

A. SAAR

**Taime-  
füsioloogia**

**PRAKTIIUM**

32182

Tagastage raamat õigeaegselt!  
Возвратите книгу вовремя!

F






4-30314

AINO SAAR

TAIMEFÜSIOLOOGIA  
PRAKTIKUM

AINO SAAR

TAIMEFÜSIOLOOGIA  
PRAKTIKUM

*Labajad Eesti NSV Riikliku Ühiskondliku Teaduste Akadeemia  
kaasajate ühiskondliku teadusliku instituudi Aino  
Saariaja*



A-30314

AINO SAAR

# TAIMEFÜSIOLOOGIA PRAKTIKUM

*Lubatud Eesti NSV Põllumajanduse Ministeeriumi poolt kasutada õppevahendina Eesti Põllumajanduse Akadeemias*

1969



KIRJASTUS «VALGUS» • TALLINN 1969

Kaane kujundanud E. Tali

Õpikus käsitletakse rakkude ja kudede füsioloogia, taime veemajanduse, fotosünteesi, hingamise ning taime mineraalse toitumise ja kasvu määramise meetodeid. Peatutakse ka orgaaniliste ainete analüüsidel taimedes ja ensüümide aktiivsuse määramisel. Õpik vastab Nõukogude Liidu kõrgemates koolides kehtivatele taimefüsioloogia praktikumi programmidele ja on mõeldud Eesti Põllumajanduse Akadeemia agronoomia- ning metsandusteaduskondade statsionaarsetele ja mittestatsionaarsetele üliõpilastele.

Raamatut saavad kasutada ka keskkoolide ja tehnikumide õpetajad bioloogiliste ainete süvendatud õpetamisel ning näitlikustamisel.



## SAATEKS

Käesolev «Taimefüsioloogia praktikum» on mõeldud eelkõige õppevahendiks Eesti Põllumajanduse Akadeemia üliõpilastele, kelle õppeprogrammis on ette nähtud taimefüsioloogias kasutatavate uurimismetoditega tutvumine. Ühtlasi leiavad sellest vajalikku juhendmaterjali ka paljud üliõpilased oma teaduslikuks tööks ja diplomitöödeks teemadel, mis käsitlevad taimefüsioloogia probleeme. Lihtsamate tööde osas on selles õpikus sobivaid ülesandeid ka põllumajandustehnikumide õpetajatele ja õpilastele taimefüsioloogia aluste tundmaõppimisel.

Käesolev «Taimefüsioloogia praktikum» on esimene eesti keeles ilmuv sellealaste praktiliste tööde valmik. Raamatu koostamisel kasutati tähelepanekuid, mis autoril ning tema kolleegidel Eesti Põllumajanduse Akadeemiast ja Tartu Riiklikust Ülikoolist on selle aine õpetamisel aastate jooksul kogunenud.

Käsikirja läbivaatamisel tehtud vajalike täpsustuste eest avaldab autor siirast tänu Tartu Riikliku Ülikooli taimefüsioloogia ja biokeemia kateedri kollektiivile ja Eesti Põllumajanduse Akadeemia õppejõududele E. Turbasele, K. Haldmale, K. Kivile ja H. Jalvistele.

Raamatu kasutajate märkused tööde valiku ja tööde metoodika kohta on väga tänuväärsed. Need palutakse saata autori nimele EPA botaanika ja fütopatoloogia kateedrisse, Tartu, Mitšurini tn. 36.

*Autor*



Vahendid

Vahendid

## I. RAKU JA KUDEDE FÜSIOLOOGIA

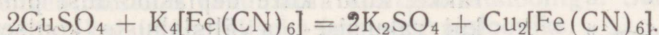
### TÖÖ 1. TRAUBE KUNSTLIKU RAKU VALMISTAMINE

#### Vahendid

0,5 N vasksulfaadilahus ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), kaaliumheksatsüaanoferraat(II) e. kollane veresool ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ) tahkena ja 1 N lahusega, pipett, katseklaas.

#### Töö käik

A. Valame katseklaasi 0,5 N  $\text{CuSO}_4$ -lahust ja lisame pipetiga ettevaatlikult klaasi seina mööda paar tilka 1 N kollase veresoola lahust. Kollase veresoola ja vasksulfaadi reageerimisel tekib veresoola tilga ümber vaskheksatsüaanoferraadi kile:



See on poolläbilaskev kile, mis laseb läbi vett, mitte aga vees lahustunud aineid. Tekkinud moodustist võib vaadelda kunstliku rakuna, milles lahuse kontsentratsioon on kõrgem kui välislahuses. Seetõttu tungib vesi kiiresti kunstlikku raku. Rakk suureneb seni, kuni lahuse kontsentratsioon kummalgi pool kilet muutub võrdseks. Võrdsete kontsentratsioonide, s. o. isotooniliste lahuste puhul kunstlik rakk ei muutu.

Kui kollase veresoola kontsentratsioon on nõrgem (näit. 0,1 N) kui vasksulfaadil, siis kunstlik rakk kortsub ja puruneb amorfseks sademeks.

B. Traube kunstlikku raku võib tekitada ka kollase veresoola kristalliga. Võtame kollase veresoola väikese kristalli ja paneme 0,5 N  $\text{CuSO}_4$ -lahusesse. Vasksulfaadi ja kollase veresoola kokkupuutel moodustub kristalli ümber vaskheksatsüaanoferraadi kile, nn. kunstlik rakk. Kristalli pideva lahustumise tõttu on selles rakus lahuse kontsentratsioon kõrgem kui välislahuses ja vesi tungib kiiresti kunstlikku raku.

Raku seina seestpoolt katva tsütoplasma membraanid sarnanevad osmootsetelt omadustelt niisuguse poolläbilaskva kilega.

Katse tulemused joonistame.

## TÖÖ 2. PLASMOLÜÜS JA DEPLASMOLÜÜS

### Vahendid

Antotsüaani sisaldav sibul, punane peakapsas või *Rhoeo discolor*, 1 M NaCl vesilahus, alus- ja katteklaasid, filterpaber, skalpell, pintsetid, mikroskoop.

### Töö käik

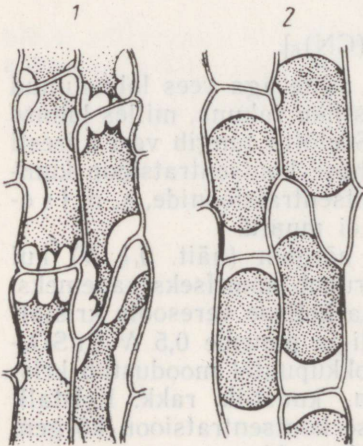
Rebime tükikese sibula- või mõne muu taime lehe alumist epidermi, valmistame preparaadid ja vaatleme mikroskoobis väikesel suurendusel. Kogu rakk on antotsüaanisisalduse tõttu ühtlaselt lilla. Asetame preparaadile tilga 1 M NaCl-lahust. Vaadeldes preparaati mikroskoobis, näeme, et tsütoplasma hakkab rakkude seintest eemalduma. Vesi väljub rakust ja vakuoli maht väheneb. Algul eemaldub tsütoplasma raku nurkadest (nõgusplasmolüüs) (joonis 1, 1), hiljem peaaegu kogu raku ulatuses (kumerplasmolüüs) (joonis 1, 2). Kui vakuool veelgi vett kaotab, eraldub tsütoplasma raku kestast niivõrd, et ainult mõned üksikud plasmaniidid võivad teda kestaga siduda. Toimub täielik plasmolüüs ja tsütoplasma tõmbub raku keskele tombuna kokku. Aeg, mille jooksul nõgusplasmolüüs läheb üle kumerplasmolüüsiks, näitab tsütoplasma viskoossuse astet.

Kui NaCl lahus asendada preparaadis veega, hakkab vesi uuesti vakuoli tungima ja tsütoplasma võtab endise asendi. Toimub deplasmolüüs.

Aeglane deplasmolüüs ei vigasta rakke, kuid kiire deplasmolüüsi puhul, kui raku sise- ja välislahuste kontsentratsioonid on väga erinevad, võib tsütoplasma mehaaniliselt puruneda ja rakud surevad.

Plasmolüütikuna võib kasutada ka teisi osmootselt aktiivseid aineid, näiteks sahharoosilahust.

Katse tulemused joonistame.



Joonis 1. Nõgusplasmolüüs (1) ja kumerplasmolüüs (2).

### TÖÖ 3. RAKUMAHLA OSMOOTSE RÖHU MÄÄRAMINE PLASMOLÜÜSIMEETODIL

#### Vahendid

*Rhoeo discolor*, mikroskoop, skalpell, pipetid, alus- ja katteklaasid, kristallisaatorid (50... 100 ml), klaasplaadid kristallisaatorite katmiseks, filterpaber, kell, 1 M NaCl-lahus.

#### Töö käik

Rebime *Rhoeo discolor*'i lehe alumisest epidermist 10 ca 2,5 mm<sup>2</sup> suurus tükki ja asetame destilleeritud vette. Seejärel valmistame alaneva kontsentratsiooniga naatriumkloriidilahused nii, et nende kontsentratsioonid erineksid omavahel 0,1 M võrra.

Lähtelahuseks võtame 1 M NaCl-lahuse. Sellest valmistame 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 ja 0,1 M lahused. Selleks võtame kristallisaatorisse vastavalt 5, 4, 3, 2 ja 1 ml lähtelahust ning lisame nii palju vett, et lahuse lõppmaht oleks igas nõus 10 ml. Aurumise vältimiseks katame kristallisaatorid klaasplaadiga, etiketime nad ja asetame kontsentratsiooni alanevas järjekorras ritta.

Seejärel võtame epidermitükid veest välja, kuivatame filterpaberiga ja asetame soolalahustesse.

Kõigepealt asetame 2 lõiku tugevaima kontsentratsiooniga lahusesse. Iga 5 minuti järel paneme ülejäänud lõigud kahekaupa alaneva kontsentratsiooniga lahustesse.

Kui lõigud on 20 minutit lahuses olnud, vaatleme lõike mikroskoobis sama lahuse tilgas. Määrame selle kontsentratsiooni, mis veel ei kutsu või juba kutsub esile vaevumärgatava plasmolüüsi. Sel juhul võrdub lahuse kontsentratsioon rakumahla kontsentratsiooniga. Sellist kontsentratsiooni nimetatakse isotooniliseks kontsentratsiooniks.

Katse registreerime järgmise tabelina.

#### Plasmolüüsi aste olenevalt lahuse kontsentratsioonist

Lahuse kontsentratsioon M	Lõikude lahuses hoidmise aeg		Katse tulemused	
	Algus	Lõpp	Plasmolüüsi aste	Joonised
0,5 0,4 0,3 jne.			Üliintensiivne Tugev Nõrk jne.	

Joonistame paar raku, kust nähtuvad nende erinevused mitmesuguste kontsentratsioonidega (0,5 M, 0,4 M, 0,3 M jne.) lahustes.

Teades isotoonilist kontsentratsiooni, arvutame rakumahla osmootse rõhu atmosfäärides järgmise valemiga:

$$P = RTic,$$

- kus  $P$  on otsitav osmootne rõhk atmosfäärides;  
 $R$  — gaasikonstant (0,0821);  
 $T$  — absoluutne temperatuur ( $273^\circ +$  laboratooriumi  $t^\circ$ );  
 $c$  — leitud isotooniline kontsentratsioon;  
 $i$  — isotooniline koefitsient, mis on 0,5  $M$  NaCl-lahusel 1,70; 0,4  $M$  — 1,73; 0,3  $M$  — 1,75; 0,2  $M$  — 1,78 ja 0,1  $M$  lahusel 1,83.

#### TÖÖ 4. OSMOMEETRI VALMISTAMINE JA OSMOOTSE RÕHU MÄÄRAMINE

Osmomeetri, millega saab jälgida osmootse rõhu funktsioneerimist, võib valmistada klaastorust ja loomapõiest.

Osmomeetri valmistamiseks kasutatav põis peab olema värske. Et muuta ta läbilaskvaks, on vaja eemaldada rasv. Selleks asetatakse põis vähemalt 7 päevaks bensiini. Pärast seda leotatakse põit 15...20 minutit vees, et elastsus taastuks.

Tavaliselt on põis osmomeetri valmistamiseks liiga paks. Seepärast eemaldatakse põielt ettevaatlikult õhuke kiht. Tekkinud narmendavad kohad lõigatakse tasaseks skalpelliga. Selliselt töödeldud põit säilitatakse bensiinis või naftaliiniga ülepuistatult kuivalt. Enne kasutamist leotatakse põit vees.

#### Vahendid

Kontsentreeritud sahharoosilahus, klaas veega, eelnevalt ettevalmistatud loomapõis, 40 cm pikkune õhukeseseinaline klaastoru (lähimõõt 2...3 mm), 5...6 cm pikkune klaastoru (lähimõõt 1,5...2 cm), kummikorgid, kummivoolik, statiiv, niit, käärid.

#### Töö käik

Võtame jämedama klaastoru ja pistame ühe otsa eespool kirjeldatud meetodil ettevalmistatud põide. Põie seome tihedasti klaastoru külge. Toru kaudu valame põide kontsentreeritud sahharoosilahust. Seejärel sulleme toru kummikorgiga, millest on läbi pistetud peenem klaastoru nii, et selle ots ulatuks 1...2 cm sügavuselt suhkrulahusesse.

Paneme selliselt valmistatud osmomeetri veega täidetud klaasi nii, et pool jämedamast torust asuks allpool veepinda. Seejärel kinnitame seadeldise statiivile. Suhkrulahuse taseme peenemas torus märgime ära sellele asetatud kummirõngaga.

Mõne aja pärast võime näha, et vesi tungib läbi põie, mistõttu vedeliku tasapind peenemas torus tõuseb. Kui peenema toru ots on painutatud allapoole, võime väljavoolavat vedelikku koguda mõõtesilindrisse.

Katse tulemused joonistame vihikusse ja teeme vastavad järeldused.

## TÖÖ 5. RAKKUDE IMAMISJÕU MÄÄRAMINE V. S. ŠARDAKOVI MEETODIL

Kui rakud on lahuses, mille kontsentratsioon erineb rakumahla kontsentratsioonist, siis nad kas võtavad lahusest vett või annavad seda ära. Esimesel juhul rakkude maht suureneb, teisel juhul väheneb. Kui rakud imavad lahusest vett, siis lahuse kontsentratsioon tõuseb. Vastupidi, kui kudesid ümbritseva lahuse kontsentratsioon on suurem rakumahla kontsentratsioonist, siis liigub vesi rakkudest välja ja lahuse kontsentratsioon langeb. Kui rakkude imamisjõud on võrdne lahuse imamisjõuga, ei muutu ei lahuse kontsentratsioon ega ka rakkude maht.

### Vahendid

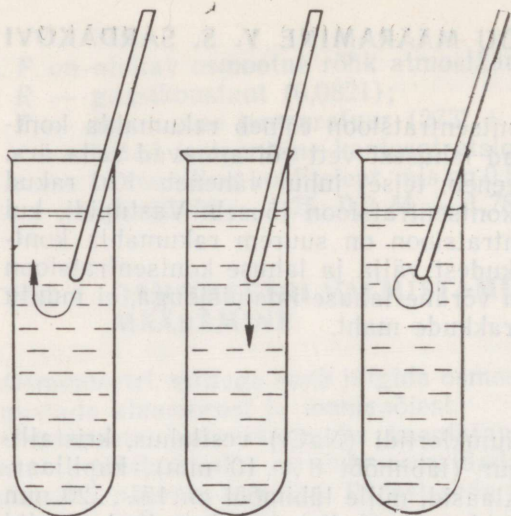
1 M sahharoosi või 1 M naatriumkloriidi (NaCl) vesilahus, kristalliline metüleensinine, terav korgipuur (läbimõõt 8...10 mm), kapillaarpipett, 10...14 cm pikkused katseklaasid, mille läbimõõt on 15...20 mm (6 tk.), 8...10 cm pikkused katseklaasid (6 tk.), gradueeritud pipetid mahuga 5...10 ml (6 tk.).

### Töö käik

Valmistame sahharoosi või NaCl alglahusest pikematesse katseklaasidesse 10 ml kaupa lahuste seeria kontsentratsiooniga 0,6, 0,5, 0,4, 0,3, 0,2 ja 0,1 M. Pärast hoolikat segamist asetame katseklaasid statiivi esimesse ritta. Statiivi teise ritta paneme lühemad katseklaasid. Esimese rea katseklaasidest kanname 0,5 ml lahust üle teises reas olevatesse lühikesesse katseklaasidesse ja suleme need korkidega. Seega on statiivi esimese ja teise rea katseklaasides (paarikaupa) ühesuguse kontsentratsiooniga lahus.

Seejärel lõikame korgipuuriga uuritava taime lehelabast roodude vahelt 8...10-mm läbimõõduga kettad ja paneme igasse teises reas olevasse katseklaasi kaks ketast 30 minutiks. Katseklaase loksutame perioodiliselt. Pärast seda võtame kettad lahusest välja ja laseme lahusesse 1...2 metüleensinise kristalli. Siis võtame kapillaarpipetiga teise rea katseklaasidest värvunud lahust ja laseme aeglaselt esimese rea katseklaasidesse voolata. Pipeti otsa paneme 2...3 cm sügavuselt kontroll-lahusesse. Statiivi teise rea katseklaasides olevate lahuste kontsentratsioonide muutumise järgi võime määrata, millisest lahusest omastab kude vett ja millises ta seda eraldab.

Kui pipetist väljavoolaval lahusel on väiksem kontsentratsioon ja tihedus kui katseklaasis oleval lahusel, kerkib pipetist eralduv lahus üles (sinise joonena). Kui pipetis oleval lahusel on kõrgem kontsentratsioon ja tihedus, siis langeb lahus põhja. Võrdsete kontsentratsioonide ja tiheduste korral jääb pipetist väljunud lahus hõljuma pipeti lähedusse (joonis 2). Nii saame leida lahused, mille imamisjõud on võrdne kudede imamisjõuga.



Joonis 2. Lahuste kontsentratsioonide võrdlemine.

Sardakovi lihtne meetod võimaldab kindlaks määrata kudede imamisjõu. Mõningane viga võib tekkida siis, kui prooviketaste lõikamisel vigastab korgipuur rakke. Kui korgipuur on terav, vigastab ta rakke vähem ja vastus on täpsem (kudedest eraldub vähem mahla). Lehekettaid ei tohi hoida lahuses üle 30 minuti, sest siis rakud purunevad.

On vaja jälgida, et kontroll- ja katselahustel oleks ühesugune temperatuur, sest temperatuur mõjustab lahuste tihedust. Imamisjõu arvutame valemi järgi (vt. töö 3)  $P = RTic$ .

Katsel saadud andmed esitame tabelis järgmise eeskju kohaselt.

#### Leheketaste imamisjõud

Lahuse kontsentratsioon <i>M</i>	Lahuste liikumise suund	Järeldused
0,6		
0,5		
0,4		
0,3		
0,2		
0,1		

## **TÖÖ 6. TSÜTOPLASMA VISKOOSUSE MÄÄRAMINE TSENTRIFUUGIL**

### **Vahendid**

Vesikatk, 10%-line formaliin, mikroskoop, katseklaasid, kate- ja alusklaasid, skalpell, tsentrifuug, klaaspulk, destilleeritud vesi.

### **Töö käik**

Raku tsütoplasma viskoossuse määramiseks võtame mõned vesikatku erineva vanusega lehed ja asetame 30 minutiks destilleeritud vette. Segame aeg-ajalt klaaspulgaga. Seejärel paneme lehed kahekaupa tsentrifuugiklaasidesse ja tsentrifuugime. Tuleb silmas pidada, et tsentrifuug peab töötama stabiilselt.

Kõiki uuritavaid lehepaare tsentrifuugime eraldi 5 minuti vältel kolme erineva kiirusega: 900, 1500 ja 3000 tiiru minutis.

Pärast seda võtame lehed ja fikseerime 5 minuti vältel formaliinis, et kloroplastide nihkumise aste enam ei muutuks. Mikroskoobis vaatleme leherakkudes olevate kloroplastide nihkumist. Leiame läve, mis kutsub esile kloroplastide liikumise alguse 50% rakkudest.

Määrame kloroplastide nihkumise astme noortes ja vanades leherakkudes.

Töö lõpul teeme erineva vanusega lehtede rakkudest joonised.

## **TÖÖ 7. KAALIUMNITRAADI MÕJU TSÜTOPLASMA VISKOOSUSELE**

### **Vahendid**

Kaaliumnitraadi lahused (0,4 M, 0,2 M ja 0,1 M), tsentrifuug, 4%-line formaliin, 1%-line kroomhappelahus, destilleeritud vesi, vesikatkulehed, mikroskoop, 4 kristallisaatorit.

### **Töö käik**

Valame kaaliumnitraadi lahused madalatesse kristallisaatoritesse. Neljandasse kristallisaatorisse valame destilleeritud vee. Igasse neist paneme 30 minutiks mitu ühevanust vesikatkulehte. Pärast seda võtame lehed pintsetiga lahusest välja ja paneme tsentrifuugi klaasidesse. Klaasid tasakaalustame omavahel. Tsentrifuugime viie minuti jooksul kiirusega 3000 tiiru minutis.

Pärast tsentrifuugimist asetame lehed kiiresti viieks minutiks fiksaatorisse, et kloroplastide nihkumise aste ei muutuks. Fiksaatorina kasutame

segu, mis koosneb 1%-lisest kroomhappe- ja 4%-lisest formaliinilahusest. Lahused segame vahekorras 5 : 2.

Paneme fiksaatorist võetud lehed alusklaasile destilleeritud vette ja vaatleme mikroskoobis. Määrame kloroplastide nihkumise astme. Mida suurem on viskoossus, seda väiksem on kloroplastide nihkumise aste.

## TÖÖ 8. ELUSA JA ELUTA RAKU MEMBRAANIDE LÄBILASKVUS

### Vahendid

Söögipeet, kloroform, 30%-line äädikhape, 50%-line alkohol, skalpell, 5 katseklaasi, elektripliit, pipetid, destilleeritud vesi.

### Töö käik

Lõikame puhastatud söögipeedist umbes 1 cm<sup>3</sup> suurused kuubikud. Peseme neid hoolikalt voolavas vees, kuni ei eraldu enam antotsüaani. Seejärel võtame 5 katseklaasi. Nelja katseklaasi paneme keetmata ja viiendasse keedetud söögipeedi kuubiku (keetmise aeg 2...3 minutit).

Katseklaasi nr. 1 lisame 10 ml 30%-list äädikhapet

„ „ 2 „ 10 ml 50%-list alkoholi

„ „ 3 „ 1 ml kloroformi + 9 ml destilleeritud vett

„ „ 4 „ 10 ml vett

„ „ 5 „ 10 ml vett

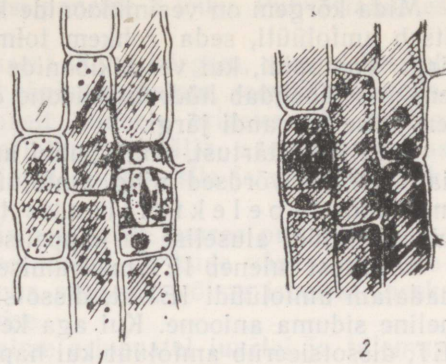
Ühe tunni pärast võrdleme kõiki katseklaase ja koostame tabeli, kuhu märgime vedeliku värvuse igas katseklaasis. Määrame, millisel vedelikul oli peedikuubikule kõige tugevam toime.

## TÖÖ 9. RAKKUDE VÄRVIMINE VITAALSETE VÄRVIDEGA

Vitaalseid värve (näiteks neutraalpunast) elusate rakkude tsütoplasma ei adsorbeeri. Värv difundeerub rakumahla ja värvib algul kogu rakumahla intensiivselt roosaks. Mõne minuti pärast koguneb värv rakumahas terakestena (joonis 3, 1), mida on võimalik jälgida mikroskoobis. Surnud rakkude värvimisel neutraalpunasega värvaine terakesi ei teki, vaid tsütoplasma värvub ühtlaselt roosakaskollaseks (joonis 3, 2).

### Vahendid

Seebralillelehed, sibula epiderm, neutraalpunase 0,05%-line vesilahus, skalpell, prepareerimisnõelad, alus- ja katteklasisid, klaaspulk, mikroskoop, elektripliit.



Joonis 3. 1 — värvigraanulid; 2 — värvü difusioon rakumahlas.

### Töö käik

Paneme alusklaasile 1 tilga neutraalpunase 0,05% -list vesilahust. Värvilahuse tilka asetame tüki seebralille alumist epidermi (katteklaasi ei kasuta, sest siis ei pääseks õhk vabalt juurde). Laseme seista. 2, 15, 25 ja 60 minuti pärast jälgime mikroskoobis tsütoplasma ja rakumahla värvust.

Joonise tegemisel asetame epidermitükikesele katteklaasi, et seda oleks võimalik vaadelda tugeval suurendusel.

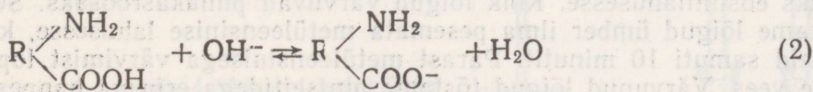
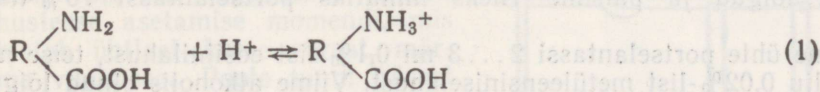
Teise preparaadi valmistame surmatud epidermirakkudest. Selleks paneme alusklaasil olevasse veetilka epidermitükikese ning kuumutame alusklaasi paar minutit ettevaatlikult elektripliidil. (Vett ei tohi lasta päriselt ära aurata, sest preparaat muutuks siis kõlbmatuks. Kudesid võib keeta ka keeduklaasis.) Pärast kuumutamist kuivatame filterpaberiga epidermilt vee ja lisame 1 tilga värvilahust. Töö edasine käik sarnaneb eespool käsitluga.

Neutraalpunane on ühtlasi indikaatoriks, mis näitab, et elusates rakkudes on rakumahl happelise reaktsiooniga (punane), surnud rakkudes aga aluselise reaktsiooniga (roosakaskollane).

Töö lõpul teeme tugeval suurendusel vaadeldud rakkudest joonised.

### TÖÖ 10. TAIMEKUDEDE ISOELEKTRILISE TÄPI MÄÄRAMINE

On teada, et plasma kolloidid on amfolüüdid, s. t. nad võivad dissotsieeruda nii happena kui ka alusena. Amfolüütide dissotsieerumist võime skemaatiliselt kujutada järgmiselt.



Mida kõrgem on vesinikioonide kontsentratsioon keskkonnas, mis ümbritseb amfolüüti, seda rohkem toimub dissotsiatsioon esimese võrrandi järgi. Vastupidi, kui vesinikioonide kontsentratsioon keskkonnas on väiksem, see tähendab hüdroksiidione on rohkem, kulgeb dissotsiatsioon rohkem teise võrrandi järgi.

Seda pH väärtust, mille puhul amfolüüdi aluseline ja happeline dissotsiatsioon on võrdsed ning amfolüüt on elektroneutraalne, nimetatakse amfolüüdi isoelektriliseks täpiks (IET). Isoelektriline täpp sõltub amfolüüdi aluselise ja happelise dissotsiatsiooni konstandist.

Esitatust tuleneb IET määramise põhimõte. Juhul kui keskkonna pH on madalam amfolüüdi IET-st, dissotsieerub amfolüüt kui alus ning on võimeline siduma anioone. Kui aga keskkonna pH on kõrgem kui amfolüüdi IET, dissotsieerub amfolüüt kui hape ja on võimeline siduma katioone.

