

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ СОҒЛИҚНИ САҚЛАШ ВАЗИРЛИГИ
ТИББИЙ ТАЪЛИМНИ РИВОЖЛАНТИРИШ МАРКАЗИ**

Тошкент фармацевтика институти

**Биологик объект таркибидан пестицидларни
ажратиб олиш, сифат ва миқдорини аниқлаш.
Ис газини (карбоксигемоглобин) таҳлили**

**Фармация факултети, касбий таълим ва клиник фармация
йўналиши 4 курс талабалари учун токсикологик кимё фанидан
ўқув услубий қўлланма**

Тошкент 2010

Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни Сақлаш Вазирлиги

Тиббий таълимни ривожлантириш маркази

Тошкент Фармацевтика институти

“ Тасдиқлайман»
ЎзРССВ Фан ва ўқув юртлари
Бош бошқармаси бошлиғи
профессор Ш.Э.Атаханов

« _____ » _____ 2010 й

“ Тасдиқлайман»
ЎзРССВ Тиббий таълимни
ривожлантириш маркази
директори М.С.Юсупова

« _____ » _____ 2010 й

**Биологик объект таркибидан пестицидларни
ажратиб олиш, сифат ва миқдорини аниқлаш.
Ис газини (карбоксигемоглобин) таҳлили**

**Фармация факултети, касбий таълим ва клиник фармация
йўналиши 4 курс талабалари учун токсикологик кимё фанидан
ўқув услубий қўлланма**

Тошкент 2010

Тузувчилар: проф. Тожиев М.А, доц.Мирхайтов Т, Юлдашев З.О,
кат.ўқ. фарм.ф.н. Нажимитдинова Н.Н., асс. Усмоналиева З.У.

Тақризчилар: Тошкент вилояти суд-тиббий экспертиза бюроси, суд
кимё бўлими мудири, доцент Муслимов М.К.

Фармацевтик кимё кафедра доценти, техника фанлари
номзоди доцент Абдуллабекова В.Н.

Ўқув услубий қўлланма 4-курс талабалари учун “ **Биологик объект таркибидан пестицидларни ажратиб олиш, сифат ва миқдорини аниқлаш.Ис газини (карбоксигемоглобин) таҳлили**” мавзулари бўйича лаборатория машғулотларини ўтказиш учун мўлжалланган

Ўқув-услубий қўлланма Тошкент фармацевтика институти МУК
(2009 йил _____. баённома №__) ва
Илмий Кенгаш мажлисларида (2009 йил _____.баённома №__)
муҳокама қилинди ва тасдиқланди.

Илмий котиб, профессор:

Л.Т. Икромов

Ушбу ўқув-услубий қўлланма токсикологик кимё фанидан Ўз Р ССВ ҳамда Олий ва ўрта махсус таълим вазирлиги томонидан тасдиқланган дастур асосида тузилган. Унда ашёвий далиллар таркибидан заҳарли пестицидларни ажратиб олиш, ажралмани ёт моддалардан тозалаш ҳамда таҳлил қилиш усуллари ёзилган.

Лаборатория машғулотида талабалар асосий ва мустақил иш мавзуларида кўрсатилган вазифаларга тайёрланишлари ҳамда берилган иш таҳлилини ўтказишлари талаб қилинади.

ЛАБОРАТОРИЯ МАШҒУЛОТИ №1

Машғулот мавзуси: Пестицидлар ва уларнинг кимё токсикологик таҳлил усуллари.

Машғулот мақсади: Амалий машғулот вақтида талабаларни текширилувчи ашёлар таркибидан айрим пестицидларни ажратиб олиш усуллари билан таништириш ва уларнинг аниқлаш усуллари текшириш.

Машғулот мақсадларини амалга ошириш учун қуйидагиларга риоя қилиш лозим:

а) амалий машғулот вақтида ҳар бир талаба заҳарли химикат пестицид сақлаган ашё билан ўқитувчи томонидан таъминланади;

б) дастлабки тахминий текширув асосида заҳар сақлаган ашё таркибида қандай пестицид борлигини аниқлаш. Бунда талабалар кўпроқ хроматографик “Скрининг” усулларида фойдаланишлари керак;

в) тахминий текширув асосида биологик ашё таркибидан заҳарли химикатни ажратиб олиш усулини танлаш ва уни амалда бажариш;

г) ажратиб олинган заҳарли химикатни ёт моддалардан тозалаш учун тайёрлаш.

Ўсимликларнинг зарарли организмлар (зараркунандалар, касалликлар ва бегона ўтлардан) ҳимоя қилишда қўлланиладиган барча кимёвий моддалар пестицидлар деб аталади. Пестицидлар инсон ва иссиқ қонли ҳайвонлар учун заҳарли. Пестицид қолдиқларини сақловчи озиқ-овқат маҳсулотлари заҳарланишга сабаб бўлиши мумкин. Айниқса сувда, тупроқда ўсимлик маҳсулотлари ва баъзи бир объектларда узоқ сақланадиган пестицидлар одамлар ва ҳайвонлар учун ўта ҳавфли ҳисобланади.

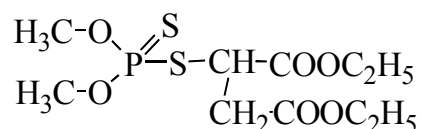
Пестицидларни биологик объект таркибидан ажратиб олиб аниқлашга оид маълумотлар қуйидаги жадвалда келтирилган.

Заҳарли кимёвий моддаларни ажратиб олишга таъалукли айрим маълумотлар

Заҳарли кимёвий моддаларнинг номи	Органик эритувчи	pH- муҳити	Экстракция сони	Ажралиб чиқиш сони (%)
Карбофос	Бензол	1	5	25
Метафос	Хлороформ	3	4	30
Метилнитрофос	Эфир	5	4	42
Октаметил	Хлороформ	6	3	40
Сайфос	Эфир	4	3	26
Фозалон	Эфир	5	3	36
Хлорофос	Эфир	3	2	24
Гексахлоран	Эфир	6	2	35
Севин	Бензол	6	3	30

БИОЛОГИК ОБЪЕКТ ТАРКИБИДАГИ КАРБОФОСНИ АЖРАТИБ ОЛИШ УСУЛИ ВА ТАҲЛИЛИ.

Карбофос (малатион, фосфотион, фосион) – 0,0 – диметил - - (1,3 –
дикарбэтоксизтил) – дитиофосфат



Колбада 50 г текширилувчи майдаланган биологик ашёни, сув билан бўтқа ҳолига келтириб, 10% хлорид кислотаси ёрдамида pH-1 даражасига келтирилади (универсал индикатор). Бўтқа ҳолидаги ашёга 50 мл бензол қўшилиб, ярим соат давомида аралаштирилади, сўнгра ажраткич воронка ёрдамида органик эритувчи қисми сувсиз натрий сульфат сақлаган филтрдан ўтказилади. Ашёни бензол билан ишлаш яна 2 маротаба қайтарилади. Бензолли ажратмалар бирлаштирилиб, уни 40-50⁰С ҳароратда сув ҳаммомида тўлиқ парлатилади ва куруқ қолдиқ 3 мл этил спиртида эритилиб ва лозим бўлган ҳолларда филтрланади. Олинган филтрат карбофос моддаси учун таҳлил қилинади.

КАРБОФОСНИ АНИҚЛАШ.

1. **Хроматографик усул.** Юпқа қатламли хроматографик пластинканинг «старт» чизиғига карбофос сақловчи қолдиқни спиртли эритмаси ва ёнидаги нуқтага гувоҳ модда сақланган эритма капилляр найча ёрдамида томизилганидан, сўнг, гексан – этил эфирининг (10:2) нисбатдаги аралашмаси сақлаган хроматографик камерага туширилади.

Пластинкадаги сорбент бўйлаб кўтарилган система баландлиги 10 см га етгач хроматографик пластинка камерадан олиниб, очик ҳавода қурилади. Карбофос ва унинг баъзи бир метаболитларини аниқлаш учун пластинка дастлаб бромфенол

кўки реактиви билан ва 10 дақиқадан сўнг, 5% сирка кислота эритмаси билан пуркалади. Бунда сариқ рангга бўялган пластинкада карбофос ва унинг метаболитлари кўк зангори рангли доғ ҳосил қилади.

2. **Диазотирланган сульфанил кислотаси билан борадиган реакция.** Карбофоснинг спиртли эритмасидан бир неча томчисини пробиркага ўтказиб, спирт учурилади. Қолган қолдиққа 2 мл сув 1 мл диазотирланган сульфанил кислотаси эритмасидан ва 0,5 мл 5% натрий ишқори эритмасидан қўшилади. Бунда тўқ қизил ранг ҳосил бўлиши олинган эритмада карбофос борлигидан далолат беради.

