক্তকরণের পরীক্ষা

12.7.4 ফ্রুক্টোজ সনাক্তকরণের পরীক্ষা

12.7.5 সুক্রোজ সনাক্তকরণের পরীক্ষা

12.7.6 স্টার্চ সনাক্তকরণের পরীক্ষা

12.7.7 প্রোটিন সনাক্তকরণের পরীক্ষা

12.7.7.1 প্রোটিন সনাক্তকরণের জন্য প্রয়োজনীয় উপকরণ

12.7.7.2 সনাক্তকরণের পরীক্ষা

12.7.8 প্রশ্নাবলি

12.7.9 উত্তরমালা

12.7.1 প্রস্তাবনা

সালোকসংশ্লেষের ফলে উদ্ভিদদেহে বিভিন্ন ধরনের কার্বোহাইড্রেট উৎপন্ন হয়। রাসায়নিকভাবে কার্বোহাইড্রেট হল পলিহাইড্রক্সি অ্যালডিহাইড বা পলিহাইড্রক্সিকিটোন। জীবকোষে কার্বোহাইড্রেটই শ্বসনের মুখ্য উপাদানরূপে অংশ গ্রহণ করে। প্রতিটি কার্বোহাইড্রেট এক বা একাধিক 'স্যাকারাইড' একক দিয়ে গঠিত। গ্লুকোজ ও ফ্রুক্টোজ মনোস্যাকারাইড, সুক্রোজ ডাইস্যাকারাইড এবং অসংখ্য গ্লুকোজ অণু বা মনোস্যাকারাইড একক দিয়ে গঠিত বলে স্টার্চকে পলিস্যাকারাইড বলে। একই উদ্ভিদের বিভিন্ন অঙ্গে বিভিন্ন শর্করার প্রাধান্য লক্ষ্য করা যায়, যেমন পাতায় গ্লুকোজ, মিষ্টি ফলে ফ্রুক্টোজ ও সুক্রোজ এবং সঞ্চয়ী অঙ্গে স্টার্চের পরিমাণ সর্বাধিক থাকে। বিভিন্ন রাসায়নিক পরীক্ষার মাধ্যমে কোন উদ্ভিদঅংশে কি ধরনের শর্করা উপস্থিত তা সনাক্ত করা যায়।

সজীব কোষের প্রোটোপ্লাজমের মুখ্য উপাদান প্রোটিন। অসংখ্য অ্যামাইনো অম্ল পেপটাইড বন্ধনীর মাধ্যমে যুক্ত হয়ে প্রোটিন অণু গঠন করে। উদ্ভিদজগতে বিভিন্ন ধরনের ডালশস্য প্রোটিনের মুখ্য ভাণ্ডার। পেপটাইড বন্ধনী অথবা প্রধান অ্যামাইনো অম্লের উপস্থিতির ভিত্তিতে প্রোটিনকে সনাক্ত করা হয়।

উদ্দেশ্য

এই এককটি পাঠ করে আপনি —

১. বিভিন্ন কার্বোহাইড্রেটের রাসায়নিক প্রকৃতি সম্বন্ধে সাধারণ ধারণা লাভ করবেন।

২. গ্লুকোজ, ফ্রুক্টোজ - এই দু'টি মনোস্যাকারাইড, সুক্রোজ নামক ডাইস্যাকারাইড ও পলিস্যাকারাইড স্টার্চকে কিভাবে রাসায়নিক ভাবে সনাক্ত করা যায় তা জানতে পারবেন।

৩. প্রোটিন সনাক্তকরণের প্রধান পরীক্ষাগুলি সম্বন্ধে অবহিত হবেন।

12.7.2. কার্বোহাইড্রেটের পরীক্ষার প্রয়োজনীয় উপকরণ

বিভিন্ন কার্বোহাইড্রেটের সনাক্তকরণের জন্য নিম্নলিখিত উপকরণগুলি প্রয়োজন

A) কাচের উপকরণ ও অন্যান্য যন্ত্রপাতি — বীকার, ফানেল, টেস্টটিউব, কাচের দণ্ড, রিয়েজেন্ট বোতল, পরিমাপক চোঙ, টেস্টটিউব হোল্ডার, টেস্টটিউব র‍্যাক, বার্নার, তারজালি, জলগাহ, তুলাযন্ত্র, ওজন বাক্স।

B) রাসায়নিক উপাদান — D-গ্লুকোজ (1% জলীয় দ্রবণ), D-ফ্রুক্টোজ (1% জলীয় দ্রবণ), সুক্রোজ (1% জলীয় দ্রবণ), দ্রবণীয় স্টার্চ (1% জলীয় দ্রবণ), ফেলিংস দ্রবণ (I ও II), α-ন্যাপথল (1gm α -ন্যাপথল 70% 100ml ইথাইল অ্যালকোহলে মিশ্রিত করে বানানো হয়), ঘন H_2SO_4 10% NaOH, সেলিওয়ানফ বিকারক, 5% সিলভার নাইট্রেট ($AgNO_3$) দ্রবণ, বেনেডিক্ট বিকারক, বারফয়েড বিকারক, আয়োডিন দ্রবণ (1%), ঘন HCl, পাতিত জল।

C) অন্যান্য উপকরণ — ওজন মাপার কাগজ, স্প্যাচুলা, গ্লাস মার্কিং পেন, দেশলাই।

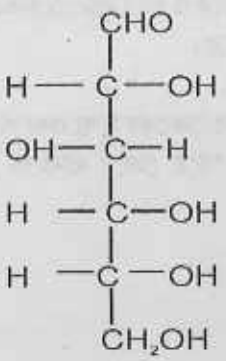
12.7.3 গ্লুকোজ সনাক্তকরণের পরীক্ষা

গ্লুকোজ

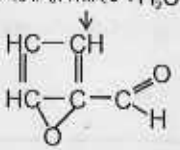
সালোকসংশ্লেষের ফলে উৎপন্ন প্রধান মনোস্যাকারাইড। স্টার্চ অণু অ্যামাইলেজ দ্বারা বিশ্লিষ্ট হয়েও উদ্ভিদকোষে গ্লুকোজ উৎপন্ন হয়। আঙ্গুর, আপেল, আম প্রভৃতির রসে পর্যাপ্ত পরিমাণে গ্লুকোজ থাকে।

রাসায়ণিক প্রকৃতি — 6C যুক্ত মনোস্যাকারাইড, তাই একে হেকেসাজ শর্করা বলা হয়। প্রথম কার্বনে মুক্ত অ্যালডিহাইড থাকায় বিজারণধর্মী। প্রকৃতিতে D-ফর্ম ডেক্সট্রোরোটেটারি অবস্থায় থাকে, D-গ্লুকোজকে ডেক্সট্রোজ বলা হয়।

গ্লুকোজের রাসায়নিক সংকেত —



(স্থূল সংকেত $C_6H_{12}O_6$)

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
1. মলিসের পরীক্ষা প্রদত্ত নমুনা দ্রবণে কয়েক ফোঁটা α-ন্যাপথল দেওয়া হল ও মিশ্রণের মধ্যে ধীরে ধীরে ঘন H_2SO_4 ঢালা হল।	জলীয় দ্রবণ ও H_2SO_4 এর সংযোগস্থলে লালচে বেগুনি বর্ণের বলয় লক্ষ্য করা গেল।	যে কোন কার্বোহাইড্রেট ঘন H_2SO_4 এর প্রভাবে মনোস্যাকারাইডে রূপান্তরিত হয়। পরে H_2SO_4 যুক্ত α-ন্যাপথলের উপস্থিতিতে ফুরফুরাল যৌগ গঠিত হয় যা লালচে বেগুনি বলয়ের সৃষ্টি করে। i) কার্বোহাইড্রেট + H_2SO_4 → মনোস্যাকারাইড ii) মনোস্যাকারাইড + H_2SO_4  ফুরফুরাল যৌগ ↓ + α ন্যাপথল লালচে বেগুনি বলয় প্রদত্ত নমুনাটি কার্বোহাইড্রেট
2. ফেলিং পরীক্ষা 2ml প্রদত্ত নমুনা দ্রবণে 1ml ফেলিং I ও 1ml ফেলিং II মেশানো হল। দ্রবণটিকে কয়েক মিনিট উত্তপ্ত করা হল।	ইটের ন্যায় অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল।	ফেলিং দ্রবণে উপস্থিত $CuSO_4$ (কিউপ্রিক) বিজারিত হয়ে Cu_2O (কিউপ্রাস) যৌগ গঠন করে। বিজারণধর্মী শর্করা উপস্থিত।
3. বেনেডিক্টের পরীক্ষা প্রদত্ত নমুণা দ্রবণে সম-পরিমাণ বেনেডিক্ট বিকারক মিশ্রিত করে মিশ্রণটিকে উত্তপ্ত করা হল।	দ্রবণটি প্রথমে হরিদ্রাভ সবুজ বর্ণ ধারণ করে ও পরে লালচে অধঃক্ষেপ সৃষ্টি করে।	বেনেডিক্ট দ্রবণের $CuSO_4$ অনুরূপভাবে Cu_2O গঠন করে। বিজারণধর্মী শর্করা উপস্থিত।
4. বারফয়েডের পরীক্ষা 1ml নমুনা দ্রবণে 2ml বারফয়েড বিকারক মিশ্রিত করে মিশ্রণকে উত্তপ্ত করা হল।	লাল অধঃক্ষেপের সূক্ষ্ম কণা পরীক্ষা নলের গায়ে লেগে থাকতে দেখা গেল।	Cu-অ্যাসিটেট বিজারণ ধর্মী যৌগের প্রভাবে Cu_2O তে রূপান্তরিত হয়। এই ধরনের বিক্রিয়া প্রধানত মনোস্যাকারাইড দ্বারা সম্পন্ন হয়। বিজারণধর্মী কার্বোহাইড্রেট মনো-স্যাকারাইড।
5. মুরের পরীক্ষা 2ml নমুনা দ্রবণে সমপরিমাণ 10% NaOH মিশ্রিত করে মিশ্রণটিকে উত্তপ্ত করা হল।	দ্রবণটি প্রথমে হলুদ ও পরে লালচে বাদামী বর্ণ ধারণ করল।	গ্লুকোজের ঘনীভবণের ফলেই এই বর্ণের সৃষ্টি হয়। প্রদত্ত নমুনাটি গ্লুকোজ।