Aluselised värvained tungivad raku kergemini kui happelised mitte ainult raku välispindade negatiivse laengu ülekaalu tõttu, vaid ka nende parema lahustuvuse tõttu lipoidides.

On teada, et happelistel värvidel (näiteks eosiin) on värvunud anioonid, aluselistel värvidel (näiteks metüleensinine) katioonid. Keskkonnas, mille pH on isoelektrilisest täpist madalam, seob amfolüüt anioone ja värvub eespool nimetatud värvidega roosaks. Keskkonnas, kus pH on amfolüüdi isoelektrilisest täpist kõrgem, värvub viimane katioonide sidumise tõttu siniseks. Samad seaduspärasused on kehtivad ka värvusetute mineraalelementide sidumisel.

Eri amfolüüdi isoelektrilise täpi määramisel esineb järsk üleminek roosalt värvuselt sinisele. Plasma isoelektrilise täpi määramisel muutub värvus pH pikema intervalli juures.

Töös kasutatakse fosfaat-sidrunhappe puhverlahuste segu (vt. lisa 4).

## Vahendid

Idandatud herned, žiletiterad, kaaluklaasid, katseklaasid, pintsetid, portselantassid, prepareerimisnõelad, mikroskoop, alus- ja katteklaasid, 0,1 M sidrunhappelahus, 0,2 M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ -lahus, 0,1%-line eosiinilahus, 0,02%-line metüleensiniselahus, 70%-line alkohol.

## Töö käik

Teeme žiletiga 0,5 cm kauguselt herneidandi juure tipust 0,5...1 mm paksused lõigud ja paneme viieks minutiks portselantassi 70%-lisse alkoholi.

Valame ühte portselantassi 2...3 ml 0,1%-list eosiinilahust, teise niasama palju 0,02%-list metüleensiniselahust. Viime alkoholis olnud lõigud 10 minutiks eosiinilahusesse. Kõik lõigud värvuvad punakasroosaks. Seejärel asetame lõigud ümber ilma pesemata metüleensinise lahusesse, kus hoiame neid samuti 10 minutit. Pärast metüleensinisega värvimist loputame lõike vees. Värvunud lõigud tõstame pintsettidega erineva happesu-

sega puhverlahustesse. Igasse kaaluklaasi paneme 3 lõiku. Puhverlahustes hoiame lõike 1...2 tundi.

Koed, mille pH on lahuse isoelektrilisest täpist kõrgem, seovad eosiini. Koed, mille pH on lahuse isoelektrilisest täpist madalam, seovad metüleensinist. Igal koel toimub üleminek punaselt sinisele erineva pH juures. Pärast värvumist võtame lõigud puhverlahustest välja, asetame kindlas järjekorras lahuse kontsentratsioonide järgi alusklaasile ja vaatleme mikroskoobis väikesel suurendusel.

Iga koelõigu kohta anname pH väärtuse, mille juures punane värvus läheb üle siniseks. Kui ühe pH väärtuse juures on kude värvunud punaseks ja järgmise pH väärtuse puhul juba siniseks, võime isoelektriliseks täpiks lugeda nende kahe näitaja keskmise.

Isoelektrilist täppi tuleb määrata taime erinevatel juurtel ja tulemusi võrrelda.

## TÖÖ 11. ADSORPTSIOONINÄHTUS

Adsorptsiooniks nimetatakse ühtede aineosakeste kogunemist teise aine pinnale. Antud töös jälgitakse ainete adsorptsiooni filterpaberil, millele adsorbeeruvad erinevad värvilahused.

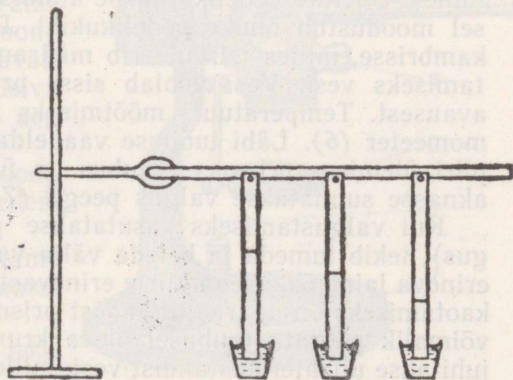
### Vahendid

Metüleensinise, gentsiaanvioleti ja metüüloranži 1%-lised vesilahused, filterpaber, käärid, 3 kristallisaatorit, statiiv, kolm nõõpnõela, 20 cm pikkune puukepp, joonlaud, pipett, värvipliatsid.

### Töö käik

Lõikame kääridega filterpaberist kolm riba (1,5 cm laiad ja 15 cm pikad). Võtame 5 ml metüleensinise, gentsiaanvioleti ja metüüloranži 1%-list lahust ja valame iga lahuse eraldi madalasse kristallisaatorisse.

Statiivi külge kinnitame horisontaalselt puukepi. Sellele paneme nõõpnõeltega üksteisest 1...2 cm kaugusele filterpaberi ribad (joonis 4). Ribade alumised otsad asetame üheaegselt värvilahustesse ühesugusesse, näiteks 0,5 cm sügavusse. Ribade lahustesse asetamise momendi, mis tähistab ühtlasi katse algust, märgime vihikusse. Poole tunni pärast



Joonis 4. Adsorptsiooninähtus.

võtame ribad värvilahustest välja ja mõõdame joonlauaga iga riba värvunud osa. Värvide adsorbeerumise piir sõltub filterpaberi omadustest, värvist ja katse täpsusest.

Filterpaberi kapillaaride kaudu tõuseb vesi ja sellega koos ka värvaine ülespoole. Nõrgemini adsorbeeruv värvaine tõuseb kõrgemale.

Katse tulemused joonistame vihikusse ja kirjeldame neid.

## TÖÖ 12. SEOTUD VEE MÄÄRAMINE TAIMEKUDEDES

Raku kolloidide poolt seotavat vett nimetatakse seotud veeks.

Seotud ja vaba vee hulk kudedes sõltub taime vanusest, kudede temperatuurist, veerežiimist ja mineraalsest toitumisest.

Seotud vee määramisel kasutatakse Okuntšov-Marintšiku meetodit, mille põhimõte seisneb selles, et sahharoosilahusesse pandud elusad taimekoed kaotavad osa oma veest. Vesi eraldub elusatest kudedest ja läheb sahharoosilahusesse. Teades lahuse algmahtu, selle alg- ja lõppkontsentratsiooni, saame teada kudedest lahusesse eraldunud vee hulga. Lahusesse mineva vaba vee ja üldvee hulga järgi arvutatakse seotud vee sisaldus.

### Murdumisnäitaja määramine

Murdumisnäitaja väljendab suhet valguse levimise kiiruse vahel õhus ja antud keskkonnas. See sõltub temperatuurist ja valguse lainepikkusest.

Laboratoorses tingimustes määratakse murdumisnäitaja õhu suhtes refraktomeetriga (joonis 5), mille ehitus põhineb täieliku sisepeegeldumise nähtusel.

Refraktomeeter koosneb alusest (1), jalast (2), termostateeritud kambri (3), tuubusest (4) ja luubist (5).

Kamber koosneb kahest osast, milles on kaks prisma (ülemine ja alumine). Uuritav vedelik viiakse alumisele prismale. Prismade kokkusurumisel moodustub õhuke vedelikukiht. Prismad on suletud termostateeritud kambriks, milles tsirkuleerib määramise ajal vajaliku temperatuuri säilitamiseks vesi. Vesi voolab sisse prisma alumisest ja väljub ülemisest avausest. Temperatuuri mõõtmiseks kinnitatakse ülemisele prismale termomeeter (6). Läbi tuubuse vaadeldakse tumeda ja heleda välja vahelist piiri ülemisele prismas. Tuubus on ühendatud skaalaga. Alumise prisma aknasse suunatakse valgus peegli (7) abil.

Kui valgustamiseks kasutatakse polükromaatilist valgust (päevavalgus), tekib tumeda ja heleda välja vahel värviline vöönd. See on tingitud erineva lainepikkusega kiirte erinevast murdumisnäitajast. Värvilise vööndi kaotamiseks on aparaadil kahest prismast koosnev kompensator, mida on võimalik pöörata tuubusel oleva kruviga. Alumise prisma avause kaudu juhatakse ultratermostaadist vesi, mille temperatuur on 20° C, prisma ümb-

ritsevasse kambrisse. Kui kambri temperatuur on tõusnud vajalikule kõrgusele, avatakse prismad ja puhastatakse need eetriga.

Refraktomeetri kontrollimiseks määratakse vee murdumisnäitaja. Selleks tilgutatakse paar tilka vett alumisele prismale ja prismad suletakse. Kui leitud murdumisnäitaja vastab tegelikule, on refraktomeeter töökorras. Vastupidisel juhul keeratakse spetsiaalse võtmega tuubuse küljes olevat kruvi, kuni väljadevaheline piirjoon asub vastava väärtuse juures niitristi keskel. Destilleeritud vee murdumisnäitaja 20° C juures on 1,3330.

## Vahendid

— 30%-line ja 60%-line sahharoosilahus, refraktomeeter, korgipuur, taimelehed, kaaluklaasid, termostaat, analüütilised kaalud.

## Töö käik

Määrame refraktomeetriga kummagi sahharoosilahuse alkonsentratsiooni, kasutades lisa 5.

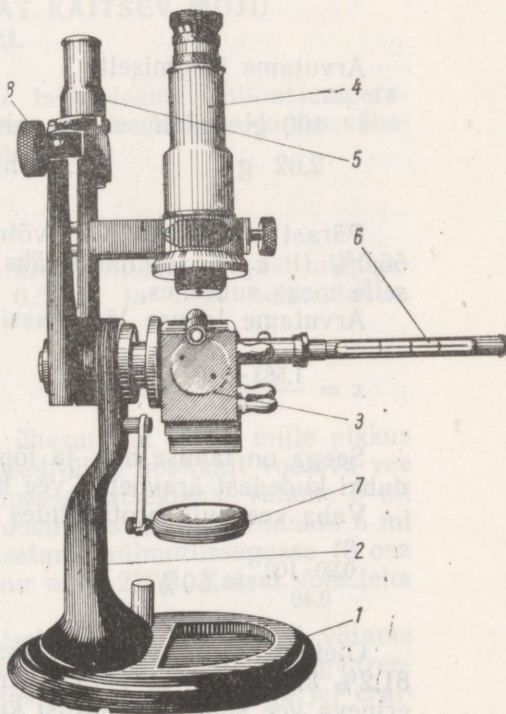
Kaalume kaaluklaasid analüütilistel kaaludel. Ühte kaaluklaasi valame 2 ml 30%-list ja teise 2 ml 60%-list sahharoosilahust (määrame 2...3 korduses). Kaaluklaasid kaalume koos korgipuuriga 6...10-mm läbimõõduga kettad. Igasse kaaluklaasi paneme 0,4...0,5 g kettaid ja kaalume koos sahharoosilahusega. Lõikame veel kettaid, millest määrame kudede kuivain- ja niiskusesisalduse. Selleks kuivatame lehekettaid termostaadis 105° C juures püsiva kaaluni.

Vahetevahel loksutame sahharoosilahust ja kontrollime, kas kettad on üleni lahuses. 2...3 tunni pärast võtame igast kaaluklaasist tilga lahust ja määrame refraktomeetriga selle kontsentratsiooni. Kontsentratsiooni määrame korduvalt seni, kuni see enam ei muutu. Püsiva kontsentratsiooni saamiseks kulunud aeg on eri taimedel erinev.

Märgime lahuse lõppkonsentratsiooni. Arvutame veehulga, mis eraldus kudedest sahharoosi esimeses ja teises lahuses.

Üld-, vaba ja seotud vee hulga arvutame protsentides taimede kuivain ja biomassi kohta.

Joonis 5. Universaalne Abbe-tüüpi refraktomeeter PJIV.



## Arvutamise näide

Uuritavaks materjaliks on priimulalehed (ketaste raadius 7 mm).

Kaaluklaas + sahharoosilahus + lehekettad . . . . .	15,1200	g
Kaaluklaas + sahharoosilahus . . . . .	14,7200	g
Kaaluklaas . . . . .	12,1000	g
Sahharoosilahus . . . . .	2,6200	g
Lehekettad . . . . .	0,4000	g

### Sahharoosi kontsentratsiooni määramine pärast lehekettaste eemaldamist lahusest

Kaaluklaasi nr.	Kudedemass g	Määramise aeg	Sahharoosilahuse				Sahharoosi hulk g
			mass g	murdumisnäitaja refraktomeetril	%	M	
1	0,4000	Enne ketaste asetamist lahusesse	2,6200	1,4429	60,5	—	1,5830
		Pärast ketaste lahusest väljavõtmist	2,8200	1,4329	56,0	2,05	1,5830

Arvutame järgmiselt:

$$100 \text{ g alglahuses on sahharoosi } 60,5 \text{ g;} \\ 2,62 \text{ g } \quad \text{,,} \quad \text{,, sahharoosi } \frac{60,5 \cdot 2,62}{100} = 1,5830 \text{ g.}$$

Pärast lehekettaste väljavõtmist oli sahharoosilahuse kontsentratsioon 56,0% (lisa 5). Järelikult läks osa vett kudedest üle lahusesse, mistõttu selle mass suurenes.

Arvutame lahuse lõppmassi järgmiselt:

$$x = \frac{1,583 \cdot 100}{56,0} = 2,82 \text{ g.}$$

Seega on lahuse alg- ja lõppmassi vahe 0,20 g (2,82—2,62), mis võrdubki kudedest äravõetud vee hulga (vaba veega).

Vaba vee hulk protsentides biomassi kohta on antud juhul

$$\frac{0,20 \cdot 100}{0,40} = 50\%.$$

Oletame, et materjali niiskuse määramisel selgus, et üldveesisaldus oli 81,2% biomassist ja 435,1% kuivainest; nendest arvudest saame tuletada erineva vee suhtelisi suurusi kudedes.

## Kudede veesisaldus %<sub>0</sub>-des

	Üldvesi	Vaba vesi	Seotud vesi
Vee hulk g	0,305	0,200	0,105
Üldveest	100,0	65,6	34,4
Biomassist	81,2	53,3	27,9
Kuivainest	435,1	285,4	149,7
Vett kinnihoidev jõud at	—	—	123,1

Jõud, millega lahus hoiab vett kinni, vastab lahuse osmootsele rõhule. Antud katse puhul oli lahuse kontsentratsioon momendil, mil saavutati tasakaal rakumahla ja välislahuse kontsentratsioonide vahel, 56% e. 707,4 g/l. Selle lahuse osmootne rõhk oli 20° C juures 123,1 at. (Töös kasutame lisasid 5, 6, 7 ja 8.)

Tähendab, taimekudedes oleva vee hulk, mida hoitakse kinni 123,1 at suuruse jõuga, moodustab 34,4% üldveest.

## TÖÖ 13. SUHKRUTE TSÜTOPLASMAT KAITSEV MÕJU MIINUSTEMPERatuurIDEL

Töö põhineb suhkrute omadusel kaitsta tsütoplasmat miinustemperatuuride puhul. Suhkrud seovad vett, mistõttu vaba vee hulk rakkudes väheneb ja jääkristallide teke on kudedes takistatud.

### Vahendid

Söögipeet, katseklaasid, 1...1,5-liitrine klaassilinder, 10- ja 1-ml pipetid, keeduklaas, nuga, lusikas, keedusool, 0,5 M ja 1 M suhkrulahus, termomeeter, külmutuskapp.

### Töö käik

Lõikame puhastatud söögipeedist kolm ühesuurust tükki, mille pikkus on 2 cm, laius ja paksus 0,7 cm. Peseme peeditükke hoolikalt voolava vee all ja paneme nad kolme katseklaasi. Esimesse katseklaasi valame 5 ml destilleeritud vett, teise 5 ml 0,5 M sahharoosilahust ja kolmandasse 5 ml 1 M sahharoosilahust. Kõik katseklaasid asetame külmutussegusse (3 osa lund ja 1 osa keedusoola), mille temperatuur on -21° C. Katset võib teha ka külmutuskapis.

Kahekümne minuti pärast, kui lahus katseklaasis on külmunud, võtame klaasid külmutussegust välja ja paneme vette. Pärast sulamist registreerime lahuste värvuse peeditükkide läheduses. Külbumise tagajärjel eraldub vigastatud rakkudest pigmenti, mistõttu lahus värvub punaseks.

Katse lõpul teeme järelduse iga üksiku katseklaasi kohta eraldi.

## II. VEEMAJANDUS

### TÖÖ 14. TRANSPIRATSIOONI INTENSIIVSUSE MÄÄRAMINE KAALUMISMEETODIL

#### Vahendid

Taimeks, kolb, kaalud, skalpell, õli või parafiin, millimeetripaber.

#### Töö käik

Täidame kolvi veega kuni kaelani. Siis värskendame taime küljest lõigatud oksa lõikepinda vee all umbes 5 cm kaugusel esialgselt lõikepinna ja asetame oksa kolbi vee sisse. Aurumise vältimiseks katame veepinna õhukese õli- või sulatatud parafiini kihiga. Kaalume väljastpoolt täiesti kuiva kolvi koos oksaga 0,01-grammise täpsusega. 2...3 tunni pärast kaalume veel kord. Kahe kaalumise vahe näitab transpireeritud vee hulka.

Transpiratsiooni intensiivsuse ( $I$ ) määramiseks on vaja välja arvutada transpireeritud vee hulk lehe ühele pinnahükule kindla ajaühiku jooksul ( $\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{t}$ ). Lehtede pindala arvutamisel kasutatakse suhet, mis valitseb nende pindala ja massi vahel.

Millimeetripaberist lõikame välja  $1 \text{ cm}^2$  suuruse tüki ja kaalume analüütilistel kaaludel. Samale paberile joonistame katses olnud oksa küljest võetud lehtede kontuurid ja lõikame need täpselt välja. Saadud lehtede jäljendid kaalume. Andmetest arvutame lehtede pindala järgmiselt:

$$a = \frac{B}{A},$$

kus  $a$  on lehtede pindala  $\text{cm}^2$ ;

$A$  —  $1 \text{ cm}^2$  paberi mass g;

$B$  — lehtede jäljendite mass g.

Teades antud lehe pinnalt aurunud vee hulka, võime arvutada pinnahükult ( $1 \text{ m}^2$ ) ühes ajaühikus (1 tund) aurunud vee hulga  $I$ . Oletame näiteks, et  $a \text{ cm}^2$  suuruselt lehepinnalt aurus 45 minuti jooksul  $q \text{ g}$  vett.

$$\text{Siis } I = \frac{q \cdot 60 \cdot 1000}{45a} \text{ g}/\text{m}^2\text{h}.$$

## TÖÖ 15. TRANSPIRATSIOONI INTENSIIVSUSE MAÄRAMINE TORSIOONKAALUDEGA

Torsioonkaaludel (joonis 6) saab kaaluda raskusi 1 ... 1000 mg ja kindlaks teha väga väikesi kaaluhälbeid.

Enne kaalumist asetatakse kaalud loodi kruvide (1) abil. Loodisolekut näitab õhumulli asend ringi tsentris (2). Hoova 3 liigutamiseks vasakule kaalud arreteeritakse, paremale liigutamiseks aga vabastatakse. Pärast kaalude vabastamist peab osuti 4 langema ühte kriipsuga 5. Kaalud on siis nullpunktis. Seejärel kaalud arreteeritakse. Kamber 6 avatakse, kaalu-kausile pannakse kaalutis ja kamber suletakse. Hoob 3 lükatakse paremale. Sellega kaalud vabastatakse. Nüüd liigutatakse aeglaselt käepidet 7, mis on ühenduses skaala osutiga 8, kuni osuti 4 langeb jälle ühte kriipsuga 5. Skaala osuti näitab kaalutise massi milligrammides.

### Vahendid

Taimed, torsioonkaalud, pintsetid, käärid, millimeetripaber.

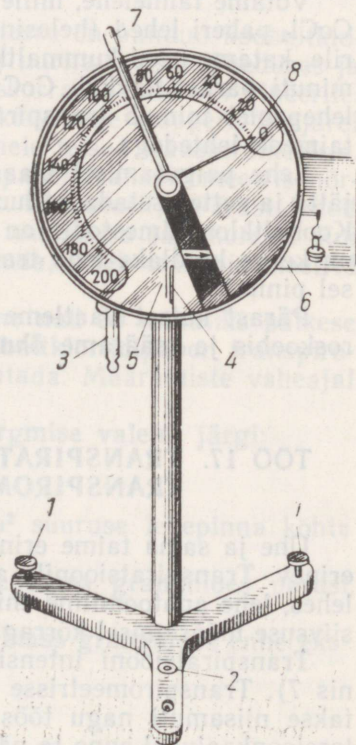
### Töö käik

Transpiratsiooni intensiivsust arvutatakse selle järgi, kui palju vett aurub taime maa-pealsetest osadest.

Lõikame kasvavalt taimelt lehe, asetame torsioonkaaludele ja kaalume. Seejärel avame iga 3 minuti järel kaalud uuesti ja määrame kaaluhälbe. Nii saame viie kaalumise järel veehulga kao 15 minuti jooksul.

Kui vee aurumine lehest on määratud, joonistame lehe jäljendi millimeetripaberile. Millimeetripaberist lõikame välja 1 cm<sup>2</sup> suuruse tüki ja kaalume. Ka lehe jäljendi kaalume torsioonkaaludel. Lehe pindala arvutame 1 cm<sup>2</sup> suuruse millimeetripaberitüki ja lehe jäljendi masside suhtest nii nagu töös 14.

Transpiratsiooni intensiivsuse arvutame töös 14 toodud valemi järgi.



Joonis 6. Torsioonkaalud.

## TÖÖ 16. TRANSPIRATSIOONI INTENSIIVSUSE VÖRDLEMINE LEHE ÜLEMISEL JA ALUMISEL POOLEL

Meetod põhineb  $\text{CoCl}_2$  omadusel muuta veeauru mõjul oma värvust. Valmistatakse koobaltkloriidipaber.

Filterpaberi tükke niisutatakse 5% -lises  $\text{CoCl}_2$ -lahuses, milles nad muutuvad roosaks. Algul kuivatatakse neid tükke kuiva filterpaberiga, seejärel õhus, kuni nad on õhukuivad. Edasi kuivatatakse neid elektripliidi kohal, mille tulemusena paber muutub helesiniseks. Koobaltkloriidipaberit säilitatakse eksikaatoris, mille põhja on asetatud naatronlupja. Kuiva  $\text{CoCl}_2$ -paberit tõstetakse pintsettidega.

### Vahendid

Taimelehed, klaasplaadid, pintsetid, filterpaber, 5% -line koobaltkloriidi-lahus ( $\text{CoCl}_2$ ), elektripliit, käärid, mikroskoop.

### Töö käik

Võtame taimelehe, mille ülemisele ja alumisele pinnale asetame kuivad  $\text{CoCl}_2$ -paberi lehed (helesinised). Et vältida õhuniiskuse mõju  $\text{CoCl}_2$ -paberile, katame need kummaltki poolt klaasplaadiga. Seejärel jälgime, mitme minuti pärast hakkab  $\text{CoCl}_2$ -paber roosaks muutuma. Võrdleme, kummal lehepoolel toimub transpiratsioon kiiremini. Vaatlust kordame erinevate taimelehtedega.

Lehe paigutamisel klaasplaatide vahele on soovitatav leheroots välja jätta ja vette asetada, et luua transpiratsiooniks normaalsemad tingimused. Koobaltkloriidimeetodil on kvalitatiivne iseloom. Selle lihtsa võtte abil on kerge kindlaks teha transpiratsiooni erinevusi lehe ülemisel ja alumisel pinnal.

Pärast katset vaatleme alumise ja ülemise lehepinna epidermi mikroskoobis ja määrame õhulõhede arvu mikroskoobi vaateväljas.

## TÖÖ 17. TRANSPIRATSIOONI INTENSIIVSUSE MÄÄRAMINE TRANSPIROMEETRIGA

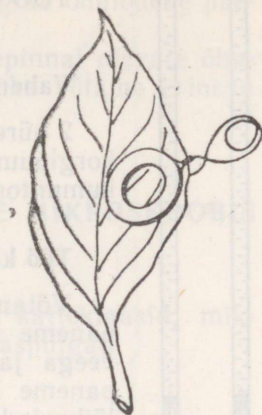
Ühe ja sama taime erinevatel lehtedel on transpiratsiooni intensiivsus erinev. Transpiratsioonile avaldavad mõju lehe vanus, klorofüllisisaldus lehes, lehe anatoomiline ehitus jne. Seepärast tuleb transpiratsiooni intensiivsuse määramisel korraga vaadelda paljusid lehti, näiteks 20...30 lehte.

Transpiratsiooni intensiivsust saab määrata transpiromeetriga (joonis 7). Transpiromeetrisse pannakse koobaltkloriidipaber, mida valmistatakse niisamuti nagu töös 16. Määramiseks kaalutakse transpiromeeter torsioonkaaludel enne ja pärast ekspositsiooni. Transpiromeetri massi suu-

renemine võimaldab korraga määrata paljude lehtede vee aurumise intensiivsust.

Torsioonkaaludel saab korraga kaaluda ainult üht transpiromeetrit (täpsusega 1 mg). Kui kasutada apteegikaalu, on võimalik korraga kaaluda 20 transpiromeetrit täpsusega 10 mg (täpsus ühe transpiromeetri kohta 0,5 mg).

Igale transpiromeetrile märgitakse tušiga number. Transpiromeetreid võetakse seeriasse 20. Iga seeria hoitakse eraldi eksikaatoris, et nad ei niisukuks. Väritingimustes asetatakse kaalud kasti, et tuul kaalumist ei segaks.



Joonis 7. Transpiromeeter lehel.

### Vahendid

Taimelehed, transpiromeetrid, filterpaber, 5%-line koobalkloriidilahus, torsioonkaalud, papp, stopper.

### Töö käik

Võtame eksikaatorist transpiromeetrid, millesse on pandud koobalkloriidipaber, hoiame 5 minutit suletuna õhu käes uuritava lehe läheduses ja kaalume. Seejärel asetame nad numbrite järjekorras papile või vineerile.

Esimese transpiromeetri asetamisel lehele käivitame stopperi. Seejärel paneme 2...3-sekundiste vaheaegade järel lehele teised transpiromeetrid. Ekspositsioon kestab seni, kuni koobalkloriidipaber transpiromeetris nõrgalt roosaks muutuma hakkab (tavaliselt 3...10 minutit). Pärast lehelt eemaldamist kaalume transpiromeetrid lehele asetamise järjekorras. Kui mingil põhjusel ei saa kogu katseseriat kaaluda, tuleb transpiromeetrid panna õhukindlalt suletud eksikaatorisse.

Pärast transpiromeetrite kasutamist asetame nad 30 minutiks päikese kätte kuivama. Selle aja kestel muutub koobalkloriidipaber transpiromeetris jälle siniseks ja seda võib uuesti kasutada. Määramiste vaheajal hoiame transpiromeetreid eksikaatoris.

Transpiratsiooni intensiivsuse arvutame järgmise valemi järgi:

$$I = \frac{60 \cdot 100 (P_2 - P_1)}{tPS},$$

kus  $I$  on aurunud vee hulk grammides 1 dm<sup>2</sup> suuruse lehepinna kohta tunnis;

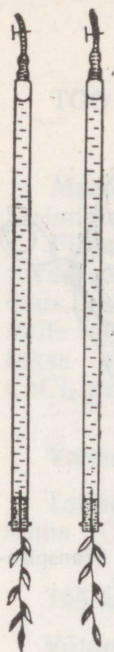
$P_2$  — transpiromeetrite seeria summaarne mass grammides pärast ekspositsiooni;

$P_1$  — transpiromeetrite seeria summaarne mass grammides enne ekspositsiooni;

$t$  — ekspositsiooniaeg minutites;

$P$  — transpiromeetrite arv seerias;

$S$  — ühe transpiromeetri töötav pind cm<sup>2</sup>.



Joonis 8.  
Büretid  
taimedega.

