

O‘ZBEKISTON MILLIY STANDARTI

Jun - gidrolizatlarda sistin va sisteinni kolorimetrik aniqlash

(ISO 2913:1975, IDT)

Rasmiy nashr

O‘zbekiston standartlar instituti

Toshkent

So‘zboshi

1 O‘zbekiston standartlar instituti tomonidan QABUL QILISHGA TAQDIM ETILDI.

2 O‘zbekiston standartlar institutining 2024-yil 12-avgust 45/XSt - sonli buyrug‘i bilan TASDIQLANDI.

3 Ushbu standart ISO 2913:1975 “Wool - Colorimetric determination of cystine plus cysteine in hydrolysates” xalqaro standartiga aynan o‘xshash.

4 DASTLABKI AMALGA KIRITILISHI

Ushbu standart va unga bo‘lgan o‘zgartishlarni O‘zbekiston hududida amalga kiritish haqidagi axborot Standartlashtirish bo‘yicha milliy organning rasmiy veb-saytlari va standartlarning yillik axborot ko‘rsatkichlarida qayd etiladi. Ushbu standartni qayta ko‘rib chiqish yoki bekor qilish haqidagi muvofiq axborot Standartlashtirish bo‘yicha milliy organning rasmiy veb-saytlari va standartlarning yillik axborot ko‘rsatkichlarida qayd etiladi.

Ushbu standartni O‘zbekiston Respublikasi hududida rasmiy chop etish mutlaq huquqi O‘zbekiston standartlar institutiga tegishli

Muqaddima

ISO (xalqaro standartlashtirish tashkiloti) - Butunjahon milliy standartlashtirish organlari federatsiyasidir (ISO a'zo organlari). Xalqaro standartlarni tayyorlash bo'yicha ishlar odatda ISO texnik qo'mitalari tomonidan amalga oshiriladi. Texnik qo'mita tashkil etilgan mavzuga qiziqqan har bir a'zo tashkilot ushbu qo'mitada vakillik qilish huquqiga ega. ISO bilan o'zaro aloqada bo'lgan xalqaro tashkilotlar, hukumat va nodavlat tashkilotlar ham ishda ishtirok etadilar.

Texnik qo'mitalar tomonidan qabul qilingan xalqaro standartlar loyihalari ISO Kengashi tomonidan xalqaro standartlar sifatida qabul qilinishidan oldin tasdiqlash uchun a'zo organlarga yuboriladi.

ISO 2913 xalqaro standarti texnik qo'mita tomonidan ishlab chiqilgan ISO/TC38 "to'qimachilik" va 1972 yil noyabr oyida a'zo tashkilotlarga tarqatildi.

U quyidagi mamlakatlarning a'zo organlari tomonidan tasdiqlangan :

Avstraliya	Germaniya	Portugaliya
Belgiya	Vengriya	Ruminiya
Braziliya	Hindiston	Janubiy Afrika Respublikasi
Bolgariya	Eron	Shvetsiya
Kanada	Isroil	Shveytsariya
Chexoslovakiya	Yaponiya	Tayland
Daniya	Niderlandiya	Turkiya
Misr, Arab Respublikasi	Norvegiya	Birlashgan Qirollik
Finlandiya	Polsha	AQSH.

Quyidagi davlatning a'zo organi texnik sabablarga ko'ra hujjatni ma'qullamadi:

Fransiya

Kirish

Sistin jundagi eng muhim aminokislotadir. Uning disulfid guruhi juda reaktiv va junni qayta ishlashda ishlatiladigan keng reagentlar tomonidan hujumga uchraydi. Kislota bilan ishlov berish sistin tarkibiga ozgina ta'sir qilsa, ishqorlar, oksidlovchi va qaytaruvchi moddalar, bug' va yorug'lik va issiqlik ta'sirida uning kamayishiga olib keladi. Junning shikastlanishi ko'pincha sistin tarkibining pasayishi bilan bog'liq bo'lganligi sababli, uni aniqlash usuli ba'zi agentlar tomonidan kelib chiqadigan degradatsiyani nazorat qilish va tashxislash uchun foydalidir.