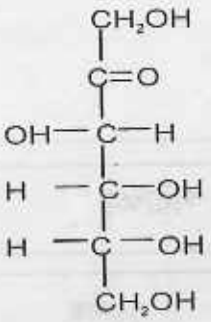
12.7.4 ফ্রুক্টোজ সনাক্তকরণের পরীক্ষা

ফ্রক্টোজ

উৎস — কেলভিন চক্রের মাধ্যমে উদ্ভিদকোষে ফ্রুক্টোজ উৎপন্ন হয়। এছাড়া সুক্রোজ নামক দ্বি-শর্করাটি সুক্রোজ উৎসেচকের দ্বারা বিশ্লিষ্ট হয়েও ফ্রুক্টোজ উৎপন্ন করে। আম, কলা প্রভৃতি ফলে পর্যাপ্ত পরিমাণে ফ্রুক্টোজ থাকে।

রাসায়নিক প্রকৃতি — 6C যুক্ত মনোস্যাকারাইড, তাই একে হেক্সোজ শর্করা বলা হয়। এই শর্করার দ্বিতীয় কার্বনে মুক্ত কিটোন (C = 0) বর্গ থাকায় এটি বিজারণধর্মী হয়। প্রকৃতিতে ফ্রুক্টোজ (D)-ফর্ম বা ডেক্সট্রোরোটেটারি অবস্থায় থাকে।

ফ্রুক্টোজের রাসায়নিক সংকেত —



(স্থূল সংকেত $C_6H_{12}O_6$)

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
1. মলিসের পরীক্ষা প্রদত্ত নমুনা দ্রবণে কয়েক ফোঁটা α-ন্যাপথল দেওয়া হল ও মিশ্রণের মধ্যে ধীরে ধীরে ঘন H_2SO_4 ঢালা হল।	জলীয় দ্রবণ ও H_2SO_4 এর সংযোগস্থলে লালচে বেগুনি বর্ণের বলয় লক্ষ্য করা গেল।	কার্বোহাইড্রেট উপস্থিত।
2. ফেলিং পরীক্ষা 2ml প্রদত্ত নমুনা দ্রবণে 1ml ফেলিং I ও 1ml ফেলিং II মেশানো হল। দ্রবণটিকে কিছুক্ষণ উত্তপ্ত করা হল।	ইটের ন্যায় অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল।	বিজারণধর্মী শর্করা উপস্থিত।
3. বেনেডিক্টের পরীক্ষা প্রদত্ত নমুনা দ্রবণে সম-পরিমাণ বেনেডিক্ট বিকারক মিশ্রিত করে মিশ্রণটিকে উত্তপ্ত করা হল।	দ্রবণটি প্রথমে হরিদ্রাভ সবুজ বর্ণ ও পরে লালচে অধঃক্ষেপ সৃষ্টি করে।	বিজারণধর্মী শর্করা উপস্থিত।

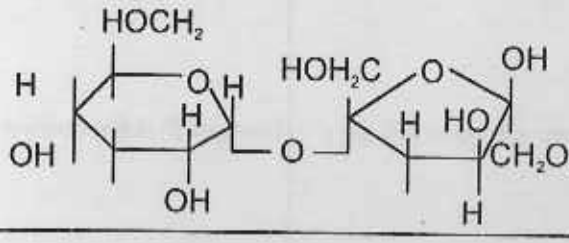
পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
4. স্যালিওয়ানফের পরীক্ষা		
ক) 2ml নমুনা দ্রবণে সমপরিমাণ স্যালিওয়ানফ বিকারক ঢালা হল। মিশ্রণকে কয়েক মিনিট উত্তপ্ত করার পর ঠাণ্ডা করা হল।	লাল রংএর অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল।	স্যালিওয়ানফ দ্রবণে উপস্থিত HCl এর প্রভাবে কিটো শর্করা দ্রুত নিরুদিত হয়ে ফুরফুরাল যৌগ গঠন করে। ফুরফুরাল যৌগ স্যালিওয়ানফের রেসরসিনলের সঙ্গে ঘনীভূত হয়ে D-ডাই হাইড্রোবেনজিন নামক কমপ্লেক্স গঠন করে।
খ) স্বাভাবিক তাপমাত্রায় অধঃক্ষেপযুক্ত মিশ্রণে 2-3 ml নিরুদিত (Absolute alcohol) ঢালা হল।	লাল অধঃক্ষেপ অপসৃত হতে দেখা গেল।	অ্যালকোহলের প্রভাবে কমপ্লেক্সটি দ্রবীভূত হয়। নমুনাটিতে ফ্রুক্টোজ নামক কিটোশর্করা উপস্থিত।

12.7.5 সুক্রোজ সনাক্তকরণের পরীক্ষা

সুক্রোজ

উৎস — সালোকসংশ্লেষের ফলে উৎপন্ন গ্লুকোজ ও ফ্রুক্টোজ — এই দু'টি মনোস্যাকারাইড পরস্পর যুক্ত হয়ে সুক্রোজ নামক ডাই-স্যাকারাইড সৃষ্টি করে। ফ্লোয়েমের মাধ্যমে শর্করা সুক্রোজরূপে পরিবাহিত হয়। আখের রস, চিনি, গুড় প্রভৃতিতে পর্যাপ্ত পরিমাণে সুক্রোজ থাকে।

রাসায়নিক প্রকৃতি — সুক্রোজ সর্বাধিক মিষ্ট ডাইস্যাকারাইড যা সুক্রোজ দ্বারা বিশ্লিষ্ট করলে গ্লুকোজ ও ফ্রুক্টোজে বিভাজিত হয়। গ্লুকোজ ও ফ্রুক্টোজ $\alpha \rightarrow 2$ গ্লাইকোসাইডিক বন্ধনী দ্বারা যুক্ত থাকে। এই শর্করা কোন মুক্ত অ্যালডিহাইড বা কিটোন বর্গ না থাকায় বিজারণ ধর্ম প্রকাশ করে না।



সুক্রোজের স্থূল সংকেত $C_{12}H_{22}O_{11}$

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
1. মলিসের পরীক্ষা প্রদত্ত নমুনা দ্রবণে কয়েক ফোঁটা α-ন্যাপথল ঢালার পর মিশ্রণের ঘন H_2SO_4 ঢালা হল।	জলীয় দ্রবণ ও H_2SO_4 এর সংযোগস্থলে লালচে বেগুনি বর্ণের বলয় লক্ষ্য করা গেল।	কার্বোহাইড্রেট উপস্থিত।

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
2. ফেলিং পরীক্ষা 2ml প্রদত্ত নমুনা দ্রবণে 1ml ফেলিং I ও 1ml ফেলিং II মেশানো হল। দ্রবণটিকে কয়েক মিনিট উত্তপ্ত করা হল।	কোন অধ:ক্ষেপ সৃষ্টি হল না।	বিজারণধর্মী শর্করা অনুপস্থিত।
3. বেনেডিক্টের পরীক্ষা প্রদত্ত নমুনা দ্রবণে সম-পরিমাণ বেনেডিক্ট বিকারক মিশ্রিত করে মিশ্রণটিকে উত্তপ্ত করা হল।	কোন অধ:ক্ষেপ লক্ষ্য করা গেল না।	বিজারণধর্মী শর্করা অনুপস্থিতি নিশ্চিত হল।
শর্করার আর্দ্রবিশ্লেষণ 5 ml নমুণা দ্রবণে 1ml 10% HCl মিশ্রিত করে মিশ্রণটিকে জলগাহে 5 মিনিট উত্তপ্ত করা হল। এরপর ধীরে ধীরে Na_2CO_3 প্রয়োগ করে দ্রবণটিকে প্রশম করা হল। pH কাগজের সাহায্যে দ্রবণটির pH =7 আছে কিনা তা দেখা হল। এইবার মিশ্রণটিকে নিয়ে নিম্নলিখিত পরীক্ষাগুলি করা হল :—		
4. ফেলিং এর পরীক্ষা	অধ:ক্ষেপ সৃষ্টি হল।	দ্বিশর্করাটি আর্দ্রবিশ্লিষ্ট হয়ে মুক্ত অ্যালডোজ ও কিটো শর্করা গঠন করেছে।
5. মুরের পরীক্ষা	দ্রবণটি প্রথমে হলুদ ও পরে লালচে বাদামী বর্ণ ধারণ করে।	মিশ্রণে গ্লুকোজ উপস্থিত।
6. স্যালিওয়ানাফের পরীক্ষা	লাল রং এর অধ:ক্ষেপ সৃষ্টি হল।	মিশ্রণে ফ্রুক্টোজ উপস্থিত। যেহেতু আর্দ্রবিশ্লিষ্ট যৌগে গ্লুকোজ ও ফ্রুক্টোজ উভয়ই উপস্থিত তাই প্রদত্ত নমুনাটি সুক্রোজ।