## TÖÖ 18. TRANSPIRATSIOONI INTENSIIVSUSE MÄÄRAMINE MAHUMEETODIL

### Vahendid

2 büretti mahuga 25 või 50 ml, kristallisaator, kummikorgid, korgipuur, statiiv näpitsatega, okas- ja lehtpuuks, terav nuga, kummitorud.

### Töö käik

Võtame 2 büretti mahuga 25 või 50 ml. Alumisse otsa paneme näpitsatega varustatud kummitoru. Büretid täidame veega ja suleme kindlalt kummikorgiga. Ühe büreti korgist paneme läbi mõne okaspuu oksa, teisest lehtpuuksa. (Okste lõikepinda värskendame enne vee all.) Vee bürettide täitmiseks valmistame ette varem. Selleks valame üks ööpäev enne katse algust kristallisaatorisse või klaasi kraanivett ja jätame seisma. Selliselt seisnud vesi ei sisalda büretti valamisel gaasimullikesi.

Büretid pöörame taimedega allapoole ja märgime vee nivoo (joonis 8). Büretid kinnitame statiivile. Veehulga vähenemise järgi büretis otsustame taimede transpiratsiooni üle.

## TÖÖ 19. ÕHULÕHEDE SEISUNDI MÄÄRAMINE MOLISCHI INFILTRATSIOONIMEETODIL

### Vahendid

Klaaspulk, 96% -line alkohol, benseen, ksüloom.

### Töö käik

Lehe alumisele pinnale kanname väikese pipeti või klaaspulgaga 1 tilga alkoholi, benseeni ja ksüloomi. Erineva viskoossusega vedelikud tungivad läbi õhulõhede erinevalt. Kui õhulõhed on täielikult avatud, tungib alkohol kiiresti rakkudevahelisse ruumi ja leht muutub sellest kohast läbipaistvaks. Lehte vastu valgust vaadates näeme rasvapekitaolist laiku.

Kui õhulõhed on poolavatud, tungivad lehte ainult benseen ja ksüloom, kuna alkohol aurub lehepinnalt ära. Juhul kui õhulõhed on väga vähe avatud, pääseb ainult ksüloom läbi ja laik jääb ainult sellele kohale, millele pandi ksüloomitilk. Kui õhulõhed on suletud, ei tungi rakkudevahelisse ruumi ükski vedelik.

Suvel on selle meetodi abil välitingimustes hea jälgida õhulõhede päevast sulgumist ja avanemist.

Töö lõpul teeme kindlaks ülemisel ja alumisel lehepinnal olevate õhulõhede arvu mikroskoobi ühes vaateväljas. Uurimiseks võtame erineva anatoomilise ehitusega lehed.

## TÖÖ 20. ÕHULÕHEDE LIIKUMISE JÄLGIMINE MIKROSKOOBIS

### Vahendid

Taimelehed, žiletitera, prepareerimisnõel, alus- ja kattedklaasid, mikroskoop, 5% -line glütseriinilahus, kristallisaatorid, klaaspulgad.

### Töö käik

Võtame taimelehe epidermitükid, paneme 5...10 minutiks glütseriinilahusesse ja jälgime neid pidevalt mikroskoobis.

Glütseriinilahuses eraldub epidermirakkudest vesi, mistõttu õhulõhed sulguvad. Läbi õhulõhe sulgrakkudesse tungimisel suurendab glütseriin osmootset rõhku.

Kui nüüd samad epidermitükid viia glütseriinilahusest üle vette ja vaadelda neid mikroskoobis, võime näha, kuidas õhulõhed hakkavad kiiresti ja ulatuslikult avanema. Vesi liigub epidermirakkudesse, mis glütseriinis oleku ajal kaotasid vee.

Tulemused joonistame.

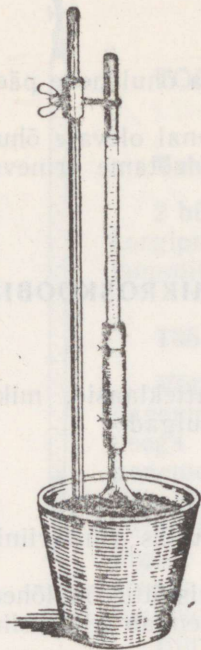
## TÖÖ 21. JUURERÕHU KINDLAKSTEGEMINE

### Vahendid

Päevalille-, kurgi- või kõrreliste idandid, mitmesugused toataimed, termostaat, 1-mm läbimõduga klaastoru, kummivoolik, klaaspulk, vatt, filterpaber, keeduklaas, 10% -line NaCl-lahus või 0,5 N KNO<sub>3</sub>-lahus, kloroform, külmutuskapp, vaseliin.

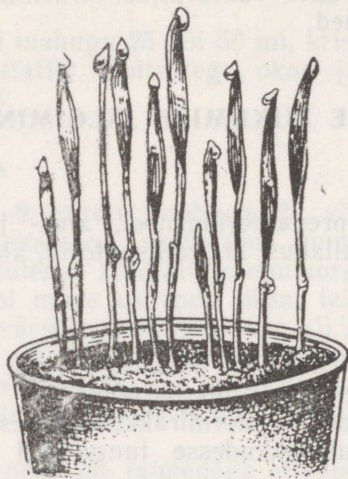
### Töö käik

A. Juurerõhu kindlakstegemiseks võtame 5...10 cm pikkused tugevad päevalilleidandid, mis kasvavad väikestes pottides. Enne dekapiteerimist (taime ladva eemaldamist) niisutame mulda, et juured küllaldaselt vett saaksid. Idandid dekapiteerime 2...3 cm kõrguselt mullapinnast. Järelejäänud hüpokotüüliosa määrimise vaseliiniga, sest muidu jookseb mahl vart mööda alla. Surume kasvama jäetud hüpokotüüliosa (joonis 9) 1...2 mm pikkuselt kummivoolikusse, mis on ühendatud klaastoruga, ja kinnitame



Joonis 9. Juurerõhu määramine.

Joonis 10. Gutatsioon.



statiivile. 5...8 minuti pärast hakkab vesi juurerõhu tõttu tõusma. Töö lõpul märgime vee tõusukiiruse klaastorus. Katse teeme toatemperatuuril.

B. Gutatsiooni jälgimine. Juurerõhk avaldub ka gutatsiooni näol. Halbade aurumistingimuste puhul (veega küllastunud õhk) ei jõua vesi lehtedest küllaldaselt auruda, täidab rakkude vaheruimid ja surutakse lõpuks leheservadest hüdatoodide kaudu tilkade kaupa välja (joonis 10).

Esimene katse. Katseks võtame 6...8-päevased kõrreliste idandid. Potis oleva mulla niisutame hästi läbi. Idanditele asetame kummuli keeduklaasi, millel on põhjas auk. Keeduklaasi all on õhuniiskus tavalisest kõrgem ja idandite lehtedele ilmuvad toatemperatuuril umbes 30 minuti pärast veetilgad.

Teises katse s asetame poti idanditega termostaati ( $t^{\circ} 37...40^{\circ}\text{C}$ ). Enne niisutame mulda idandite ümber. Samal ajal paneme teise poti idanditega külmutuskappi ( $t^{\circ}15^{\circ}\text{C}$ ) või viime lihtsalt õue (tingimusel, et välis-temperatuur on toatemperatuurist madalam). Jälgime temperatuuri mõju tilkade ilmumise kiirusele. Mõlemal juhul on idandid klaasi all.

Eemaldame klaasid (temperatuuritingimused jäävad endiseks), millega vähendame õhuniiskust. Jälgime tilkade ilmumise kiirust.

Kolmandas katse s muudame mulla osmootseid omadusi. Selleks valame ühte potti mõne milliliitri 10%-list  $\text{NaCl}$ - või 0,5 N  $\text{KNO}_3$ -lahust. Teise potti valame niisama palju vett. Teeme kindlaks, kui kiiresti avaldab mullalahuse kontsentratsiooni muutus mõju juurerõhule.

Lõpuks valame mulda mõne milliliitri kloroformi. Kloroform takistab juurte normaalseid funktsioone ja taimed närbuvad. Töö lõpul koostame tabeli, kuhu märgime aja, millal taimed hakkasid närbuma.

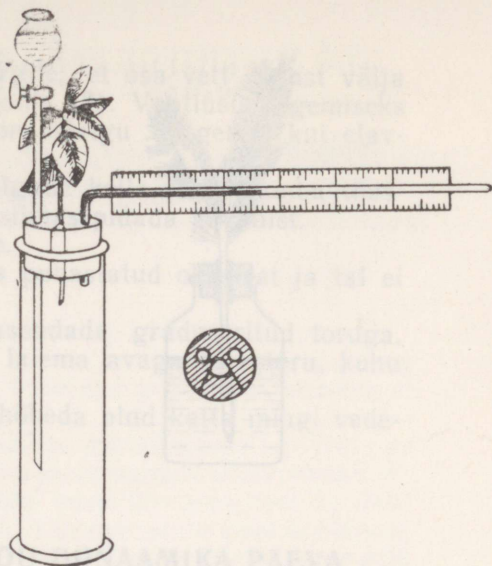
## Töö 22. VEE IMAMISE KIIRUSE MÄÄRAMINE

### Vahendid

Taimeoks, 500-cm<sup>3</sup> või suurem purk, gradueeritud klaastoru, lehter, kummitoru, korgist või kummist kork, elektripliit, statiiv, terav nuga, millimeetripaber, parafiin, vesi.

### Töö käik

Katseks kasutame seadeldist, mida nimetatakse potomeetriks (joonis 11). Potomeeter koosneb reservuaarist, kuhu asetame taime või selle oksa, ja horisontaalsest gradueeritud klaastorust. Potomeetri võime valmistada ka tavalisest purgist. Korgisse teeme 3 ava: taime jaoks, täisnurga all painutatud kapillaartoru tarvis ja lehtriiga toru jaoks, mille kaudu saab vett lisada. Kui kork on valmistatud korgist, katame selle parafiiniga, et õhk läbi ei pääseks. Katse toimub järgmiselt. Täidame purgi ääreni kraaniveega ja suleme korgiga, nii et korgi ja veepinna vahele ei jääks õhumulle ning kogu kapillaartoru oleks veega täidetud. Lehtri kraani suleme. Siis märgime veenivoo esialgse asukoha torus. Iga 5 minuti järel märgime nivoo muutused. Et vaatlusi oleks parem teha, asetame kapillaartoru taha millimeetripaberi. Välistingimustest sõltuvalt muutub vee imamise kiirus, sellega koos ka veenivoo liikumise kiirus. Katsega teeme kindlaks, millist mõju avaldavad temperatuur ja valgus oksa vee imamise kiirusele.



Joonis 11. Potomeeter.

## TÖÖ 23. VEE TÕUS TAIMEDE KUDEDES

### Vahendid

Daaliaoksad või -lehed, valged õied, männioks, eosiini või fuksiini 1%-line vesilahus, skalpell, mikroskoop, pintsetid, keeduklaas värvilahuste jaoks, joonlaud.

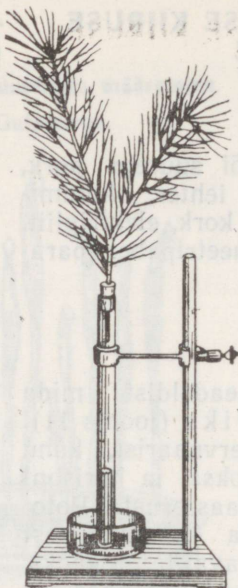
### Töö käik

Daaliaoksa koos lehtedega paneme eosiini või fuksiini nõrka vesilahusesse. Märgime üles katse alguse. 2...3 tunni pärast teeme varre erinevast kõrgusest ja lehe osadest lõigud, et määrata värvilahuse tõusu taime-



Joonis 12. Männioks värvilahuses.

Joonis 13. Okaste imamisjõu katse.



kudedes. Selleks vaatleme lõike mikroskoobis. Jälgime, missugune osa juhtkimpudest on värvunud ja kui kõrgele on värvilahus taimekudedes tõusnud.

Värvilahuse tõusu soontes on hea jälgida valge õiekrooniga õitel (võsa-ülane, iminõges, begoonia jt.). Sellistel taimedel on valgel foonil näha peened sooned, mis on imatud värvilahusest punaseks värvunud.

Leiame värvilahuse liikumise-kiiruse tunnis ja võrdleme seda erinevate taime kudedes. Võrdluseks teeme sama katse männioksaga (joonis 12).

## TÖÖ 24. LEHTEDE IMAV TEGEVUS

### Vahendid

Lehtpuu-, kuuse- või männioks, paksuseinaline klaastoru, klaasike elavhõbeda jaoks, kummikork, klaas vee jaoks, statiiv, nuga, millimeetripaber, kraanivesi, kell.

### Töö käik

Täidame paksuseinalise klaastoru ääreni veega. Alumise otsa suleme sõrmega, ülemisse otsa asetame tihedalt läbi korgi torgatud lehtpuu-, kuuse- või männioksa. Seejärel paneme toru alumise otsa elavhõbedasse,

võtame sõrme ära ja vajutame kergelt korgile, et osa vett torust välja suruda, mille asemele tõuseb elavhõbe (joonis 13). Vaatluste tegemiseks on parem, kui elavhõbedasammas torus on esialgu kõrgemal kui elavhõbedanivoo klaasikeses.

Märgime elavhõbedasamba seisuga ja jälgime kella järgi samba tõusmise kiirust. Katse korraldamisel on vaja silmas pidada järgmist.

1. Klaastoru sees ei tohi olla õhumulle.
2. Korgi sees olev oksaosa peab olema puhastatud okastest ja tal ei tohi olla kõrvaloksi.
3. Toru, kuhu tõuseb elavhõbe, võib asendada gradueeritud toruga, mille otsa on kummitoru abil kinnitatud laiema avaga klaastoru, kuhu asetatakse kork ühes oksaga.
4. Elavhõbedaaaurud on mürgised. Elavhõbeda pind katta mingi vedelikuga (näiteks veega).

## TÖÖ 25. TAIMELEHTEDE IMAMISJÕU DÜNAAMIKA PÄEVA JOOKSUL

Taime ülemiste ja alumiste lehtede imamisjõud on erinev ja see muutub päeva jooksul pidevalt.

### Vahendid

Taimelehed, 1 M NaCl-lahus, 20 katseklaasi, kaks statiivi, kaks büretti, destilleeritud vesi, pintsetid, kristalliline metüleensinine, 1-ml pipetid, papp.

### Töö käik

Kudede imamisjõu määramise Šardakovi meetodil (vt. töö 5) kolm korda päevas (hommikul kell 8, päeval kell 13 ja õhtul kell 18). Tulemused märgime alljärgnevasse tabelisse.

#### Lehtede imamisjõud

Taim	Lehed	Imamisjõud at		
		hommikul	keskpäeval	õhtul
Oder	Ülemised Alumised			

# TÖÖ 26. LEHTEDE VEESISALDUSE DÜNAAMIKA PÄEVA JOOKSUL

## Vahendid

Taimelehed, termostaat, kaaluklaas, analüütilised kaalud, nuga, eksi-kaator.

## Töö käik

Esimesed proovid võtame hommikul. Selleks valime välja kuus ühesu- gust päevalille-, oa- vm. taime. Igalt taimelt võtame kõige ülemise lehe ja paneme ühte varem kaalutud kaaluklaasi. Seejärel võtame kõigilt kuult taimelt keskmised lehed ja paneme samuti kaaluklaasi. Sedasama teeme ka alumiste lehtedega. Nii saame taime eri vanusega lehtedest kolm proovi.

Samal viisil võtame proove ka keskpäeval ja õhtul. Kõik proovid kaa- lume ja märgime vihikusse lehtede biomassi. Pärast kaalumist paneme proovid 6 tunniks termostaati, kus hoiame neid 105°C juures. Termostaat- dist paneme kuivatatud proovid eksi kaatorisse. Pärast pooletunnist jahtu- mist kaalume proovid analüütilistel kaaludel ja märgime vihikusse nende kuivmassi. Kuivmassi määrame kahel korral. Pärast esimest kaalumist paneme proovid uuesti 1...2 tunniks termostaati ja määrame konstantse massi.

Pärast seda arvutame lehtede veesisalduse absoluutse kuivaine suhtes.

Kui kaaluklaasi mass on  $A$  grammi, koos lehtede biomassiga  $D$  grammi, pärast kuivatamist aga  $B$  grammi, siis oli vett lehtedes  $D - B$  grammi; lehtede absoluutne kuivmass on  $B - A$  grammi. Siit arvutame veesisal- duse järgmiselt:

$$\frac{(D - B) \cdot 100}{B - A} \%$$

Sellisel teeme analüüse kolm korda päevas taime kõikidest lehtedest ja arvutame lehtede veesisalduse. Tulemused märgime tabelisse ja teeme vihikusse vastavad järeldused.

## Lehtede veesisaldus

Taim	Lehed	Hommikul		Keskpäeval		Õhtul	
		Kaalu- klaasi nr.	Vee %	Kaalu- klaasi nr.	Vee %	Kaalu- klaasi nr.	Vee %
Päeva- lill	Ülemised Keskised Alumised						

## TÖÖ 27. LEHTEDES SEOTUD VEE HULGA PÄEVASE DÜNAAMIKA MÄÄRAMINE

Seotud vee hulk lehtedes sõltub taime morfoloogilis-anatoomilisest ehitusest, raku kolloidide veesidumisvõimest, rakumahla kontsentratsioonist, lehe asetusest varrel ja teistest teguritest.

### Vahendid

Taimelhed, kaalud, nuga, kaaluklaas, termostaat, eksikaator.

### Töö käik

Katse teeme üheaegselt ülemiste ja alumiste lehtedega.

Lehed võtame nagu eelmiste tööde puhulgi hommikul, keskpäeval ja õhtul. Lehed kaalume ( $A$  g). Seejärel jätame lehed kolmeks tunniks õhu kätte kuivama ja kaalume siis uuesti ( $B$  g). Pärast seda paneme lehed kaaluklaasiga 6 tunniks termostaati ( $105^{\circ}\text{C}$ ) ja määrame absoluutse kuivaine ( $G$  %).

Lehtede niiskuse protsendi arvutame pärast kolmetunnist õhu käes seismist (üldisest veesisaldusest lehes). Ka seotud vee hulga lehes arvutame hiljem.

Arvutame järgmiselt. Kui lehtede absoluutne kuivmass on  $G$  grammi ja lehtede algmass  $A$  grammi, siis kogu veesisaldus lehtedes on  $D = A - G$  grammi. Lehtedes säilinud vee sisaldus on pärast aurumist võrdne  $E = B - G$  grammiga. Lehtedes säilinud vesi moodustab üldisest tagavaraveest  $\frac{E \cdot 100}{D}$  %.

Tulemused kirjutame tabelisse.

### Lehtede veesisalduse dünaamika

Taim	Lehed	Lehtede veesisaldus %-des		
		hommikul	keskpäeval	õhtul
Päevalill	Ülemised Alumised			

Katse teeme mitmesuguste taimedega ja vähemalt kahes korduses.

### III. FOTOSÜNTEES JA HINGAMINE

#### TÖÖ 28. LEHEPIGMENTIDE EKSTRAHEERIMINE

##### Vahendid

Taimelehed, portselanuher, käärid, lehter, kolb, filterpaber, 96%-line alkohol, katseklaasid, vesi, korgid.

##### Töö käik

Purustame 0,5 g taimelehti uhmrus. Purustatud massile valame järkjärgult peale 96%-list alkoholi ja jätkame hõõrumist, kuni taimerakud on purunenud ja alkohol intensiivselt rohelisteks värvunud.

Saadud klorofüllilahuse valame klaaspulga abil ettevaatlikult läbi filtri 50-ml mõõtekolbi, nii et ükski tilk kaduma ei läheks. Purustatud massile lisame uuesti alkoholi, hõõrume ja valame jälle filtrile. Seda kordame seni, kuni kõik pigmentid on välja uhutud. Mõõtekolvi täidame alkoholiga kuni märgini, segame ja määrame klorofüll, karotiini ja ksantofüll.

#### TÖÖ 29. PIGMENTIDE ERALDAMINE KRAUSE MEETODIL

Pigmentide eraldamine põhineb nende erineval lahustuvusel alkoholis ja bensiinis.

##### Vahendid

Pigmentide alkohollahus (saame tööst 28), katseklaasid, bensiin, vesi, statiiv, kork.

##### Töö käik

Valame katseklaasi 4...5 ml pigmentide alkohollahust, lisame 2...3 ml bensiini ja 4...5 tilka vett. Katseklaasi suleme korgiga, loksu-

tame tugevasti 4...5 minutit ja jätame statiivile seisma. Vedelik eraldub kaheks kihiks: bensiin kui kergem jääb peale, alkohol alla.

Alkoholikiht on värvunud kollaseks temas lahustunud ksantofüllü tõttu, bensiinikiht aga on klorofüllü tõttu roheline. Teine kollane pigment — karotiin — läheb samuti bensiinikihti.

Kui kihid ei eraldu selgesti, lisame veel 2...3 tilka vett ja loksutame uuesti.

### **TÖÖ 30. KAROTINOIDIDE ERALDAMINE TIMIRJAZEVI MEETODIL**

#### **Vahendid**

Pigmentide alkohollahus (saame tööst 28), baariumhüdrosiidi  $[Ba(OH)_2]$  küllastunud lahus (barüütvesi), kolb, lehter, jaotuslehter, filterpaber, 96% -line alkohol, petrooleeter, klaaspulk.

#### **Töö käik**

Krause meetodil ei ole võimalik pigmente täielikult eraldada. Näiteks jääb rohelisse bensiinikihti suur osa karotiini. Karotinoidide eraldamiseks kõrvaldatakse klorofüll  $Ba(OH)_2$  lahusega.

Lisame 25 ml pigmendilahusele 5 ml baariumhüdrosiidi küllastunud lahust ja jätame 12...24 tunniks sadenema. Siis filtreerime läbi paberist filtri. Filtraadi valame ära. Sadet filterpaberil peseme jaotuslehtrisse 3...4 korda 96% -lise alkoholiga. Saadud alkoholfiltraat sisaldab kollaseid pigmente. Nende eraldamiseks lisame petrooleetrit. Karotiin koos petrooleetriga tõuseb ülemisse kihti, ksantofüll vajub koos alkoholiga alla.

### **TÖÖ 31. LEHEPIGMENTIDE ERALDAMINE TSWETI ADSORPTSIOONIMEETODIL**

Meetod põhineb pigmentide erineval adsorbeerumisvõimel. Adsorbendina võime kasutada suhkrupuudrit.

#### **Vahendid**

Kõrreliste lehed, portselanuhmer, liiv, bensiin või petrooleeter, absoluutne etüülalkohol, metüülalkohol, naatriumsulfaat, lehter, filterpaber, imikolb vaakumpumbaga, 15...20 cm pikkune paksusealine klaastoru (läbimõõt 2,5...3 cm) või klaasfilter, peenestatud kriit või suhkrupuuder, jaotuslehter, tükk marlit, kooniline kolb.

## Töö käik

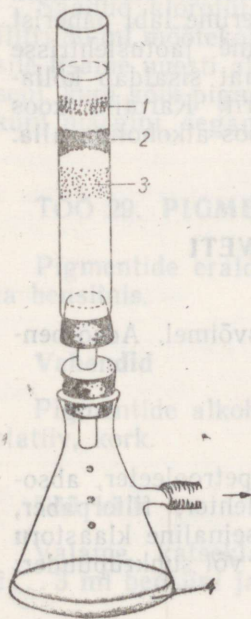
Purustame kõrreliste värsked lehed uhmris koos vähese hulga pestud liivaga. Purustatud massile lisame bensiini või petrooleetrit, millele on juurde segatud metüülalkoholi vahekorras 2:1. Segu soojendame veidi. Kriidi puhul võime metüülalkoholi asendada absoluutse etüülalkoholiga, mida võtame 10...20% bensiinihulgast. Purustatud massi hõõrume veel veidi ja paneme siis koonilisse kolbi. Suleme kolvi korgiga ja jätame  $\frac{1}{2}$ ...1 tunniks seisma, loksutades kolbi aeg-ajalt. Pärast seismist filtreerime kolvi sisu vaakumpumba abil läbi klaasfiltril. Filtril olevat jääki peseme puhta bensiiniga, kuni bensiin muutub värvusetuks. Jääk filtril peab pärast sellist pesemist jääma halliks.

Saadud filtraadi valame jaotuslehtrisse, kus see eraldub kaheks kihiks: ülemine — bensiin, mis sisaldab a- ja b-klorofüllil ning karotiini ja ksantofüllil jälgi; alumine — alkohol, mis sisaldab ksantofüllil ja klorofüllil jälgi. Bensiini- ja alkoholikihi loksutame mitmel korral segi. Lõpuks valame alkoholikihi ära. Jaotuslehtrisse jäänud bensiinikihile lisame uuesti metüülalkoholi koos vähese veega vahekorras 9:1. Pärast segu loksutamist jaotuslehtris ja kihtide eraldamist filtreerime bensiinikihi läbi kuiva filtril.

Bensiinikihi veetustame naatriumsulfaadiga. Veetustamine on vajalik, sest bensiinikihti jäänud veejäljed segavad pigmentide edasist eraldamist. Kuumutame naatriumsulfaati ( $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ) termostaadis, et kristallvesi eemalduks. Kuumutatud naatriumsulfaadi lisamine vedelikku võtab sellelt vee kergesti ära.

Pärast teistkordset bensiinikihi eraldamist jäävad lahusesse ainult a-klorofüll, b-klorofüll ja karotiin, kuna ksantofüllil enam ei esine. Samal viisil võime puhastada alkoholikihi klorofüllijälgedest. Selleks loksutame alkoholikihti teist korda bensiiniga jaotuslehtris ja eraldame kihid. Pärast teistkordset eraldamist alkoholikiht enam klorofüllil ei sisalda. Niiviisi eraldame ksantofüllil puhtal kujul, a-klorofüllil, b-klorofüllil ja karotiini eraldame bensiinist adsorptsioonimeetodil.

Selleks võtame paksuseinalise klaastoru või klaasfiltril (joonis 14). Toru alumisse otsa paneme tükikese tihedat vaskvõrku või marlit. Siis kallame torusse suhkrupuudrit. Viimane peab asetsema torus väga tihedalt ja ühtlaselt, täites toru 5...7 cm ulatuses. Toru või klaasfiltril paneme imikolvile ja ühendame vaakumpumbaga.



Joonis 14. Pigmentide kromatogramm: 1 — b-klorofüll; 2 — a-klorofüll; 3 — ksantofüll; 4 — karotiin.

Torus olevale suhkrule valame bensiini. Pumbaga tekitame torus vaakuumi, mille mõjul bensiin filtreerub läbi suhkru. Suhkrut ei tule imeda päris kuivaks. Seejärel valame filtrisse pigmentide lahuse. Pigmentide paremaks eraldamiseks valame lahusele enne paar tilka metüülalkoholi. Filtri ühendame uuesti pumbaga ja tekitame vaakuumi. Pigmentid adsorbeeruvad suhkrupuudrile, andes kromatogrammi (joonis 14).

Pigmentid adsorbeeruvad erinevalt: ülemisse kihti jääb b-klorofüll (kollakasroheline), alumisse aga a-klorofüll (sinakasroheline). Karotiin tavaliselt ei adsorbeeru, vaid filtreerub läbi filtri. Kui lahuses on ksantofüll, adsorbeerub see allpool a-klorofüll.

## TÖÖ 32. LEELISE TOIME KLOROFÜLLISSE

### Vahendid

Pigmentide alkohollahus (saame tööst 28), bensiin, NaOH, katseklaasid.