3. **Марки реактиви билан олиб бориладиган реакция.** Чинни товоқчага бир неча томчи карбофос эритмасидан томизилиб, қурилади. Қуруқ қолдиққа 5-10 томчи Марки реактивидан томизилади. Бунда аввал новвот ранг ҳосил бўлиб, у секин аста тўқ қўнғир рангга ўтади.

4. **Мис сульфат билан олиб бориладиган реакция.** Пробиркага бир неча томчи карбофос эритмасидан олиниб, сўнг спирт учурилади. Қолган қолдиққа 1 мл 10% натрий ишқорининг спиртдаги эритмасидан қўшилади. Пробирка совитилгач, универсал индикатор иштирокида, 25% сульфат кислотаси ёрдамида муҳит $pH=4-5$ га етказилади. Сўнгра аралашмага 1 мл хлороформ, 2 томчи 10% мис сульфат эритмасидан томизилади. Бунда хлороформ қатлами кўк –сариқ рангга бўялади.

5. **Симоб (II) – хлорид эритмаси билан олиб бориладиган реакция.** Чуқурчали буюм ойначасига карбофоснинг спиртли эритмасидан бир томчи томизилиб, устига бир томчи симоб (II) – хлориднинг 5% спиртли эритмаси қўшилади, сўнг микроскоп остида кўрилганда юлдузсимон микрокристаллар борлиги кузатилади.

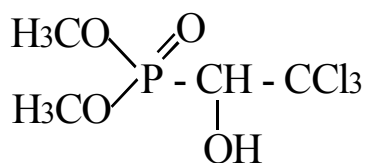
6. **Висмут йодид эритмаси билан борадиган реакция.** Чуқурчали буюм ойначасига карбофоснинг спиртли эритмасидан бир томчи томизилиб, устига бир томчи висмут йодиднинг тўйинган спиртли эритмасидан қўшилади ва юпқа ойнача билан ёпилади. Сўнгра буюм ойна нам камерада 30-60 дақиқа сақланади. Реакция маҳсулоти микроскоп остида кўрилганда тўқ қизил рангли игнасимон микрокристаллар кузатилади.

7. **Йод –монохлорид эритмаси билан борадиган реакция.** Чуқурчали буюм ойначасига карбофоснинг спиртли эритмасидан томизилиб, қурилади, сўнг йод-монохлорид эритмасидан томизилади. Бунда микроскоп остида қўнғир рангли кристаллар кузатилади, кристаллар вақт ўтиши билан ўз шаклларини йўқотадилар.

ХЛОРОФОСНИ ТЕКШИРИЛУВЧИ АШЁ ТАРКИБИДАН АЖРАТИБ ОЛИШ ВА ТАҲЛИЛИ.

Хлорофос (диптерекс, диолокс, трихлорфен)

0,0 – диметил – 1 – окси – 2,2,2- трихлорметилфосфат



50 г майдаланган биологик объект 25% хлорид кислотаси ёрдамида нордон шароитга келтириб ($pH=2-3$), 25 мл эфир қўшиб 30 дақиқа давомида уй ҳароратида вақти –вақти билан чайқаб қолдирилади. Ҳосил бўлган эфир қавати ажратиб олинади, қолган биологик объект яна бир марта 25 мл эфир билан ишланади. Эфирли ажралмалар бирлаштирилиб, 5 г сувсиз натрий сульфат сақланган филтр орқали ўтказилади ва филтрлаб олинади

Эфирли ажралма 20 мл сульфат кислота эритмаси билан ($pH=2-3$) аралаштирилади ва эфир уй ҳароратида парлатилади. Қолган сувли эритмада хлорофосга текширув олиб борилади.

ХЛОРОФОСНИ АНИҚЛАШ

Текширилувчи сульфат кислотасидаги эритма, ажраткич воронкага ўтказилиб, 2-3 маротаба 2-3 мл дан хлороформ билан экстракцияланади (5-дақиқа). Олинган хлороформли ажралмалар умумлаштирилиб, хлорофос учун таҳлил ўтказилади.

1. **Хроматография усули.** Хроматографик пластинкага текширилувчи эритма ва тоза хлорофос эритмаларидан, оралиғи 3 см масофада томизилиб, қуритилгач, хлороформ эфир, вазелин ёғи 17:2:1 аралашмаси сақланган камерага туширилади, қўзғалувчи фаза пластинка бўйлаб 10 см га кўтарилгач, пластинка камерадан олиниб, уй ҳароратида қурилади, сўнгра 10% натрий ишқорида эритилган 1% резорцин эритмаси билан пуркалади. 10-15 дақиқа туриш давомида хлорофос бўлган тақдирда, $R_f = 0,05 - 0,25$ оралиғида қизил рангли доғ ҳосил бўлади.

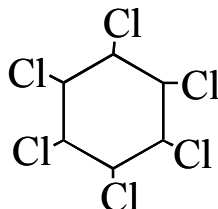
2. **о - толидин реактиви билан реакцияси.** 5 мл хлороформли эритма уй ҳароратида кичик чинни идишда учиради. Хлороформ учиб кетиши билан қолган қолдиққа 1 мл этил спирти қўшиб эритилади, сўнг 1 мл 0,5% о - толидиннинг ацетондаги эритмасидан, 0,5 мл 0,5% натрий ишқоридан, ҳамда 0,5 мл водород пероксиди эритмасидан қўшилади. Аниқловчи эритмада хлорофос бўлган ҳолда сариқ ранг ҳосил бўлади.

3. **Ишқор ва ацетон билан реакцияси.** 2 мл хлороформли эритмани чинни идишчада, уй ҳароратида учирилиб, қолдиқни 1 мл этил спиртида эритилиб, 1 мл ацетон ва 0,5н натрий ишқорининг спиртли эритмасидан қўшилади. 10-15 дақиқадан сўнг, тез ўзгарувчан оч қизил рангга айланади.

4. **Фенилгидрозин реактиви билан реакцияси.** 2 мл хлороформли эритма солинган идишда органик эритувчи учирилгач, қолдиққа 2 мл тозаланган сув қўшиб эритилади, сўнгра натрий ишқори билан аралаштирилади. 10 дақиқадан сўнг 0,1% фенилгидрозиннинг 4н хлорид кислотасидаги эритмаси қўшилади ва 1 соат $40^{\circ}C$ иситилади. Совутилгач 0,6 мл 4н натрий ишқори ва 10 мл этил спирт билан аралаштирилади. Зангори ёки тўқ зангори ранг ҳосил қилади.

ГЕКСАХЛОРАННИ ТЕКШИРИЛУВЧИ АШЁ ТАРКИБИДАН АЖРАТИБ ОЛИШ ВА ТАҲЛИЛИ

Гексахлорциклогексан (бензолгексахлорид, гаммоксан, вермаксан) – 1,2,3,4,5,6-гексахлорциклогексан



Колбадаги 50 г текширувчи объектни сув билан бўтқа ҳолига келтирилиб, уни оксалат кислотасининг 10% эритмаси билан рН-6 бўлгунча нордонлаштирилади (универсал индикатор). Сўнгра колбадаги объект 3-маротаба 20 мл эфир билан ярим соатгача буғлатилади ва ажраткич воронка ёрдамида ажратиб олинади.

Ажратиб олинган эфирли ажралмалар бирлаштирилиб, хона ҳароратида 5-10 мл қолгунча парлатилади ва қолдиқ гексахлоран учун таҳлил қилинади.

ГЕКСАХЛОРАННИ АНИҚЛАШ

1. **Хроматографик усул.** Юпқа қатламли хроматографик пластинкага гексахлораннинг эфирдаги эритмасидан капилляр найча орқали «старт» чизиғига томизилиб, пластинка н-гексан сақланган камерага жойлаштирилади. Суюқлик пластинка бўйлаб 10 см га кўтарилгандан, сўнг уни камерадан олиниб, хона ҳароратида қурилади. Пластинка кумуш аммиакатининг ацетондаги эритмаси билан пуркалади. Пластинка 15 дақиқа давомида УБ нурида ушланади. УБ нур манбаи пластинкадан 20 см узоқликда бўлиши лозим. Бунда пластинканинг гексахлоран йиғилган жойида қора – қул ранг доғ ҳосил бўлади.

