

प्रयोग 5 शर्कराओं का कागज वर्णलेखी पृथक्करण और अभिनिर्धारण

रूपरेखा

- 5.1 प्रस्तावना
 - उद्देश्य
- 5.2 सिद्धांत
- 5.3 आवश्यकताएं
- 5.4 प्रक्रिया
- 5.5 प्रेक्षण और परिकलन
- 5.6 परिणाम और विवेचन

5.1 प्रस्तावना

पिछले प्रयोग में आपने कागज वर्णलेखिकी द्वारा धातु आयनों का पृथक्करण किया। इस प्रयोग में आप कागज वर्णलेखिकी का उपयोग शर्कराओं के पृथक्करण में करेंगे।

शर्करा शब्द मोनो और डाइ-सैकेराइडों के लिए होता है जो जल में विलयशील होते हैं और इस दृष्टि से वे पॉलिसैकेराइडों से भिन्न होते हैं। अनेक प्राकृतिक शर्कराएं मीठी होती हैं किन्तु त्रिविद्य रासायनिक विन्यास के साथ मिठास में बहुत अंतर होता जाता है।

शर्कराओं की कागज वर्णलेखिकी का गुणात्मक और मात्रात्मक पृथक्करण दोनों में अत्यंत महत्व है। बड़े पैमाने में शर्करा उद्योग में, फलों के रस के विश्लेषण में और अनेक अन्य क्षेत्रों में यह अत्यंत उपयोगी सिद्ध हुआ है।

विशिष्ट कागज वर्णलेखी पृथक्करणों में अनेक डेवेलपर का उपयोग किया जाता है। इस समय जिन डेवेलपर का उपयोग किया जाता है उनमें कुछ शर्करा मिश्रणों के पृथक्करण में अधिक संतोषजनक परिणाम प्राप्त करने के लिए, संशोधन किया जा सकता है। किन्तु प्रकाशिक समावयवों को पृथक् करने में अर्थात् संगत D- और L- शर्कराओं को पृथक् करने की विधियों को अभी तक विकसित नहीं किया जा सका है।

उद्देश्य

इस प्रयोग के अध्ययन और निष्पादन के बाद आप,

- कागज वर्णलेखिकी के सिद्धांत की व्याख्या कर सकेंगे,
- कागज वर्णलेखिकी द्वारा आप शर्कराओं का पृथक्करण और अभिनिर्धारण कर सकेंगे।

5.2 सिद्धांत

विलेय (शर्करा) का स्थिर और गतिशील प्रावस्थाओं के बीच वितरण अर्थात् वितरण प्रक्रम, शर्कराओं के कागज वर्णलेखी पृथक्करण का प्रमुख कारक है। उनके वितरण गुणांक वास्तव में जलीय प्रावस्था के पक्ष में होते हैं। इसलिए गैर-जलीय डेवेलपर के साथ कागज क्रोमेटोग्राम में शर्कराओं के R_f मान कम होते हैं जबकि अधिक जलीय अनुपात वाले डेवेलपर के साथ शर्कराओं के R_f मान बहुत अधिक होते हैं। इसका कारण यह है कि अधिक हाइड्रॉक्सी समूह वाला शर्करा अणु, जल में आसानी से घुल जाता है और वितरण गुणांक, जलीय प्रावस्था के पक्ष में होता है। इसके अलावा शर्कराओं के R_f मानों पर उनके संरचना सूत्र अणु-द्रव्यमान,

उपस्थिति का प्रभाव भी पड़ता है।

इस प्रयोग में आप सामान्य शर्कराओं के कागज वर्णलेखी पृथक्करण का अध्ययन करेंगे।

शर्कराओं का कागज वर्णलेखी
पृथक्करण और अभिनिर्धारण

5.3 आवश्यकताएं

उपकरण		रासायनिक द्रव्य
क्वथन नलियां	5	शर्कराएं
मापी सिलिंडर (100 cm ³)	1	संसूचक (सूची नीचे दी गई है)
बिन्दुक केशिकाएं	5	1-ब्यूटनॉल
फुहार बोतल	1	ऐसीटिक अम्ल
हाटमन नं. 1 निस्पंदक पत्र शीट		

उपलब्ध विलयन

1. अज्ञात शर्करा नमूना विलयन : किसी एक अथवा दो शर्कराओं को जल में घोलकर इसे बनाया जा सकता है।