### Töö käik

Eraldame lahusest pigmentid Krause meetodil. Seejärel valame lahuse katseklaasi, lisame tüki (0,2...0,5 g) naatriumhüdrosiidi, suleme korgiga, loksutame hoolikalt ja paneme statiivile seisma. Kihid sadenevad vastupidises järjekorras: üles jääb kollane bensiinikiht, mis sisaldab karotiini, alla roheline alkoholikiht, mis sisaldab leelise toimel seebistunud klorofüll. Alumisse kihti jääb ka ksantofüll.

## TÖÖ 33. FEOFÜTIINI SAAMINE

### Vahendid

Pigmentide alkohollahus, HCl,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , katseklaasid, vask(II)-atsetaat  $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}]$ .

### Töö käik

5...6 ml pigmentide alkohollahusele lisame 2...3 tilka 10%-list soolhapet ja loksutame ettevaatlikult. Roheline värvus kaob ja lahus muutub pruuniks. Happe mõjul tõrjutakse klorofüll molekulist välja magneesium, mille asemele astub vesinik. Tekkinud pruuni ainet nimetatakse feofütiiniks.

Feofütiinile lisame veidi vaskatsetaati ja soojendame ettevaatlikult elektripliidil. Pruun värvus kaob järk-järgult ja lahus muutub jälle roheliseks. Vesinik asendub uuesti magneesiumiga. Vaskatsetaat on katalüsaatoriks.

## TÖÖ 34. PIGMENTIDE LAHUSE NEELDUMISSPEKTRI MÄÄRAMINE

Lahuste neeldumisspektri uurimisel kasutatakse laialdaselt spektroskoopi (joonis 15).

Spektroskoop koosneb akromaatilise läätsega torust (kollimaatorist), mille ühes otsas on lääts ja teises kitsas pilu (2). Pilu ava on reguleeritav. Oluliseks osaks on vaatlustoru (1), mille ühes otsas on lääts ja teises okulaar. Viimase läbi toimuvadki vastavad vaatlused.

Läbi akromaatilise läätsega toru tungiv valgus langeb läätslele ja siis prismale. Prismas valguskiir murdub. Tekkinud spektrit vaadeldakse läbi vaatlustoru. Kui asetame valguskiire teele värvilise lahuse, saame spektri foonil tumedad jooned, mis vastavad värvilise lahuse poolt neelatud spektriosadele.

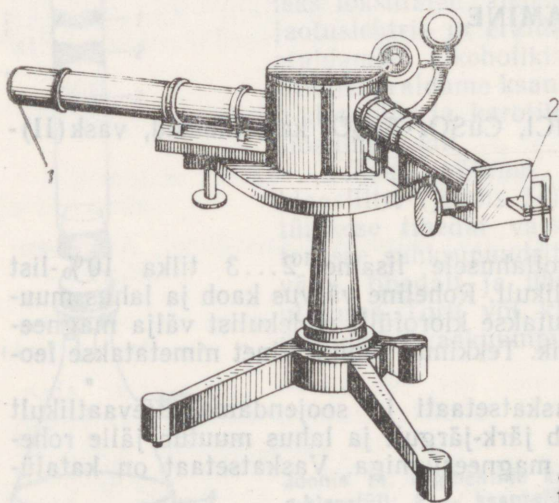
Mõne spektroskoobiga on võimalik kindlaks teha ka valguslaine pikkust (kui aparaadile pannakse vastavad peeglid). Töö algul tehakse kindlaks valgusallika tugevus, millele vastavalt reguleeritakse pilu. Viimane ei tohi olla liiga kitsas ega ka liiga lai. Spekter on teravam ja selgem, kui kollimaatori pilu ette teljele asetatakse koondav lääts.

### Vahendid

Klorofüllilahus, karotiinilahus, spektroskoop.

### Töö käik

Asetame uuritava lahuse spektroskoopi sisenevate kiirte teele 0,5 cm kaugusele spektroskoobi pilust. Neeldumisspektreid vaatleme 1) kontsent-



Joonis 15. Spektroskoop: 1 — vaatlustoru; 2 — spektroskoobi pilu.

reeritud klorofüllilahuse, 2) lahjendatud klorofüllilahuse ja 3) karotiini-  
lahuse puhul.

Võrreldes kollaste pigmentide neeldumisspektrit klorofüllil neeldumis-  
spektriga, näeme, et neeldumisvööndid spektri punases osas kuuluvad  
rohelinele pigmendile.

Erinevate pigmendilahuste neeldumisspektrid joonistame vihikusse.

### **TÖÖ 35. KLOORIFÜLLILAHUSE VAATLEMINE LANGEVAS JA LÄBIVAS VALGUSES**

#### **Vahendid**

Klorofüllilahus, katseklaasid, laualamp.

#### **Töö käik**

Vaatleme klorofüllilahust katseklaasis vastu valgusallikat. Näeme, et  
lahus on roheline. Kui aga vaatleme klorofüllilahust peegeldunud valgu-  
sip, on see kirsipunane.

Kui klorofüllilahuse kihi paksust suurendada, omandab lahus läbivas  
valguses veelgi punasema värvuse. Vihikusse teeme järelduse sellest näh-  
tusest.

### **TÖÖ 36. KLOORIFÜLLIHULGA MÄÄRAMINE TAIMELEHTEDES VISUAALSE KOLORIMEETRIGA**

Kolorimeetrit kasutatakse värviliste lahuste kontsentratsioonide määra-  
misel. Joonisel 16 on näidatud visuaalne kolorimeeter.

Kolorimetreerimise põhimõte seisneb kahe ühesuguse värvitooniga  
lahuse, antud juhul uuritava klorofüllil- ja standardlahuse värvuse inten-  
siivsuse võrdlemises, kusjuures arvestatakse, et värvilises lahuses on  
valguse neeldumine võrdeline lahuse kontsentratsiooniga ja kihi paksusega.

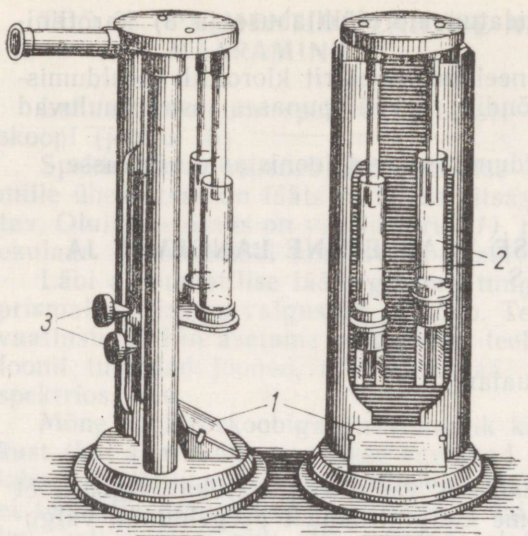
#### **Vahendid**

96% -line alkohol, 2% -line kaaliumdikromaadilahus ( $K_2Cr_2O_7$ ), 1% -line  
 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ -lahus, 2 N ammooniumhüdrosiidilahus, pigmentide alkohol-  
lahus, visuaalne kolorimeeter.

#### **Standardlahuse valmistamine**

1. Lahustame vees 1 g  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  ja lisame mõõtekolbi vett kuni  
100 ml-ni.

2. Lahustame vees 2 g  $K_2Cr_2O_7$  ja lisame mõõtekolbi vett kuni  
100 ml-ni.



Joonis 16. Visuaalne kolorimeeter: 1 — peegel; 2 — küvetid; 3 — kruvid.

Võtame 100-milliliitrisse mõõtekolbi valmistatud lahuste segu: esimest 28,5 ml ja teist 50 ml. Sellele lisame ettevaatlikult 10 ml ammoniumhüdrosiidi, kuni segu värvub ereroheliseks. Täidame kolvi veega kuni märgini, segame lahust ja valame selle ümber kuiva puhtasse klaaskorgiga pudelisse. Lahust võime säilitada kaua. Valmistatud standardlahus vastab värvuselt lahusele, mille 1 liitris on 85 mg klorofüllil.

### Töö käik

Asetame kolorimeetri valgusallika juurde nii, et valgus langeb peeglile (1). Peeglit pöörame seni, kuni kolorimeetri vaateväli on ühtlaselt valgustatud. Valame ühte küvetti (2) standardlahuse ja teise uuritava lahuse. Kruviga (3) reguleerime küvetid sellisele kõrgusele, et lahuse värvuse intensiivsus kolorimeetri vaateväljas oleks ühesugune. Lahuste samba kõrgused kolorimeetris loeme skaalalt nooniuuse abil ja märgime üles. Iga lahuse kohta teeme vähemalt kolm lugemit ja arvutame aritmeetilise keskmise. Sellest arvutame välja klorofüllilahuse kontsentratsiooni, mille järgi määrame klorofüllilise hulga lahuses ja klorofüllisisalduse protsentides lehtede biomassi kohta. Kahe erineva kontsentratsiooniga lahuse puhul on valguse neeldumine (järelilikult ka nende värvus) ühesugune sel juhul, kui nende kontsentratsioonid on pöördvõrdelised lahuse samba kõrgusega.

$$\frac{C}{C_1} = \frac{h_1}{h}$$

kus  $C$  on uuritava lahuse kontsentratsioon;

$C_1$  — standardlahuse kontsentratsioon (85 mg/l);

$h$  — uuritava lahuse samba kõrgus kolorimeetris mm;

$h_1$  — standardlahuse samba kõrgus kolorimeetris mm.

Teades standardlahuse kontsentratsiooni ja nii uuritava kui ka standardlahuse samba kõrgust kolorimeetris, saame arvutada uuritava lahuse kontsentratsiooni  $C$  (mg/l).

$$C = \frac{C_1 h_1}{h}.$$

### TÖÖ 37. KLOORIFÜLLIHULGA MÄÄRAMINE FOTOELEKTRIKOLORIMEETRIGA (FEK-M)

Fotoelektrikolorimeetris kasutatakse värvuse intensiivsuse määramiseks fotoelementi, s. o. seadist, mis annab valguse toimel elektrivoolu, mille tugevus sõltub valguse intensiivsusest. Värvuse vaatlemine asendub sel juhul vooluahelasse lülitatud galvanomeetri osuti hälbe mõõtmisega.

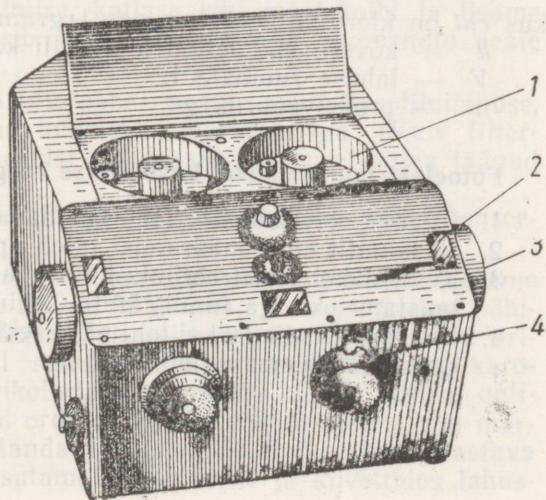
#### Vahendid

Fotoelektrikolorimeeter, klorofüllilahus, lahustiks 96% -line alkohol.

#### Töö käik

Fotoelektrikolorimeeter (joonis 17) töötab kahe valgusvoo võrdsustamise põhimõttel.

Asetame lahustiga täidetud küvetid vastavasse hoidjasse (1) valgusvoo teele. Siis pöörame parempoolse trumli optilise tiheduse (punase



Joonis 17. Fotoelektrikolorimeeter:  
1 — küvetihoidja; 2 — aknake; 3 —  
trummel; 4 — valguse filtri regu-  
laator.

skaala) nullpunkti kohakuti parempoolses aknakeses (2) oleva joonega. Sellega viime piludiafragma minimaalse suuruseni. Kiilude regulaatori pööramisega reguleerime galvanomeetri osuti nullpunkti. Seejärel asendame lahusti parema valgusvoo ees olevas küvetis uuritava lahusega. Trumlite abil suurendatava diafragma pilu reguleerimisega viime galvanomeetri uuesti nullseisu ja loeme optilise tiheduse näitaja parempoolse trumli (3) skaalalt.

Mõõtmisi teeme vähemalt kolmel korral ja antud näitajatest arvutame optiliste tiheduste keskmise. Optiliste tiheduste järgi saab kindlaks teha uuritava lahuse kontsentratsiooni. Aine hulga määramisel koostame kalibreeritud kõvera, mille ühele teljele kanname optilise tiheduse ja teisele aine hulga.

Kalibreeritud kõvera valmistame standardlahustega, mille kontsentratsioon on teada, kusjuures optilise tiheduse määrame fotoelektrikolorimeetrigil. Kõik punktid graafikul peavad asuma ühel sirgel.

Üks liiter standardlahust sisaldab 85 mg klorofüllit (vt. standardlahuste valmistamist töös 36). Sellest alglahusest valmistame vastavate lahjendustega vähemalt kümme lahust, mille kontsentratsioon on meile teada; optilise tiheduse loeme fotoelektrikolorimeetrigil. Klorofüllilahuse kolorimeetrimisel kasutame punast filtrit ja küvette suurusega 20 mm.

Saadud andmete abil joonistame kõvera, mis näitab optilise tiheduse sõltuvust aine kontsentratsioonist. Määramisel saadud uuritava lahuse optilise tiheduse määrgime ordinaatteljele, abstsissiteljele aga määrgime aine kontsentratsiooni.

Tulemused arvutame järgmise valemi abil:

$$chl = \frac{kV}{n},$$

kus *chl* on klorofüllit hulk mg-des 1 grammi toor- või kuivaine kohta;

*k* — kõvera abil leitud klorofüllit kontsentratsioon mg/l;

*V* — lahuse ruumala l;

*n* — proovi suurus g.

### Fotoelektrikolorimeetri kasutamise reeglid

1. Küvetis olev lahus ei tohi sisaldada õhumulle.
2. 10 minutit enne määramist tuleb aparaat sisse lülitada.
3. Kestval kolorimeetrimisel tuleb aparaat fotoelemendi tundlikkuse taastamiseks iga tunni järel 10 minutiks välja lülitada.
4. Kolorimeetrimisel ei tohi päikesekiired aparaadile paista. Aparaadit kaas peab olema suletud.

## TÖÖ 38. KAROTIINILAHUSE VALMISTAMINE JA KAROTIINI-HULGA MÄÄRAMINE

### Vahendid

Torsioonkaalud, filterpaber, uhmer, taimelhed, benseen, 96%-line alkohol, mõõtekolvid (25 ja 50 ml), destilleeritud vesi, kaaluklaasid, 100-ml jaotuslehtrid, 50%-line KOH-lahus,  $MgCO_3$ .

### Töö käik

Kaalume torsioonkaaludel 0,5...1 g lehti ja paneme kaaluklaasi. Lehtedele valame 10 ml alkoholi ja 10 ml benseeni. Kaaluklaasid katame kaanega ja jätame 24 või 48 tunniks seisma.

Järgmisel või ülejärgmisel päeval filtreerime kogu lehtedel oleva vedeliku 50-ml mõõtekolbi. Lehed purustame uhmris kuivalt koos vähese hulga liivaga. Seejärel lisame 10 ml 96%-list alkoholi. Saadud segu valame filtrile. Uhmrit loputame mitmel korral benseeniga, kuid nii, et kogu benseenihulk ei ületaks 10 ml. Loputusvedeliku valame samuti filtrile. Filtraadile lisame 2 ml 50%-list KOH-lahust. Kolvid suleme ja kuumutame 2...3 tundi veevannil või püstjahutis 50...70° C juures.

Pärast kuumutamist valame kolvi sisu jaotuslehtrisse, lisame 2 ml benseeni ja 5 ml vett, loksutame hästi läbi ning jätame üheks tunniks seisma. Jaotuslehttris eraldub pealmisse kihti benseen koos kollaste pigmentidega ja alla alkohol ning vesi koos klorofülliga. Alumise, rohelise kihi laseme ettevaatlikult välja. Pealmist kihti peseme kolmel korral veega neutraalse reaktsioonini, kusjuures iga kord laseme alumise kihi välja.

Pärast pesemist valame pealmise, kollase kihi mõõtekolbi ja lisame 2 g  $MgCO_3$ . Viimane adsorbeerib oma pinnale kõik pigmendid peale karotiini.

Pärast filtreerimist läbi kuiva filterpaberi saame puhta karotiinilahuse, mille karotiinisalduse määrame fotoelektrikolorimeetriga. (Kuiv filterpaber on vajalik selleks, et benseenist eralduksid pesemisel sinna jäänud veejäljed.)

Karotiinilahuse valame mõõtekolbi (50 ml) ja täidame puhta benseeniga kuni märgini.

Kolorimeetreerimisel valmistame standardlahuse järgmiselt. Võtame 0,145 g asobenseeni ja lahustame 100 ml 96%-lises alkoholis. Sellest põhilahusest valmistame 96%-lise alkoholi lisamisega vähemalt kümme erineva lahjendusega lahust. (1 ml standardlahuses on 0,00235 mg karotiini.) Nüüd määrame fotoelektrikolorimeetril nende kümne lahuse optilised tihedused ja kanname arvud ordinaatteljele, abstsissiteljele aga märgime aine kontsentratsioonid. Standardlahuste põhjal koostame vastava graafiku. Kolorimeetreerimisel kasutame sinist filtrit ja küvettides lahuse-

tina benseeni. Küveti suurus on 20 mm. Karotiinihulga arvutame analoogiliselt klorofülliga töös 37 toodud valemi järgi.

Fotoelektrikolorimeetri puudumisel määrame karotiinisisalduse visuaalse kolorimeetriga nagu töös 36.

Karotiinihulga ( $\bar{X}$ ) arvutame järgmiselt:

$$X = \frac{0,00235 \cdot 100Vh_1}{nh_2} \text{ mg \%},$$

kus  $V$  on karotiinilahuse hulk ml;

$h_1$  — standardlahuse samba kõrgus kolorimeetris mm;

$h_2$  — uuritava lahuse samba kõrgus kolorimeetris mm;

$n$  — proovi suurus g.

## TÖÖ 39. KAROTIINI- JA KSANTOFÜLLISISALDUSE MÄÄRAMINE TAIMEKUDEDES

### Vahendid

Veevaba  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , bensiin, atsetoon, standardlahus karotiini määramiseks, 96%-line alkohol, asobenseen, taimne materjal, KOH, portselanuhtmer, klaaslehtid, filterpaber, 100-ml mõõtekolvid, kolorimeeter, jaotuslehter.

### Töö käik

Purustame 0,5...1 g taimset materjali uhmrus 10 minuti kestel koos 2 g veevaba  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -ga. Saadud kuivale pulbrile lisame 4...6 ml bensiini. Koos bensiiniga hõõrume segu veel 2 minuti jooksul. Saadud pudrutaolisele massile lisame 10 ml bensiini ja hõõrume veel 1 minuti. Tekkinud kollase karotiinilahuse valame dekanteerimise teel (läbi filtri) 100-ml mahuga mõõtekolbi. Lisame bensiini (10 ml) ja dekanteerime veel 2...3 korda (kuni dekanteeritav bensiin muutub värvusetuks). Pärast dekanteerimist paneme lahuse mõõtekolbi ja täidame kriipsuni bensiiniga, loksutame hoolikalt ning seejärel kolorimeetreerime.

Karotiini ja ksantofüllil standardlahuse valmistamiseks kasutame asobenseeni (vt. töö 38). Karotiini hulga pärast visuaalset kolorimeetreerimist arvutame nii nagu töös 38.

Pärast karotiini määramist allesjäänud sadet töötleme mõnel korral alkoholi ja atsetooni seguga (1:3), seejärel dekanteerime ning seebistame klorofüllil kaaliumhüdrosiidiga. Kui lisame alkoholi-atsetooni segule bensiini, läheb ksantofüll üle bensiini ja eraldub jaotuslehteris. Seejärel mõõdame eraldunud ksantofüllil-bensiini segu ja kolorimeetreerime.

Ksantofüllil hulga arvutame samuti nagu karotiini puhul.

## TÖÖ 40. TAIMELEHE PIGMENTIDE PABERKROMATOGRAAFIA

### Vahendid

Värsked taimelehed, portselanuhmer, 300° juures läbikuumutatud  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ , klaasifilter nr. 3, kummikorgiga imikolb, atsetooni ja alkoholi segu vahekorras 3:1, eeter, vaakuumpump, veevann veega ( $t^\circ$  60°C), kromatograafiline paber, 1-ml pipetid (4 tk.), joonlaud, foon või ventilaator, nõel ja niit, benseeni ja petrooleetri segu vahekorras 3:1, termostaat (ca 30°C), Petri kausid, petrooleetri ja alkoholi segu vahekorras 13:1, termomeeter.

### Töö käik

Pigmentide eraldamiseks võtame 1 g lehti ja purustame portselanuhmris koos  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -ga, mida lisame liias (umbes 0,5 g). Feofütiniseerimise vältimiseks lisame purustatavale massile mõne soodakristalli.

Kuiva massi kanname klaasifiltrile nr. 3, mis on asetatud kummikorgiga varustatud väikesele imikolvile.

Materjali ekstraheerime atsetooni ja alkoholi seguga. Ekstrakti valame filtrile ja laseme 5...10 minutit seista. Seejärel ühendame kolvi vaakuumpumbaga. Materjali uhume alkoholiga, kuni värv täielikult kaob, ja hiljem üks või kaks korda eetriga. Saadud ekstrakti tihendame vaakuumi abil. Selleks asetame imikolvi veevannile (60°C) ja ühendame veejoapumbaga. Ekstrakti tihendame 5...10 ml-ni.

Proovi (1 ml) kanname kromatograafilisele paberile 5...10 cm laiuse ja 1,5...2 cm kõrguse vööna. Enne pealekandmist märgime pliatsiga vöö mõõtmed paberile. Vöö peab alumisest äärest olema umbes 3 cm kaugusel.

Paberile kantud ekstrakti kuivatame fööni või ventilaatoriga, misjärel pöörame paberi silindritaoliselt kokku ja õmbleme ääred valge niidiga kinni. Paberist silindri asetame kambris Petri kausis olevasse lähustisse (15...25 cm<sup>3</sup>), milleks kasutame benseeni ja petrooleetri segu vahekorras 3:1. Kambrina võib kasutada lihvitud kaanega silindrit, mille suleme kaanega ja asetame termostaati või kappi.

Pigmentid eralduvad umbes 1 tunni jooksul ja reastuvad alates ülalt järgmiselt:

- 1) karotiin (kollakasoranž),
- 2) ksantofüll (kollane),
- 3) neoksantiin (nõrk kollane),
- 4) a-klorofüll (sinakasroheline),
- 5) b-klorofüll (kollakasroheline).

Kirjeldataud viisil eralduvad hästi karotinoidid, a- ja b-klorofüll aga sageli kattuvad.

Pigmentide täielikuks eraldamiseks kasutame kahesuunalist kromatograafiat. Selleks kanname ekstrakti filterpaberiruudu (17 × 17 cm) paremasse nurka 3 cm kaugusele kummastki äärest. Edasi keerame paberi

silindritaoliselt kokku, õmbleme kinni ja asetame kambris olevasse lahustisse. Viimaseks on esimene kord benseeni ja petrooleetri segu vahekorras 3 : 1. Kui pigmendid on eraldunud, võtame paberi kambrist välja, kuivatame õhuvoolus ja asetame teist äärt pidi teise lahustisse. (Lahustite nimed ja liikumise suund tuleb märkida pliiatsiga.) Teisel korral on lahustiks petrooleetri ja alkoholi segu vahekorras 13 : 1. Kahesuunalisel kromatogrammil on kõikide pigmentide laigid hästi eraldunud.

a- ja b-klorofüllil saab määrata ka ühesuunalisel kromatogrammil, kui kasutada lahustina petrooleetri ja alkoholi segu vahekorras 13:1. Sel juhul eraldub peale klorofüllide hästi ka karotiin, ksantofüllid aga klorofüllidest ei eraldu. Fotoelektrikolorimeetrimisel ksantofüll ei sega a- ja b-klorofüllil määramist, kui kasutame punast filtrit.

Pigmentide kvantitatiivsel määramisel elueeritakse karotinoidid kromatogrammilt ühesuunaliselt, klorofüll aga kahesuunaliselt. Selleks lõikame kromatogrammist vastavad tsoonid välja, paneme katseklaasi ja lisame veidi eetrit adsorptsioonisidemete nõrgendamiseks pigmentide molekulide ja filterpaberi vahel. Väljutamine jätkub alkoholi ja atsetooni seguga vahekorras 2 : 1. Kui paber valgeneb, valame lahuse mõõtekolbi (10 ml) ja lisame alkoholi ja atsetooni segu kuni märgini.

Üksikute pigmentide sisalduse määrame fotoelektrikolorimeetriga. Tulemused väljendame milligrammides biomassi või kuivaine ühiku kohta.

Valem pigmentide arvutamiseks:

$$H = \frac{DV_1kV_2}{d_x n V_3} \text{ mg/g,}$$

kus  $H$  on pigmendi hulk mg-des 1 g biomassi kohta;

$D$  — optiline tihedus;

$V_1$  — maht pärast elueerimist kromatogrammilt;

$V_2$  — tõmmise algmaht;

$V_3$  — tõmmise maht, mis kanti kromatogrammile;

$d_x$  — küveti suurus;

$n$  — kaalutis;

$k$  — koefitsient, mis a-klorofüllil on 3, b-klorofüllil 3,3, karotiinil 62,4, neoksantiinil 90,1.

## TÖÖ 41. TÄRKLISE MOODUSTUMINE VALGUSES

### Vahendid

Rohelised taimed (näiteks pelargoonium), must paber, keeduklaas, käärid, 96% -line alkohol, joodilahus, Petri kauss, vesi.

### Töö käik

Fotosünteesi produktidest on taimedes kõige kergem jälgida tärklike tekkimist. Tärkliis koguneb plastiididesse teradena, mis värvuvad joodilahusega siniseks ja on mikroskoobis selgesti nähtavad.



Joonis 18. Tärglise moodustumine valguses.

Sachsi joodiproovi teeme üksikute taimelehtedega või kogu taimega. Eelnevalt 24 tundi pimedas hoitud rohelised taimelehed katame kummaltki poolt musta paberiga, millesse on lõigatud tähed või figuurid. Väljalõigatud figuurid peavad täpselt ühte langema.

Valguse intensiivsusest olenevalt jätame taime 2...24 tunniks valguse kätte.

Pärast katseaja möödumist võtame lehtedelt musta paberi ja keedame lehti 1...3 minutit algul vees, hiljem 96%-lises alkoholis kuni värvuse kadumiseni. Värvuse kaotanud lehe paneme kudede pehmemdamiseks 1 minutiks keeva vette. Veest võetud lehe asetame kuiva Petri kaussi ja valame peale joodilahust.

Kui taime on küllaldaselt valguse käes hoitud, ilmuvad lehtedele figuurid. Need leheosad, mida valgustati, värvuvad joodi mõjul siniseks, sest seal on fotosünteesi produktina tekkinud tärglis. Lehe kaetud osad jäävad värvusetuks (joonis 18).

## TÖÖ 42. FOTOSÜNTEESI INTENSIIVSUSE MÄÄRAMINE HAPNIKUMULLIKESTE LUGEMISE MEETODIL

### Vahendid

Vesikatkuuks, katseklaas, kell, naatriumvesinikkarbonaat ehk sooda ( $\text{NaHCO}_3$ ), 1%-line  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ -lahus, 4%-line vasksulfaadilahus, millele on lisatud ammoniaaki sinivioletse värvuse tekkimiseni, klorofüllü standardlahus.

### Töö käik

Fotosünteesi intensiivsuse määramise kõige lihtsam moodus on vesikatkuuksa lõikepinnalt eralduvate hapnikumullikeste lugemine (joonis 19). Asetame 4...5 cm pikkuse vesikatkuuksa katseklaasi vee sisse, lõikepind ülespoole. Lõikepinda värskendame vee all (lõikame 3...4 mm pikkuse tüki ära). Süsihappegaasiga rikastamiseks lisame veele enne katse



algust veidi soodat ja loksutame. Valguse käes hakkab oksa löikepinnalt mõne minuti pärast eralduma hapnikumullikesi. Mullikeste eraldumise kiirus sõltub valguse intensiivsusest ja omadustest, temperatuurist jm. Fotosünteesi intensiivsust näitab eraldunud mullikeste arv, mida loendame 5 minuti jooksul.