Ushbu usul Folin-Shinohara oqsillarni kislotali gidrolizatlaridagi sistinni baholash usuli, ammo shuni ta'kidlash kerakki, buzilmagan jun tarkibidagi sistin uning gidrolizati bilan bir xil bo'lishi shart emas. Usulni bajarish oddiy, ozgina maxsus apparatlarni talab qiladi va sanoat laboratoriyalarida foydalanish uchun javob beradi.

Usul quyidagilardan iborat reduktiv bo'linish ning disulfid bilan bog'lanish sistin bilan natriy bisulfitva kolorimetrik yordamida hosil bo'lgan sisteinni baholash dodekatungstofosfor kislotasi. Tabiiy jun tarkibida oz miqdordagi sistein mavjud va bu sistin va sistein tarkibiga kiradi.

O'ZBEKISTON MILLIY STANDARTI

Jun - gidrolizatlarda sistin va sisteinni kolorimetrik aniqlash**Шерсть - Колориметрическое определение цистина плюс цистеина в гидролизатах.****Wool - Colorimetric determination of cystine plus cysteine in hydrolysates**

Amalga kiritish sanasi 12.10.2024-y.

1 Qo'llanish doirasi

Ushbu standart jun gidrolizatlarida sistin va sisteinni kolorimetrik aniqlash usulini belgilaydi.

Usul har qanday shaklda, ya'ni bo'shashgan tola, lenta, aylanmalar, ip yoki mato bilan qoplangan to'qimachilikka nisbatan qo'llaniladi. Bo'yoqlar, agar mavjud bo'lsa, kolorimetrik o'lchovga xalaqit berishi mumkin. Usul oksidlangan yoki kamaytirilgan junga taalluqli emas, chunki bu reaksiyalar mahsulotlari gidrolizda salbiy reaksiyaga kirishishi mumkin, bu esa noto'g'ri natijalarga olib keladi.

Shuning uchun usul, birinchi navbatda, kamaytirilmagan yoki oksidlanmagan yuvilgan jun, toplar, iplar yoki matolarda sistin va sisteinni aniqlashda qo'llaniladi.

EDTA va siyanid kabi metallni murakkablashtiruvchi vositalar junda bo'lmasligi kerak, chunki reaksiya mis orqali katalizlanadi.

2 Standartlarga havolalar

Junning suvli sulfat kislotadagi gidrolizi. Tamponlangan gidrolizatning natriy biosulfat va dodekatungstofosfor kislotasi bilan reaksiyasi, natijada ko'k rang paydo bo'ladi, uning intensivligi sistin va sistein konsentratsiyasiga mutanosibdir gidrolizatda amalga oshiriladi. Moviy eritmaning optik zichligini kolorimetrik aniqlash va sistin va sistein yig'indisini hisoblash.

Izoh - Bo'yalmagan jun yoki gidrolizat uchun qo'llaniladigan quyidagi sifatli sinov (bo'yalgan jun bilan gidrolizatdan foydalanish kerak), sinovdan o'tgan jun tarkibida sistein miqdori odatdagidan sezilarli darajada yuqori yoki yo'qligini aniqlash uchun ishlatilishi kerak.

- 1) Bo'yalmagan jun: namunani 1% natriy pentatsianonitrosilferrat eritmasiga yaxshilab namlangunga qadar botiring, olib tashlang, filtr qog'ozlari orasida quriting va ammiak bug'lariga ta'sir qiling. Qizil-binafsha rang sistein qoldiqlarini ko'rsatadi.
- 2) Gidrolizat : 2-3 ml gidrolizatni probirkaga o'tkazing, 2 yoki 3 tomchi natriy pentatsianonitrosilferrat eritmasini qo'shing va konsentrlangan ammiak bilan gidroksidi qiling. Darhol rangning qizil-binafsha rangga o'zgarishi sistein qoldiqlarini ko'rsatadi.