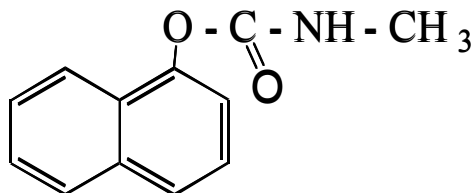
2. **Органик бириккан хлорни аниқлаш реакцияси.** Гексахлораннинг эфирдаги 2-3 мл эритмаси 50 мл ҳажмли колбага солиниб, эфир учирилгач, 4-6 мл 10% натрий ишқорининг спиртдаги эритмасидан қўшилади. Сўнгра колба вертикал совуткич билан бириктирилиб, сув ҳаммомида бир соат давомида қиздирилади. Шундан сўнг совиткич ажратилиб, колбадаги аралашмадан спирт учирилади. Қолган суюқлик совитилиб, нитрат кислотаси билан нордонлаштирилади (индикатор-лакмус). Сўнгра кумуш нитрат эритмасидан томизилса, оқ чўкма ҳосил бўлади. Чўкма 25% аммиак эритмасида яхши эрийди.

3. **Гексахлоранни дехлорлашдан ҳосил бўлган учхлорли бензолни аниқлаш реакцияси.** Иккинчи реакция бўйича гексахлоранни дехлорланади. Хлор ионлари кумуш нитрат эритмаси ёрдамида чўктирилгач, уни филтрланади ва филтрат 1-2 мл қолгунча порлатилади, сўнг 2 мл концентрланган сульфат кислотаси ва 0,1 г натрий нитрат тузидан солинади. Аралашма 125-130°C да 10 дақиқа қиздирилади ва совитилгач 10 мл эфир билан чайқатилади. Эфир қатлами ажратиб олиниб, 1 мл 20% калий гидроксиднинг спиртдаги эритмасидан томизилади, бунда қизил бинафша ранг ҳосил бўлади.

ТЕКШИРИЛУВЧИ АШЁ ТАРКИБИДАГИ СЕВИННИ АЖРАТИБ ОЛИШ УСУЛИ ВА ТАҲЛИЛИ

Севин (карболил, арилат, ветокс, динапон, карбомат, карботокс, севинокс)

- 1- нафтил –N- метилкарбаминат.



Колбадаги 50 г майдаланган текширилувчи ашёга хлорид кислотаси эритмасини қўшиб, рН муҳити 6 га келтирилади ва 50 мл бензол билан ярим соат давомида бўктирилади. Бензол қатлам ажратиб олиниб, ашё яна икки мартаба органик эритувчи билан бўктирилади. Сўнгра бензолли ажрамалар бирлаштирилиб, филтрланади ва сув ҳаммомида қуруқ қолдиқ қолгунча парлатилади. Қолдиқ 5 мл этил спиртида эритилади ва тегишли усуллар ёрдамида таҳлил олиб борилади.

СЕВИННИ АНИҚЛАШ

1. **Хроматографик усул.** Юпка қатламли хроматография пластинкасига текширилувчи объектдан олинган севин сақловчи ва 2см қолдириб, гувоҳ эритмасидан капилляр ёрдамида «старт» чизиғига томизилиб, пластинка хлороформ сақланган камерага туширилади ва пластинка бўйлаб суюқлик 10 см га кўтарилгач, уни камерадан олиниб, хона ҳароратида қуритилади ва УБ нури билан нурлантирилади. Текширилувчи эритмада севин ёки унинг метаболитлари (α - нафтол) бўлса, улар флуоресценцияланади. Сўнгра пластинкани диазотирланган сулфанил кислотаси билан пуркалса қизил доғ ҳосил бўлади.

2. **Пикрин кислотаси билан реакцияси.** Буюм ойначасига текширилувчи эритмадан томизилиб, уни қуруқ қолдиқ қолгунча учиради. Қолдиққа 1 томчи пикрин кислотасининг 1% эритмасидан томизилиб, 10-15 дақиқадан сўнг микроскоп остида кўрилади, севин бўлса, тўқ сарик рангли тўп-тўп кристаллар ҳосил бўлади.

3. **4-аминоантипирин билан олиб бориладиган реакция.** Пробиркага 1 мл текширилувчи эритма солиниб, унга 0,5 мл аммиакли буфер эритмасидан қўшилади. Сўнгра вертикал совитгичли тиқин билан беркитилиб, сув ҳаммомида 50-60°C да 15 дақиқа давомида қиздирилади. Аралашма совитилиб, 3 томчи 0,5% 4-аминоантипирин ва 5 томчи гексацианоферрат (II) – калий эритмасидан томизилади, севин бўлса, қизил-қўнғир ранг ҳосил бўлади, аралашмага озгина хлороформ қўшиб чайкатилса, ранг хлороформ қатламига ўтади. Бу реакцияни α -нафтол ҳам ҳосил қилади.

4. **Мис (II) – хлорид ва натрий бромид аралашмалари билан олиб бориладиган реакция.** Пробиркага 1 мл севин эритмаси солиниб унга 0,4 мл 0,5 н натрий ишқоридан қўшиб вертикал совиткичли тиқин билан уланиб, уни сув

хаммомида 55°C да 10 дақиқа давомида қиздирилади. Аралашма совитиб, унга мис (II) – хлорид ва натрий бромид аралашмаларидан иборат реактивдан 1 мл қўшилиб, сув хаммомида 60°C да қиздирилади. Бунда қизил-бинафша ранг ҳосил бўлади. Аралашма хлороформ билан чайқатилса ранг органик эритувчи қатламига ўтади. Бу реакцияни α - нафтол ҳам беради.

Синтетик пиретроидларни биологик суюқлик ва объектлардан ажратиб олиш

Қондан ажратиб олиш. 5 мл қон намунаси конуссимон колбаларга ўтказилади. Қон намунасининг рН муҳитини натрий гидроксид билан 8-9 га унверсал индикатор қоғози ёрдамида етказилади. Сўнгра 2 мл натрий хлориднинг тўйинган эритмасидан қўшилади. Аралашма яхшилаб аралаштирилади ва унга 10 мл органик эритувчи қўшилади. Аралашма 5 дақиқа давомида центрифугаланади ва центрифугат ажратиш воронкасига ўтказилади. Ундан органик қатлам ажратиб олинади. Бу жараён яна икки маротаба қайтарилади. Ажратиб олинган органик ажралмалар бирлаштирилади ва филтрланади. Филтратдан органик эритувчи учиради. Қуруқ қолдиқ юпка қатлам хроматография, юқори самарали суюқлик хроматография, ультрабинафша-спектрофотометрия усуллари ёрдамида текширилади.

Пешобдан ажратиб олиш. Пешоб намунаси (25 мл) ажраткич воронкага ўтказилади ва 3 г натрий хлорид тузидан қўшилади ва яхшилаб аралаштирилади. Сўнгра аралашманинг рН муҳити 0,1 М натрий гидроксид эритмаси билан 8-9 га келтирилади. Аралашма уч маротаба (30, 20, 20 мл) органик эритувчи билан экстракция қилинади. Ҳосил бўлган экстрактлар органик эритувчи билан ҳўлланган, натрий сульфат тузи сақлаган филтрдан ўтказилади. Филтр 5 мл органик эритувчи билан ювилади. Чайинди асосий экстрактга қўшилади. Филтратдан органик эритувчи 0,5 мл қолгунча ротор-вакуум ускунасида ҳайдаб олинади. Қолдиқ чинни идишга ўтказилади. Колба икки марта 3 мл органик эритувчи билан ювилади ва ажралмага қўшилади. Чинни идишдаги органик эритувчи ҳаво оқимида парлатилади. Қуруқ қолдиқ ЮҚХ, ЮССХ, УБ-спектрофотометрик усулида текширилади.

Биологик объектдан ажратиб олиш. 10 гр биологик объект яхшилаб майдаланилади ва 1-3 мл ҳажмдаги тозаланган сув билан аралаштирилади. Аралашманинг рН муҳити 0,1 молярли натрий гидроксиди билан 9,0-9,5 га келтирилади. Аралашма яхшилаб чайқатилади ва оз вақтга қолдирилади. Сўнгра унга 15 мл органик эритувчи ва натрий хлориднинг тўйинган эритмасидан 5 мл қўшилади ва аралаштирилади. Чайқатувчи асбобга 1 соатга қолдирилади. Кейин органик эритувчи қатлами қуйиб олинади ва қолган биологик объект рН муҳити текширилиб, яна 15 мл органик эритувчи билан аралаштирилади. Юқоридагидек экстракция қилинади, бу жараён яна бир маротаба қайтарилади. Органик ажратмалар бирлаштирилади ва аввалдан органик эритувчи билан намланган, сўнгра сувсиз натрий сульфат тузи сақлаган филтрдан ўтказилади. Филтр органик эритувчи билан ювилади ва чайинди асосий экстрактга қўшилади. Бирлашган экстрактдан органик эритувчи ротор-вакуум асбобида ҳайдаб олинади.