Fotosünteesi intensiivsust määrame harilikus valguses, kasutades mitmesuguseid filtreid, näiteks punast, sinist ja rohelist.

Punase filtrina võib kasutada  $K_2Cr_2O_7$  1%-list vesilahust, sinise filtrina 4%-list vasksulfaadilahust, rohelist filtrina klorofüllil standardlahust (vt. töö 36).

Katsed teeme ühesugustes temperatuuritingimustes. Iga filtri kasutamise järel paneme taime 5 minutiks hariliku valguse kätte, et tema normaalne seisund taastuks.

Katse tulemused kanname tabelisse.

Fotosünteesi intensiivsus olenevalt filtrist

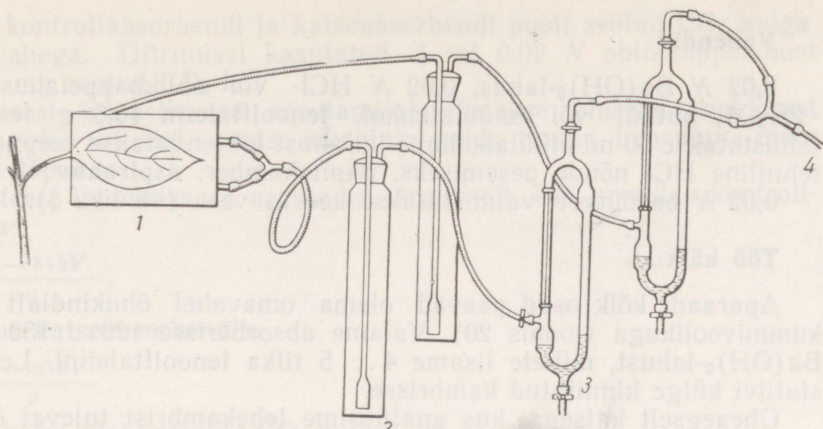
Katsevariant	Eraldunud mullikeste arv	Märkusi
Harilik valgus		
Punane valgus		
Harilik valgus		
Sinine valgus		
Harilik valgus		
Roheline valgus		

### TÖÖ 43. FOTOSÜNTEESI INTENSIIVSUSE MÄÄRAMINE SÜSIHAPPEGAASI NEELDUMISE JÄRGI

Taimeleht pannakse kambrisse, kust voolab läbi õhk. Pärast kambri läbimist läheb õhk barüütvette. Barüütvesi seob lehe poolt sidumata jäänud  $CO_2$ . Baariumhüdrosiidi ülejääk, mis ei reageerinud süsihappegaasiga, tiitritakse sool- või oblikhappega. Kui on teada baariumhüdrosiidi hulk ning selle kontsentratsioon enne ja pärast katset, arvutatakse seotud süsihappegaasi hulk, mis on ekvivalentne  $Ba(OH)_2$ -ga.

Üheaegselt imetakse niisama palju õhku läbi kontrollabsorberi. Sel viisil määratakse  $CO_2$ -sisaldus õhus, mis ei läbinud lehekambrit. Kontroll- ja katseabsorberi erinevate näitajate alusel arvutatakse fotosünteesi intensiivsus.

Seade fotosünteesi intensiivsuse määramiseks koosneb järgmistest osadest (joonis 20): näpitskamber (1), kuhu pannakse uuritav leht; absor-



Joonis 20. Fotosünteesi intensiivsuse määramise seade: 1 — näpitskamber; 2 — absorber; 3 — aparaat õhumahu mõõtmiseks; 4 — aspiraator või pump.

ber (2), kus seotakse  $\text{CO}_2$ ; aparaat õhumahu mõõtmiseks (3) ja imemiseks; aspiraator või pump (4).

Kamber lehtede jaoks. Lehe assimilatsiooni uurimiseks kasutatavad näpitskambrid on nii vormilt kui ka mõõtetelt väga mitmesugused. Lehtede fotosünteesi määramisel kasutatakse sageli paralleelsete klaasseintega neljakandilisi kambreid. Selle kambri ühes otsas on toru ja teises pilu. Pilu kaudu siseneb õhk kambrisse ja läheb toru kaudu edasi absorberisse. Õhk kambris peab liikuma ümber lehe vabalt ja ühtlaselt.

Absorber on oluline seadeosa fotosünteesi määramisel õhuvoolus. Selles neelab barüütvesi süsihappegaasi; õhk tungib absorbenti väikeste mullikestena. Mida kõrgem on lahuse kiht ja peenemad õhumullid, seda täielikum on  $\text{CO}_2$  neeldumine. On palju mitmesuguseid absorberitüüpe.  $\text{CO}_2$  täielikumaks neeldumiseks lisatakse absorberisse mõned tilgad (5...10 tilka iga 100 ml barüütvee kohta) amüül- või butüülalkoholi, mis vähendab kile teket vedeliku pinnal ja soodustab  $\text{CO}_2$  absorbeerumist õhust.

Aparaat õhu mõõtmiseks ja imemiseks. Õhu mõõtmiseks ja imemiseks kasutatakse tavaliselt aspiraatorit või gradueeritud klaaspudelit, mille alumises osas on kraan. Aspiraator täidetakse veega. Kambrist läbiimatud õhu hulka tehakse kindlaks vee väljavoolamise järgi aspiraatorist. See õhuhulk on võrdne väljavoolanud vee hulga.

## Vahendid

0,02 N Ba(OH)<sub>2</sub>-lahus, 0,02 N HCl- või oblikhappelahus (H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O), butüül- või amüülalkohol, fenoolftaleiin (0,5 g fenoolftaleiini lahustatakse 50 ml etüülalkoholis ja lahust lahjendatakse veega 100 ml-ni), tehniline HCl nõude pesemiseks, näpitskamber, aspiraator.

0,02 N barüütveet valmistatakse keevas vees (vt. lisa 3).

## Töö käik

Aparaadi kõik osad peavad olema omavahel õhukindlalt ühendatud kummivoolikuga (joonis 20). Valame absorberisse 120...130 ml 0,02 N Ba(OH)<sub>2</sub>-lahust, millele lisame 4...5 tilka fenoolftaleiini. Lehe paneme statiivi külge kinnitatud kambrisse.

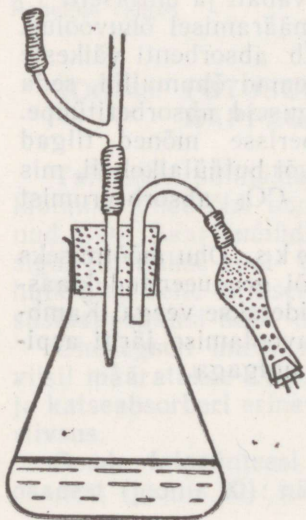
Üheaegselt katsega, kus analüüsimise lehekambri tuletat õhku, määrame ka atmosfääriõhu CO<sub>2</sub>-sisalduse. Õhuvoolu kiirus peab mõlemal juhul olema ühesugune. On vaja, et katse- ja kontrollaparaati siseneks ühesuguse CO<sub>2</sub>-sisaldusega õhk ühest ja samast kohast. Seepärast kinnitame lehekambri külge kontrollvastuvõtja. Õhu süsihappegaasisalduse määrame iga katse puhul eraldi.

Kui avame järjekorras vastavad kraanid ja näpitsad, liigub õhk 12...20 minuti jooksul läbi lehekambri absorberisse. Katse lõpul suleme kraanid ja näpitsad. Barüütveest võtame tiitrimiseks proovid (25...50 ml) või tiitrimise kogu barüütvee. Tiitrimise 100...150-ml koonilistes kolbides, mis on suletud kummikorgiga (joonis 21). Kummikorgil on kaks ava. Ühe ava kaudu valame kolbi barüütvee, teise ava kaudu väljub tiitrimise ajal õhk kolvist. Selleks paneme korgiavast läbi klaastoru, mis on kummivooliku abil ühendatud naatronlupja sisaldava klaasiga.

Tiitrimise soolhappe või oblikhappega fenoolftaleiini manulusel kuni nõrga roosa värvuse kadumiseni.

Tiitrimisel määrame baariumhüdroksiidi hulga, mis ei reageerinud süsihappegaasiga. Erinevus tiitrimiseks kulunud happetoguse vahel enne ja pärast katset näitab CO<sub>2</sub> hulka, mis on reageerinud baariumhüdroksiidiga ja on järelikult ekvivalentne seotud CO<sub>2</sub> kogusega. Kui aga tiitrimiseks ei võetud kogu barüütveet, vaid osa sellest, siis on tarvis välja arvutada CO<sub>2</sub> hulk, mille neelas kogu barüütvesi.

Mõnel juhul tiitritakse kogu absorberis asuv barüütvesi. CO<sub>2</sub> hulk, mille neelas leht,



Joonis 21. Tiitrimiskolb.

määratakse kontrollabsorbendi ja katseabsorbendi poolt seotud CO<sub>2</sub> hulga erinevuse vahega. Tiitrimisel kasutatud 1 ml 0,02 N oblikhappelahust vastab 0,44 mg seotud CO<sub>2</sub>-le.

Fotosünteesi intensiivsuse arvutamisel võetakse aluseks neeldunud CO<sub>2</sub> hulk mg-des 100 cm<sup>2</sup> suuruse lehepinna kohta tunnis. Lehepinna mõõdamise katse lõpul.

Fotosünteesi intensiivsuse arvutame järgmiselt. CO<sub>2</sub>-sisaldus kontrollabsorbendis:

$$A = \frac{(c-b)kV}{v}$$

CO<sub>2</sub>-sisaldus katseabsorbendis:

$$B = \frac{(c-a)kV}{v}$$

Lehe poolt katse ajal neelatud CO<sub>2</sub> hulk:  $C = A - B$  mg.

Fotosünteesi intensiivsus:

$$I = \frac{[(c-b) - (c-a)]kV \cdot 100 \cdot 60}{vSt} \text{ mg/dm}^2\text{h.}$$

Valemi  $(c-b) - (c-a)$  asemel võime kirjutada valemi  $(a-b)$ .

$V$  on kogu barüütvee hulk absorberis ml;

$v$  — barüütvee hulk ml-tes, mis võeti tiitrimiseks;

$a$  — happe hulk ml-tes, mis kulub barüütvee neutraliseerimiseks pärast õhu juhtimist läbi katseabsorbendi;

$b$  — happe hulk ml-tes, mis kulub barüütvee neutraliseerimiseks pärast õhu juhtimist läbi kontrollabsorbendi;

$c$  — happe hulk ml-tes, mis kulub barüütvee neutraliseerimiseks enne katset;

$S$  — lehepindala cm<sup>2</sup>;

$t$  — katse kestus minutites;

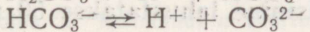
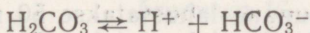
$k$  — CO<sub>2</sub> hulk mg-des, mis on ekvivalentne 1 ml 0,02 N happega (oblikhappe kasutamisel  $k = 0,44$  mg).

Sama põhimõtte järgi saab määrata ka hingamise intensiivsust, kuid sel juhul tuleb lehekamber hoida pimedas.

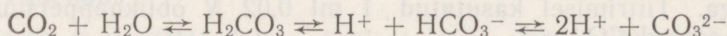
#### TÖÖ 44. FOTOSÜNTEESI JA HINGAMISE MÄÄRAMINE INDIKAATORLAHUSE pH MUUTUSTE JÄRGI

Fotosünteesil neelatud ja hingamisprotsessis eraldunud CO<sub>2</sub> hulk tehakse kindlaks õhus oleva CO<sub>2</sub> hulgaga tasakaalustatud NaHCO<sub>3</sub>-lahuse pH muutumise järgi.

CO<sub>2</sub> lahustamisel vees moodustub H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, mis dissotsieerub järgmiselt:

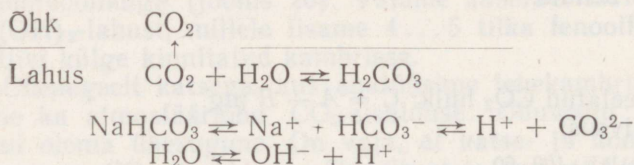


Selle tulemusena tekib vesilahuses CO<sub>2</sub> dünaamiline tasakaal:



Vaba CO<sub>2</sub> on lahuses kindlas hulgalises vahekorras H<sup>+</sup>-ioonide kontsentratsiooniga. H<sup>+</sup>-ioonide hulga suurenemisel lahuses moodustub rohkem vaba CO<sub>2</sub>. H<sup>+</sup>-ioonide vähenemisel vaba CO<sub>2</sub> hulk väheneb, sest vaba CO<sub>2</sub> läheb üle HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>- ja CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>-ioonideks.

Kui NaHCO<sub>3</sub> lahus jõuab tasakaalu õhus oleva süsihappegaasiga, võib suhet, mis tekib õhu CO<sub>2</sub>-sisalduse ja lahuses oleva CO<sub>2</sub> ja H<sup>+</sup>-ioonide kontsentratsioonide vahel, kujutada järgmise skeemina:



Õhus oleva süsihappegaasi partsiaalrõhu muutumisel NaHCO<sub>3</sub> lahus kas neelab või eraldab vaba süsihappegaasi. See kutsub esile vastavad muutused lahuse CO<sub>2</sub>-sisalduses ja H<sup>+</sup>-ioonide kontsentratsioonis. Seetõttu saabki lahuse pH muutumise järgi määrata erinevusi õhu CO<sub>2</sub>-sisalduses.

Samale põhimõttele rajatud indikaatorimeetodit kasutatakse fotosünteesi ja hingamise määramisel.

Fotosünteesil CO<sub>2</sub>-sisaldus õhus väheneb, mille tõttu osa lahuse süsihappegaasist läheb üle õhku. Seejuures H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> hulk, H<sup>+</sup>-ioonide ja HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> kontsentratsioon lahuses väheneb, kuna pH tõuseb. Hingamisel, vastupidi, CO<sub>2</sub>-sisaldus õhus suureneb, lahus rikastub õhus oleva süsihappegaasi arvel ning lahuse pH väheneb. NaHCO<sub>3</sub> lahuse pH määratakse kolorimeetrimisel boraat-puhverseguga kresoolpunase juuresolekul või seguindikaatoriga, mis koosneb kresoolpunasest ja tümoolsinisest. Vastava tabeli järgi arvutatakse CO<sub>2</sub>-sisaldus õhus, mis on antud temperatuuril tasakaalus NaHCO<sub>3</sub>-lahuse pH-ga.

## Vahendid

CO<sub>2</sub> määramise seade, katseklaasid, pump, termomeeter, taimed ja järgmised lahused.

Indikaatorilahus (0,001 N NaHCO<sub>3</sub>-lahus ja 0,099 N KCl-lahus vahekorras 1 : 1).

0,02%-line kresoolpunane indikaator (0,1 g kresoolpunast lahustatakse 2,65 ml 0,1 N NaOH-lahuses, kusjuures 50-ml mõõtekolvi ülejäänud osa täidetakse märgini destilleeritud veega.

Seguindikaator. Lahus a: 0,1%-line kresoolpunane lahustatakse 50 ml 20%-lises alkoholis; lahus b: 0,2%-line tümoolsinine lahustatakse 50 ml

## Boraat-puhversegu skaala (Zelleri järgi, 1951)

pH	Lahuse ml arv		pH	Lahuse ml arv		pH	Lahuse ml arv	
	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	$\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{NaCl}$		$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	$\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{NaCl}$		$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	$\text{H}_3\text{BO}_3 + \text{NaCl}$
7,0	0,45	9,55	7,7	1,75	8,25	8,4	4,45	5,55
7,1	0,60	9,40	7,8	2,05	7,95	8,5	4,95	5,05
7,2	0,75	9,25	7,9	2,35	7,65	8,6	5,50	4,50
7,3	0,90	9,10	8,0	2,70	7,30	8,7	6,05	3,95
7,4	1,10	8,90	8,1	3,05	6,95	8,8	6,70	3,30
7,5	1,30	8,70	8,2	3,50	6,50	8,9	7,40	2,60
7,6	1,50	8,50	8,3	3,95	6,05	9,0	8,20	1,80

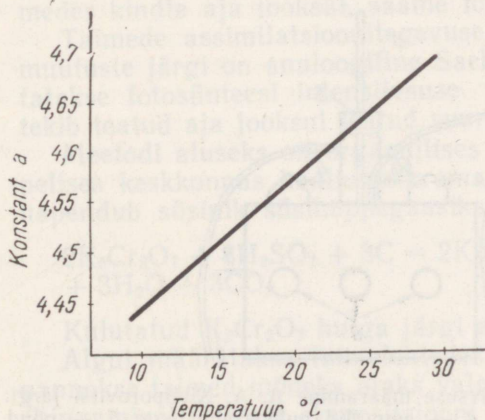
90%-lises alkoholis. Indikaatori valmistamisel võetakse lahuseid vahekorras 1 : 1.

Boraat-puhversegu (vt. tabel 1). Puhversegu valmistatakse kahest lahusest. Lahus a: 0,05 M booraksilahus ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ); lahus b: 0,2 M boorhappe- ja 0,05 M naatriumkloriidilahuse segu (1 : 1).

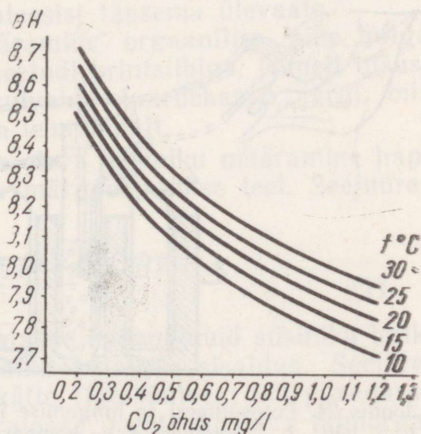
Puhverlahused a ja b valatakse katseklaasi tabelis 1 näidatud vahekorras. Sõltuvalt sellest, missugust indikaatorit  $\text{NaHCO}_3$  lahusele lisatakse, pannakse igasse katseklaasi kas 2 tilka kresoolpunast või 0,2 ml boraat-puhversegu indikaatorit. Puhversegu üldine maht on 10 ml.

Katseklaasid puhverseguga säilitatakse pimedas õhukindlalt suletuna.

$\text{CO}_2$ -sisalduse arvutamine ühes liitris õhus.  $\text{CO}_2$ -sisaldus liitris õhus, mis on tasakaalus 0,001 N  $\text{NaHCO}_3$ -lahuse kontsentratsiooniga, arvutatakse Lange valemi järgi järgmiselt:



Joonis 22. Konstandi  $a$  väärtus erinevatel temperatuuridel.



Joonis 23. Indikaatorlahuse pH sõltuvus  $\text{CO}_2$  õhus oleva  $\text{CO}_2$  kontsentratsioonist.

$$1,02 \lg P = a - \text{pH},$$

kus  $P$  on  $\text{CO}_2$  partsiaalrõhk at;

$a$  — temperatuurist sõltuv konstant.

Selle arvutuse järgi määratakse  $\text{CO}_2$ -sisaldus õhus olenevalt lahuse pH-st ja konstandi  $a$  väärtusest erinevatel temperatuuridel. Konstandi  $a$  väärtus erinevatel temperatuuridel on toodud joonisel 22.

Joonisel 23 on toodud indikaatorlahuse ( $0,001 N \text{NaHCO}_3$ - ja  $0,099 N \text{KCl}$ -lahus) pH sõltuvus  $\text{CO}_2$  kontsentratsioonist õhus erinevatel temperatuuridel.

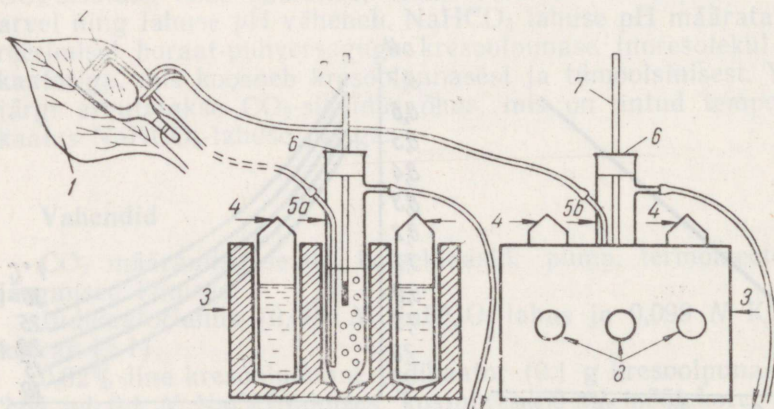
Õhu  $\text{CO}_2$ -sisalduse arvutamisel tuleb lähtuda eespool toodud joonistest 22 ja 23.

Algul kasutati seda meetodit fotosünteesi määramiseks assimilatsioonikolvides. Tänapäeval aga rakendatakse seda ka kasvava taime lähedase õhuvoolu  $\text{CO}_2$ -sisalduse kindlakstegemisel.

### Töö käik

Õhuvoolu  $\text{CO}_2$ -sisalduse määramisel kasutame seadeldist (joonis 24), mis koosneb  $4 \text{ cm}^2$  suurusest näpitskambrist (2), mille vahele paneme taimelehe. Kamber on ühendatud nõuga (5a), milles on indikaatorlahus ( $0,001 N \text{NaHCO}_3 + 0,099 N \text{KCl}$ ). Suleme nõu korgiga, millest on läbi pandud termomeeter. See näitab indikaatorlahuse temperatuuri. Nõus on 10 ml indikaatorlahust ja 0,2 ml seguindikaatorit.

Samaaegselt katseseadeldisega kasutame kontrollseadeldist (5b), mille näpitskambrisse taimelehte ei panda. Sellega määrame  $\text{CO}_2$ -sisalduse õhus, mida fotosüntees ja hingamisprotsess ei mõjusta. Viimasel juhul siseneb õhk indikaatorlahusega täidetud kontrollnõusse.



Joonis 24. Fotosünteesi ja hingamise intensiivsuse määramine A. A. Nitšiporovitši järgi: 1 — leht; 2 — kamber; 3 — komparaator; 4 — ampullid puhverlahustega; 5 — nõud indikaatorlahusega (a — katse, b — kontroll); 6 — kummikork; 7 — termomeeter; 8 — avad kolorimeetrilisteks vaatlusteks.

Õhu paneb seadeldistes liikuma pump. Ekspositsiooni kestuse määrab aeg, mis on vajalik selleks, et lahuste ja õhus oleva CO<sub>2</sub> vahel tekiks tasakaal. Tavaliselt kulub selleks 10 minutit. Kümme minutit pärast katse algust lülitame pumba välja, märgime indikaatorlahuse temperatuuri ja määrame lahuse pH boraat-puhverseguga.

Lahuse pH määramiseks võtame nii katse- kui ka kontrollnõust indikaatorlahust. Indikaatorlahused paneme ühesugustesse boraat-puhversegu sisaldavatesse katseklaasidesse. Katseklaasid (indikaatorlahuste ja puhverseguga) asetame puust statiivile, mille taha paneme värvuse paremaks eraldamiseks valge paberi. Indikaatorlahuste pH muutused teeme kindlaks boraat-puhversegu skaala järgi. CO<sub>2</sub>-sisalduse ühes liitris õhus arvutame joonise 23 andmete põhjal.

Olgu näiteks kontrollnõus ühes liitris õhus  $a$  mg CO<sub>2</sub>, katses aga  $b$  mg. Õhu imemise kiirus on  $v$  liitrit tunnis ja lehepindala  $S$  cm<sup>2</sup>. Fotosünteesi intensiivsuse ( $I$ ) arvutame järgmiselt:

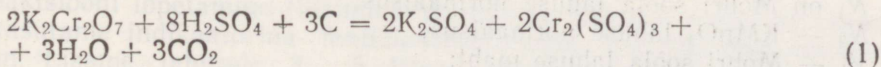
$$I = \frac{(a - b)v \cdot 100}{S} \text{ mg/dm}^2\text{h.}$$

#### TÖÖ 45. FOTOSÜNTEESI JA HINGAMISE MÄÄRAMINE ORGAANILISE AINE SÜSINIKUSISALDUSE MUUTUMISE PÕHJAL

Fotosünteesi intensiivsuse määramisel lehte ümbritseva õhu CO<sub>2</sub>-sisalduse muutumise põhjal on mitmeid raskusi. Nimelt võib CO<sub>2</sub> tungida taimerakkudesse, ilma et ta võtaks osa orgaanilise aine sünteesist, ja lahustuda rakumahlas. Fotosünteesi tegevuse hindamisel süsiniku hulga järgi, mis läheb otseselt orgaanilise aine koostisse ja sünteesitakse taimedes kindla aja jooksul, saame fotosünteesist täpsema ülevaate.

Taimede assimilatsioonitegevuse määramine orgaanilise aine hulga muutuste järgi on analoogiline Sachs'i meetodi printsüübiga. Nimelt otsustatakse fotosünteesi intensiivsuse üle kuivaine juurdekasvu järgi, mis tekib teatud aja jooksul teatud suurusega lehepinnalt.

Meetodi aluseks on orgaanilises aines oleva süsiniku määramine hapelises keskkonnas kaaliumdikromaadiga märgpõletamise teel. Seejuures hapendub süsinik süsihappegaasiks:



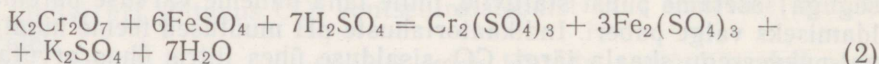
Kulutatud K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> hulga järgi arvutatakse hapendunud süsiniku hulk.

Algul määratakse taimlehtedes süsiniku esialgne sisaldus. Seejärel pannakse taimed mõneks ajaks valguse kätte (fotosüntees) või pimedasse (hingamine). Pärast ekspositsiooni määratakse uuesti uuritava taimorganismi süsinikusisaldus.

Esimese ja teise määramise vahe järgi otsustatakse kogunenud või lagundatud süsiniku hulga üle.

Hapendumine toimub 0,4 N kaaliumdikromaadilahuse manulusel. Kaaliumdikromaadi liig, mida ei kasutatud orgaanilise aine hapendamisel, määratakse tagasitiitrimise teel 0,2 N Mohri [ammooniumraud(II)sulfaat] soola lahusega  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ .

Reaktsioon toimub järgmiselt:



### Vahendid

300...400-ml kooniline kolb, klaaslehter, taimelehed, elektripliit.

0,4 N kaaliumdikromaat. Võetakse 40 g kristalset  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ja lahustatakse 500 ml destilleeritud vees. Lahus filtreeritakse üheliitrisse mõõtekolbi. Mõõtekolb täidetakse destilleeritud veega märgini. Saadud lahus valatakse 2,5...5-l kuumakindlasse kolbi ning lisatakse väikeste osade kaupa (100 ml) üks liiter kontsentreeritud väävelhapet. Lahuseid segatakse ettevaatlikult. Kolb suletakse lehtriga ja jäetakse jahtuma järgmise päevani. Lahust säilitatakse pimedas.

0,2 N Mohri soola lahus. Võetakse 80 g Mohri soola  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ , valatakse liitrisse mõõtekolbi ja lisatakse 600 ml 1 N  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -lahust. Vedelikku loksutatakse soola täieliku lahustumiseni ja filtreeritakse. Kolb täidetakse destilleeritud veega märgini ja kogu vedelik valatakse liitrisse pudelisse. Et Mohri soola lahus ei puutuks kokku õhuhapnikuga, ühendatakse pudel Tištšenko klaastoruga, milles on aluseline pürogalloom.