12.7.6 স্টার্চসনাক্তকরণের পরীক্ষা

স্টার্চ

উৎস — সালোকসংশ্লেষের ফলে উৎপন্ন গ্লুকোজ অণুগুলির পলিমারেইজেশনের ফলে স্টার্চ অণু গঠিত হয়। স্টার্চ প্রধানত কার্বোহাইড্রেটের সঞ্চয় ভাণ্ডাররূপে উদ্ভিদকোষে বিদ্যমান। চাল, গম প্রভৃতি দানাশস্যের এবং আলু, মিষ্টি আলু প্রভৃতি মূদগত পরিবর্তিত কাণ্ড ও মূলে পর্যাপ্ত পরিমাণে স্টার্চ সঞ্চিত থাকে।

রাসায়নিক প্রকৃতি — স্টার্চ প্রকৃতপক্ষে অসংখ্য গ্লুকোজ অণুর সমন্বয়ে গঠিত একটি পলিস্যাকারাইড। অন্যান্য শর্করার মতন এটি স্বাদে মিষ্ট নয় এবং জল ও অ্যালকোহল বা ইথারজাতীয় জৈব দ্রাবকে অদ্রবণীয়। প্রতিটি স্টার্চ অণু অ্যামাইলোজ ও অ্যামাইলোপেকটিন এই দু'টি শৃঙ্খলের সমন্বয়ে গঠিত। স্টার্চের স্থূল সংকেত $(C_6H_{10}O_5)_n$.

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
1. মলিসের পরীক্ষা প্রদত্ত নমুনা দ্রবণে কয়েক ফোঁটা α-ন্যাপথল ঢালার পর মিশ্রণের ঘন H_2SO_4 ধীরে ধীরে ঢালা হল।	লালচে বেগুনি বর্ণের বলয় লক্ষ্য করা গেল।	কার্বোহাইড্রেট উপস্থিত।
2. ফেলিং-এর পরীক্ষা		
3. আয়োডিনের পরীক্ষা প্রদত্ত নমুণা দ্রবণে কয়েক ফোঁটা লঘু আয়োডিন দ্রবণ মেশানো হল।	অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল না। দ্রবণটি গাঢ় নীল বর্ণ ধারণ করে।	বিজারণধর্মী শর্করা অনুপস্থিত। এইক্ষেত্রে স্টার্চ-আয়োডিন কমপ্লেক্স গঠিত হয়। স্টার্চ উপস্থিত।
স্টার্চের হাইড্রোলিসিস - সুক্রোজের ন্যায় HCl এর সাহায্যে স্টার্চকে হাইড্রোলিসিস করা হল এবং Na_2CO_3 প্রয়োগ করে দ্রবণকে প্রশমিত করা হল। প্রশমিত দ্রবণ নিয়ে নিম্নলিখিত পরীক্ষাগুলি করা হল —		
4. ফেলিং-এর পরীক্ষা	লালচে বাদামী বর্ণের অধঃক্ষেপ দেখা গেল।	বিজারণধর্মী শর্করা উপস্থিত। দ্রবণে গ্লুকোজ উপস্থিত।
5. মুরের পরীক্ষা	দ্রবণটি প্রথমে হলুদ ও পরে লালচে বাদামী বর্ণ ধারণ করে।	আর্দ্রবিশ্লিষ্ট মিশ্রণটিতে গ্লুকোজ আছে কিন্তু ফ্রুক্টোজ নেই — অর্থাৎ প্রদত্ত নমুনাটি স্টার্চ।
6. স্যালিওয়ানাফের পরীক্ষা	কোন অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল না।	

12.7.7 প্রোটিনের সনাক্তকরণের পরীক্ষা

12.7.7.1 প্রয়োজনীয় উপকরণ

A) কাচের উপকরণ ও অন্যান্য যন্ত্রপাতি — বীকার, ফানেল, টেস্টটিউব, রিয়েজেন্ট বোতল, আয়তনমাপক চোঙ, টেস্ট টিউব হোল্ডার, বার্নার, ক্ল্যাম্প ও স্ট্যান্ড, তারজালি, জলগাহ, রাসায়নিক তুলাযন্ত্র, টেস্ট টিউব র‍্যাক, কাচের দণ্ড।

B) রাসায়নিক উপাদান — গ্ল্যাসিয়াল অ্যাসিটিক অম্ল, ঘন HCl, ঘন H_2SO_4, 40% NH_4OH অ্যালকোহল, 4%NaOH, 1%$CuSO_4$, 50%HNO_3, মিলনের বিকারক, 10% লেড অ্যাসিটেট $[Pb(CH_3COO)_2]$, বোভাইন সিরাম অ্যালবুমিন।

C) অন্যান্য উপকরণ — ফিল্টার কাগজ, স্প্যাচুলা, গ্লাস মার্কিং পেন, দেশলাই, অঙ্কুরিত ছোলা।

প্রোটিন

উৎস — গম জাতীয় তৃণশস্য ও ছোলা, সোয়াবিন প্রভৃতি ডালশস্যে প্রচুর প্রোটিন থাকে। অঙ্কুরিত বীজে প্রোটিনের পরিমাণ অনেক বেড়ে যায়। সজীব কোষের প্রোটোপ্লাজমের মুখ্য উপাদান হল প্রোটিন।

রাসায়নিক প্রকৃতি — অ্যামাইনো অম্লগুলি পরস্পর পেপটাইড বন্ধনীর সাহায্যে যুক্ত হয়ে প্রোটিন গঠন করে। প্রোটিন অণুতে কার্বন (C), হাইড্রোজেন (H), অক্সিজেন (O), নাইট্রোজেন (N), সালফার (S) এবং অধিকাংশ ক্ষেত্রে ফসফরাসও (P) পাওয়া যায়। জলে প্রোটিন কোলয়েড দ্রবণ তৈরী করে।

প্রোটিনের নমুণা তৈরীর পদ্ধতি

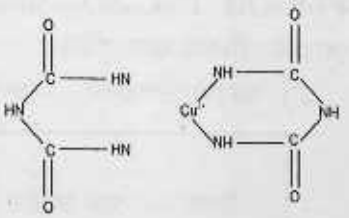
A) 500 মিলিগ্রাম বোভাইন সিরাম অ্যালবুমিন 100ml পাতিত জলে মিশ্রিত করে ভালোভাবে ঝাঁকিয়ে প্রোটিনের নমুনা দ্রবণ তৈরী করা যায়।

B) 10 গ্রাম অঙ্কুরিত ছোলাকে খল-নুড়িতে ভালোভাবে পিষে ফিলটার কাগজ দিয়ে পরিস্রুত করে তাতে পাতিত জল মিশ্রিত করে 100 ml প্রোটিন দ্রবণ তৈরী করা যায়।

C) এক ডিম ফাটিয়ে 10ml সাদা অংশ বা অ্যালবুমিন নিয়ে তাতে পাতিত জল মিশ্রিত করে প্রোটিন দ্রবণ তৈরী করা যায়।

12.7.7.2 সনাক্তকরণের পরীক্ষা

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
1. তঞ্চনের পরীক্ষা 2ml নমুনা দ্রবণ নিয়ে তাতে সমপরিমাণ অ্যাসিটিক অম্ল মিশ্রিত করে মিশ্রণটিকে উত্তপ্ত করা হল।	মিশ্রণটি তঞ্চিত হতে দেখা গেল।	আম্লিক মাধ্যমে প্রোটিন অণুর গঠনের বিকৃতি (Denaturation) ঘটে এবং অণুগুলি পরস্পরের সঙ্গে যুক্ত হয়ে দ্রবণে তঞ্চিত হয়। নমুনাটিতে প্রোটিন উপস্থিত।