Қолган қолдиқ қуригилади ва ЮҚХ, УБ-спектрофотометрик ёки ЮССХ усулида текширилади.

Биологик суюқлик ва ашёлардан синтетик пиретроидларни ажратиб олиш натижалари

Пиретроид	Биологик ашё	Экстрагент	Экстракция даражаси, %
Циперметрин	пешоб	хлороформ	79,50
	қон		75,66
	биологик ашё		50,54
Данитол	пешоб	этилацетат	78,30
	қон	гексан-этилацетат 1:1	67,20
	биологик ашё	этилацетат	50,00
Децис	пешоб	хлороформ	78,56
	қон		77,60
	биологик ашё		51,46

Синтетик пиретроидларни ЮҚХ, ГСХ, ЮССХ, ГХ-МС ва УБ-спектрофотометрик усулларида таҳлил қилиш услублари ишлаб чиқилган. Данитолни аниқлашда «Силуфол» пластинкаси (Silpearl сорбенти), циперметринни аниқлашда эса лабораторияда тайёрланган силикагелли пластинка (LS 5/40 μ силикагели), суми-алфа, децис ва каратэни аниқлашда «Силуфол» ва «Сорбфил» пластинкаларидан (СТХ-1ВЭ, заррачалар ўлчами 8-12 мкм; СТХ-1А, заррачалар ўлчами 5-17 мкм) фойдаланилади.

Данитолни аниқлашда Марки реактиви, циперметринни аниқлашда хлор-рух-йод ва Мунье бўйича модификацияланган Драгендорф реактивлари, суми-алфа, децис ва каратэни аниқлашда натрий эозинатнинг 1% сувли эритмаси ва модификацияланган бромфенол кўки реактивлари қўлланилади.

Циперметринни ЮҚХ усулида аниқлашда гексан - ацетон (5:1), хлороформ - метанол (7:1), гексан - этилацетат (3:1) (R_f қиймати мос равишда 0,44; 0,58; 0,61); данитолни аниқлашда гексан - ацетон (2:1) ва гексан - этилацетат (3:1) (R_f қиймати мос равишда 0,55 ва 0,47); суми-алфани аниқлашда гексан - хлороформ (2:1) (R_f қиймати 0,68); каратэни аниқлашда хлороформ - гексан (2:1) (R_f қиймати 0,57); децисни аниқлашда хлороформ - гексан (3:2) (R_f қиймати 0,6) тавсия этилади.

Циперметрин таҳлилида Мунье бўйича модификацияланган Драгендорф реактивининг аниқлаш чегараси 2 мкг ва хлор-рух-йод реактиви билан аниқлаш чегараси 1,5 мкг; данитолни Марки реактиви билан аниқлаш чегараси 2 мкг; суми-алфа, децис ва каратэни натрий эозинатнинг 1% сувли эритмаси билан аниқлаш чегараси 2 мкг, бромфенол кўкининг 0,5% сувли эритмаси билан аниқлаш чегараси 2,5 мкг ташкил этади.

Синтетик пиретроидлар ГСХ усулда қуйидаги шароитларда таҳлил қилинади:

Юзасига 5% миқдорда SE-30 шимдирилган тўлдирилган хроматон N-AW-DMCS сорбенти билан 130 x 0,2 см ўлчамли шиша колонка, қўзғалувчи фаза азот, оқим тезлиги 30 мл/дақ, водород ва ҳаво оқим тезликлари, мос равишда 30 мл/дақ ва 350 мл/дақ, колонка термостати ҳарорати: 180⁰С дан 220⁰С гача 1⁰С/дақ. тезликда дастурланади, сўнгра 245⁰С гача 3⁰С/дақ. тезликда кўтарилади. Детектор ҳарорати 260⁰С, инжектор ҳарорати 250⁰С ташкил этди (пестицидларнинг ушланиш вақтлари жадвалда келтирилган).

ГСХ усулида пестицидларни хроматографик аниқлаш натижалари

Пестицидлар	Ушланиш вақти, дақ
Данитол	10,2
Циперметрин	14,1
Суми-алфа	15,3

Синтетик пиретроидларни ЮССХ усулида таҳлил қилишда Agilent Technologies фирмасининг «Agilent 1100 series» русумли хроматографикдан фойдаланиш мумкин. Асбоб «Chemstation A.09.03» дастури орқали бошқарилади. Асбоб тўрт каналли градиент насос, газсизлантирувчи қурилма, 190-600 нм тўлқин узунлигида ишлайдиган UV/VIS турдаги спектрофотометрик детектордан ташкил топган. Таҳлил 150 x 3 мм ўлчамли, заррачалари 3,5 мкм бўлган Zorbax Eclipse XDB C-18 турдаги сорбент билан тўлдирилган колонкада олиб борилади.

Қўзғалувчи фазанинг оптимал таркиби - pH=3,0 га тенг бўлган фосфат буфери (А эритма) ва ацетонитрил (Б эритма) аралашмаси чизиқли-градиент элюирлаш шароитида қўзғалувчи фазанинг таркиби қуйидаги тартибда ўзгариб боради: градиент: 0 дақ: А – 80%, Б – 20%; 7-20 дақ: А – 25%, Б – 75%; 24 дақ: А – 80%, Б – 20%.

Қўзғалувчи фазанинг оқим тезлиги 0,5 мл/дақ ташкил этади. Тадқиқ қилинаётган синтетик пиретроидлар 278-280 нм тўлқин узунлигида таҳлил қилинади. Таҳлил давомийлиги 24 дақиқани ва данитолнинг ушланиш вақти 17,4; циперметрин ва унинг изомерлари - 18,7 ва 19,7; дециснинг ушланиш вақти 20,1; суми-алфанинг ушланиш вақти 20,9; каратэнинг ушланиш вақти 21,9 дақиқани ташкил этади.

Ишлаб чиқилган ЮССХ усулининг селективлигини ўрганиш натижалари

Текширилувчи пестицид	Ушланиш вақти, дақ
Севин	7,3
Линдан	9,65
Фозолон	10,3
Гексахлоран	11,3
Атразин	12,74
Хлорпирифос	14,4
Данитол	17,4
Циперметрин	18,7 - 19,7
Децис	20,1
Суми-алфа	20,9
Каратэ	21,9

УБ-спектрофотометрия усули 10 мм қатлам қалинлигида 200-400 нм тўлқин узунлиги соҳасида аниқланади. Солиштирувчи эритма сифатида мос органик эритувчилардан фойдаланилади. Пестицидлар 260-280 нм тўлқин узунлиги соҳасида биттадан максимум нур ютиш хусусиятига эга.

Мавзуни ўзлаштириш учун тест саволлари.

1. Пестицидлар нима?

а) ўсимликларни зараркунандалардан ҳимоя қилишда қўлланиладиган барча кимёвий моддалар.

б) ўсимликларни касалликлардан ҳимоя қилишда қўлланиладиган барча кимёвий моддалар.

в) ўсимликларни бегона ўтлардан ҳимоя қилишда қўлланиладиган барча кимёвий моддалар.

г) барчаси тўғри.

2. Заҳарли кимёвий моддаларни текширилувчи ашё таркибидан қандай усуллар ёрдамида ажратиб олинади?

а) элаш усулида.

б) минерализациялаш усули.

в) бўктириб, экстракциялаш усулида.

г) диализ усулида.

3. Заҳарли кимёвий моддаларни, текширилувчи ашё таркибидан ажратиб олингандан сўнг, қандай усуллар ёрдамида ёт моддалардан тозалаш мумкин?

а) филтрлаш.

б) совунлаш.

- в) хроматографиялаш.
- г) центрифугалаш.

4. Гексахлоранни биологик объект таркибидан қандай усул ёрдамида ажратиб олинади?

- а) диализ усулида.
- б) органик эритувчи ёрдамида.
- в) минерализациялаш усули.
- г) кутбли эритувчилар ёрдамида.

5. Севинни биологик объект таркибидан ажратиб олишда қандай эритувчи билан бўктирилади.

- а) хлороформ.
- б) бензол.
- в) эфир.
- г) ацетон.

6. Фосфоорганик пестицидлар таркибидаги фосфор қандай усул ёрдамида олинади?