3 Tamoyil

Tahlil paytida faqat tan olingan analitik reagent darajasidagi reagentlardan va faqat distillangan suvdan yoki ekvivalent toza suvdan foydalaning.

3.1 Sulfat kislota, taxminan 6 N eritma.

850 ml suvga 150 ml konsentrlangan sulfat kislota, p 1,84 g/ml, 95-98 % (ml) eritma qo'shing.

3.2 Asetat buferi, pH 5,6.

300 g natriy asetat (dihidrat), 24 ml muzlik sirka kislotasi va 1 mg mis(II) sulfat (pentahidrat) ni suvda eritib, 1 l gacha hosil qiling.

3.3 Volframstofosfor kislotasi reaktivi.

200 g natriy volframni (digidrat-molibdensiz) 400 ml suvda eritib oling, so'ngra 100 ml 85% fosfor kislotasini qo'shing va 1 soat davomida reflyuks ostida muloyimlik bilan qaynatib oling. Kondensatorni olib tashlang, yorqin sariqdan jigarrang ranggacha brom yoki bromli suvni tomchilab qo'shing. Ortiqcha bromni qaynatib oling (taxminan 15 daqiqa). Sovutib oling, 1 litr hajmli idishga filtrlang va suv bilan hajmgacha oshiring. Olingan shaffof, och sariq-jigarrang eritmani jigarrang shisha idishda saqlang.

3.4 Natriy disulfad eritmasi.

10 g natriy bisulfatni suvda eritib, 100 ml gacha hosil qiling va qorong'ida saqlang. Agar 20 kundan ortiq bo'lsa, reaktivni ishlatmang.

3.5 Sistin standart eritma.

100 mg sf sistinni 20 ml sulfat kislotada (3.1) 250 ml o'lchov kolbasida eritib oling va suv bilan hajmgacha hosil qiling.

Izoh - sistin kaltsiy xlorid ustida quritgichda quritilishi kerak, quritgich qorong'ida saqlanadi.

4 Qurilma**4.1 Analitik balans, 0,2 mg ga to'g'ri keladi.****4.2 Shishalarni maydalangan shisha tiqinlar bilan tortish.**

4.3 $105 \pm 2^{\circ}\text{C}$ da sinov namunalarini quritish va gidrolizlash uchun shamollatiladigan quritish pechi.

4.4 Quritgich.**4.5 O'lchov kolbalari,**

100 ml va 25 ml, yuqori aniqlik (masalan, mos keladigan ISO/R 1042, A yoki B sinf).

4.6 Pipetkalar, 15 ml, 10 ml, 5 ml, 2 ml va 1 ml Alikvot gidrolizat va standart sistin eritmasini olish uchun ishlatiladigan 1 ml va 5 ml pipetkalar mavjud bo'lgan eng yuqori aniqlikka ega bo'lishi kerak (masalan, ISO/R 648, A sinfiga mos kelishi kerak).

4.7 Tegishli idishning konusli kolbalari va shisha tayoqchalar.

4.8 Shisha kolbalar, sinterlangan shisha filtrlar yoki filtr qog'ozi bilan voronkalar (miqdoriy).

4.9 Spektrofotometr yoki 720 nm va undan yuqori to'lqin uzunligida maksimal yutilish filtri bo'lgan filtrli fotometr. Harqanday qurilma 0 dan 0,7 tang gacha bo'lgan optik zichlikni 0,01 gacha aniqlik bilan o'qish va kasrgacha aniqlik bilan baholash sharti bilan mos keladi.

5 Namuna olish va namuna tayyorlash

Quyma bir namuna vakili oling va quyidagi sinov namunalari bilan ta'minlash uchun etarli:

- har birining massasi taxminan 1 g bo'lgan ikkita sinov namunasi quruq massani aniqlash uchun;

- har birining massasi taxminan 0,3 g bo'lgan ikkita sinov namunasi gidrolizatlar ishlab chiqarish uchun.