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
2. বাউরুট পরীক্ষা 2ml নমুনা দ্রবণে 4% NaOH (1ml) দেওয়া হল এবং কয়েক ফোঁটা $CuSO_4$ ঢালা হল।	লালচে বেগুনি রং সৃষ্টি হল।	ক্ষারীয় মাধ্যমে $CuSO_4$ পেপটাইড বন্ধনী অঞ্চলে যুক্ত হয়ে লালচে বেগুনি রং এর কমপ্লেক্স গঠন করে। এই কমপ্লেক্স (বাউরেট)টির গঠন নিম্নরূপ  নমুনাটিতে প্রোটিন উপস্থিত।
3. জ্যান্থোপ্রোটিক পরীক্ষা		
a) 2ml নমুনা দ্রবণে সমপরিমাণ 50% HNO_3 ঢালা হল এবং মিশ্রণকে জলগাহে উত্তপ্ত করা হল।	প্রথমে সাদা অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল যা তাপ প্রয়োগে হলুদ বর্ণ ধারণ করল।	অ্যারোমেটিক অ্যামাইনো অম্লগুলি নাইট্রিক অম্লের প্রভাবে নাইটো-ডেরিভেটিভ গঠন করে যা তাপের প্রভাবে হলুদ বর্ণ ধারণ করে।
b) উক্ত দ্রবণের মিশ্রণকে শীতল করে তাতে অতিরিক্ত পরিমাণে 40% NH_4OH ঢালা হল।	হলুদ বর্ণ কমলা বর্ণে রূপান্তরিত হল।	প্রোটিনের অ্যারোমেটিক নাইট্রোডেরিভেটিভগুলি যে লবণ সৃষ্টি করে তার কমলা বর্ণের নমুনা দ্রবণে টাইরোসিন, ট্রিপ্টোফ্যান ও ফিনাইলঅ্যালানিন নামক অ্যারোমেটিক অ্যামাইনো অম্ল আছে — অর্থাৎ প্রোটিন উপস্থিত।
4. মিলনের পরীক্ষা 3ml প্রোটিন দ্রবণে 2ml মিলন বিকারক মিশ্রিত করে মিশ্রণকে জলগাহে 5 মিনিট উত্তপ্ত করা হল।	বাদামী লাল অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল।	ফেনলিক অ্যামাইনো অম্ল টাইরোসিন, মিলন বিকারকে উপস্থিত নাইট্রিক অম্লের প্রভাবে মারকারি বা পারদের (Hg) সঙ্গে যুক্ত হয়ে বাদামী লাল কমপ্লেক্স গঠন করে। নমুনা দ্রবণে প্রোটিন উপস্থিত।

12.7.8 প্রশ্নাবলি

1. ডেক্সট্রোজ কি?
2. সমস্ত কার্বোহাইড্রেট কোন্ পরীক্ষায় সাড়া দেয়?
3. ফেলিংএর পরীক্ষা কি ধরনের শর্করার অস্তিত্ব প্রমাণ করে?
4. সুক্রোজে গ্লুকোজ ও ফ্রুক্টোজ উভয়ই উপস্থিত থাকলেও সুক্রোজ কেন বিজারণ ধর্মী শর্করা নয়?
5. কোন্ পরীক্ষার মাধ্যমে ফ্রুক্টোজের উপস্থিতি নিশ্চিত করা যায়?
6. প্রোটিনের অ্যারোমেটিক অ্যামাইনো অম্লগুলি কোন্ পরীক্ষায় সাড়া দেয়?
7. বাউরেট পরীক্ষায় $CuSO_4$ প্রোটিনের কোন্ অংশের সাথে বিক্রিয়া করে?
8. ফেনলিক অ্যামাইনো অম্ল টাইরোসিনকে কোন্ পরীক্ষার দ্বারা সনাক্ত করবেন?

12.7.9 উত্তরমালা

1. D-ফর্মের বা ডেক্সট্রোরোটেটরি গ্লুকোজকে ডেক্সট্রোজ বলে।
2. মলিসের পরীক্ষা।
3. বিজারণধর্মী শর্করার অস্তিত্ব।
4. গ্লকোজ ও ফ্রুক্টোজের মুক্ত অ্যালডিহাইড ও কিটোন বর্গ থাকে না কারণ এই বর্গ দুতি গ্লাইকোসাইডিক. বন্ধনী গঠনে নিয়োজিত হয়।
5. স্যালিওয়ানফের পরীক্ষার মাধ্যমে।
6. জ্যান্থোপ্রোটিক পরীক্ষা
7. পেপটাইড বন্ধনীর সাথে বিক্রিয়া করে।
8. মিলনের পরীক্ষা।

একক 12.8 □ উদ্ভিদ নমুনা থেকে Ca, Mg, Fe ও S সনাক্তকরণ ও জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ নির্ণয়

গঠন

12.8.1 প্রস্তাবনা ও উদ্দেশ্য

12.8.2 উদ্ভিদ নমুনা থেকে Ca, Mg, Fe ও S এর সনাক্তকরণ

12.8.3 জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ নির্ণয়

12.8.3.1 কার্যনীতি

12.8.3.2 প্রয়োজনীয় উপকরণ

12.8.3.3 পরীক্ষা পদ্ধতি

12.8.3.4 গণনা ও ফলাফল

12.8.4 প্রশ্নাবলি

12.8.5 উত্তরমালা

12.8.1 প্রস্তাবনা

উদ্ভিদদেহের পুষ্টি সাধনে কতগুলি খনিজ মৌল অত্যাবশ্যক ভূমিকা গ্রহণ করে। ফসফরাস, পটাসিয়াম, সালফার, ম্যাগনেসিয়াম, লৌহ প্রভৃতি খনিজ মৌলগুলি উদ্ভিদপুষ্টির জন্য অধিকমাত্রায় প্রয়োজন বলে এদের অতিমাত্রিক মৌল (macroelement) বলে। উদ্ভিদ অঙ্গকে অম্মীভূত করলেও এই মৌলগুলি অবিকৃত অবস্থায় থাকে এবং বিভিন্ন রাসায়নিক যৌগে আবদ্ধ মৌলগুলিও মুক্ত হয়। কয়েকটি সাধারণ অজৈব রাসায়নিক পরীক্ষার মাধ্যমে মৌলগুলিকে তখন সহজেই সনাক্ত করা যায়।

জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের সাহায্যে জলজ জীবকুল সবাত শ্বসন সম্পন্ন করে। দূষণবিহীন জলে এই অক্সিজেনের মাত্রা স্বাভাবিক থাকে কিন্তু জলে বায়ুজীবী অনুজীবের সংখ্যা বৃদ্ধি পেলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের মাত্রা কমে যায়। জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের প্রভাবে বিক্রিয়া পদ্ধতিতে ম্যাঙ্গানিজ হাইড্রক্সাইড সৃষ্টি করা হয় যা আম্লিক মাধ্যমে আয়োডাইড লবণ থেকে আয়োডিন মুক্ত করে। থায়োসালফেট টাইট্রেশনের মাধ্যমে এই মুক্ত আয়োডিনের পরিমাণ বের করে জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ নির্ণয় করা হয়।

উদ্দেশ্য

এই এককটি পাঠ করে আপনি

1. Ca, Mg, Fe ও S এই চারটি অতিমাত্রিক মৌলকে উদ্ভিদ দেহ থেকে সনাক্ত করতে পারবেন।
2. জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের মাত্রা নির্ণয় করতে পারবেন।
3. বিভিন্ন উৎস থেকে জলের অক্সিজেনের মাত্রা পরিমাপ করে জলের জীবজ দূষণ সম্পর্কে ধারণা লাভ করতে পারবেন।

12.8.2 উদ্ভিদ নমুনা থেকে Ca, Mg, Fe ও S সনাক্তকরণ

A) উদ্ভিদ নমুনা - তামাক পাতা

B) কাচের উপকরণ ও অন্যান্য যন্ত্রপাতি

বীকার, ফানেল, টেস্ট টিউব কাচের রড, রিয়েজেন্ট বোতল, পরিমাপক চোঙ, টেস্ট টিউব হোল্ডার, টেস্ট টিউব র‍্যাক, বার্নার, তারজালি, ক্ল্যাম্প ও স্ট্যান্ড, রাসায়নিক তুলাযন্ত্র ও ওজন বাক্স।

C) রাসায়নিক উপকরণ -

50%HCl, 50% HNO_3, 50% NH_4OH, অ্যামোনিয়াম অক্সালেট, ডাইসোডিয়াম হাইড্রোজেন ফসফেট (Na_2HPO_4), 2% পটাসিয়াম ফেরোসায়ানাইড ($K_4[Fe(CN)_6]$ দ্রবণ, 5% বেরিয়াম ক্লোরাইড ($BaCl_2$) দ্রবণ, 5% পটাসিয়াম থায়োসায়ানাইড (KCNS) দ্রবণ।

D) অন্যান্য উপকরণ — ফিলটার কাগজ

1. HCl এর নির্যাস তৈরী — 5gm তামাক পাতাকে আগুনে পুড়িয়ে ছাই তৈরী করা হল। এই ছাইকে 20 ml, 50% HCl মিশিয়ে 5 থেকে 10 মিনিট উত্তপ্ত করা হল। HCl-এর নির্যাসকে ফানেলে স্থাপিত ফিলটার কাগজের সাহায্যে পরিস্রুত করে, পরিস্রুত নির্যাসে পাতিত জল ঢেলে 50ml করা হল।