- а) сув буғи ёрдамида.
- б) минерализация усули.
- в) диализ усулида.
- г) кутбли эритувчилар ёрдамида.

7. Хлорорганик захарли кимёвий моддаларга қандай сифат реакциялари мавжуд?

- а) органик бириккан хлорни аниқлаш реакцияси.
- б) рангли реакциялар.
- в) хроматографик усул.
- г) барчаси тўғри.

8. Фосфорорганик кимёвий моддаларни таркибидан минерализациялаб ажратилган фосфорга қандай сифат реакцияси қилинади?

- а) азобўёқ ҳосил бўлиш реакцияси.
- б) молибден кўки ҳосил бўлиш реакцияси.
- в) Витали – Морен реакцияси.
- г) мурексид ҳосил бўлиш реакцияси.

9. Гексахлоранни хроматографик усулда аниқлашда қандай эритувчидан фойдаланилади?

- а) хлороформ.
- б) н – гексан.
- в) бензол.
- г) эфир.

10. Фосфорорганик заҳарли кимёвий моддаларни миқдори қайси усул ёрдамида аниқланади?

- а) нейтралаш усули.
- б) фотометрик усул.
- в) оғирлик усули.
- г) йодометрик усул.

11. Хлорофосни аниқлашда қуйидаги реактивлардан қайсилари қўлланилади?

- а) кумуш нитрат эритмаси.
- б) резорцин эритмаси.
- в) ацетон.
- г) ишқор эритмаси.

12. Карбофос қандай фосфор кислотасининг ҳосиласи.

- а) ўрта фосфат кислотанинг.
- б) фосфит кислотанинг.
- в) тиофосфат кислотанинг.
- г) дитиофосфат кислотанинг.

ЯНГИ ПЕДАГОГИК ТЕХНОЛОГИК УСУЛЛАР

«Вертушка» усули

Берилган заҳарли кимёвий моддаларни гуруҳини аниқланг

№	Кимёвий тасниф Заҳарли кимёвий моддалар	Хлор сақ- ловчи заҳарли кимёвий моддалар	Фосфор сақловчи заҳарли кимёвий моддалар	Карбамил кислота ҳосилалари	Ноорганик заҳарли кимёвий моддалар	Заҳарли кимёвий модда сифатида ишлатиладиган алкалоидлар
1	Гексахлоран					
2	Бутифос					
3	Севин					
4	Гронозан					
5	Хлорофос					
6	Рух фосфид					
7	Гептахлор					
8	Фторид Na					
9	Меназон					
10	Карборил					
11	Никотин					
12	Анабазин					

« Бумеранг » усули.

1 гуруҳ.

Пестицидлар ҳақида умумий тушунча.

Пестицидларни синфланиши.

2 гуруҳ.

Хлор сақловчи заҳарли кимёвий моддалар: токсикологик аҳамияти, ажратиб олиш, сифат ва миқдорий таҳлил усуллари.

3 гуруҳ.

Фосфор сақловчи заҳарли кимёвий моддалар: токсикологик аҳамияти, ажратиб олиш, сифат ва миқдорий таҳлил усуллари.

4 гуруҳ.

Карбаминатлар: токсикологик аҳамияти, ажратиб олиш, сифат ва миқдорий таҳлил усуллари.

5 гуруҳ.

Бошқа заҳарли кимёвий моддалар: токсикологик аҳамияти, ажратиб олиш, сифат ва миқдорий таҳлил усуллари.

Мавзу юзасидан саволлар

1. Заҳарли кимёвий моддалар – пестицидлар нима? Уларнинг токсикологик аҳамияти.
2. Токсикологик кимёда заҳарли кимёвий моддалар қандай усул асосида синфларга бўлинади? Уларнинг формулаларини ёзиб беринг.
3. Фосфорорганик бирикмалар қандай кислоталар ҳосилаларига бўлинади? Мисоллар келтиринг.
4. Фосфорорганик ва хлорорганик бирикмалари нисбатан қандай хусусиятлари билан бир биридан фарқланади ва қандай афзалликларига эга?
5. Фосфорорганик ва хлорорганик бирикмалар билан заҳарланишнинг характерли клиник аломатлари нималардан иборат ва ҳолатлар қандай тушунтирилади?
6. Карбамин кислотаси ҳосилаларига кирувчи заҳарли кимёвий моддаларга мисол келтиринг?
7. Заҳарли кимёвий моддаларни текширилувчи ашё таркибидан қандай усуллар ёрдамида ажратиб олиш мумкин? Ажратиш усулларида қайси усул афзал ҳисобланади?
8. Текширилувчи ашё таркибидан заҳарли кимёвий моддаларни ажратиб олишда рН муҳит, органик эритувчи табиатининг, ашёнинг органик эритувчи билан бўктириш сонининг аҳамиятига қандай баҳо берилади?
9. Текширилувчи ашё таркибидан қуйидаги заҳарли кимёвий моддаларни ажратиб олиш усулларида асосий мақсадларини айтиб беринг: карбофос, хлорофос, гексахлоран ва севин.
10. Заҳарли кимёвий моддаларни текширилувчи ашё таркибидан ажратиб олишдан сўнг уларни қандай усуллар ёрдамида ёт моддалардан тозалаш мумкин?
11. Текширилувчи ашё таркибидан заҳарли кимёвий моддаларни аниқлашда суд кимёсида қандай дастлабки тахминий таҳлил усулидан фойдаланилади?
12. Токсикологик кимё таҳлилида карбофос, хлорофос, гексахлоран, севинлар чинлигини аниқлашда қандай реакциялардан фойдаланилади?
13. Заҳарли кимёвий моддаларни миқдорини аниқлашда қўлланиладиган умумий ва хусусий усуллар нимага асосланган?
14. Фосфорорганик бирикмалар чинлигини ҳамда миқдорини аниқлашда спектрофотометрия усулларида қўлланишини асослаб беринг
15. Пиретроид ҳосиласини сақловчи заҳарли химикатлар объектдан қандай ажратиб олинади ва таҳлил қилинади?

ЛАБОРАТОРИЯ МАШҒУЛОТИ №2

Машғулот мавзуси: Ис гази билан заҳарланган ҳолларда қондаги карбоксигемоглобиннинг сифат ва миқдорини аниқлаш,

Машғулот мақсади: Ис газининг физик ва кимёвий хоссалари асосида мурда қонидаги карбоксигемоглобинни сифат ва миқдорини аниқлай билиш. Бунда:

- а) кимёвий реакциялардан;
- б) физик – кимёвий (спектроскопик ва спектрофотометрик) усулларида фойдаланиш.

МАШҒУЛОТНИНГ ҚИСҚАЧА ТАФСИЛОТИ

Ҳаётда ис гази билан заҳарланиш тез учраб турадиган ҳоллардан ҳисобланади. Заҳарланиш турли бахтсиз ҳодисалар асосида содир бўлиши мумкин: автомашиналар маторининг нотўғри ишлаши натижасида, кимё саноатларида, кокс олиш, газ олиш, ёнғин ва бошқа шу каби ҳолатларда айни ҳавф туғилиши мумкин.

Ис гази нафас йўллари орқали организмга киргач қондаги гемоглобин билан осон бирикади ва карбоксигемоглобин ҳосил қилади, натижада организмга кислород етишмай қолади ва организм заҳарланади.

Ис газининг гемоглобин билан бирикиши, кислороднинг гемоглобин билан бирикишига нисбатан 300 марта кучли ва кислороднинг оксигемоглобиндан ажралишига нисбатан, ис газининг карбоксигемоглобиндан ажралиш тезлиги 3600 баробар секинроқ юзага келади.

Заҳарланиш натижасида қон таркибидаги карбоксигемоглобин миқдори 20-30% ташкил этса кучсиз заҳарланиш содир бўлади; 30-35% - ўртача заҳарланиш; 70-80% - кучли заҳарланиш ва тезда ўлим содир бўлади.