Bo'sh jun, bint va boshqalar namunalaridan barcha o'simlik moddalarini va boshqa begona moddalarni olib tashlang. Qisqa uzunlikdagi (taxminan 1 cm) ipga olishdan oldin ip yoki mato namunalarini ajratib oling. Ipga bo'linmaydigan kigiz materiali avval mayda bo'laklarga tortilishi

kerak. Ipga ajratib bo'lmaydigan kigiz material avval kichik bo'laklarga kesilishi kerak. Namunani Diklorometan bilan Soxlet apparatida 1 soat davomida, soatiga kamida 6 sikl tezlikda chiqarib oling va tozalangan namunadan diklorometanni bug'lang.

6 Jarayon

6.1 Sinov namunalarini tortish

Ketma-ket tortinglar, bandda tasvirlangan bir aniqlik namunalari uchun 5. Har biri 0,000 2 g quruq ikkita namunani aniqlash uchun har biri 1 g massadan foydalaning, ikkita sinov namunasini sinovdan o'tkazish uchun (6.2 ga qarang) va 0,3 g qayta sinov gidrolizatlari uchun (6.3 ga qarang).

6.2 Quruq massani aniqlash

Har bir sinov namunasini tortish shishasiga (4.2) o'tkazing va quritish pechida (4.3) 105 ± 2 °C da quritib, shishani to'xtatib, uni quritgichda (4.4) sovutib oling, olib tashlang va torting. Doimiy massaga erishilgunga qadar ushbu quritish va tortish operatsiyalarini takrorlang. Ushbu quritish va tortish operatsiyalarini takrorlang doimiy massaga erishildi¹⁾. Sinovni olib tashlang namunalar, tortish idishlarini torting va shuning uchun sinov namunalarining quruq massasini aniqlang. Gidrolizat sinov namunalarining quruq massasini mutanosib ravishda hisoblang.

6.3 Gidroliz

Bitta sinov namunasini 100 ml (4,7) konusning kolbasiga o'tkazing, 8 ml sulfat kislota eritmasini (3,1) qo'shing va 105 ± 2 °C haroratda quritish shkafiga qo'ying. 10 soatdan keyin kolbani olib tashlang, xona haroratiga qadar sovutib oling, miqdoriy ravishda 100 ml o'lchov kolbasiga (4,5) o'tkazing, distillangan suv bilan hajmga keltiring va yaxshilab aralashtiring. Quruq, sinterlangan shisha filtr yoki quruq filtr qog'ozi orqali kamida 50 ml filtrlang (4.8).

6.4 Optik zichlik o'lchash

6.4.1 Umumiy

Barcha optik zichlik o'lchovlari 720 dan 890 nm gacha bo'lgan to'lqin uzunligida, to'lqin uzunligi 1 mm diametrli hujayralar yordamida amalga oshirilishi kerak. Agar boshqa o'lchamdagi katak ishlatilsa, natijalar mos ravishda tuzatiladi. Quyidagi ko'rsatmalar va hisob-kitoblarda 10 mm xujayrasi bo'lgan deb taxmin qilinadi.

Optik zichlik qiymati 0,70 dan kichik bo'lishi kerak; aks holda kichikroq o'lchamdagi yoki kichikroq miqdordagi gidrolizat hujayradan foydalanish kerak.

6.4.2 Ma'lumot yechimi

Barcha optik zichlik uchun mos yozuvlar yechimi.

6.4.3 Sistein va qo'shimcha reduktorlar

5 ml gidrolizat (6,3) ni 25 ml hajmli o'lchov kolbasiga (4,5) o'tkazing, 15 ml bufer eritmasi (3,2), so'ng 2 ml volfram-fosfor kislotasi reaktivi (3,3) qo'shing. Yaxshilab aralashtiramiz va 20-30 daqiqa turishga ruxsat bering. Distillangan suv bilan hajmni oshiring, yaxshilab aralashtiring va optik zichlikni o'lchang. Olingan qiymatni 5 ga bo'ling va uni A deb belgilang.