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
A) ক্যালসিয়াম সনাক্তকরণ 10ml এর নির্যাসকে পরীক্ষা নলে নিয়ে তাতে 50% NH_4OH প্রয়োগ করা হল। মিশ্রণটির মধ্যে কয়েক ফোঁটা ঘন অ্যামোনিয়াম অক্সালেটের দ্রবণ মেশানো হল।	সাদা অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল।	ছাই-এ উপস্থিত ক্যালসিয়াম, অ্যামোনিয়াম অক্সালেটের সাথে বিক্রিয়া করে সাদা ক্যালসিয়াম অক্সালেটের অধঃক্ষেপ $\begin{matrix} Coo \\ \vert \\ Coo \end{matrix} Ca$ সৃষ্টি করে। পাতার মধ্যে ক্যালসিয়াম উপস্থিত।
B) ম্যাগনেসিয়াম সনাক্তকরণ ক্যালসিয়ামের পরীক্ষার পর ফিলটার কাগজের মাধ্যমে Ca-অক্সালেটের অধঃক্ষেপ পরিস্রুত করে দ্রবণটিকে ফুটিয়ে 2-3 ml করা হল। ঘনীভূত দ্রবণকে [illegible] Na_2HPO_4 এর সম্পৃক্ত দ্রবণ (2ml) মেশানো হল। এরপর কাচের দণ্ড দিয়ে পরীক্ষা নলের গায়ে ঘষা হল।	সাদা কেলাসাকার অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল।	কেলাসটি-অ্যামোনিয়াম-ম্যাগনেসিয়াম ফসফেটের $[(NH_4)_3 MgPO_4]$ যা জলে অদ্রবণীয় পাতায় ম্যাগনেসিয়াম উপস্থিত।
C) লৌহের সনাক্তকরণ — 1. 5ml HCl নির্যাসে 2% পটাসিয়াম ফেরোসায়ানাইড মেশানো হল।	গাঢ় নীল (প্রুসিয়ান ব্লু) বর্ণের সৃষ্টি হল।	ফেরোসায়ানাইড ফেরিসায়ানাইড রূপান্তরিত হয়েছে। পাতায় লৌহ উপস্থিত।

পরীক্ষা	পর্যবেক্ষণ	সিদ্ধান্ত
2. 5ml HCl নির্যাসে কয়েক ফোঁটা পটাসিয়াম থায়োসায়ানেট মেশানো হল।	মিশ্রণটি রক্তের ন্যায় লাল বর্ণ ধারণ করল।	লৌহের উপস্থিতিতে পটাসিয়াম থায়োসায়ানেট, ফেরাস থায়োসায়ানেটে $[Fe(CNS)_6]$ রূপান্তরিত হয়েছে। পাতায় লৌহ উপস্থিত।
D) সালফারের সনাক্তকরণ 5ml HCl নির্যাসে কয়েক ফোঁটা 5% $BaCl_2$ মেশানো হল।	সাদা কেলাসাকার অধঃক্ষেপ সৃষ্টি হল।	অধঃক্ষেপটি বেরিয়াম সালফেটের ($BaSO_4$)। পাতায় সালফার উপস্থিত।

12.8.3 জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ নির্ণয়

12.8.3.1 কার্যনীতি — জলজ প্রাণী ও উদ্ভিদেরা জলে দ্রবীভূত অক্সিজেন (O_2) গ্রহণ করে সবাত ক্রিয়া সম্পন্ন করে। পরিস্রুত বা দূষণবিহীন জলে অক্সিজেনের মাত্রা সর্বাধিক থাকে কিন্তু জল জীবাণু দ্বারা দূষিত হলে জলজ বায়ুজীবী অনুজীবেরা প্রচুর পরিমাণ জলে দ্রবীভূত অক্সিজেন গ্রহণ করায় জলে অক্সিজেনের পরিমাণ কমে যায়। অপরদিকে, জলজ উদ্ভিদেরা সালোকসংশ্লেষ প্রক্রিয়ায় জলে অক্সিজেন সরবরাহ করে। জলের তাপমাত্রা, লবণাক্ততা, খনিজ লবণের উপস্থিতি এবং অপরদিকে অনুজীব, সালোকসংশ্লেষকারী উদ্ভিদ ও জলজ প্রাণীর সংখ্যা জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের মাত্রা নিয়ন্ত্রণ করে। সাধারণভাবে জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনকে mg/লিটার বা ppm (part per million) ঘনত্বে প্রকাশ করা হয়।

উইঙ্কলার (Winkler) পদ্ধতিতে জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের মাত্রা নির্ণয় করা যায়। ম্যাঙ্গানিজ আয়ন (Mn^{2+}) জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের দ্বারা জারিত হয়ে ম্যাঙ্গানিজ আয়ন (Mn^{3+}) গঠন করে। ক্ষারীয় মাধ্যমে এই জারিত আয়নগুলি, ম্যাঙ্গানিজের হাইড্রক্সাইডরূপে ($MnO(OH)_2$ এবং $Mn(OH)_2$) রূপে অধঃক্ষিপ্ত হয়। লঘু H_2SO_4 এর উপস্থিতিতে আয়োডাইড আয়ন ম্যাঙ্গানিজের হাইড্রক্সাইডকে ম্যাঙ্গানাস সালফেটে রূপান্তরিত করে এবং আয়োডাইড আয়ন জারিত হয়ে মুক্ত আয়োডিন (I_2) উৎপন্ন করে। জলে অক্সিজেনের পরিমাণ যত বেশী হয় ম্যাঙ্গানিজ হাইড্রক্সাইডের ও পরবর্তী পর্যায়ে ম্যাঙ্গানাস সালফেটের পরিমাণ তত বেশী হয়। এই কারণে ম্যাঙ্গানাস সালফেটেব ($MnSO_4$) পরিমাণ বেশী হলে অধিক পরিমাণে মুক্ত আয়োডিন (I_2) নির্গত হয়। থায়োসালফেটের সাহায্যে আয়োডিনের পরিমাণ নির্ধারণ করা হয়। এক্ষেত্রে স্টার্চকে টাইট্রেশনের নির্দেশক হিসাবে ব্যবহার করা হয়। স্টার্চ অণু, আয়োডিনের সাথে বিক্রিয়া করে গাঢ় নীল বর্ণ ধারণ করে। বুরেটের থায়োসালফেট আয়োডিনের সাথে বিক্রিয়া করার ফলে স্টার্চ-আয়োডিন কমপ্লেক্স থেকে আয়োডিনের অণুগুলি অপসারিত হতে থাকে এবং দ্রবণটি নীলাভ বর্ণ হারিয়ে ফেলা অবধি যে পরিমাণ থায়োসালফেট ব্যবহৃত হয় তাকেই টাইট্রেশনের পরিমাপক আয়তন বলা হয়। তাই বলা যায়, বুরেটের থায়োসালফেট অধিক ব্যবহৃত হওয়ার অর্থ হল অধিক আয়োডিন উপস্থিত ছিল এই আয়োডিনের পরিমাণ আবার জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের সমানুপাতিক।

i) Mn^{2+} (ম্যাঙ্গানিজ আয়ন) $\xrightarrow{\text{জলে দ্রবীভূত } O^{2-}}$ Mn^{3+} (ম্যাঙ্গানিজ আয়ন)

ii) Mn^{2+} —(অ্যালকালি বা ক্ষারীয় মাধ্যম)→ $MnO(OH)_2 + Mn(OH)_2$ (ম্যাঙ্গানিজের হাইড্রক্সাইড)

iii) ম্যাঙ্গানিজ হাইড্রক্সাইড —(আয়োডাইড লবণ, H_2SO_4)→ ম্যাঙ্গানিজ সালফেট $+ I_2$

iv) থায়োসালফেট ট্রাইটেশনের মাধ্যমে আয়োডিনের পরিমাণ নির্ণয়

12.8.3.2 প্রয়োজনীয় উপকরণ

A) কাচের উপকরণ ও অন্যান্য যন্ত্রপাতি

বীকার, পিপেট (2ml), কাচের ছিপিযুক্ত রিয়েজেন্ট বোতল (300ml), কনিকাল ফ্লাস্ক (250ml), পরিমাপক চোঙ, বুরেট, বুরেট স্ট্যান্ড, পিপেট স্ট্যান্ড, রাসায়নিক তুলাযন্ত্র, ওজন বাক্স

B) রাসায়নিক উপাদান

1. $MnSO_4$ (36 gm $MnSO_4$, 100 ml পাতিত জলে দ্রবীভূত করতে হবে)
2. ক্ষারীয় আয়োডিন দ্রবণ

   দ্রবণ a) 100 gm NaOH 100 ml পাতিত জলে দ্রবীভূত করতে হবে

   দ্রবণ b) 27gm NaI 100ml পাতিত জলে দ্রবীভূত করতে হবে

   দ্রবণ c) a এবং b দ্রবণ সম পরিমাণে মিশিয়ে c দ্রবণ তৈরী করতে হবে।
3. ঘন H_2SO_4
4. স্টার্চ ইন্ডিকেটর -.1gm স্টার্চ 100 ml জলে দ্রবীভূত করে তাকে সামান্য উত্তপ্ত করে স্টার্চের দ্রবণ বানাতে হবে।
5. সোডিয়াম থায়োসালফেট (0.025N) দ্রবণ। 6.025 gm $Na_2S_2O_3$, 5 H_2O 1000ml পাতিত জলে দ্রবীভূত করলে সোডিয়াম থায়োসালফেটের 0.025N দ্রবণ তৈরী হয়।
6. পুকুর বা অন্য জলাশয়ের জল যার দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ নির্ণয় করতে হবে।