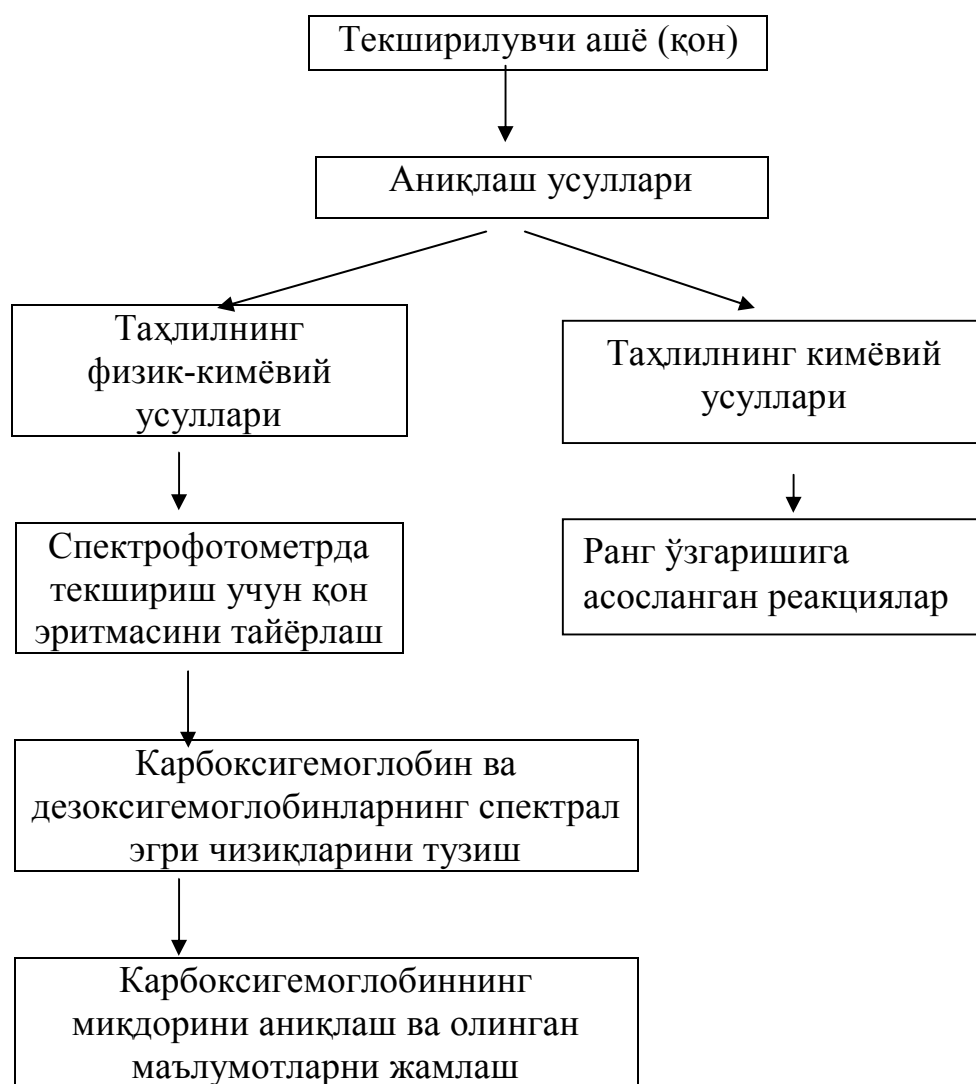
Ис гази организмдан фақат нафас йўли орқали чиқарилади. Заҳарланиш ҳолларида ис газини аниқлаш қондаги карбоксигемоглобинни кимёвий ва физик-кимёвий усуллар ёрдамида аниқлашга асосланган.

Машғулотни ўрганиш вақтида ашё сифатида ис гази билан заҳарланган ва тоза, ис гази сақламаган қон намуналари олинади.

Қондаги ис газини сифат ва миқдори аниқлаш учун талабалар қуйидаги кўрсатилган ишларни амалда бажаришлари зарур:

1. Қонда карбоксигемоглобин борлигини аниқлаш учун кимёвий текшириш олиб бориш.
2. Рангли эритмалар билан спектроскоп ва спектрофотометрда иш олиб бориш.
3. Спектрофотометр ёрдамида эритманинг оптик кўрсаткичини аниқлаш учун текширилувчи қондан ишчи эритма тайёрлаш.
4. Карбоксигемоглобин ва дезоксигемоглобинларнинг спектрал эгри чизиқларини тузиш асосларини билиш.
5. Карбоксигемоглобин ва дезоксигемоглобин спектрал эгри чизиқлари, ҳамда текширилувчи қоннинг оптик кўрсаткичларидан фойдаланиб, қондаги дезоксигемоглобиннинг фоиз миқдорини аниқлай билиш.

МАШҒУЛОТНИНГ БАЖАРИЛИШ ТАРТИБИ



Амалий машғулотнинг муваффақиятли бажарилиши ва берилган ишни тўғри ечиш учун қуйидаги фанлар бўйича олинган билимларини такрорлаш зарур:

- аналитик кимё: - рангли ва рангсиз эритмаларининг спектрофотометрияси;
- биологик кимё: - ис газининг қондаги гемоглобин билан бирикиши;
- анорганик кимё: - углерод ва унинг оксидларининг хоссалари;
- одам физиологияси: - қон ва унинг организмдаги вазифаси.

МАШҒУЛОТНИ БАЖАРИШ УЧУН МЕТОДИК ҚЎЛЛАНМАЛАР

Лаборатория машғулотни бажариш учун ашё сифатида ис гази билан заҳарланган ва тоза қон олинади. Ис газини текшириш кимёвий ва физик – кимёвий усулларда олиб борилади. Иккала усул ҳам ис газини биологик объектдан ажратилмаган ҳолда амалга оширилади.

КИМЁВИЙ ТЕКШИРИШ УСУЛЛАРИ

Қондаги ис газини аниқлаш учун жуда кўп кимёвий реакциялар тавсия этилган. Кимёвий усуллар ёрдамида ис газини аниқлаш захарланган ва тоза қонлар ранглари ўзгаришини солиштириш орқали амалга оширилади. Улар орасида тез-тез ишлатиладиган реакциялари қуйидагилардан иборат:

1. Калий гексациан (III) - феррат $K_3[Fe(CN)_6]$ - қизил қон тузи билан реакцияси. 1 мл қонга 100 млгача сув қўшиб чайқатиб аралаштирилади.

Қоннинг сувдаги эритмасидан 5 мл олиб, унга қизил қон тузининг 1% эритмасидан 5 томчи қўшилади.

Таркибида карбоксигемоглобин (ис газини) сақлаган қон ўзининг қизил рангини ўзгартирмайди, тоза қон ранги эса сарғаяди.

2. Мис сульфат эритмаси билан реакцияси. Сув билан 1:100 суюлтирилган қондан 3 мл олиб 3 томчи 10% мис сульфат эритмасидан қўшилади ва яхшилаб аралаштирилади. Карбоксигемоглобин сақлаган қон тўқ-қизил рангини сақлаб қолади, тоза қон эса яшил рангга ўтади.

3. Ўювчи натрий ишқор эритмаси билан реакцияси. 0,5 мл суюлтирилмаган қонга, 1 мл ўювчи натрийнинг 30% эритмасидан қўшилади. Бунда карбоксигемоглобин сақлаган қон ўзининг тўқ қизил рангини ўзгартирмайди, тоза қон эса кўнғир рангга киради. Чириш жараёни бошланган қонда ис газини бўлмаса ҳам ёрқин қизил ранг ҳосил бўлади.(гемохромоген)

4. Формалдегид билан реакцияси. 1 мл суюлтирилмаган қонга 1 мл 40% формалдегид эритмаси қўшиб, яхшилаб чайқатилади. Карбоксигемоглобин сақлаган қон ўзининг қизил рангини ўзгартирмагани ҳолда, тоза қон 5-10 дақиқадан сўнг кўнғир-қорамтир рангга бўялади. Агарда 20% формалдегид қўшилса ранг ўзгариши 40-60 дақиқа оралиғида сезилади.

5.Кўрғошин ацетати билан реакцияси. 0,5 мл суюлтирилмаган қонга 2 мл 5% кўрғошин ацетати эритмасидан қўшиб бир дақиқа давомида чайқатилади. Карбоксигемоглобин сақлаган қон ўзининг қизил рангини сақлаган ҳолда, тоза қон кўнғир рангга бўялади.