2. संसूचक : निम्नलिखित संसूचक में से किसी को भी बनाया जा सकता है।

संसूचक-1 : (अमोनियामय सिल्वर नाइट्रेट) सिल्वर नाइट्रेट के संतृप्त जलीय विलयन के 5 cm³ लेकर उसमें 50 cm³ ऐसीटोन मिलाएं। अंत में विलयन को स्वच्छ और क्षारकीय बनाने के लिए उसमें अमोनिया विलयन मिलाएं।

संसूचक-2 : (एनिलीन हाइड्रोजन थैलेट) 1 cm³ एनिलीन और 1.66 gm थैलिक अम्ल को जल के साथ संतृप्त किए गए 1-ब्यूटनॉल के 100 cm³ में घोलें।

संसूचक-3 : 1-ब्यूटनॉल के 100 cm³ में *p*-एनिसिडीन हाइड्रोक्लोराइड

संसूचक-4 : (अनपचायी शर्कराओं के लिए) 0.25 M सोडियम बोरेट + फीनॉल रेड + मेथेनॉल को 1:2:7 के अनुपात में मिलाकर विलयन तैयार करें।

5.4 प्रक्रिया

1. विलयन तैयार करना

i) नमूना विलयन: निम्नलिखित शर्कराओं में से किन्हीं तीन के जलीय विलयन तैयार करें। इसके लिए एक छोटी परख नली में 5 cm³ जल में 0.2-0.5 gm शर्करा घोलें। शर्कराएं इस प्रकार हैं : D - ग्लूकोस, D - फ्रक्टोस, D - जाइलोस, L - रैमनोस, D - गैलेक्टोस, लैक्टोस, माल्टोस, सुक्रोस, D - मानोस

ii) शर्कराओं का मिश्रित विलयन तैयार करना: एक शुष्क परख नली में प्रत्येक शर्करा विलयन की कुछ बूँदें मिलाएं।

पौधों अथवा फलों के रस में शर्कराओं का विश्लेषण करने के लिए पहले पदार्थ का संग्रह कर लें उसके बाद उपयुक्त विलायक की उपस्थिति में उस पदार्थ को पीसकर शर्कराओं को निष्कासित कर लें।

अंत में निष्कर्ष से गैर-कार्बोहाइड्रेट भाग को पृथक कर दें। निष्कर्ष को सीधे अथवा सान्द्रण के बाद प्रयुक्त किया जाता है।

फलों से प्राप्त निष्कर्ष में शर्कराओं के साथ-साथ अनेक अन्य-पदार्थ भी होते हैं। उदाहरण के लिए प्रोटीन और कार्बनिक अम्ल पर्याप्त मात्रा में विद्यमान रहते हैं जिसका क्रोमेटोग्राम की गुणता पर प्रभाव पड़ता है।

जैव पदार्थों के संग्रहण के समय सूक्ष्म जीवों (एन्जाइमों) की उपस्थिति से शर्कराओं के किण्वन द्वारा उनके संघटन में परिवर्तन की संभावना रहती है।

2. डेवेलपर : एक पृथक्करण कीप में 1-ब्यूटनॉल + ऐसीटिक अम्ल + जल को 4 : 1 : 5 के अनुपात में लेकर धीरे से हिलाएं। परतों को स्थिर होने दें। निचली जलीय परत को अलग कर दें और ऊपरी कार्बनिक परत (प्रावस्था) को शर्कराओं के डेवेलपर के रूप में इस्तेमाल करें।
3. वांछित आमाप के वर्णलिखी कागज की पट्टियां काट लें।
4. प्रत्येक पट्टी में एक सिरे से लगभग 1 cm की दूरी पर पेन्सिल से एक रेखा खींचें। इस रेखा के मध्य में एक चिन्ह अंकित करें। इसी चिन्ह पर नमूने को प्रयुक्त किया जाता है। कागज के ऊपर की ओर पेन्सिल से प्रयुक्त शर्करा का नाम लिख दें।
5. क्रमिक शर्करा विलयन को चिन्हित पट्टी में अनुप्रयोग बिन्दु पर प्रयुक्त करें। प्रत्येक विलयन के लिए नई केशिका का उपयोग करें।
6. अन्य पट्टियों पर अलग-अलग मिश्रण विलयन और अज्ञात विलयन प्रयुक्त करें।
7. विलायक को उद्वाष्पित कर बिन्दु स्थलों को सुखा लें।
8. स्वच्छ और शुष्क क्वथन नलियां लेकर प्रत्येक में आवश्यकता अनुसार डेवेलपर डालें।
9. बिन्दुकित और शुष्कित कागज की पट्टियों को क्रमिक क्वथन नलियों में लटकाएं जिनमें डेवेलपर रखा हो। कागज की पट्टियों को इस प्रकार लटकाएं कि ऊपरी सिरा पिन द्वारा कार्क से जुड़ा हो और निचला सिरा डेवेलपर को छुएं। इसे सावधानी के साथ करें ताकि कागज की पट्टी खड़ी रहे। बिन्दु, सदैव डेवेलपर तल से ऊपर होना चाहिए।
10. डेवेलपर को कागज में चढ़ने दें और तब तक प्रतीक्षा करें जब तक डेवेलपर (विलायक अग्र) कागज के ऊपरी सिरे तक न पहुंच जाए।
11. कागज की पट्टी को क्वथन नली से हटालें तथा विलायक-अग्र पर पेन्सिल का निशान लगा दें।
12. पट्टी पर सुखा लें ताकि ऐसीटिक अम्ल की गंध न रहे।
13. पट्टी पर फुहार बोतल द्वारा संसूचक डालें।
14. पट्टी को अवन में 105°C पर तब तक गरम करें जब तक शर्कराओं के रंगीन क्षेत्र दिखने लगें।
15. रंगीन क्षेत्रों को पेन्सिल से गोल कर दें और प्रत्येक क्षेत्र के केन्द्र पर निशान लगा दें।
16. R_f मान परिकलित करें और अलग-अलग शर्कराओं के R_f मानों की मिश्रण में उनके R_f मानों से तुलना करें। इस से मिश्रण/नमूना विलयन में विद्यमान शर्कराओं का अभिनिर्धारण हो जाएगा।