6.4.4 Sistin, sistein (ikki marta) va reduktorlar kamaytiruvchi moddalar

1 ml gidrolizat (6,3) ni 25 ml o'lchov kolbasiga (4,5) o'tkazing, 5 ml bufer eritmasi (3,2), 1 ml natriy bisulfit eritmasi (3,4) va 2 ml volframfosfor kislotasi reaktivi (3,3) qo'shing. Yaxshilab aralashtiramiz va 20-30 daqiqa turishga quyib bering. Distillangan suv bilan hajmni oshiring, yaxshilab aralashtiring va optik zichlikni o'lchang. Ushbu qarorni ikki nusxada qiling va o'rtacha B qiymatini belgilang.

6.4.5 Standartlashtirish

Gidrolizat o'rniga 1 ml standart sistin eritmasi (3.5) yordamida 6.4.4 da ko'rsatilgandek kolorimetrlarni normallashtirish uchun eritma tayyorlang. Ushbu ta'rifni ikki nusxada bajaring va o'rtacha qiymatni belgilang C.C 0,56 dan 0,70 gacha bo'lishi kerak.

7 Natijalarni ifodalash

Formulada sistin va sisteinning S foizini hisoblang

$$S = \frac{100(B - A)}{25 \times C \times m}$$

bu yerda *m*-sinov namunasining grammdagi quruq massasi.

8 Sinov bayonnomasi

Sistin va sistein miqdori ma'lum bo'lgan nazorat namunasini kiritish orqali har bir sinov qismini tekshirish tavsiya etiladi. Buning uchun mos namuna bo'yalmagan kamarli ip mos keladi.

9 Sinov bayonnomasi

Sinov bayonnomasida quyidagilar ko'rsatiladi:

- a) Olingan natija;
- b) Individual natijalar;
- c) Ushbu standartga havola;
- d) Yetarli material yo'qligi sababli sinov jarayondan har qanday og'ish;
- e) Ushbu standartda ko'zda tutilmagan va natijalarga ta'sir qilishi mumkin bo'lgan barcha jarayon tafsilotlar.

Bibliografiya

- [1] Folin va Looney, J. Biol. Kimyo, 1922, 51, 421.
- [2] Folin va Marenzi, J. Biol. Kimyo, 1929,83,103
- [3] Folin va , J. Biol. Kimyo, 1934,106,133
- [4] Lugg, Biokimyo. J.,1932,26,2144,2160
- [5] Lugg, Biokimyo. J., 1933, 27, 1022.
- [6] SH1NQHARA, J. BioL Chemistry, 1935, 109 665.
- [7] SN0HARA, J. Bioy. Kimyo, 1936, 112,67 1 683-bet.
- [8] Schoberl va Rambacher, Biochem. Z., 1938, 295, 355.
- [9] Schoberl, Textil-Praxis, 1959, 14, 701.
- [10] BLACKVRN, darslik. Tech. qo‘mita, stajyor. Jun to‘qimachiliktashkiloti, 1948, 2, 40.
- [11] S PEARMAN VA PARK, qurilgan. V. Textile France, 1952, 30, 255.
- [12] ZAHN VA TRAUMANN, Meßliand Textilher, 1954, 35, 1069.
- [13] T. GERTSEN I Lp/v. T. 0. Texnik. Qo‘mita, 1962 yil may, 12-sonli ma‘ruza va 1962-yil, 20-sonli ma‘ruza.
- [14] LEES VA ELLSWORTH, LW.T.8. Tech. Qo‘mita, 1963 yil may, Hisobot №. 16.
- [15] BOUTERS, LEFEVRE VA VAN OVERBEEK, Bull Inst. To‘qimachilik Frantsiya, 1964, 18, 773.

Bibliografik ma’lumotlar

SUT 677.31:677.01