12.8.3.3. পরীক্ষা পদ্ধতি

1. দুটি 300 ml রিয়েজেন্ট বোতলকে জলাশয়ের নীচে ডুবিয়ে জলে ভর্তি করতে হবে। লক্ষ্য রাখতে হবে যেন বোতলে বাতাস প্রবেশ না করে এবং সাথে সাথে বোতল দু'টির ছিপি বন্ধ করতে হবে। বোতল দু'টিকে ক ও খ রূপে চিহ্নিত করা দরকার।
2. প্রতিটি রিয়েজেন্ট বোতলে 2ml $MnSO_4$ দ্রবণ এবং 2ml ক্ষারীয় আয়োডিন দ্রবণ (D) পিপেটের সাহায্যে মিশ্রিত করতে হবে। পিপেটের মুখ জলের মধ্যে ডুবিয়ে দ্রবণ দু'টি ঢালা প্রয়োজন।
3. বোতলটির মুখ বন্ধ করে ভালোভাবে ঝাঁকিয়ে দ্রবণ দু'টিকে মিশ্রিত করতে হবে। এই সময়ে বাদামী হলুদ বর্ণের অধঃক্ষেপ [$Mn(OH)_2$ এবং $MnO(OH)_2$] তৈরী হবে। বোতলটিকে খানিকক্ষণ স্থির অবস্থায় অধঃক্ষেপণ প্রক্রিয়াকে সম্পূর্ণ হতে দিতে হবে।
4. পুনরায় বোতলকে ঝাঁকিয়ে বোতলের মুখ খুলে বোতলের দ্রবণে পিপেটের সাহায্যে একই পদ্ধতিতে 2ml ঘন H_2SO_4 মেশাতে হবে।
5. বোতলের ছিপি বন্ধ করে ভালোভাবে ঝাঁকাবার পর দেখা যাবে যে জল বাদামী বর্ণের (মুক্ত I_2) হয়েছে এবং আগের অধঃক্ষেপ দ্রবীভূত হয়ে গেছে।

6. এরপর চারটি 250ml এর কনিকাল ফ্লাস্ক নিতে হবে। A বোতল থেকে 50ml করে দ্রবণ দু'টি কনিকাল ফ্লাস্কে ঢালতে হবে এবং কনিকাল ফ্লাস্ক দুটিকে A_1 ও A_2 রূপে চিহ্নিত করতে হবে। একইভাবে অপর ফ্লাস্ক দু'টি কনিকাল ফ্লাস্কে B বোতল থেকে 50ml করে দ্রবণ ঢালতে হবে এবং ফ্লাস্ক দু'টিকে B_1 ও B_2 রূপে চিহ্নিত করতে হবে।

7. প্রতিটি কনিকাল ফ্লাস্কে 1ml করে স্টার্চ দ্রবণ (ট্রাইট্রেশনের নির্দেশক) ঢালা হবে। এর ফলে ফ্লাস্কের তরল গাঢ় নীল বর্ণ ধারণ করবে।

8. এরপর বুরেটে 0.025(N) থায়োসালফেট দ্রবণ ঢালা হবে। লক্ষ্য করতে হবে যেন বুরেটের 'O' দাগটিকে দ্রবণের নিম্নতল স্পর্শ করে। এরপর থায়োসালফেট দিয়ে কণিকাল ফ্লাস্কে উৎপন্ন আয়োডিনের ট্রাইট্রেশন করতে হবে। ফ্লাস্কের দ্রবণের নীল বর্ণ অদৃশ্য হওয়াকেই ট্রাইট্রেশনের প্রান্তবিন্দু (end point) রূপে চিহ্নিত করা হয়। বুরেটের প্রাথমিক ও চূড়ান্ত পাঠ লিপিবদ্ধ করতে হবে।

A নমুনা থেকে গৃহীত পরীক্ষর ফল (ফল কাল্পনিক)

নমুনা	ক্রমিক সংখ্যা	দ্রবণের পরিমাণ(ml)	বুরেটের পাঠ প্রাথমিক পাঠ(ml)	চূড়ান্ত পাঠ(ml)	ব্যবহৃত $Na_2S_2O_3$র পরিমাণ(ml)	গড় পরিমাণ
A.	I (A_1)	50	0	4.6	4.6	4.5
	2 (A_2)	50	4.6	5.0	4.4	

$Na_2S_2O_3$

12.8.3.4. গণনা ও ফলাফল

একটি জটিল গাণিতিক সমীকরণের মাধ্যমে জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ নির্ণয় করা যায়।

$$\text{প্রতি লিটার জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ} = \frac{K \times 200 \times \text{ব্যবহৃত এর আয়তন} \times 0.698}{\text{ট্রাইট্রেশনের জন্য গৃহীত তরলের আয়তন}}$$

$$K = \frac{\text{বোতলের আয়তন}}{\text{বোতলের আয়তন} - \text{বোতলের বিকারকের পরিমাণ}}$$

এক্ষেত্রে বিকারকের পরিমাণ = 4 ml (2ml $MnSO_4$+2ml ক্ষারীয় আয়োডিন)

$$\therefore K = \frac{300}{300-4} = \frac{300}{296} = 1.014$$

পরীক্ষাটিতে ট্রাইট্রেশনের সময় গড়ে 4.5 ml $Na_2S_2O_3$ ব্যবহৃত হয়েছিল।

$$\text{এইক্ষেত্রে, প্রতি লিটার জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ} = \frac{1.014 \times 200 \times 4.5 \times 0.698}{50}$$

$$= 12.74 \text{ mg/ লিটার}$$

B_1 ও B_2 কনিকাল ফ্লাস্ক থেকে অনুরূপভাবে ট্রাইট্রেশন পদ্ধতিতে দ্রবীভূত অক্সিজেনের পরিমাণ নির্ণয় করে

পূর্ববর্তী পরীক্ষার (নমুনা A) মাধ্যমে নির্ণীত অক্সিজেনের পরিমাণের সাথে যোগ করে তার গড় নির্ণয় করলে আরও নির্ভুল ফল পাওয়া যাবে।

12.8.4. প্রশ্নাবলি

১. খনিজ মৌলগুলিকে সনাক্ত করার জন্য শুকনো পাতাকে পুড়িয়ে ছাই করা হয় কেন?

২. অ্যামোনিয়াম অক্সালেট, ক্যালসিয়াম মৌলের সাথে বিক্রিয়া করে কোন্ যৌগ গঠন করে?

৩. বেরিয়াম ক্লোরাইডের সাহায্যে কোন মৌলকে সনাক্ত করা হয়?

৪. আয়োডিনের মাত্রা নির্ধারণ করার জন্য স্টার্চকে সূচক হিসাবে ব্যবহার করা হয় কেন?

৫. জলে দ্রবীভূত অক্সিজেনর মাত্রা নির্ণয়ের সময়ে কি সতর্কতা অবলম্বন করা আবশ্যক?

৬. অক্সিজেন পরিমাণ নির্ণয়ের সময়ে বুরেটে কোন্ দ্রবণ ভরতে হবে?

12.8.5 উত্তরমালা

১. ১২.৮.১ দেখুন।

২. ক্যালসিয়াম অক্সালেট।

৩. সালফার।

৪. ১২.৮.৩.১ দেখুন।

৫. যে রিয়েজেন্ট বোতলে জল ভরা হবে তাতে যেন বাতাস প্রবেশ না করে।

৬. 0.025 (N) থায়োসালফেট।

একক 12.9 ☐ টাইট্রেশণ পদ্ধতিতে ক্যাটালেজ উৎসেচক ও অ্যামাইনো নাইট্রোজেনের পরিমাণ নির্ণয়

গঠন

12.9.1 প্রস্তাবনা ও উদ্দেশ্য

12.9.2 ক্যাটালেজের পরিমাণ নির্ণয়

12.9.2.1 কার্যনীতি

12.9.2.2 প্রয়োজনীয় উপকরণ

12.9.2.3 পরীক্ষা পদ্ধতি

12.9.2.4 ফল ও গণনা

12.9.3 ফরম্যাল ট্রাইট্রেশন পদ্ধতিতে অ্যামাইনো নাইট্রোজেনের পরিমাণ নির্ণয়

12.9.3.1 কার্যনীতি

12.9.3.2 প্রয়োজনীয় উপকরণ

12.9.3.3 পরীক্ষা পদ্ধতি

12.9.3.4 ফলাফল ও গণনা

12.9.4 প্রশ্নাবলি

12.9.5 উত্তরমালা

12.9.1 প্রস্তাবনা

কোষে বিভিন্ন বিপাক ক্রিয়ার ফলে হাইড্রোজেন পারঅক্সাইড (H_2O_2) নামক বিষাক্ত রাসায়নিক পদার্থ উৎপন্ন হয়। ক্যাটালেজ উৎসেচকটি H_2O_2কে বিশ্লিষ্ট করে H_2O ও O_2 উৎপন্ন করে। তাই ক্যাটালেজকে 'আবর্জনা অপসারণকারী উৎসেচক' (Scavenging enzyme) বলে। H_2O_2কে সাবস্ট্রেটরূপে ব্যবহার করে তাতে উদ্ভিদ অঙ্গের নির্যাসকে (extract) ক্যাটালেজের উৎস হিসাবে প্রয়োগ করলে কিছুটা H_2O_2 বিশ্লিষ্ট হয়ে যায় এবং অবশিষ্ট H_2O_2কে $KMnO_4$ এর সাহায্যে ট্রাইট্রেশনের মাধ্যমে পরিমাপ করে ক্যাটালেজের ক্রিয়াশীলতা নির্ধারণ করা যায়।