Mohri soola lahuse normaalsus tehakse kindlaks 0,1 N  $\text{KMnO}_4$ -lahusega. 250-ml koonilisse kolbi valatakse 10 ml Mohri soola lahust, 1 ml kontsentreeritud  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , lisatakse 50 ml destilleeritud vett ja tiitritakse 0,1 N  $\text{KMnO}_4$ -lahusega kuni roosa värvuse tekkimiseni.

Mohri soola lahuse normaalsus arvutatakse järgmiselt:

$$N_1 = \frac{N_2 V_2}{V_1},$$

kus  $N_1$  on Mohri soola lahuse normaalsus;

$N_2$  —  $\text{KMnO}_4$  lahuse normaalsus;

$V_1$  — Mohri soola lahuse maht;

$V_2$  —  $\text{KMnO}_4$  lahuse maht.

Difenüülamiin. 0,5 g difenüülamiini lahustatakse 20 ml destilleeritud vees, lisatakse 10 ml kontsentreeritud  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ja segatakse ettevaatlikult.

Fenüülantраниилhape. 0,2 g fenüülantраниилhapet lahustatakse 100 ml 0,2%-lises soodalahuses (kasutatakse veevaba soodat).

85%-line ortofosforhape (tihedus 1,7).

Pürogallooli aluseline lahus. 12 g pürogallooli lahustatakse 50 ml vees. 180 g KOH-d lahustatakse 300 ml vees. Lahused segatakse vahekorras 1 : 1 ja valatakse Tištšenko klaastorusse.

### Töö käik

Paneme prooviks võetud taimelehed 300...400 ml suurusse koonilisse kuiva kolbi, kuhu on valatud 10 ml 0,4 N kaaliumdikromaadilahust.

Olenevalt töö eesmärgist võtame teatud hulga lehti (näiteks 300 mg) või lõikame lehest teatud suurusega (näiteks 2 cm<sup>2</sup>) tükikesed.

Proovi suuruse teeme kindlaks iga uurimisobjekti kohta eraldi juba enne katselisi määramisi.

Katalüsaatorina lisame 5...6 tilka 10%-list CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O-lahust. Seejärel suleme kolvi klaaslehtriiga ja paneme koos asbestvõrguga elektripliidile. Lehter on jahutajaks ja väldib ühtlasi lahuse väljapritsumist kolvist ning tugevat aurumist. 3...5 minuti pärast tekivad lahuse pinnale suured mullid. Lahust keedame 5 minutit. Jälgime, et lehtri kaudu ei väljuks auru. Selle aja jooksul põleb orgaaniline aine ära ja kaaliumdikromaadi lahus muutub pruunikaks.

Süsinikuisaldust on vaja määrata mitu korda, sest ebaühtlane keemine võib süsiniku määramises suuri erinevusi põhjustada. Materjali keetmine on kõige vastutusrikkam moment kogu määramise käigus. Eriti on vaja jälgida, et kõik proovid keeksid ühtlaselt.

Hapendumine peab toimuma kaaliumdikromaadi liias. Kroomisegu vähesust näitab lahuse roheline värvus. Sel juhul tuleb kaaliumdikromaadi lahust lisada. Pärast keetmist jahutame kolbi ja lisame nii palju destilleeritud vett, et kogu vedeliku maht kolvis oleks 250 milliliitrit. Saadud lahusele lisame 3 ml 85%-list H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 10 tilka difenüülamiini või fenüül-antraniilhapet, seejärel loksutame ettevaatlikult ja tiitrimise 0,2 N Mohri soola lahusega. Tiitrimisel kaaliumdikromaadi liias, mis jääb lahusesse pärast orgaanilise aine hapendumist, kasutatakse indikaatorina difenüülamiini või fenüül-antraniilhapet. Tiitrimisel ilma indikaatorita ei ole võimalik tiitrimise täpset lõppu kindlaks teha.

Kaaliumdikromaadi lahuses difenüülamiin hapendub ja segu muutub punakaspruuniks. Kui lisame Mohri soola lahust mõõdukalt, muutub lahus lõpuks roheliseks. Mohri soola lahust lisame tilkhaaval, loksutades energiliselt kolbi.

Reaktsiooni lõpetamine tiitrimisel difenüülamiiniga ei ole väga täpne. Kui kasutame indikaatorina fenüül-antraniilhapet, on tiitrimise tulemus täpsem. Lisame lahusele 3...5 tilka fenüül-antraniilhapet. Tiitrimine Mohri soola lahusega lõpeb siis, kui vedelik muutub roheliseks.

Paralleelselt katsega korraldame kontrollkatse, kuid ilma taimse materjalita.

Mohri soola lahuse hulga erinevus katse- ja kontroll-lahuse tiitrimisel vastab kaaliumdikromaadi hulgale, mis kulus süsiniku hapendamiseks. 1 ml 0,2 N kaaliumdikromaadilahust ja samas kontsentratsioonisis Mohri

soola lahust vastab 0,6 mg süsinikule. Enne katse algust on vaja kontrollida Mohri soola lahuse normaalsust ja arvutada selle parandus.

Süsinikusisalduse ( $x$ ) milligrammides 1 dm<sup>2</sup> suuruse lehepinna kohta arvutame järgmise valemi põhjal:

$$x = \frac{(a - b)K \cdot 0,6 \cdot 100}{S} \text{ mg/dm}^2,$$

kus  $a$  on Mohri soola lahuse hulk ml-tes, mis kulus kontroll-lahusele;

$b$  — Mohri soola lahuse hulk ml-tes, mis kulus kroomisega tiitrimisel pärast orgaanilise aine märgpõletamist;

$K$  — Mohri soola lahuse normaalsuse parandus;

$S$  — lehe pindala cm<sup>2</sup>.

## TÖÖ 46. TAIMEDE HINGAMISE INTENSIIVSUSE DEMONSTREERIMINE

### Vahendid

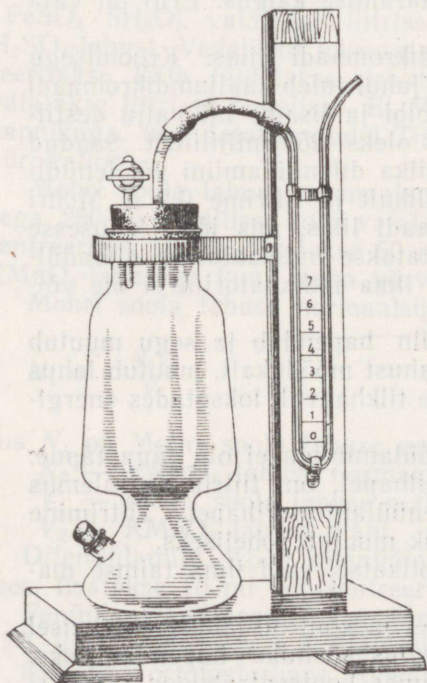
Seadeldis gaasivahetuse demonstreerimiseks hingamisel, idanenud herned, kontsentreeritud KOH ja värviline lahus.

### Töö käik

Seadeldis hingamise intensiivsuse demonstreerimiseks (joonis 25) koosneb järgmistest osadest: puualusest, millele on kinnitatud kogu seadeldis; klaasanumast, mis metallisõela abil on jaotatud alumiseks (väiksemaks) ja ülemiseks (suuremaks) osaks; manomeetrist, mis ühendatakse klaastoru ja kummitoru abil klaasanumaga. Viimane suletakse kummikorgiga, millest on läbi pandud kaks klaastoru: ühel on kraan, teine on manomeetri ühendamiseks.

Enne katse algust täidame manomeetri  $\frac{1}{5}$  ulatuses värvilise lahusega. Anuma alumisse ossa valame kontsentreeritud KOH-d süsihappegaasi neelamiseks, ülemisse ossa asetame idanenud herned. Avame kraani, suleme anuma kindlalt korgiga ja ühendame manomeetriga. Siis suleme kraani. Nüüd ongi seadeldis katseks valmis.

Joonis 25. Hingamise intensiivsuse demonstreerimise seadeldis.



Hingamisel neelavad seemned õhust hapnikku, vabanenud süsihappegaasi aga seob kontsentreeritud KOH, mistõttu õhu hulk anumask väheneb. Seoses õhurõhu vähenemisega anumask hakkab värviline lahus manomeetris liikuma anuma suunas. Määrame lahuse liikumise kiiruse manomeetris.

Demonstratsiooniks võime kasutada ka koonilist kolbi, millesse paneme idanevad seemned ja väikese pudeli küllastatud KOH-lahusega. Kolvi suleme korgiga, mida läbib painutatud klaastoru. Klaastoru ots ulatub värvilisse lahusesse. Seemned kasutavad hingamisel kolvis olevat hapnikku, eralduva CO<sub>2</sub> aga seob alus. Tekib õhuhõrendus, mille tagajärjel värviline lahus klaastorus tõuseb.

## TÖÖ 47. LIHTSUSTATUD MEETOD HINGAMISE INTENSIIVSUSE MÄÄRAMISEKS

Hingamise intensiivsuse määramine põhineb 1 tunni jooksul hingamisel eralduva CO<sub>2</sub> hulga kindlakstegemisel.

### Vahendid

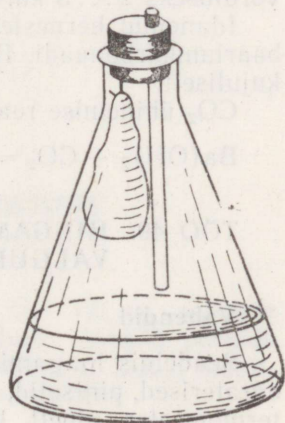
500-ml kolvid, taimeorganid, marlikotid, 0,02 N barüütvesi (baariumhüdrosiidi vesilahus), oblikhape 0,02 N vesilahus, 1% fenoolftaleiin.

### Töö käik

Määramiseks võtame laiakaelalised koonilised kolvid, mille maht on 500 ml. Kolvi sulgemiseks võtame kummikorgi, mida läbib klaastoru. Korgi alumisele küljele paneme konksu ja selle külge seome marlikotikese, milles on 3...5 grammi uuritavat taimset materjali (joonis 26). Suleme kolvi tihedalt korgiga. Klaastoru kaudu laseme büretist kolbi 50 ml Ba(OH)<sub>2</sub>-lahust ja pipetiga 1...2 tilka 1%-list fenoolftaleiini kuni roosa värvuse tekkimiseni.

Siis suleme klaastoru otsa kiiresti väikese kummikorgiga. Korgiservad tihendame õhukindlalt plastiliiniga. Kolvi asetame pimedasse (kasti või termostaati) ning märgime katse alguse. Katse kestab 1 tunni.

Hingamisel eralduva CO<sub>2</sub> seob Ba(OH)<sub>2</sub>. Samaaegselt katsekolviga asetame pimedasse kontrollkolvi, milles on niisama palju barüütveet kui katsekolvis, kuid pole taimset materjali. Barüütvee pinnale tekib BaCO<sub>3</sub> kiht, mille aeg-ajalt purustame kolvi loksutamisega. Ühe



Joonis 26. Hingamise intensiivsuse määramine.

tunni möödumisel võtame kolvid pimedast ja tiitrimise klaastoru kaudu oblikhappega kuni roosa värvuse kadumiseni.

Tiitrimisel kulub kontrollkolvile rohkem oblikhapet kui katsekolvile, sest viimasel on vabaks jäänud  $\text{Ba}(\text{OH})_2$  hulk vähenenud hingamisel eraldunud  $\text{CO}_2$  sidumise tõttu. Kahe tiitrimise tulemuste vahest saamegi teada  $\text{CO}_2$  hulga, mis hingamisel eraldus. Iga milliliiter vähem kulunud oblikhappe vesilahust vastab hingamisel eraldunud 0,44 mg süsihappegaasile.

Hingamise intensiivsuse arvutame 1 g biomassi kohta.

## **TÖÖ 48. SÜSIHAPPEGAASI ERALDUMISE MÄÄRAMINE IDANEVATEST SEEMNETEST**

### **Vahendid**

Mitmesuguste taimede idanenud seemned, katseklaasid, filterpaber, kooniline kolb, kummikorgid, 0,02 N barüütvesi, tuletikud, vatt.

### **Töö käik**

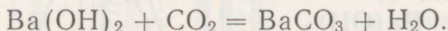
1. k a t s e. Võtame 100-ml koonilised kolvid ja täidame poolest saadik idanevate seemnetega. Idanenud seemnete vahele asetame mõned filterpaberi rullikesed. Kolvid suleme õhukindlalt korgiga ja paneme 1 tunniks pimedasse. Pärast ekspositsioonija möödumist avame korgi ja viime sisse põleva tiku. Põleva tiku kustumine katseklaasis viitab sellele, et idanenud seemned on eritanud keskkonda rohkesti süsihappegaasi.

2. k a t s e. Võtame kaks katseklaasi. Ühte mõõdame 3...4 ml barüütveet. Barüütvee tasapinnast kõrgemale asetame katseklaasi tüki vatti, nii et see püsiks kindlalt. Vatile asetame 2...3 idanenud hernest. Katseklaasi suleme õhukindlalt korgiga ja asetame 30 minutiks pimedasse.

Teise katseklaasi paneme niisama palju barüütveet, vatile aga asetame võrdluseks 2...3 kuiva seemet.

Idanenud hernestest eraldunud  $\text{CO}_2$  ühineb barüütveega, moodustades baariumkarbonaadi. Baariumkarbonaat sadeneb katseklaasi seinale ringikujuliselt.

$\text{CO}_2$  ühinemise reaktsioon on järgmine:



## **TÖÖ 49. HINGAMISKOEFITSIENDI MÄÄRAMINE ÖLI- JA VALGURIKASTE SEEMNETE IDANEMISEL**

### **Vahendid**

Seadeldis hingamiskoeffitsiendi määramiseks, lina- või kanepiseemned, odraterised, pintsetid, filterpaber, käärid, kontsentreeritud KOH, termostaat, termomeeter, pipett, kell, katseklaas.

## Töö käik

Katseesadeldis koosneb koonilisest kolvist, mis on suletud kummikorgiga. Korgist on läbi pandud kalibreeritud klaastoru.

Täidame katseklaasi poolest saadik idanevate seemnetega ja suleme hermeetiliselt korgiga. Klaastoru otsa viime väikese tilga vett ja märgime selle asukoha. Teatud aja (umbes 5 minuti) möödumisel fikseerime tilga liikumise. Avame ettevaatlikult korgi, asetame pintsettidega katseklaasi vabasse ossa filterpaberi rõnga, mis on niisutatud kontsentreeritud KOH-lahusega (rõnga diameeter peab olema veidi suurem kui katseklaasil, vastasel korral ta ei püsi). Suleme katseklaasi uuesti, märgime tilga asukoha ja sama ajavahemiku möödumisel teeme teise vaatluse.

Katset kordame 2...3 korda, saadud andmetest võtame keskmise ja arvutame hingamiskoeffitsiendi.

Rasvade hapendumisel neeldub hapnikku rohkem; kui eraldub CO<sub>2</sub>. Esimene mõõtmine *A* vastab kasutatud hapniku ja eraldunud süsihappegaasi mahu muutusele kolvis antud ajaühiku jooksul. Teine mõõtmine *B* näitab pärast aluse sisseviimist neeldunud hapniku hulka (sest eraldunud CO<sub>2</sub> seob KOH). *C* näitab eraldunud CO<sub>2</sub> mahtu ja võrdub *B* — *A*. Antud juhul on *B* suurem kui *C*.

Hingamiskoeffitsient võrdub suhtega  $\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2}$ .

Kui hingamissubstraadiks on rasvad ja valgud, võime kirjutada:

$$\frac{\text{CO}_2}{\text{O}_2} = \frac{C}{B} = \frac{B-A}{B} < 1.$$

Seega on hingamiskoeffitsient väiksem kui 1.

Süsivesikute arvel hingamise puhul *B* = *C* ja *A* = 0, seega on hingamiskoeffitsient 1.

Kui hingamine toimub orgaaniliste hapete arvel, on *A* negatiivne, sest *C* (eraldunud CO<sub>2</sub> hulk) on suurem kui *B* (neeldunud O<sub>2</sub> hulk). Sel juhul saame:

$$A = B - C \text{ või } A = C - B, \text{ kust } C = A + B.$$

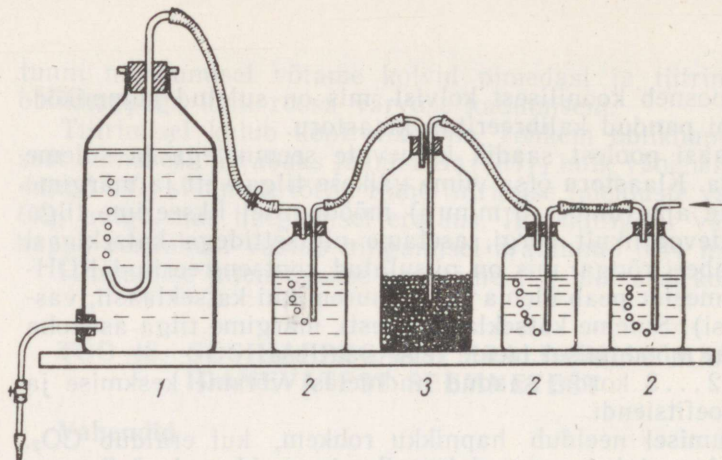
Hingamiskoeffitsient vastab suhtele  $\frac{C}{B} = \frac{A+B}{B} > 1$ .

Seega on hingamiskoeffitsient suurem kui 1.

## TÖÖ 50. HINGAMISE INTENSIIVSUSE MÄÄRAMINE

### Vahendid

Idanevad seemned, kolm 300 ml suurust purki, üks 500 ml suurune purk, täisnurga all painutatud klaastorud, kummitoru, korgid purkide jaoks, aspiraator, elektripliit, parafiin, 0,02 *N* barüütvesi, tikud, näpitsad, ämber vee jaoks, 0,02 *N* oblikhape, 1% -line fenoolftaleiin.



Joonis 27. Süsihappegaasi hulga määramine idanevatel seemnetel (skeem): 1 — aspiraator; 2 — nõud barüütveega; 3 — idandatud seemned.

### Töö käik

Võtame neli purki ja valime neile sobivad korgid. Korkidesse teeme avad, kuhu paneme painutatud klaastorud (joonis 27). Üks toru peab ulatuma peaaegu purgi põhja, teine aga ainult veidi läbi korgi. Ühte purki (3) paneme idanevad seemned või mõned muud taimeosad (lehed, õied, pungad), teistesse aga valime 50...75 ml barüütveett. Seejärel ühendame kõik purgid omavahel kummivoolikuga järgmises järjekorras: 2 purki (2) barüütveega, kolmas taimse materjaliga ja neljas jälle barüütveega. Kummikorgid vajutame tihedalt peale ja parafineerime, et õhk läbi ei tungiks.

Et luua hingamiseks normaalsed tingimused, tekitame õhuvoolu aspiraatori (1) või vaakumpumba abil. Ohuvoolu mõjul muutub esimeses purgis barüütvesi häguseks CO<sub>2</sub> neeldumise tõttu õhust; teine purk on kontrolliks: siin peab barüütvesi jääma selgeks ja läbipaistvaks. Neljandas purgis muutub barüütvesi õhuvoolu mõjul uuesti häguseks, sest taimsest materjalist hingamisel eraldunud süsihappegaas tungib neljandasse, barüütveega täidetud purki.

Sellest purgist võtame tiitrimiskolbi 10...20 ml barüütveett, lisame 2...3 tilka fenoolftaleiini, mille järel suleme kolvi.

Teades lehepindalasiid või seemnete biomassi, saame pärast oblikhappega tiitrimist arvutada CO<sub>2</sub> hulga, mis ühe tunni jooksul eraldus teatud lehepindala või biomassi kohta.

1 ml 0,02 N oblikhappe vesilahust vastab hingamisel eraldunud 0,44 mg süsihappegaasile.

Süsihappegaasi eraldumist määrame erinevatest taimedest ja nende erinevatest organitest. Hingamise intensiivsuse arvutame nii nagu töös 47.

## IV. TAIMEDE MINERAALNE TOITUMINE

### VEGETATSIOONIMEETOD

Taimede toitumise, samuti paljude muude taimefüsioloogia probleemide uurimisel tuleb sageli kasutada vegetatsioonimeetodit, s. o. taimede kasvatamist nõudes liiv-, muld- või vesikultuurina. Vegetatsioonimeetod võimaldab luua katseks vajalikke, s. o. taimede veega varustamise ja juurekaudse toitumise tingimusi.

Muld- ja vesikultuuride korral saab taim toitu mullas leiduvatest mineraalsetest ühenditest ja täiendavatest väetistest, vesi- ja liivkultuuride puhul aga antakse katseks vajalikud mineraalelemendid toitelahustena. Et koostada vajaliku koostisega toitelahust, on vaja tunda toitelahuste valmistamise põhimõtteid.

Suviste katsete puhul asetatakse vegetatsiooninõud vagonettidele. Päeval asuvad vegetatsiooninõud väljas, vihmajärgu korral ja ööseks aga lükatakse vagonetid nõudega vegetatsioonimajja. Selle ventilatsioon kindlustab taimedele välisõhuga ühesugused tingimused. Talvel tehakse katseid kasvuhoones.

### TÖÖ 51. VESI- JA LIIVKULTUURIDE TOITELAHUSED NING NENDE VALMISTAMINE

Toitelahused on koostise poolest mitmesugused. Nende valik oleneb kasvatatavatest kultuuridest. Toitelahuste valmistamisel peavad olema täidetud järgmised nõuded:

- 1) toitelahus peab sisaldama kõiki taimedele vajalikke elemente;
- 2) kõiki toitelemente tuleb anda taimedele kergesti omastataval kujul;
- 3) toitelahuse pH peab kogu vegetatsiooniperioodi kestel olema optimaalne või sellele lähedane.

Taimedele on tingimata vajalikud järgmised mineraalelementide grupid:

- 1) makroelemendid K, Ca, Mg, S, P, N jt.;

- 2) poolmikroelement Fe;  
 3) mikroelemendid B, Mn, Zn, Cu, Mo jt.

Makroelementide sisaldus on taimedes küllalt suur (0,1...5% kuivainest). Kui nende kontsentratsioon ühes liitris toitelahuses on üle 200...300 mg, siis mõjuvad nad taime kasvule ja arenemisele ebasoodsalt.

Mikroelemente on taimedes palju vähem. Kuivaines võib neid olla ka ainult mõni kümnetuhandik protsenti. Kui välislahuses on nende kontsentratsioon kõrgem kui 0,1...0,5 mg/l, siis taimede kasv juba pidurdub.

Raud on poolmikroelement, mille optimaalne kontsentratsioon välislahuses on 5...10 mg/l.

Esimesed toitelahused vesikultuuride jaoks koostati möödunud sajandi 60-ndatel aastatel Sachsi ja Knopi poolt. Toitelahuste koostises kasutati kahte esimest elementide gruppi.

Palju taimede kasvuks on küllaldane see mikroelementide hulk, mis koos makroelementidega satub lahusesse. Mikroelemente satub lahusesse ka katsenõude (klaasnõude) seintelt. Mõned taimed aga vajavad kasvuks kindlat mikroelementide kontsentratsiooni. Toitelahustesse lisatakse mikroelementidest eelkõige boori ja mangaani.

Kõikidesse toitelahustesse kuuluvad S, P, B ja Mo anioonidena ( $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{BO}_3^-$ ,  $\text{MoO}_4^{2-}$ ) ning K, Ca ja Mg kationidena ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ). Lämmastik esineb toitelahustes  $\text{NO}_3^-$  ja  $\text{NH}_4^+$  kujul. Rauda kasutatakse enamasti kolmevalentsena.

### Toitelahuste tüübid

Toitelahustes esinevate lämmastiku- ja fosforisoola paaride järgi võib toitelahused jaotada 3 tüüpi. Nendeks soolapaarideks on  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  ja  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$  ja  $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  ja  $\text{CaHPO}_4$  või  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ . Igas soolapaaris kompenseerib üks komponent teise mõju keskkonna reaktsioonile.

Esimeses lahusetüübis on keemiliselt happeline sool  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  tasakaalus füsioloogiliselt aluselise soolaga  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ . Kõik ühendid lahuses antakse kergesti lahustuval kujul. Sellesse tüüpi kuuluvad näiteks Knopi, Hellriegeli, Hoglandi, Tottinghami ja Shive'i lahused (tabel 2).

Tabel 2

Esimest tüüpi toitelahuste koostisi (g/l)

Toitesoolad	Knopi lahus	Hellriegeli lahus	Hoglandi lahus
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	1,000	0,492	0,821
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0,250	0,136	0,136
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,250	0,060	0,120
KCl	0,125	0,075	—
$\text{KNO}_3$	—	—	0,506
$\text{FeCl}_3$	— d	0,025	—
$\text{FeC}_4\text{H}_4\text{O}_6$	—	—	0,005

## Crone'i toitelahus (g/l)

$KNO_3$	$Fe_3(PO_4)_2$	$Ca_3(PO_4)_2$	$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$
1,00	0,25	0,25	0,50	0,50

Teine lahustetüüp sisaldab lämmastikku  $KNO_3$  näol. Viimane on füsioloogiliselt neutraalne. Fosforit saab taim raskesti lahustuvast  $Fe_3(PO_4)_2$ , mis lõhustub hüdrolüüsil. Siinjuures moodustuvad nõrk alus — raudhüdraat — ja tugev hape —  $H_3PO_4$ . Selle tagajärjel väheneb lahuse aluselisuus. Teise lahustetüüpi kuulub näiteks Crone'i lahus (tabel 3).

Crone'i lahust iseloomustavad raskesti lahustuvad soolad  $Fe_3(PO_4)_2$ ,  $Ca_3(PO_4)_2$  ja  $CaSO_4$ . Lahuses on  $Ca^{2+}$ -,  $Fe^{2+}$ - ja  $PO_4^{3-}$ -ioonid väga nõrkades kontsentratsioonides. Taimed kasutavad neid ioone toitelahusest järk-järgult. Samal ajal dissotsieerub lahusesse uusi ioone, mistõttu nende soolade kontsentratsioon on lahuses ühtlaselt ja püsivalt madal.

Toitumistingimused Crone'i lahuse puhul sarnanevad toitumistingimustega mullas. Ka mullas täieneb toitelahuse kontsentratsioon seal olevate raskesti lahustuvate soolade järkjärgulise lahustumise tõttu, jäädes püsivalt madalaks.

Kolmanda lahustetüübi töötasid 1901. a. välja Prjanišnikov ja tema kaastöötajad (tabel 4). Et vältida Knopi toitelahuse füsioloogilist aluselisust, asendas Prjanišnikov kaltsiumnitraadi  $[Ca(NO_3)_2]$  ammoniumnitraadiga ( $NH_4NO_3$ ), mis on füsioloogiliselt nõrgalt happeline sool (tabel 5).