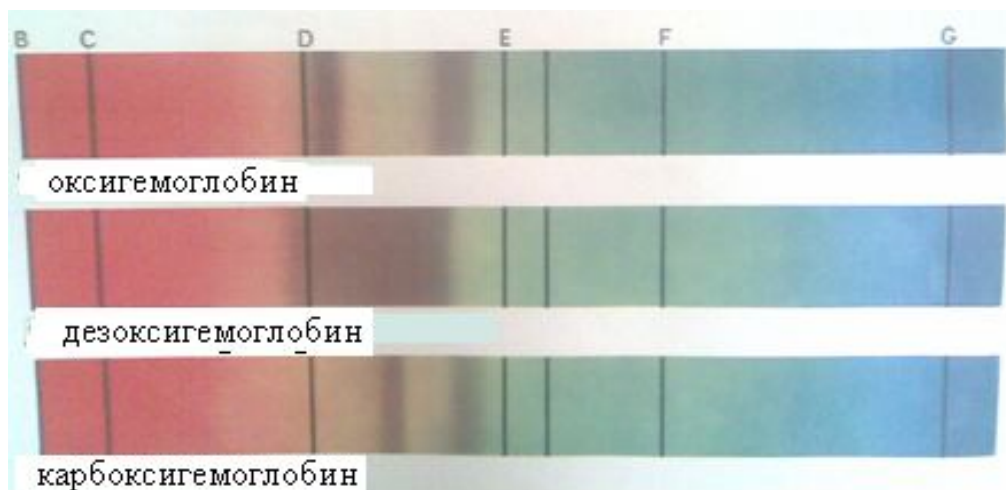
Адабиётларда қондаги ис газини аниқлашда қўлланиладиган кўплаб кимёвий реакциялар келтирилган.Қонда карбоксигемоглобин борлигини тасдиқлаш учун бир нечта реакция натижасини солиштириб, сўнг хулоса чиқариш талаб этилади, фақат битта реакция натижасига асосланиш хатоликка олиб келиши мумкин.

Юқоридаги реактивлар билан таркибида карбоксигемоглобин сақламаган (тоза)қон реакцияга киришади, захарланган қонда эса сезиларли ўзгариш содир бўлмайди. Шунингдек қисман енгил захарланиш содир бўлган ҳолатларда юқоридаги реактивлар худди захарланмаган қон каби натижа беради.

Шу сабабли кимёвий текшириш усуллари кам миқдор карбоксигемоглобинни аниқлаш учун аҳамиятли эмас.

Физик-кимёвий усуллар ёрдамида ис газини аниқлаш

1. Спектроскопик усулида ис газини таҳлил қилиш. Карбоксигемоглобин сақловчи қон спектроскоп ёрдамида текширилганда спектрнинг Д ва Е соҳасидаги Фраунгофер чизиклари (спектрлари) - кўринади. Оксигемоглобин (HbO) спектрнинг Д ва Е соҳалари орасида 577-556 нм тўлқин узунликларига тенг спектр ютилишини ҳосил қилади. Оксигемоглобин, дезоксигемоглобин ва карбоксигемоглобин спектрлари ва улардаги фарқ 1 расмда кўрсатилган.



1 расм. Ис гази билан захарлангандаги қон спектрлари

Карбоксигемоглобин эса 564-579 ва 523-536 нм га тенг соҳаларда спектрлар ҳосил қилади. Оксигемоглобин моддасига тегишли спектрлар қайтарувчи модда (аммоний сульфид) таъсиридан бир-бири билан бирлашиб ва 543-596 нм соҳа орасида кенг спектр йўли ҳосил бўлади. Аксинча, қонда карбоксигемоглобин бўлса бу соҳада спектрлар ўзгармасдан сақланиб қолади. Чунки карбоксигемоглобин аммоний сульфид таъсирида гемоглобингача қайтарилмайди.

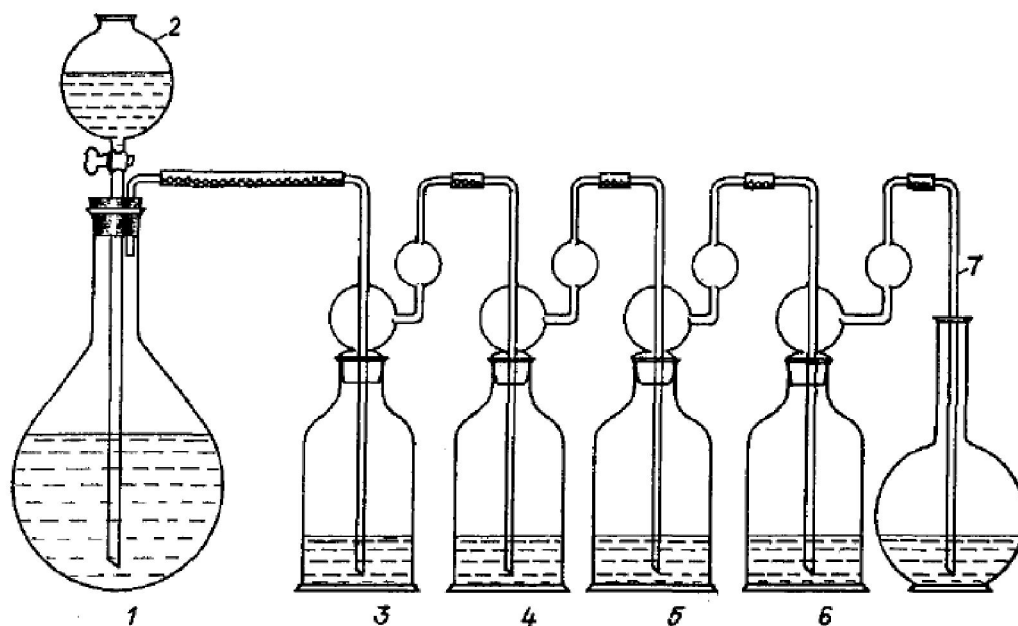
2. Спектрофотометрик усулида таҳлил қилиш. Спектрофотометрик усул токсикологик кимё лабораторияларида ис гази ва бошқа гемоглобинга таъсир этувчи захарларни аниқлашда кенг қўлланилмоқда. Усул моҳияти оксигемоглобин ҳамда карбоксигемоглобинни дезоксигемоглобингача қайтариб, унинг оптик кўрсаткичини аниқлашга асосланган.

Юқорида келтирилган гемоглобиндан ҳосил бўладиган моддаларни (дезоксигемоглобин, оксигемоглобин ва карбоксигемоглобин) 450-620 нм тўлқин узунлиги соҳасида нур ютиш спектрларига асосланиб чинлиги ва миқдорини аниқлаш мумкин.

Бунинг учун текширилувчи қон эритмаси (А), карбоксигемоглобин ва дезоксигемоглобин аралашмасидан иборат қон эритмаси (Б), ҳамда фақат карбоксигемоглобин сақловчи қон эритмаси (В) тайёрланади.

А - эритмани тайёрлаш учун 1 мл қўйқалар сақламаган қонга 100 мл бўлгунча $pH=7,38$ га тенг фосфат буфери ёки 0,1% аммиакни сувли эритмасидан қўшиб аралаштирилади. Олинган эритма ранги тиниқ бўлишига аҳамият берилади.

Б - эритмани тайёрлаш учун спектрофотометр кюветасига А-эритмадан қўйилади ва устига 3-4 мг дитионит (гидросулфит) натрий ($Na_2S_2O_8 \cdot 2H_2O$) кристаллари қўшиб яхшилаб аралаштирилади. Бунда оксигемоглобин тўлиқ дезоксигемоглобингача қайтарилади. Реактив қўшилгандан сўнг, эритма тиниқ бўлиши назорат қилинади.



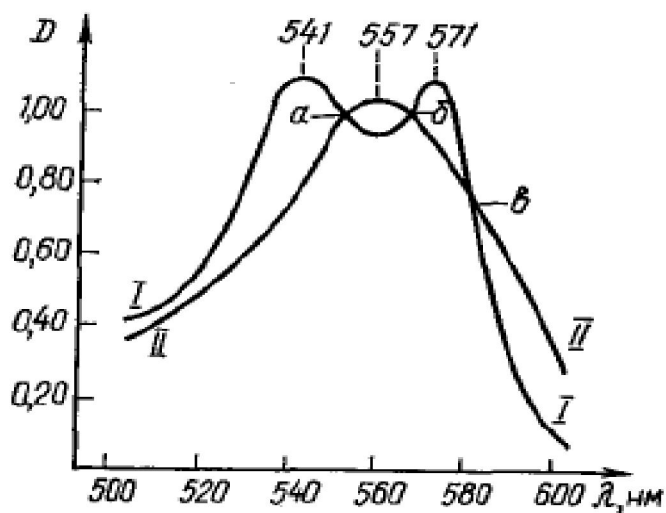
2 расм. Қонни углерод (II) оксиди билан тўйинтириш қурилмаси.