অ্যামাইনো অম্লগুলি জুইটারায়ান (Zwitter ion) গঠন করে বলে তাতে ক্যাটায়ন ও অ্যানায়ন উভয়ই সক্রিয় থাকে। এই কারণে তাদের পরিমাণ অম্লমিতির মাধ্যমে নির্ণয় করা যায় না। অ্যামাইনো অম্লের সাথে ফরম্যালডিহাইডযুক্ত করলে অ্যামাইনো বর্গটি ফরম্যালডিহাইডের সঙ্গে আবদ্ধ হয় কিন্তু কার্বক্সিল বর্গটি মুক্ত থাকায় তারা আম্লিক ধর্ম প্রদর্শন করে। এই অবস্থায় জ্ঞাত ঘনত্বের ক্ষারের সাথে ট্রাইট্রেশন করে অ্যামাইনো অম্লের পরিমাণ নির্ণয় করা যায়। এই পদ্ধতিকে ফরমাল ট্রাইট্রেশন বলে। অ্যামাইনো অম্লটির আণবিক ওজন জানা থাকলে সহজেই অ্যামাইনো নাইট্রোজেনের পরিমাণ নির্ণয় করা যায়। এই পদ্ধতির মাধ্যমে আমরা উদ্ভিদ অঙ্গের অ্যামাইনো অম্লের সঞ্চয় ভাণ্ডার সম্পর্কেও ধারণা লাভ করি।

উদ্দেশ্য — এই এককটি পাঠ করে আপনি

1. ক্যাটালেজের কার্য সম্পর্কে ধারণা লাভ করবেন।

2. উদ্ভিদ অঙ্গ থেকে ক্যাটালেজের ক্রিয়াশীলতা নির্ণয় করতে পারবেন।

3. অজ্ঞাত পরিমাণ অ্যামাইনো অম্লে উপস্থিত নাইট্রোজেনের পরিমাণ নির্ণয় করতে পারবেন।

12.9.2 ক্যাটালেজের পরিমাণ নির্ণয়

12.9.2.1 কার্যনীতি — সবাত শ্বসনকারী কলায় বিপাকীয় ক্রিয়ার ফলে হাইড্রোজেন পারঅক্সাইড (H_2O_2) উৎপন্ন হয়। ক্যাটালেজ উৎসেচক এই বিষাক্ত হাইড্রোজেন পারঅক্সাইডে বিশ্লিষ্ট করে H_2O ও O_2 উৎপন্ন করে।

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{ক্যাটালেজ}} 2H_2O+O_2$$

এইক্ষেত্রে কোন উদ্ভিদ নির্যাসকে ক্যাটালেজের উৎস হিসাবে এবং H_2O_2কে সাবস্ট্রেটরূপে ব্যবহার করা হয়। নির্দিষ্ট সময়কাল পরে H_2SO_4 প্রয়োগ করে বিক্রিয়া বন্ধ করা হয় এবং অবশিষ্ট H_2O_2 এর পরিমাণকে $KMnO_4$ দ্বারা ট্রাইট্রেশনের মাধ্যমে নির্ণয় করা হয়।

12.9.2.2 প্রয়োজনীয় উপকরণ

A) কাচের উপকরণ ও যন্ত্রপাতি

কনিকাল ফ্লাস্ক, পিপেট, বুরেট (50 ml) আয়তনমাপক চোঙ, পিপেট স্ট্যান্ড, বুরেট স্ট্যান্ড ও ক্ল্যাম্প, ইনকিউবেটর, থার্মোমিটার, খল নুড়ি, ফানেল

B) রাসায়নিক উপাদান

1. লঘু H_2O_2 — 0.5 ml ঘন H_2O_2কে 199.5 ml জলে দ্রবীভূত করে লঘু H_2O_2 বিকারক বানানো হয়।

2. $KMnO_4$ (0.02N) — 632 mg $KMnO_4$ 1 লিটার জলে দ্রবীভূত করে 0.02N $KMnO_4$ বানানো হয়।

3. ফসফেট বাফার — 0.05M যার pH 6.8 হবে। 0.05 M, NaH_2PO_4 এবং একই মোলারিটির Na_2HPO_4 মিশ্রিত করে বাফারের pHকে 6.8 এ আনতে হবে।

4. 10 %H_2SO_4

5. পাতিত জল।

C) অন্যান্য উপকরণ

ক্যাটালেজের উৎস হিসাবে সতেজ আলু বা বাঁধাকপি, ফিলটার কাগজ, গ্লাস মার্কিং পেন।

12.9.2.3 পদ্ধতি

1. প্রথমে উদ্ভিদ অংশকে ওজন করে (5gm) ছোট ছোট করে কাটা হল। এইবার খল নুড়ি দিয়ে আলু বা বাঁধাকপির পাতাকে পিষ্ট করে নির্যাস তৈরী করা হল। নির্যাসটি ভালোভাবে তৈরী করার জন্য খল নুড়ি অল্প পরিমাণ ফসফেট বাফার (শীতল) দেওয়া উচিত।

2. নির্যাসকে ফিলটার কাগজের মাধ্যমে পরিস্রুত করে ফসফেট বাফার প্রয়োগ করে নির্যাসের আয়তনকে 25ml করা হল।

3. উৎসেচকের ক্রিয়া নির্ধারণ করার জন্য দুই ধরনের সেট তৈরী করা হয়।

a) ব্ল্যাঙ্ক সেট — যার মধ্যে উৎসেচক অনুপস্থিত থাকে।

b) উৎসেচক সেট বা রিয়্যাকশন সেট — যার মধ্যে উৎসেচক থাকে।

A) প্রতিটি কনিক্যাল ফ্লাস্কে 1ml H_2O_2 , 8 ml ফসফেট ও 1ml H_2O_2 (লঘু) মিশ্রিত করে ব্ল্যাঙ্ক সেট বানানো হল।

B) প্রতিটি কনিক্যাল ফ্লাস্কে 1ml নির্যাস, 8 ml ফসফেট বাফার ও 1ml H_2O_2 মিশ্রিত করে রিয়্যাকশন সেট বানানো হল।

ব্ল্যাঙ্ক ও রিয়্যাকশন সেট — প্রতিটিরই দু'টি করে সেট বানাবার পর চারটি ফ্লাস্ককে ইনকিউবেটরে 30 মিনিট রাখা হল। এরপর প্রতিটি সেটে 5ml 10% H_2SO_4 প্রয়োগ করা হল যাতে উৎসেচকের ক্রিয়া বন্ধ হয়ে যায়।

4. এরপরে বুরেটে 0.02N $KMnO_4$ ঢেলে প্রতিটি ফ্লাস্কের রিয়্যাকশন মিশ্রণকে ট্রাইট্রেট করা হয়। যখনই ফ্লাস্কের তরল হালকা গোলাপী বর্ণ ধারণ করবে এবং বর্ণ অন্তত 30 Sec স্থায়ী হবে তখন বুরেটের চূড়ান্ত পাঠ নিতে হবে।

12.9.2.4 ফল ও গণনা

ক্যাটালেজ বিক্রিয়ার বুরেট পাঠ (মান কাল্পনিক)

সেট	প্রাথমিক পাঠ (ml)	চূড়ান্ত পাঠ (ml)	গড় পাঠ (ml)
ব্ল্যাঙ্ক সেট			
1	0	5.1	$\frac{5.1+4.9}{2}=5$
2	5.1	10	
রিয়্যাকশন সেট			
1	0	2.6	$\frac{2.6+2.4}{2}$
2	2.6	5	$=2.5$

গণনা

আমরা জানি যে 1ml 0.02(N) $KMnO_4$ = 0.34 mg H_2O_2

এইক্ষেত্রে ব্ল্যাঙ্কের পাঠ - রিয়্যাকশন সেটের পাঠ

=5-2.5 = 2.5ml

∴ ব্যবহৃত H_2O_2 এর পরিমাণ = 2.5 x0.34 mg H_2O_2

1ml উৎসেচক 30 মিনিটে 2.5x0.34mg H_2O_2 কে বিশ্লিষ্ট করে

∴ ক্যাটালেজের বিক্রিয়ার হার $\frac{2.5x0.34}{30}$ mgH_2O_2 / ml /মিনিট

আবার 5gm সতেজ পাতা থেকে 25ml উৎসেচক তৈরী হয়েছিল

∴ 1gm সতেজ পাতায় উৎসেচকের ক্রিয়ার হার

$= \frac{2.5 \times 0.34 \times 5}{30} = 0.14$ mg H_2O_2/মিনিট

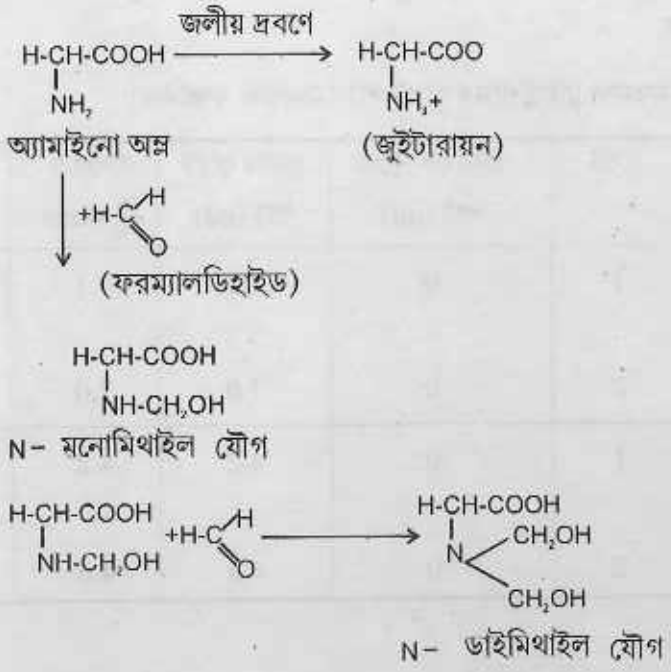
অর্থাৎ এই পরীক্ষায় ক্যাটালেজের বিক্রিয়ার হার