5.5 प्रेक्षण और परिकलन

विभिन्न शर्कराओं के लिए प्राप्त बिन्दुओं के रंग की जांच करें। यह रंग, प्रयुक्त संसूचक पर निर्भर करता है। कागज क्रोमेटोग्राम पर विलेय-क्षेत्र के केन्द्र द्वारा तय की गई दूरी (ds) और विलायक अग्र द्वारा तय की गई दूरी (dm) माप लें।

$R_f = ds/dm$ सम्बन्ध की मदद से प्रत्येक शर्करा का R_f मान परिकलित करें। प्राप्त आंकड़ों को इस प्रकार रिकार्ड करें:

प्रेक्षण सारणी

1-ब्यूटनॉल, ऐसीटिक अम्ल और जल (4 : 1 : 5) की शर्कराओं का कागज वर्णलेखी पृथक्करण

शर्कराओं का कागज वर्णलेखी पृथक्करण और अ भेनिर्धारण

शर्करा	ds	dm	$R_f = ds/dm$	टिप्पणी
D-ग्लूकोस				
D-फ्रक्टोस				
L-रैमनोस				
मिश्रण				
अज्ञात				
1.			R_f	के सदृश है।
2.			R_f	के सदृश है।

5.6 परिणाम और विवेचन

अज्ञात नमूने के विद्यमान शर्कराएं इस प्रकार हैं :

- 1.
- 2.

इस डेवेलपर में शर्कराओं के R_f मान कम होते हैं क्योंकि ऊपरी कार्बनिक परत में जल की मात्रा बहुत कम होती है। क्रोमेटोग्राम में शर्करा क्षेत्रों का रंग प्रयुक्त संसूचक पर निर्भर करता है। उदाहरण के लिए संसूचक-1 का उपयोग करने पर अमोनियामय सिल्वर नाइट्रेट के अपचयन से धात्विक सिल्वर प्राप्त होता है। इसलिए अपचायी शर्कराओं से 100°C तक गरम करने के बाद भूरे काले बिन्दु प्राप्त होते हैं।

संसूचक-2 एक आमतौर पर प्रयुक्त होने वाला फुहार-अधिकर्मक है। यह ऐनिलीन हाइड्रोजन थैलेट है। रंग बनना निम्नलिखित क्रियाविधि पर निर्भर करता है। शर्करा को किसी अम्ल के साथ गरम करने पर फेरफ्यूरेलिडहाइड प्राप्त होता है जिसका ऐरोमैटिक अम्ल अथवा फीनॉल के साथ संघनन से रंगीन यौगिक प्राप्त होते हैं। जो शर्कराएं अभिक्रिया करती हैं वे लाल अथवा भूरे बिन्दु उत्पन्न करती हैं। यह ऐल्डोपेन्टोसों, ऐल्डोहेक्सोसों, मेथिल पेन्टोसों, अपचायी डाइसैकेराइडों और कुछ अन्य यौगिकों के लिए अत्यंत सुग्राही और प्रचलित फुहार अधिकर्मक है।