В - эритмани тайёрлаш учун махсус мослама (2-расм) ёрдамида концентрланган сульфат кислотаси ҳамда чумоли кислотасидан ҳосил қилинган, ис гази ишқорнинг 10% эритмасидан (3) ($HCOOH$ парини ушлаб қолади) ва сўнг сувдан (4) ($NaOH$ дан тозалаш) ўтказилгач, А-эритмасини сақловчи (5) идишга юборилади. Бу ерда қондаги оксигемоглобин тўлиқ карбоксигемоглобинга ўтади. Сўнг метгемоглобинни дезоксигемоглобинга ўтказиш мақсадида идишга 5-7мг дитионит натрий қўшилади ва яна қўшимча ис гази билан тўйинтирилади. Карбоксигемоглобин сақловчи эритма ҳам тиниқ бўлиши шарт. Солиштирувчи эритма сифатида иккинчи кюветага қонни суялтириш учун олинган буфер (ёки бошқа вариантларида шунга мос) эритмадан ёки сувдан фойдаланиб Б ва В эритмалар нур ютиш спектри 450-620 нм соҳасида ўлчанади ва ҳар иккала спектр кўрсаткичлари битта чизмага чизилади.

Бунда дезоксигемоглобин (Б эритма) 557 нм га тенг битта спектрал максимумли, карбоксигемоглобин эса 541 ва 571 нм га тенг иккита спектрал максимумли спектрлар ҳосил қилиши ва уларнинг умумий чизмасида эса 550, 565 ва 580 нм га тенг соҳаларида спектрлар кесишган (изобестик) нуқталарни ҳосил бўлиши (3-расм) характерли ҳисобланади.

Микдорини аниқлаш учун шу чизмадан фойдаланилади.

А ва В эритмалар оптик зичликлари ўлчаб олиниб формуладан фойдаланиб карбоксигемоглобин микдори аниқланади.



3-расм. I- карбоксигемоглобиннинг, II-дезоксигемоглобиннинг нур ютиш спектрлари.

узунлигида, эгри чизиқлар кесишган нуқтада ўлчаб олинади (карбоксигемоглобин ва дезоксигемоглобиннинг спектр эгри чизиқларига қаранг).

Карбоксигемоглобиннинг спектр чизиғи қонни махсус мосламада, унда бўлиши мумкин бўлган оксигемоглобин, дезоксигемоглобин ва метгемоглобинларни ис гази билан тўйинтирилиб, тўлиқ HbCO га ўтказиб, сўнгра оптик зичлигини ўлчаб аниқланади.

Дезоксигемоглобиннинг спектр чизиғи эса, тоза (карбоксигемоглобин сақламаган) қонга натрий гидросулфит (қайтарувчи) таъсир эттирилгач, аниқланади.

Аниқлаш тартиби. Карбоксигемоглобин микдорини аниқлашда буфер эритма ўрнига аммиак эритмасидан фойдаланиб аниқлаш усули ҳам мавжуд. Текширилувчи қон 100 мл ҳажмли ўлчов колбасига солинади ва белги чизиғига 0,1% аммиакнинг сувдаги эритмаси билан тўлдирилади. Яхшилаб аралаштирилгач, ундан 1 см ўлчамли спектрофотометр кюветасига солинади.

Кюветадаги эритмага натрий гидросулфит кристаллари қўшиб, қопқоқчани ёпиб чайқатилади, сўнгра эритманинг оптик зичлиги спектрофотометрда $\lambda=534$ нм ва $\lambda=550$ нм га тенг нур тўлқин узунликларида ўлчанади. Солиштирувчи эритма сифатида 0,1% аммиак эритмасидан фойдаланилади.

Олинган маълумотлар асосида карбоксигемоглобиннинг қондаги фоиз микдори қуйидаги формула ёрдамида ҳисобланади.

Қондаги карбоксигемоглобин миқдори % қиймати қуйидаги формулага асосан аниқланади.

$$P = 100 - \frac{(D_{\text{COHb}} - D_{\text{HbCOHb}}) \cdot 100}{D_{\text{HbI}} \cdot K}$$

P- карбоксигемоглобин миқдори %

D_{COHb} –қўшимча углерод (II) оксиди билан тўйинтирилган В эритроцитдаги қонни 538 нм тўлқин узунлигидаги оптик зичлиги.

D_{HbCOHb} – дезокси ва карбоксигемоглобин сакловчи В қон эритроцитини натрий дитионит қўшгандан сўнг 534 нм даги оптик зичлиги.

D_{HbI} – В эритроцитини 550 нм (изобестик нуқта) даги оптик зичлиги.

K – коэффициент 0,372.

Олинган натижа ис гази билан заҳарланишни суд-тиббий баҳолашга хизмат қилади.

Мавзунини ўзлаштириш учун тест саволлари

1. Ис гази гемоглобин билан боғланиб қандай модда ҳосил қилади?

- а) метгемоглобин
- б) дезоксигемоглобин
- в) карбоксигемоглобин
- г) оксигемоглобин

2. Бемор қони таркибидаги карбоксигемоглобинни ўлимга олиб келадиган фоиз миқдорини кўрсатинг

- а) 40 %
- б) 50 %
- в) 70 %
- г) 80 %

3. Ис газининг гемоглобин билан бирикиши, кислороднинг гемоглобин билан бирикишига нисбатан неча марта кучли?

- а) 300
- б) 200
- в) 400
- г) 100

4. Қондаги карбоксигемоглобинни аниқлашни кимёвий реакциялари нимага асосланган?

- а) ранг ўзгаришига
- б) спектр кўрсаткичлари ўзгаришига
- в) рН- муҳити ўзгаришига
- г) Rf- қийматини ўзгаришига

5. Қуйидаги қайси кимёвий реакция қондаги ис газини аниқлашга асосланган?

- а) NaOH эритмаси билан реакцияси
- б) NaCl эритмаси билан реакцияси
- в) Марки реактиви билан
- г) Фреде реактиви билан

6. Қондаги ис газини аниқлашда қандай физик-кимёвий усулдан фойдаланилади?

- а) спектрофотометрик усули
- б) фотоколориметрик усули
- в) газ суюқлик хроматография усули
- г) барчаси тўғри

7. Дезоксигемоглобин нима?

- а) кислород билан боғланган гемоглобин, ис гази билан боғланмаган
- б) кислород билан боғланмаган, ис гази билан боғланган гемоглобин
- в) кислород билан ҳам, ис гази билан ҳам боғланмаган
- г) кислород билан ҳам, ис гази билан ҳам боғланган

8. Қондаги ис газини спектрофотометрик усулда аниқлашда солиштирувчи эритма нима?

- а) сув
- б) тоза қон
- в) қайтарувчи реактив
- г) реактив сақлаган сув

9. Қондаги ис газини миқдорини қандай усул ёрдамида аниқланади?

- а) Оғирлик
- б) ҳажмий
- в) газ суюқлик хроматографияси
- г) спектрофотометрик

«Чархпалак» усули

№ реакциялар номи	Кимёвий таҳлил натижалари			
	қўнғир	яшил	жигар ранг- қора	сарик
NaOH эритмаси				
Мис сульфат				
$K_3[Fe(CN)_4]$				
Қўрғошин ацетат				
CH_2O эритмаси				

Талабаларнинг билимларини синаш учун саволлар

1. Ис гази қандай физик-кимёвий хоссаларга эга ва организмга қайси йўл билан киради?
2. Ис гази ҳосил бўладиган қандай манбаларни биласиз (кимёвий тенгламалар ёрдамида тушунтиринг) ва заҳарланишдан сақланиш чораларини айтиб беринг?
3. Ис газининг инсон организмига таъсири ва уни организмдан чиқариш усуллари тушунтиринг?
4. Углерод (II) - оксид билан заҳарланиш белгилари қандай?
5. Қонда карбоксигемоглобин қанча миқдорда бўлганда бемор нобуд бўлиши мумкин?
6. Қондан ис газини сифат ва миқдорини аниқлашда ишлатиладиган қандай физик-кимёвий усуллар сизга маълум?
7. Қонда ис газини аниқлаш учун ишлатиладиган кимёвий усуллар қандай ҳодисага асосланган?
8. Қондаги ис газини аниқлашда қандай ранг ҳосил қилувчи реакциялар тавсия этилган?
9. Қондаги ис газини спектрофотометрик усулда аниқлаш нималарга ва қандай жараёнларга асосланган?

АДАБИЁТЛАР

1. Крамаренко В.Ф. – Токсикологическая химия, Киев, 1989
2. Плетенева Т.В. – Токсикологическая химия, Москва, 2005
3. Крамаренко В.Ф. – Анализ ядохимикатов, М., 1976 г.
4. Икромов Л.Т., Тожиев М.А., Зайнутдинов Х.С. – Токсикологик кимёдан практикум, Тошкент, 2007
5. Методические указания с количественном определении карбоксигемоглобина, М., 1974г.