$= .14$ mgH_2O_2 / গ্রাম / মিনিট

12.9.3 ফরম্যাল ট্রাইট্রেশন পদ্ধতিতে অ্যামাইনো নাইট্রোজেনের পরিমাণ নির্ণয়

12.9.3.1 কার্যনীতি

অ্যামাইনো অম্ল অ্যামাইনো গ্রুপ ($-NH_2$) ও কার্বক্সিল ($-COOH$) গ্রুপের সমন্বয়ে গঠিত। জলে দ্রবীভূত অবস্থায় অ্যামাইনো অম্ল জুইটারায়ন অবস্থায় থাকে অর্থাৎ এর ক্ষারীয় ও আম্লিক গ্রুপ দু'টিই সক্রিয় থাকে। এই অবস্থায় অ্যামাইনো অম্লের পরিমাণ ট্রাইট্রেশনের মাধ্যমে পরিমাপ করা যায় না। অ্যামাইনো অম্লে ফরম্যালডিহাইড (HCHO) যুক্ত করলে অ্যামাইনো অম্ল N-মনোমিথাইলল বা N-ডাইমিথাইলল যৌগে রূপান্তরিত হয়। এর ফলে NH_2 অঞ্চল বা অ্যাডাক্ট (Adduct) গঠন করে অর্থাৎ এই অঞ্চলটিতে ধনাত্মক আধান থাকে না কিন্তু কার্বক্সিল গ্রুপটি মুক্ত অবস্থায় থাকে। এই অবস্থায় অ্যামাইনো অম্ল প্রকৃতিতে আম্লিক হওয়ায়, $\frac{N}{10}$ NaOH এর সাহায্যে ট্রাইট্রেশন করে অ্যামাইনো অম্লের পরিমাণ মাপা যায়। অ্যামাইনো অম্লটির সংকেত আনবিক ওজন জানা থাকলে সরল পদ্ধতিতে অ্যামাইনো নাইট্রোজেনের পরিমাণও নির্ণয় করা যায়।



12.9.3.2 প্রয়োজনীয় উপকরণ

A) কাচের উপকরণ ও যন্ত্রপাতি — কনিকাল ফ্লাস্ক (100 ml), কাচের দণ্ড, রিয়েজেন্ট বোতল, পরিমাপক চোঙ, বুরেট (100ml), পিপেট (100ml), পিপেট স্ট্যান্ড, বুরেট স্ট্যান্ড ও ক্ল্যাম্প, রাসায়নিক তুলাযন্ত্র ও ওজন বাক্স

B) রাসায়নিক উপকরণ — 35% প্রশম ফরম্যালডিহাইড, 0.1 N (NaOH), 0.1% ফেনলপথ্যালিন (80% অ্যালকোহলে মিশ্রিত), 0.5% (W/V) গ্লাইসিন, অজ্ঞাত গ্লাইসিন দ্রবণ, পাতিত জল

অন্যান্য উপকরণ — ওজন মাপার কাগজ, স্প্যাচুলা, গ্লাস মার্কিং পেন।

12.9.3.3. পরীক্ষা পদ্ধতি

এই পরীক্ষার জন্য দু'টি জ্ঞাত গ্লাইসিন দ্রবণ (0.5%) ও দু'টি অজ্ঞাত গ্লাইসিন দ্রবণের সেট বানানো হয়।

জ্ঞাত গ্লাইসিন দ্রবণের সেট — 100ml কনিকাল ফ্লাস্কে 10 ml 0.5% গ্লাইসিন, 5ml 35% প্রশম ফরম্যালডিহাইড ও কয়েক ফোঁটা ফেনলপথ্যালিন দেওয়া হল।

এরপর বুরেটে $\frac{N}{10}$ অর্থাৎ 0.1 (N) NaOH ঢেলে বুরেটের 'O' দাগ অবধি পরিপূর্ণ করা হল। 0.1 (N) NaOH এর সাহায্যে প্রতিটি কনিকাল ফ্লাস্কের দ্রবণকে ট্রাইট্রেট করা হয়। প্রতি ক্ষেত্রেই প্রাথমিক ও চূড়ান্ত পাঠ লিপিবদ্ধ করা হল। ফ্লাস্কের দ্রবণে স্থায়ী হালকা গোলাপী বর্ণ সৃষ্টি হলে ট্রাইট্রেশন বা প্রশমন ক্রিয়া সম্পূর্ণ হয়েছে বলে ধরা হবে।

12.9.3.4 ফলাফল ও গণনা

ফরমাল ট্রাইট্রেশনের বুরেট পাঠ (মানগুলি কাল্পনিক)

গ্লাইসিনের ঘনত্ব	সেট	প্রাথমিক বুরেট পাঠ (ml)	চূড়ান্ত বুরেট পাঠ (ml)	ব্যবহৃত $\frac{N}{10}$ NaOH	গড় মান (ml)
0.5%	1	0	7.1	7.1	7.05
	2	0	7.0	7.0	
অজ্ঞাত	1	0	4.2	4.2	4.25
	2	0	4.3	4.3	

গণনা

10 ml 0.5% গ্লাইসিন = 50 mg গ্লাইসিন

7.05ml $\frac{N}{10}$ NaOH 50mg গ্লাইসিনকে প্রশমিত করে।

1ml $\frac{N}{10}$ NaOH $\frac{50}{7.05}$ mg গ্লাইসিনকে প্রশমিত করে।

4.25 ml $\frac{N}{10}$ NaOH $\frac{50x4.25}{7.05}$ mg গ্লাইসিনকে প্রশমিত করে।

∴ অজ্ঞাত 10 ml দ্রবণে গ্লাইসিনের পরিমাণ =30.14 mg, বা 3.01mg/ml

আমরা জানি যে গ্লাইসিনের (CH_2NH_2COOH) আণবিক ওজন = 75 gm

75 gm গ্লাইসিনে 14gm নাইট্রোজেন থাকে (যেহেতু গ্লাইসিন অণুতে একটি নাইট্রোজেন পরমাণু থাকে এবং নাইট্রোজেনের পারমাণবিক ওজন =14.

75gm গ্লাইসিন = 14 gm নাইট্রোজেন

1gm গ্লাইসিন = $\frac{14}{75}$ gm নাইট্রোজেন

3.01mg গ্লাইসিন (অজ্ঞাত দ্রবণে) = $\frac{14x3.01}{75}$ = 0.56mg নাইট্রোজেন অর্থাৎ, অজ্ঞাত গ্লাইসিন দ্রবণে নাইট্রোজেনের পরিমাণ 0.56mg / ml.

12.9.4 প্রশ্নাবলি

1. ক্যাটালেজকে স্ক্যাভেঞ্জিং উৎসেচক বলে কেন?
2. ক্যাটালেজ কিভাবে H_2O_2 কে বিশ্লিষ্ট করে?
3. ক্যাটালেজের ক্রিয়া নির্ণয়ের সময়ে অবশিষ্ট H_2O_2 কে কিসের সাহায্যে ট্রাইট্রেশন করা হয়?
4. নির্দিষ্ট সময় পর ক্যাটালেজের বিক্রিয়া মিশ্রণে কেন H_2SO_4 (10%) প্রয়োগ করেন?
5. A ও B দু'টি বিক্রিয়া মিশ্রণকে 0.02(N) $KMnO_4$ দ্বারা ট্রাইট্রেশন করার ফলে Aএর ক্ষেত্রে বুরেট রিডিং 5.6 এবং Bএর ক্ষেত্রে 1.1 হল। এ থেকে আপনি কি ধারণা করবেন?
6. অ্যামাইনো নাইট্রোজেন নির্ণয়ের সময়ে ফরম্যালডিহাইড ব্যবহার করা হয় কেন?
7. $\frac{N}{10}$ NaOH কে কেন অ্যামাইনো অম্ল নির্ধারণ করার জন্য ব্যবহৃত করা হয়?

12.9.5 উত্তরমালা

1. 12.9.1. দ্রষ্টব্য
2. $2H_2O_2 \xrightarrow{\text{ক্যাটালেজ}} 2H_2O+O_2$

3. 0.02(N) $KMnO_4$ এর সাহায্যে ট্রাইট্রেশন করা হয়।

4. তীব্র অম্লের উপস্থিতিতে সমস্ত উৎসেচকের ক্রিয়া বন্ধ হয়ে যায়।

5. B মিশ্রণটিতে ক্যাটালেজের পরিমাণ বেশী তাই ঐ মিশ্রণে অবশিষ্ট H_2O_2 এর পরিমাণ কম। এই কারণে B মিশ্রণকে ট্রাইট্রেশন করার জন্য কম পরিমাণ $KMnO_4$ ব্যয় হয়েছে।

6. 12.9.3.1. দ্রষ্টব্য।

7. ফরমাইলেটেড অবস্থায় অ্যামাইনো অম্লকে প্রশমিত করে অ্যামাইনো অম্লের পরিমাণ নির্ণয় করার জন্য।

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। নূতন 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

Published by : Netaji Subhas Open University, 1 Woodburn Park, Kolkata–700 020 and
Printed at : Calcutta Repro Graphics, 36/8B Sahitya Parishad Street, Kolkata-700 006