Tabel 4

## Prjanišnikovi toitelahus (g/l)

$NH_4NO_3$	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	$MgSO_4$	$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	KCl	$FeCl_3$
0,240	0,172	0,060	0,344	0,150	0,025

Tabel 5

## Tsintsadže toitelahused erineva pH väärtusega (g/l)

Toitesoolad	Toitelahuse koostis, et pH oleks			
	4,0	5,0	5,5...6,6	7,3
$NH_4NO_3$	0,33	0,33	0,20	—
$MgSO_4$	0,50	0,50	0,50	0,50
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	1,46	0,50	—	0,28
KCl	0,61	0,61	0,36	—
$KNO_3$	0,17	0,17	0,51	0,80
$Fe_2(SO_4)_3$	0,04	0,25	0,32	0,25
$FePO_4$	0,68	—	—	—
$Ca_3(PO_4)_2$	—	0,70	5,00	0,70
$Ca(NO_3)_2$	—	—	—	0,21
KOH	—	—	—	0,17

## Taimede kasvuks optimaalne pH

(S. S. Baslavskaja ja O. M. Trubetskova järgi, 1964)

Taim	pH	Taim	pH
Nisu	6,5...7,8	Kapsas	5,0...6,0
Oder	6,5...7,8	Kartul	5,0...7,2
Rukis	5,0...6,0	Kanep	6,0...7,0
Kaer	5,0...6,0	Kurk	5,5...7,4
Mais	5,5...7,5	Salat	6,0...8,0
Põlduba	6,0...7,0	Päevalill	5,7...6,5
Hernes	6,0...7,0	Suhkrupeet	7,0...8,0
Lupiin	4,5...6,0	Tubakas	5,2...6,5
Lutsern	6,2...7,8	Tomat	5,6...6,5
Aeduba	6,7...7,4	Kõrvits	6,0...7,0
Tatar	5,0...6,5	Puuvill	5,0...6,0
Lina	5,0...6,0		

Lahuse üleliigne hapestumine väheneb tänu kaltsiumvesinikfosfaadile, millest taim saab fosforit. Hiljem töötas Tsintsadže (1928) Prjanišnikovi laboratooriumis välja lahused, milles lahuse pH jääb taimede kasvamisel peaaegu muutumatuks.

Nagu näeme, esinevad Prjanišnikovi ja Tsintsadže toitelahustes koos kergesti lahustuvate toiteelementidega ka raskesti lahustuvad soolad.

Kõikides lahusetüüpides on lahustunud soolade üldine kontsentratsioon maksimaalselt 0,2...0,3%.

Toitelahuste happesus (pH). Taimede kasvatamisel on erakordselt tähtis keskkonna pH (tabel 6). Peale otsese mõju taimedele on lahuse vesinikioonide kontsentratsioonil ka kaudne mõju.

Taimede võime taluda keskkonna pH-d sõltub suurel määral Ca-sisaldusest. Mida kõrgem on Ca kontsentratsioon lahuses, seda suuremat vesinikioonide kontsentratsiooni taimed taluvad.

Raud. Enamikus toitelahustes esineb raud anorgaaniliste soolade  $\text{FeCl}_3$  või  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  näol. Kuid raudioonid, kohtudes lahustes  $\text{PO}_4^{3-}$ -ioonidega, võivad välja sadeneda  $\text{FePO}_4$  valge sademena, seda eriti siis, kui pH on lahuses kõrgem kui 6,5.

Mõnes lahuses esineb raud raskesti lahustuva raudfosfaadina (kahe- või kolmevalentsena).

Kui rauaallikana kasutatakse anorgaanilisi sooli, siis lahuse pH tõusuga raudioonide kontsentratsioon langeb tunduvalt. Kuid pärast seda, kui pH on tõusnud üle 8,5, tõuseb raudfosfaadi lahustuvus uuesti. Raua kontsentratsiooni alanemine toitelahuses võib taimedel esile kutsuda klooroosi. Eriti sageli ilmneb see kiiresti kasvavatel taimedel.

Klooroosi vältimiseks on hakatud taimede kasvatamisel kasutama raua orgaaniliste hapete (sidrun- ja viinhappe) sooladena. Need happed moodustavad rauaga küllalt püsivaid ühendite komplekse, mistõttu raud säilib lahuses isegi kõrge pH puhul. Taimed saavad raua nendest kompleksidest

kergesti kätte. Kuid sidrun- ja viinhappesoolade kasutamine on seotud mõningate raskustega. Nimelt on need happed heaks substraadiks paljudele bakteritele. Omastades toitelahustest intensiivselt hapnikku, loovad juured mõnikord toitelahustes anaeroobsed tingimused ja seoses sellega hakkavad mikroorganismide tegevuse tagajärjel kulgema denitrifikatsiooni ja sulfaatide taandumise protsessid. Seejuures moodustub sageli raud(II)sulfiid, mis sadeneb juurtele ja mürgitab neid. Sellised protsessid toimuvad eriti intensiivselt kuumadel päevadel ja põhjustavad taimede hukkumist.

Et seda vältida, lisatakse rauda orgaaniliste hapete sooladena toitelahustesse väikestes annustes (0,5...1 ml 0,5%-list lahust toitelahuse ühe liitri kohta) perioodiliselt iga 2...3 päeva järel ning õhustatakse hoolikalt toitelahust.

**Mikroelemendid.** Boor lisatakse toitelahustesse boorhappena ( $H_3BO_3$ ), molübdeen — ammoniummolübdaadina, mangaan, vask ja tsink aga väävel- või soolhappe kahevalentsete sooladena.

Mikroelementide kontsentratsioon toitelahustes on enamiku taimede jaoks järgmine (S. S. Baslavskaja ja O. M. Trubetskova järgi, 1964):

B 0,1...0,5 mg/l

Mn 0,1...1,0 „

Cu 0,01...0,05 „

Zn 0,02...0,1 „

Mo 0,01...0,1 „

Mõned taimed, näiteks päevalill, puuvill, uba ja suhkrupeet, nõuavad väga palju boori.

Kui uuritakse mikroelementide puuduse mõju taimedele, siis puhastatakse vesi mikroelementidest vastavate reaktiividega.

Toitelahuste valmistamisel kaalume soovitud lahuse jaoks teatud koguse toitesooli (vt. tabelleid 2, 3, 4 ja 5) ja lahustame vastavas järjekorras kindlas vee koguses.

## TÖÖ 52. VESIKULTUURIDE RAJAMINE

Vesikultuuride rajamiseks on vaja ette valmistada vegetatsiooninõud, kaaned nõude sulgemiseks ja parafiinkettad idandite kasvatamiseks.

**Seemnete ettevalmistamine ja idandamine.** Katseks võtame hea idanevusega ühesuurused seemned, kusjuures seemneid peab olema 5...6 korda rohkem, kui katseks on vaja.

Sageli on seemneid kahjustanud hallitusseened. Sel juhul hoiame seemneid enne katse algust 5 minutit 1%-lises formaliinilahuses, segades neid pidevalt klaaspulgaga (seemned peavad formaliinilahuses ujuma vabalt). Seejärel peseme seemneid korduvalt destilleeritud veega.

Paneme seemned õhukese kihina kristallisaatorisse, valame peale 2...3 cm paksuse kihi destilleeritud vett ja leotame neid 4...12 tundi.

Seejärel asetame seemned niiskele filterpaberile ritta ja paneme kristallisaatorisse, mille seinad katame samuti niiske filterpaberiga. Lõpuks suleme kristallisaatori kaanega. Filterpaberit niisutame üks või kaks korda päevas.

Kui enamikul seemnetest on juured kasvanud 1,5...2 cm pikkuseks, valime ühesuuruse juurestikuga idandid ja istutame parafiinketta augukestesse. Asetame parafiinketta koos idanditega veepinnale, kus idandid edasi kasvavad. Vett kristallisaatoris peame iga päev uuendama, kusjuures jälgime, et värske vee temperatuur oleks samasugune kui äravalatal veel.

Parafiinkettal kasvatame idandeid seni, kuni taimede maaepalne osa on 3...4 cm pikkune.

**Parafiinketaste valmistamine.** Sulatame parafiini portselannõus veevannil ja valame vedela parafiini vastavasse katsenõusse soojas vette (50...60°C). Parafiini jahtumisel moodustub siledapinnaline kaas. Kui valame parafiini külma vette, jääb kiire jahtumise tõttu tema alumine pind konarlikuks. Ketta paksus oleneb seemnete suurusest, mida katses kasutatakse. Näiteks maisi, herne, lupiini, oa, kõrvitsa kasvatamise korral peab parafiinikihi paksus olema 10...12 mm.

Kui parafiin hakkab hanguma, eraldame skalpelli või noa abil ketta nõu seinte küljest ja jätame vette täieliku hangumiseni. Ketta võtame veest välja siis, kui ta on veel küllalt elastne, ja asetame tavalisele klaasile, pealmine pool alla. Klaaspulgaga teeme sobiva suurusega ja ühtlaste vahedega augud, mis peavad olema väiksemad kui seemne läbimõõt. Parafiinketta perifeersesse ossa teeme paar-kolm suuremat auku, nii et ketast oleks võimalik nõult ära tõsta ja õhustada.

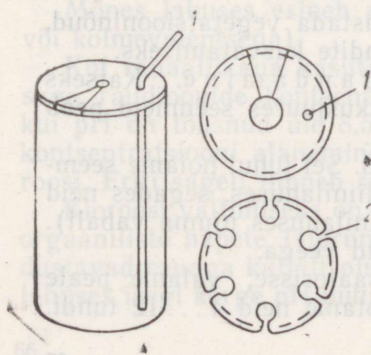
**Idandite istutamine toitelahusesse.**

Toitelahusesse istutamiseks valime parafiinkettal ettekasvatatud taimedest võrdselt arenenud eksemplarid. Mähime taimede hüpokotüüli või koleoptiili ümber tihedalt vatiriba ja istutame vastavalt ettevalmistatud vegetatsiooninõu kaane avadesse. Seejuures jälgime, et seeme jääks toitelahusest välja.

Et vältida keskkonna järsust muutusest tingitud häireid, on soovitatav algul kasutada 2...4 korda normaalsest väiksema kontsentratsiooniga toitelahust. Vastasel korral võivad taimed närbuda.

**Vegetatsiooninõu kaante valmistamine.** Vegetatsiooninõude kaaned võivad olla puidust, plastmassist, korgist, marlist vms.

Kaane alumise poole läbimõõt peab olema 1...1,5 cm nõu läbimõödust väiksem,



Joonis 28. Kaante valmistamine: 1 — õhustamisava; 2 — augud taimede jaoks.

ülemise poole läbimõõt aga nõu läbimõõdust veidi suurem. Nõu servadele peab kaas asetuma tihedalt. Kaande lõikame taimede jaoks augud (2), nagu on näidatud joonisel 28. Õhustamiseks teeme eraldi ava, millest torukame läbi klaastoru.

Et takistada lahuse aurumist ja hallitusseente arenemist, tuleb puust ja korgist kaaned parafineerida. Selleks asetame nad üheks tunniks kuumale parafiini. Seejärel laseme parafiini nende pinnalt ära nõrguda. Varem parafineeritud kaasi on soovitatav enne kasutamist uuesti üle parafineerida. Puust kaante asemel võib edukalt kasutada ka parafineeritud marlit. Selleks võtame sobiva suurusega paari-kolmekordse marlitükid ja kastame mitu korda vedelasse parafiini. Pärast parafiini jahtumist teeme marlisse augud ja paneme neisse seemned. Parafineeritud marli seome tihedalt katsenõule.

**Nõude ettevalmistamine.** Tavaliselt kasvatatakse vesikultuure 3...5-l silindrikujulistes klaasnõudes. Suuremate taimede korral peavad ka nõud olema suuremad. Kõik nõud peavad ühe katse rajamisel olema ühesuurused. Nende mahu teeme kindlaks mensuuriga. Toitelahuse tase peab olema 1,5...2 cm nõu äärest allpool. Rasvapliiatsiga märgime nõule vedeliku tase ja nõu mahu.

Kaitseks valguse eest mähime nõu algul musta ja seejärel valgesse paberisse või riidesse. Paberi paneme nõu ümber lõdvalt, et nõu oleks võimalik vabalt välja võtta ja jälgida taimede juurestiku arenemist toitelahuses. Katame nõu kaanega, millesse on taimede jaoks tehtud augud.

**Taimede hooldamine ja vaatlemine.** Iga päev õhustame nõusid läbipuhumise teel 5 minuti kestel. Kuumadel päevadel õhustame kaks korda päevas.

Õhustamisel ei tohi taimejuuri vigastada. Vedelikku tungiva õhuvoolu maksimaalne kiirus on 2...3 mulli sekundis.

Toitelahuse aurumise korral lisame nõudesse destilleeritud vett kuni märgini.

Iga päev või ülepäeviti määrame lahuse happesuse (pH). Kui happesus toitekeskkonnas on muutunud, paneme taimed koos kaanega ajutiselt tagavaranousse vette. Muutunud keskkonnaga toitelahusesse lisame vajaduse järgi kas hapet ( $H_2SO_4$ ) või alust (NaOH). Pärast toitekeskkonna happesuse reguleerimist paneme taimed nõusse tagasi. Taimede ajutine eemaldamine nõust on vajalik selleks, et taimejuured ei saaks happe või aluse lisamisel kannatada. Vegetatsiooniperioodi jooksul vahetame toitelahust nõudes iga 2...4 nädala tagant. Seejuures peseme hoolikalt ka nõusid ning vajaduse korral mähime taimede ümber uue vatiriba.

Suureks kasvanud taimi tuleb vajaduse korral toestada.

Kogu kasvu ajal teeme fenoloogilisi vaatlusi. Katse tulemused märgime vihikusse ja iseloomustame katsetaimede kasvu ja arenemist. Mõõdame ja kirjeldame ka taimede maapealseid osi ning juurestikku, põhjendades katsetaimede erinevusi.

# TÖÖ 53. TAIMEDE KASVATAMINE VESIKULTUURIS TÄIELIKUL TOITELAHUSEL JA MÖNINGATE ELEMENTIDE PUUDUMISEL

## Vahendid

Taimede seemned, 100-, 500- ja 1000-ml mensuurid, kolvid lahuste jaoks, Petri kausid, veevann, skalpellid, käärid, pintsetid, joonlaud, vatt, nõõr, jäme niit, filterpaber, traat, purgid vesikultuuride jaoks,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{CaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ,  $\text{FePO}_4$ ,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ .

## Töö käik

Et selgitada N, P ja K tähtsust taimede elus, kasvatame taimi vesikultuuridena järgmistes variantides:

- 1) Knopi toitelahtus, kontrollvariant (vt. tabel 2);
- 2) lämmastikuta toitelahtus;
- 3) fosforita toitelahtus;
- 4) kaaliumita toitelahtus.

## Lämmastikuta toitelahtus

Kaltsiumnitraadi [ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ], mida Knopi lahuses on 1 liitri vee kohta 1 g, asendame kaltsiumsulfaadiga ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ). Kaltsiumsulfaati võtame nii palju, et Ca hulk lahuses jääks niisama suureks nagu täielikus toitelahtuses. Asendamiseks vajaliku kaltsiumsulfaadi hulga arvutame järgmiselt:

1 g-mol  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  (164,10 g) sisaldab 40,08 g kaltsiumi,  
1 g  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  sisaldab  $x$  grammi kaltsiumi;

$$\text{siit } x = \frac{40,08 \cdot 1}{164,10} = 0,24 \text{ g.}$$

Seega sisaldab 1 gramm  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  0,24 g kaltsiumi.

1 g-mol  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (172,16 g) sisaldab 40,08 g kaltsiumi. Leiame, mitmes grammis kaltsiumsulfaadis on 0,24 g kaltsiumi;

$$x = \frac{172,16 \cdot 0,24}{40,08} = 1,03 \text{ g.}$$

Seega on toitelahtuse koostis ilma lämmastikuta (g/l):

$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	— 1,03,
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	— 0,25,
$\text{KCl}$	— 0,12,
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	— 0,25,
$\text{FeCl}_3$	— 5%-list lahust 1 tilk.

### Fosforita toitelahus

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  asendame  $\text{KCl}$ -ga.

Arvutame nagu eespool, teades, et  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  molekulmass on 136,10,  $\text{KCl}$  molekulmass 74,56,  $\text{K}$  aatommass aga 39,10.

Toitelahuse koostis ilma fosforita (g/l):

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	— 1,00,
$\text{KCl}$	— 0,25,
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	— 0,25,
$\text{FeCl}_3$	— 5%-list lahust 1 tilk.

### Kaaliumita toitelahus

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  asendame  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ -ga ja  $\text{KCl}$   $\text{NaCl}$ -ga.

Arvutame nagu eespool, teades, et  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  molekulmass on 138,00,  $\text{KCl}$  — 74,56,  $\text{NaCl}$  — 58,45,  $\text{Cl}$  aatommass on 35,46,  $\text{P}$  aatommass aga 30,97.

Toitelahuse koostis ilma kaaliumita (g/l):

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	— 1,00,
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	— 0,25,
$\text{NaCl}$	— 0,09,
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	— 0,25,
$\text{FeCl}_3$	— 5%-list lahust 1 tilk.

Katse rajame ja seda hooldame analoogiliselt eelmise tööga.

### Vesikultuuride katse tulemused

Katse algus ..... Katse lõpp .....

Variansi nr.	Toitelahuse koostis	Taimede keskmine kõrgus cm-tes	Juurestik			Maapealne osa		taimede morfoloogilised erinevused
			maht $\text{cm}^3$	biomass g	kuiivaineline g	biomass g	kuiivaineline g	
			katse algul	katse algul	katse algul	katse algul	katse algul	
		lõpul	lõpul	lõpul	lõpul	lõpul	lõpul	
1	Knopi lahus (täielik)							
2	Lämmastikuta							
3	Fosforita							
4	Kaaliumita							

Katse tulemused märgime variantide kaupa vihikusse tabeli kujul ning iseloomustame katsetaimede kasvu ja arenemist. Ka kirjeldame ja mõõdame taimede maapealseid osi ning juurestikku, samuti põhjendame variantide erinevusi. Katse lõpul määrame taimede biomassi ja kuivaine. Selleks paneme erinevate variantide taimed eraldi kaalutud kaaluklaasidesse. (Taimējuured kuivatame eelnevalt filterpaberiga.) Klaasid koos taimedega kaalume ja paneme tavaliselt kuueks tunniks termostaati 100...105°C juures. Pärast termostaadist väljavõtmist jahutame materjali eksikaatoris ja kaalume uuesti. Biomassi saame, kui lahutame klaasi massi esimesest kaalutisest, s. o. enne termostaati panemist. Kuivaine saame pärast termostaadist võtmist: kaalutisest lahutame klaasi massi.

Juurestiku mahu määramiseks võtame mõõtesilindri ja täidame teatud hulga veega. Siis paneme puhtad, kuivad, värsked juured vette. Vee hulk, mille juured välja suruvad, võrdub juurte mahuga.

## TÖÖ 54. LIIVKULTUURIDE RAJAMINE

Liivkultuure kasvatame vegetatsiooninõudes, mis on täidetud kvartsilivaga. Taimi kastame vastava toitelahusega.

Katses kasutame puhast sõelutud kvartsiliiwa (sõela avad 0,5...0,8 mm).

Liiva peseme soolhappega järgmiselt. Valame klaasnõusse kontsentreeritud soolhapet (pool nõutäit) ja lisame liiva. Suleme klaasnõu ja jätame 2...3 päevaks seisma. Aeg-ajalt segame liiva jämeda klaaspulgaga. Sama hapet võib kasutada liiva pesemiseks korduvalt. Soolhappes olnud liiva peseme kraaniveega seni, kuni soolhape on täielikult eemaldunud (kontrollime lakmusega). Kloori eemaldamiseks uhume liiva lõpuks korduvalt destilleeritud veega (Cl proovi teeme  $\text{AgNO}_3$ -ga). Kuivatame ja kuumutame liiva 400°C juures.

Täidame vegetatsiooninõud puhastatud liivaga.

Liiva niiskuse ja veemahutavuse määramine. Liivkultuuride puhul on oluline teada kasutatava liiva niiskust ja veemahutavust.

Niiskuse määrame järgmiselt. Kaalume teatud koguse liiva varem kaalutud alumiiniumtoosi või kaaluklaasi. Kaaluklaasi või alumiiniumtoosi asetame avatult 3...4 tunniks termostaati (100...105°C). Seejärel võtame toosi välja, suleme kaanega, laseme 30 minutit eksikaatoris jahutada ja kaalume milligrammi täpsusega. Massi konstantseuse kontrollimiseks kuumutame liiva endisel temperatuuril veel tund aega, siis jahutame ja kaalume uuesti. Mass loetakse konstantseks, kui kahe kaalumise vahe ei ületa 5 mg. On aga vahe suurem, tuleb kuumutamist, jahuta-



Joonis 29. Silinder liiva veemahutavuse määramiseks.

## Liiva niiskuse määramine (mass g-des)

Kaaluklaasi mass	Kaaluklaasi mass liivaga	Liiva mass	Kaaluklaasi mass koos liivaga pärast kuumutamist			Eraldunud vee hulk	Niiskuse %
			kaalumised				
			I	II	III		
22,55	28,55	6,00	27,50	27,47	27,47	1,08	18,0

mist ja kaalumist korrata. Liiva kuivatamisel tekkinud massi vahest saame teada eraldunud vee hulga (tabel 7). Sellest arvutame proovi niiskuse protsendi. Andmed kirjutame vihikusse seitsmenda tabeli kujul.

Seejärel määrame liiva veemahutavuse. Liiva täielikuks veemahutavuseks nimetatakse seda veehulka, mida 100 g absoluutkuiva liiva kapillaarjõududega kinni hoiab. Veemahutavuse määramiseks kasutame spetsiaalset silindrit, mille läbimõõt on 4 cm ja kõrgus 18 cm (joonis 29). Silindril on võrkpõhi, mis asetseb alumisest äärest 1 cm kõrgusel. Silindri põhja paneme 2 niisutatud filterpaberi ketast ja kaalume tehnilistel kaaludel. Pärast seda täidame silindri tihedalt liivaga ja kaalume uuesti. Silindri asetame klaasnõusse, kuhu on valatud nii palju vett, et see ulatub mõne millimeetri võrra üle liiva ülemise pinna.

Vee aurumise vähendamiseks katame silindri klaaskupliga. Pärast seda võtame silindri veest, kuivatame marliga ja asetame filterpaberile.

Kui silinder lakkab tilkumast, kaalume selle tehnilistel kaaludel ja asetame uuesti 1...2 tunniks vette kupli alla. Seda operatsiooni kordame seni, kuni silindri mass jääb muutumatuks.

Liiva veemahutavuse arvutame järgmiselt.

Tabel 8

## Liiva veemahutavus (mass g-des)

Silindri mass	Silindri mass liivaga	Liiva mass	Silindri mass veest küllastunud liivaga			Imatud vee hulk	Imatud vee %
			kaalumised				
			I	II	III		
127,32	358,52	231,20	409,37	409,38	409,38	50,86	22

Saadud andmeist (liiva niiskuse protsent ja küllastumiseni imatud vee hulk) arvutame absoluutkuiva liiva täieliku e. üldise veemahutavuse.

Arvutamise käik on järgmine.

1. Arvutame, kui suur peab olema liiva kogus, mille niiskus on 18%, et selles oleks 100 g absoluutkuiva liiva.

$$x = \frac{100 \cdot 10}{82} = 121,95 \text{ g, millest vett on } 21,95 \text{ g.}$$

2. Arvutame, kui palju vett on võimeline imama täieliku küllastumiseni 121,95 g liiva, mille niiskus on 18% (231,20 g seesugust liiva imas näites (tabel 8) endasse 50,86 g vett).

$$x = \frac{50,86 \cdot 121,95}{231,20} = 26,83 \text{ g.}$$

Seega on antud juhul 100 g absoluutkuiva liiva veemahutavus 48,78 g (21,95 + 26,83) ehk 48,78% liiva massist.

Tavaliselt on liivkultuuride substraadi optimaalne niiskus 60...70% täielikust veemahutavusest. Seega on antud näites 60%-lise veemahutavuse korral 100 g absoluutkuiva liiva kohta vaja 29,26 g toitelahust.

Nõude ettevalmistamine ja katse rajamine. Liivkultuuride jaoks võtame ühesuurused email- või paksuseinalised klaasnõud, mida eelnevalt puhastame järgmiselt. Paneme nõudesse 2...3 päevaks soolhapet. Pärast seda peseme nõud kraaniveega puhtaks, loputame destilleeritud veega ja jätame kuivama.

Paneme nõusse 12...17-mm läbimõõduga klaastoru, mis ulatub 2...4 cm üle nõu. Nõu põhja asetame metallist renni. Liiva õhustame renni ja klaastoru kaudu. Igasse nõusse kaalume ühepalju liiva. Nõu põhjas oleva liiva surume tihedamalt kokku kui ülemised kihid. Nõu ülemise osa jätame 1,5...2 cm ulatuses tühjaks. Seejärel valame nõudesse vett 60...70% absoluutkuiva liiva veemahutavusest. Teades liiva absoluutmassi nõus, arvutame vajaliku vee koguse ja märgime selle nõul olevale etiketile.

Seemned paneme liiva sisse teatud sügavusse, mis oleneb taime liigist. Seemnete idanemise ajal on nõu kaetud pappkaanega, et saavutada ühtlasemat niiskust.

Katsetaimede kastmisel asetame nõu alati kaalule ja lisame toitelahust vastava massini. Osa toitelahusest valame liiva pindmisele kihile, suurema osa aga klaastoru kaudu alumistesse kihtidesse.

Taimi kastame igal hommikul, kuumadel ja kuivadel päevadel aga kaks korda — hommikul ja õhtul.

7...10 päeva pärast harvendame idandeid; kasvama jätame ainult tugevamad idandid, igasse nõusse ühepalju taimi (antud katse piires).

## TÖÖ 55. MULDKULTUURIDE RAJAMISE TEHNIKA

Taimi kasvatame mullaga täidetud vegetatsiooninõudes. Sõelume läbi sõela, mille avade läbimõõt on 5...10 mm, põlluniisket mulda. Nõu põhja paneme dreenaariks peale resti ka veel raudkivikillustikku või klaasipuru, et lisatav vesi mahuks ära, sest kapillaarne veetõus ei ole just kiire ja muldkultuure ei tohi pinnalt kasta. Igasse nõusse kaalume ühepalju mulda.

Niiskuse ja veemahutavuse määrame nagu liivalgi (töö 54). Erinevus on ainult selles, et mulla veemahutavuse määramisel jätame silindri koos mullaga 24 tunniks veega täidetud klaasnõusse seisma.

Nõusid puhastame ja katse rajame samuti nagu liivkultuuride puhul.

## TÖÖ 56. JUURESTIKU ÜLDISE JA AKTIIVSELT ADSORBEERIVA PINNA MÄÄRAMINE

Käesolev juurestiku pinna määramise meetod on välja töötatud põhimõtte järgi, et juured omastavad mineraalaineid adsorptsiooni teel. Juurestiku üldine ja aktiivselt adsorbeeriv pind tehakse kindlaks adsorbeeritud ionide järgi. Seejuures oletatakse, et juurestik kattub adsorbeeritava aine monomolekulaarse kihiga. Adsorbeeritava ainena kasutatakse metüleensinist, mille neeldumist võib kolorimeetriga täpselt määrata lahuse kontsentratsiooni muutumise järgi. On teada, et 1 mg metüleensinist katab monomolekulaarse kihina 1,10 m<sup>2</sup> suuruse adsorbendipinna.

Kui asetada taimejuured metüleensinise lahusesse, võib viimast poolteise kuni kahe minuti pärast leida juurestiku välimise kihi rakkudest. Kolossov on kindlaks teinud, et kui juuri veel poolteist minutit 0,0002 M metüleensiniselahuses hoida, küllastub metüleensinise kationidega juurestiku kogu pind. Kolmanda poolteise minuti jooksul neeldub metüleensinine ainult aktiivselt adsorbeeriva pinna arvel. Järelikult saame juurestiku aktiivselt adsorbeeriva pinna suuruse kindlaks teha metüleensinise hulga järgi, mis adsorbeeritakse kolmanda poolteise minuti jooksul. Juurestiku üldpinna saame teada kahe esimese poolteise minuti jooksul adsorbeeritud metüleensinise järgi.

### Vahendid

Vesikultuurid, 0,0002 M metüleensiniselahus, 3 katseklaasi, kolorimeeter FEK, kell.

### Töö käik

Algul määrame veega juurestiku mahu. Seejärel valame adsorbeeriva pinna määramiseks kolme katseklaasi 10 korda lahjendatud 0,0002 M metüleensinise vesilahust. Lahust peab olema umbes kümme korda rohkem juurestiku mahust.

Taimejuured võtame vesikultuuridelt. Kuivatame juured filterpaberil, asetame järjekorras kolme klaasi metüleensinise lahusesse ja hoiame igas

klaasis poolteist minutit. Klaasist väljavõtmisel laseme lahuse juurtelt nõrguda samasse klaasi, millest nad võeti.

Pärast seda määrame fotoelektrikolorimeetriga klaasides oleva kolme lahuse kontsentratsiooni muutused. Standardlahuseks on kümnekordselt lahendatud metüleensinise alglahus.

Teades lahuse mahtu ja metüleensinise alg- ning lõppkontsentratsiooni igas klaasis, arvutame metüleensinise hulga mg-des, mida juured adsorbeerisid lahusest. Juurte üldise adsorbeeriva pinna ruutmeetrites saame teada, kui korrutame 1,10-ga metüleensinise milligrammide arvu, mis adsorbeeriti esimesest ja teisest klaasist kokku. Juurte aktiivse adsorbeeriva pinna saame, kui kolmanda klaasi lahusest adsorbeeritud metüleensinise hulga korrutame 1,10 m<sup>2</sup>-ga.

Näide. Metüleensinise hulk, mis adsorbeeriti esimesest klaasist, on  $(C_0 - C_1) \cdot 10V$ , teisest klaasist —  $(C_0 - C_2) \cdot 10V$ .

Kokku on kahest klaasist neeldunud  $(C_0 - C_1) \cdot 10V + (C_0 - C_2) \cdot 10V = [2C_0 - (C_1 + C_2)] \cdot 10V$ . Kahest esimesest klaasist on metüleensinist neeldunud juurestiku 1 cm<sup>3</sup> kohta  $\frac{[2C_0 - (C_1 + C_2)] \cdot 10V}{V}$  ehk  $[2C_0 - (C_1 + C_2)] \cdot 10$ . Üldise adsorbeeriva pinna suurus on  $1,1[2C_0 - (C_1 + C_2)] \cdot 10 \text{ m}^2$ .

Kolmandast klaasist on metüleensinist neeldunud  $(C_0 - C_3) \cdot 10V$ .

Juurestiku 1 cm<sup>3</sup> kohta on adsorbeeritud  $\frac{(C_0 - C_3) \cdot 10V}{V}$  ehk  $(C_0 - C_3) \cdot 10$ .

Aktiivne adsorbeeriv pind on  $1,1(C_0 - C_3) \cdot 10 \text{ m}^2$  ehk  $11,1(C_0 - C_3) \text{ m}^2$ .

- $V$  — on juurestiku maht cm<sup>3</sup>;  
 $C_0$  — metüleensinise standardlahuse kontsentratsioon (0,064 mg/ml);  
 $10V$  — lahuse hulk igas klaasis (10 ml);  
 $C_1, C_2, C_3$  — metüleensinise lahuse lõppkontsentratsioonid esimeses, teises ja kolmandas klaasis.

#### Juurestiku aktiivne ja adsorbeeriv pind

Hernes, kasvatatud Knopi lahuses	Metüleensinise lahuse hulk ml	Metüleensinise sisaldus lahuses katse algul mg	Metüleensinise hulk lahuses katse lõpul			Adsorbeeriva metüleensinise hulk mg			Juurte pind m <sup>2</sup>	
			klaasid			klaasid			aktiivne	üldine
			1	2	3	1	1 + 2	3		

Ühe taime juurte üldine adsorbeeriv pind on 0,3...0,8 m<sup>2</sup>. Taime vanusest, kasvutingimustest ja teistest põhjustest sõltuvalt kõigub aktiivne adsorbeeriv pind 0,2...0,5 m<sup>2</sup> piirides.

Töö lõpul leiame, kui suur on uuritavate taimede üldine ja aktiivne adsorbeeriv pind.

Katse andmed kanname eelnevasse tabelisse.

## TÖÖ 57. IOONIDE ANTAGONISM

Ühe- või kahevalentseid katioone sisaldavate soolade puhtad lahused on taimedele mürgised. Segudes nende kahjulik mõju kaob. Ühe- ja kahevalentsete ionide mõju avaldub seega nende antagonismis.

### Vahendid

Madalad kristallisaatorid, vesikatkuhed, mikroskoop, 0,001 ja 0,002 N HCl-lahused, 0,001, 0,002 ja 0,0005 N CaCl<sub>2</sub>-lahused, 1 M KNO<sub>3</sub>-lahus ja 0,7 M Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-lahus.

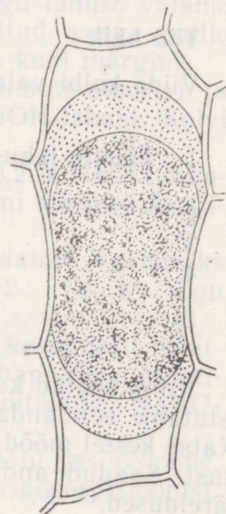
### Töö käik

1. katse. Valmistame kolm lahust: 0,002 N HCl-lahuse, 0,002 N CaCl<sub>2</sub>-lahuse, 0,002 N HCl- + 0,002 N CaCl<sub>2</sub>-lahuse.

Lahused valmistame madalamatesse kristallisaatoritesse. Igasse neist paneme 8...10 vesikatkuhekehest. 1,5...2 tunni pärast võtame igast lahusest 4...5 lehekest ja paneme tugevasse (0,8...1 M) sahharoosilahusesse. Plasmolüüsi puudumine vesikatkuhehes näitab rakkude purunemist. Purunemise astme määrame elusate ja surnud rakkude hulga järgi mikroskoobi vaateväljas.

2. katse. H<sup>+</sup>-ioonide toksilisuse elusatele rakkudele teeme kindlaks värvilise rakumahla eksosmoosi teel. (Elusal rakul rakumahl ei välju.) Söögipeedi ja *Rhoeo discolor*'i lehe lõigud paneme järgmistesse lahustesse: 1) 0,001 N HCl-lahus; 2) 0,001 N HCl- + 0,0002 N CaCl<sub>2</sub>-lahus; 3) 0,001 N HCl- + 0,0005 N CaCl<sub>2</sub>-lahus; 4) 0,001 N HCl- + 0,001 N CaCl<sub>2</sub>-lahus; 5) 0,001 N HCl- + 0,002 N CaCl<sub>2</sub>-lahus.

Teeme kindlaks lõikude valastumise kiiruse ja Ca<sup>2+</sup>-ioonide antagonistliku mõju H<sup>+</sup>-ioonide suhtes. Valastumise kiiruse teeme mikroskoobis kindlaks mõne minuti jooksul.



Joonis 30. Kuppelplasmolüüs.

3. katse.  $K^+$ -ioonid kutsuvad esile plasma pundumise,  $Ca^{2+}$ -ioonid aga plasma tihenemise. Kaaliumi sisaldavais lahuseis plasma pundub ja toimub kuppelplasmolüüs (joonis 30). Selle tekkimise jälgimiseks ja plasma paisumise astme määramiseks valmistame järgmised lahused: 1) 1 M  $KNO_3$ -lahus; 2) 0,7 M  $Ca(NO_3)_2$ -lahus; 3) esimese ja teise lahuse segame vahekorras 1:1. Iga lahuse valame madalasse kristallisaatorisse.

Nüüd võtame *Rhoeo discolor*'i lehetükikesi ja paneme 2 minutiks kristallisaatorites olevatesse lahustesse. Valmistame preparaadid.

Mikroskoobis teeme kindlaks  $K^+$  - ja  $Ca^{2+}$ -ioonide mõju erinevused tsütoplasmale. Katse tulemused joonistame.

## TÖÖ 58. TAIMEDE KASVU VÖRDLEMINE NENDE KASVATAMISEL TASAKAALUSTATUD JA TASAKAALUSTAMATA LAHUSTES

Ainult üht soola sisaldavas lahuses taimed ei kasva ja surevad tavaliselt 8...10 päeva pärast. Sellist lahust nimetatakse tasakaalustamata lahuseks. Kui aga lisatakse teisi ioone, kaob olemasolevate ionide ühe- või mitmekülgne mürgine mõju ja taimed kasvavad normaalselt.

### Vahendid

Viis kolbi (200-ml), marli, sidumisnõr, 0,12 N KCl-, 0,12 N  $CaCl_2$ - ja 0,12 N NaCl-lahus (soovitud normaalsustega vesilahuste saamiseks võetakse 6,21 g KCl, 4,87 g NaCl ja 4,61 g  $CaCl_2$  liitri kohta), idandatud nisuterised.

### Töö käik

Viide kolbi valame variantide järgi järgmised lahused:

1. Täielik lahus	{	0,12 N NaCl	50 ml
		0,12 N $CaCl_2$	50 „
		0,12 N KCl	100 „
2.		0,12 N $CaCl_2$	200 „
3.		0,12 N NaCl	200 „
4.		0,12 N KCl	200 „
5.	{	0,12 N KCl	150 „
		0,12 N $CaCl_2$	50 „

Kolvi kaelad katame parafineeritud marliga, millesse tehtud aukudesse istutame eelidandatud nisuterised. Katseks valime ühesuurused idandid. Katse kestel mõõdame maapealse osa pikkust ning juurekeste arvu ja pikkust. Saadud andmed kirjutame tabelisse ja teeme nendest andmetest järeldused.

## Taimede kasv erinevates lahustes

Lahused	Taimede keskmine kõrgus cm	Lehtede arv	Taimede värvus	Märkused
1) $\left\{ \begin{array}{l} \text{NaCl} \\ \text{CaCl}_2 \\ \text{KCl} \end{array} \right.$				
2) $\text{CaCl}_2$				
3) $\text{NaCl}$				
4) $\text{KCl}$				
5) $\left\{ \begin{array}{l} \text{KCl} \\ \text{CaCl}_2 \end{array} \right.$				

## TÖÖ 59. FÜSIOLOOGILISELT HAPPELISED JA ALUSELISED SOOLAD

### Vahendid

Odra-, nisu- ja kaeraidandid,  $\text{NaNO}_3$  lahus (0,2 g ainet lahustatakse vees ja lahust lahjendatakse ühe liitrini),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  lahus (0,2 g ainet lahustatakse vees ja lahust lahjendatakse ühe liitrini), vatt, 2 katseklaasi, portselantiigel, pipetid, statiiv, must paber, universaalindikaator, klaaspulk.

### Universaalindikaatori valmistamine

1. Kaalume analüütilistel kaaludel 0,1 g metüülpunast. Värvaine peenestame uhmris, lisame 7,4 ml 0,2 N NaOH-lahust. Kogu lahuse valame uhmrist 500-ml mõõtekolbi. Uhmri loputame destilleeritud veega, mille valame mõõtekolbi. Viimase täidame destilleeritud veega kuni märgini.

2. Kaalume 0,1 g broomtümoolsinist (peenestame samuti uhmris) ja paneme 250-ml mõõtekolbi. Siis lisame 3,2 ml 0,2 N NaOH-lahust. Kolvi täidame destilleeritud veega kuni märgini.

3. Kaalume 0,1 g fenüülpunast ja lahustame 5,7 ml 0,2 N NaOH-lahuses. Kogu lahuse valame 500-ml mõõtekolbi ja lisame kuni märgini destilleeritud vett.

Kõiki lahuseid säilitame pimedas. Universaalindikaatori saamiseks segame eespool toodud järjekorras lahused vahekorras 2 : 1 : 2. Ka segu säilitame pimedas.

$\text{NH}_4\text{Cl}$  on hüdrolüüsi tõttu happeline,  $\text{NaNO}_3$  aga keemiliselt neutraalne. Füsioloogiliselt on  $\text{NaNO}_3$  aluseline,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  aga happeline. Mainitud nähtus on seletatav sellega, et taimed omastavad toitumisel  $\text{NaNO}_3$  lahusest anioone  $\text{NO}_3^-$  rohkem kui katioone  $\text{Na}^+$ .

Kui taim omastab  $\text{NH}_4^+$ -ioone, annab ta lahusesse vastu vesinikioone, ja keskkond muutub happeliseks. See on tingitud asendusadsorptsioonist.

## Töö kõik

Uhte katseklaasi valame 20 ml  $\text{NaNO}_3$  lahust, teise 20 ml  $\text{NH}_4\text{Cl}$  lahust.

Edasi istutame mõlemasse katseklaasi kolm taimeidandit. Katseklaasid katame musta paberiga, et juured oleksid pimedas. Nummerdatud katseklaasid jätame seitsmeks päevaks hästi valgustatud ja sooja ( $20 \dots 22^\circ\text{C}$ ) ruumi seisma. Katse rajamisel ja iga seitsme päeva järel määrame lahuse pH universaalindikaatoriga. Saadud tulemused märgime tabelisse.

### Lahuste mõju taimede kasvule

Taim	Lahused	pH		Kokkuvõte
		alglahusel	7 päeva pärast	
Oder	$\text{NaNO}_3$ $\text{NH}_4\text{Cl}$			

Universaalindikaatorit kasutame lahuse pH määramiseks järgmiselt. Võtame 1 ml uuritavat lahust portselantiiglisse ja lisame 1...2 tilka universaalindikaatorit. Klaaspulgaga segame lahust tiiglis seni, kuni vedelik on ühtlase tooniga. Uuritava lahuse värvust võrdleme vastava standardse värviskaala abil. Universaalindikaatori värvus muutub erineva pH korral roosast (pH 3) siniseni (pH 8) allpool (tabel 9) näidatud järjekorras.

Tabel 9

### Universaalindikaatori pH skaala

Indikaatori värvus	pH
Roosa	3,0...3,5
Punane	3,6...4,2
Punakasoranž	4,3...4,6
Oranž	4,7...5,1
Kollane	5,2...6,1
Kollakasroheline	6,2...6,4
Roheline	6,5...7,2
Rohekassinine	7,3...7,6
Sinine	7,7...8,0

## TÖÖ 60. MINERAALELEMENTIDE HULGA MÄÄRAMINE TAIMEMAHLAS

Mineraaloolade ioonid, mis adsorbeeruvad juurte pinnale, sisenevad rakkudesse, liiguvad edasi mööda rakke ja lõpuks eralduvad juure juhtsoontesse. Kui lõikame taimevarre läbi, eraldub selle lõikepinnalt mahla, milles määratakse mineraalelementide koostis.

## Vahendid

Kõrvitsa, kurgi, maisi või päevalille vesi-kultuurid, Knopi lahus, klaastoru, kummi-voolik.

## Töö käik

Valime välja ühesugused noored taimed. Iga taime jaoks võtame 2...3-liitriste nõu ja täidame Knopi lahusega. Lahused valmistame lahjendustega 1:1, 1:2 ja 1:4. Taimed jätame lahustesse kasvama kolmeks nädalaks.

Lahuse pH peab olema iga taimeliigi jaoks optimaalne.

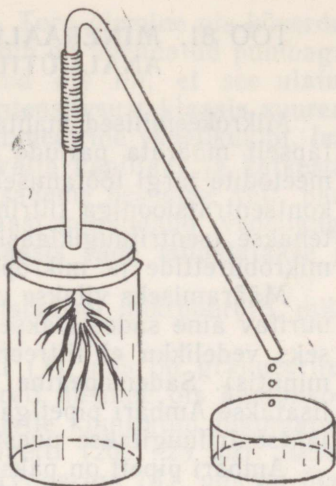
Määrame kaaliumi ja kaltsiumi hulga taimemahlas erineva kontsentratsiooniga välilahuste puhul.

Selleks lõikame taimevarre teatud kõrguselt maha. Kasvama jäänud varre külge kinnitame toru (joonis 31), mille abil kogume 4...24 tunni jooksul mahla. Taimemahla kogumise ajal mõõdame selle hulga ja voolamiskiiruse (ml/h).

Määrame kaaliumi- ja kaltsiumisisalduse mahlas, samuti alg- ja lõppkontsentratsiooni välilahuses. (Vt. mineraal-elementide määramine mahtanalüütilisel mikromeetodil, töö 61.)

Arvutame kaaliumi ja kaltsiumi hulga mahlas, mida juured ühe tunni jooksul varde surusid. Väljasurutud mahla hulk iseloomustab juurestiku tööd maapealsete organite varustamisel.

Tabelis 10 on toodud andmed mineraalelementide kontsentratsioonide kohta mitmesuguste taimede mahlas.



Joonis 31. Mahla kogumine.

Tabel 10

Mineraalelementide kontsentratsioonid taimemahlas (mg/l)

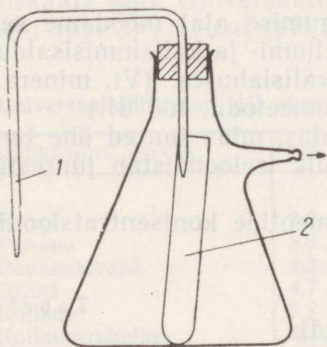
Taim	Kaalium	Kaltsium	Fosfor	Lämmastik
Mais	210 ... 560	80 ... 370	160 ... 990	300 ... 540
Nisu	—	—	150 ... 640	120 ... 1100
„	510 ... 1100	—	—	—
Kõrvits	218 ... 850	400 ... 530	160 ... 330	—
„	—	—	100 ... 250	300 ... 700
Kapsas	80 ... 240	600 ... 850	380	—
Lina	100 ... 500	200 ... 400	—	—
Päevalill	200 ... 400	200 ... 600	63 ... 300	12 ... 200

## TÖÖ 61. MINERAALELEMENTIDE MÄÄRAMINE MAHT- ANALÜÜTILISEL MIKROMEETODIL

Mikrokeemilised mahtanalüütilised mikromeetodid võimaldavad küllalt täpselt määrata paljude ainete väikesi (0,005...0,02 mg) hulki. Nende meetodite järgi töötamisel on järgmised põhilised iseärasused: 1) madala kontsentratsiooniga tiitrimislahuste kasutamine (0,002...0,01 *N*); 2) töö tehakse tsentrifuugiklaasides, mille maht on 7...10 ml; 3) 1...2-ml mikrobüretti ja mikropipette kasutamine (jaotused 0,01...0,02 ml).

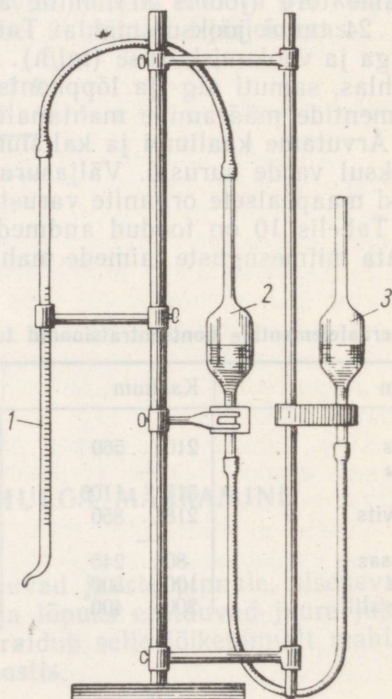
Määramiseks viiakse väike hulk uuritavat lahust tsentrifuugiklaasi, kus uuritav aine sadestatakse raskesti lahustuva ühendina. Sademe eraldamiseks vedelikku ei filtreerita, vaid tsentrifuugitakse (1500...2000 tiiru minutis). Sademepealne vedelik eraldatakse Ambari pipeti abil. Jäägile lisatakse Ambari pipetiga pisut destilleeritud vett, raputatakse katseklaasi ja tsentrifuugitakse uuesti.

Ambari pipett on paksuseinaline klaastoru, mille sisemine diameeter on 2...3 mm (joonis 32). Selle üks ots on kapillaarne (1) ja sisemine diameeter on 1...1,5 mm. Kapillaari alumine ots kõverdatakse veidi üles



Joonis 32. Ambari pipett: 1 — kapillaar; 2 — klaas.

Joonis 33. Mikrobürett: 1 — mikrobürett; 2 ja 3 — reservuaarid.



(umbes 1 mm), mis väldib sademe segunemist. Toru ülemine ots kõverdatakse ja pannakse läbi imikolvil oleva korgi; kolb on ühendatud pumbaga. Tsentrifuugiklaasi viiakse kapillaari kõverdatud ots nii, et see ulatub 2...3 mm vedeliku sisse. Vedeliku imemise intensiivsust klaasis suurendatakse pidevalt. Kui sademele jääb 1...2-millimeetrine vedelikukiht, lastakse tsentrifuugiklaas alla, võetakse sellest välja kapillaar ja katkestatakse vedeliku imemine. Kui on vaja koguda sademe pesemise vett, pannakse klaas (2) imikolbi klaastoru alla. Klaasi kogunenud vedelikuga kontrollitakse, kas sade on puhas. Samas klaasis sade lahustatakse ja ka tiitritakse.

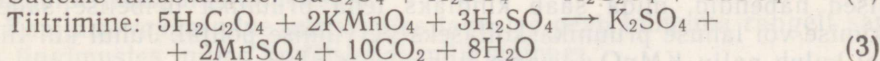
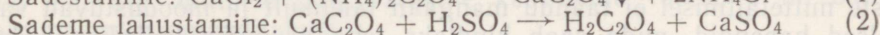
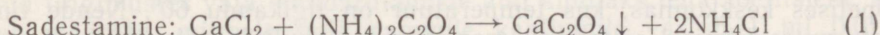
Tiitrimiseks võib kasutada tavalist või spetsiaalset mikrobüretti, mille skeem on antud joonisel 33.

Võetakse kaks kahemilliliitrist mikrobüretti (1), mis on gradueeritud 0,01-ml täpsusega. Tiitrimisel ühendatakse büreti ülemine ots kummivooliku abil klaasreservuaariga (2), mis on statiivile kinnitatud liikumatult. Sellise reservuaarina võib kasutada Mohri pipetti (20...25 ml). Reservuaar ühendatakse kummivoolikuga teise reservuaariga (3), mis on ülalt avatud. Reservuaar täidetakse näiteks 15...17%-lise  $\text{CuSO}_4$ -lahusega. Reservuaarides olevate lahuste ühele tasapinnale viimiseks tuleb nad umbes poolest saadik täita. Reservuaari (3) langetamise või tõstmisega võib büretti täita või tühjendada.

Büreti täitmisel pannakse büreti ots lahusesse, seejärel lastakse reservuaar (3) allapoole, vähendades seega rõhku reservuaaris (2), ja lahus imetakse büretti. Reservuaari (3) tõstetakse aeglaselt ja lahus lastakse tilkhaaval büretist välja.

### Kaltsiumi määramine mikromeetodil

Kaltsium sadestatakse oksalaadina ja sade lahustatakse väävelhappes. Vabaneva oblikhappe hulk määratakse kaaliumpermanganaadi lahusega tiitrimisel.



Kaltsium sadestatakse ammooniumoksalaadiga äädikhappelises keskkonnas (pH 5,4...5,6). Nii saab eraldada magneesiumist kaltsiumi, sest äädikhappelisest lahusest magneesium oksalaadina ei sadene. Tugevate mineraalsete hapete juuresolekul võib kaltsium sadeneda mittetäielikult, mistõttu happelisi lahuseid neutraliseeritakse algul ammoniaagiga, seejärel aga lisatakse äädikhapet ja viiakse lahuse pH 5,4...5,6-le. Aluselistes lahustes võib Ca välja sadeneda mitte ainult oblikhappesoolana, vaid ka fosfaatidena, mis takistavad kaltsiumi õige hulga määramist lahuses. Seejärel on neid lahuseid vaja hapestada vajaliku pH-ni.

## Vahendid

Uuritav lahus, mikrobürett, tsentrifuug, Ambari pipett, veevann, klaaspulk, kontsentreeritud  $\text{NH}_4\text{OH}$  ja 10%-line äädikhape ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ),  $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$  küllastatud lahus, 12%-line  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 0,02%-line metüülpunane, Nessleri reaktiiv, 0,01 N  $\text{KMnO}_4$ -lahus.

## Töö käik

Viime tsentrifuugiklaasi täpselt mõõdetud hulga (1...2 ml) uuritavat lahust ja ühe tilga metüülpunast. Kui lahus muutub vaarikpunaseks, lisame ammoniaaki kuni kollase värvuse tekkimiseni ning seejärel tilkadena äädikhapet seni, kuni pH on 5,4...5,6. Kui uuritav lahus on aluseline, hapestame seda äädikhappega vajaliku pH-ni. Paneme klaasid veevannile temperatuuril  $60^\circ$  ja lisame 5...6 tilka küllastatud ammoniumoksaalidilahust, millega sadestame kaltsiumi. Klaasid jätame veevannile vähemalt 0,5...1 tunniks, pärast seda aga laseme neil 12 tundi toatemperatuuril seista. Klaase on soovitatav hoida  $60^\circ$  juures 4 tundi, sest siis moodustuvad väikesed kaltsiumoksaali kristallid. Pärast seismist tsentrifuugime vedelikku koos sademega 15 minuti jooksul (1500...2000 tiiru minutis). Mitte lastes sademel seguneda, eraldame vedeliku Ambari pipeti abil. Seejärel lisame sademele 1 ml  $60^\circ$ -ni soojendatud destilleeritud vett ja tsentrifuugime 5 minutit. Siis asendame vedeliku uuesti sooja veega. Peseme mitu korda, kuni oksalaat on pesuveest täielikult eraldunud.  $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$  puudumise pesuvees teeme kindlaks 1...2 tilga Nessleri reaktiivi lisamisega. Kui kollast värvust ei teki, võime pesemise lõpetada.

Pärast seda lisame sademele 1 ml 12%-list  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ja segame klaaspulgaga. Saadud segu kuumutame veevannil  $60^\circ\text{C}$  juures 2...3 minutit. Klaaspulk peab jääma klaasi kuni määramise lõpuni. Vabanenud oblikhapet tiitrimise mikrobüretist 0,01 N  $\text{KMnO}_4$ -lahusega roosa värvuse tekkimiseni. Mangaan taandub seitsmevalentsest kahevalentseks ainult tugevas happelises keskkonnas, kus temperatuur on ligikaudu  $60^\circ$ . Nende tingimuste mittetäitmisel ei taandu mangaan täielikult ja moodustuvad vahepealsed hapendid, mida saab kindlaks teha pruunika helbelise sademe tekkimise või lahuse pruunikaskollaseks värvumise põhjal. Juhul kui tiitrimisel kulub palju  $\text{KMnO}_4$ , lisame tiitrimise ajal  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Mikromeetodi kasutamisel peame arvestama indikaatori parandust ( $\text{KMnO}_4$  lahuse hulk, mis läheb lahuse värvimiseks). Indikaatori paranduse määramiseks võtame klaasi niisama palju destilleeritud vett koos  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -ga, kui oli tiitrimise lõpetamisel katseklaasides. Klaasi lisame  $\text{KMnO}_4$  lahust sellise värvuse saamiseni, nagu oli tiitrimisel. Indikaatori paranduse lahutame permanganaadi hulga, mis kulus uuritava lahuse tiitrimiseks.

Et kasutame nõrka  $\text{KMnO}_4$  lahust, on vaja selle normaalsust tihti kontrollida. Lahuse normaalsuse määramisel arvestame samuti indikaatori parandust.

Juhul kui uuritavas lahuses on kaltsiumi väga vähe, tiitrimise madalama kontsentratsiooniga  $\text{KMnO}_4$ -lahusega (0,0025 N).

Kaltsiumi hulga mg-des arvutame järgmiselt:

$\text{Ca} = VNE$ , kus

$V$  on tiitrimisel kulunud  $\text{KMnO}_4$ -lahuse hulk ml;

$N$  —  $\text{KMnO}_4$  lahuse normaalsus;

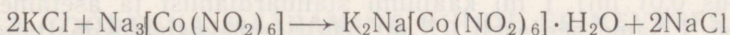
$E$  — Ca ekvivalent (0,2004).

1 ml 0,01 N  $\text{KMnO}_4$ -lahusele vastab 0,2004 mg Ca.

## TÖÖ 62. KAALIUMI MÄÄRAMINE MIKROMEETODIL

Kaalium sadestatakse naatriumheksanitrokobaltaadiga  $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ . Seejärel määratakse sademes olev nitritioon viimase hapendamisel  $\text{KMnO}_4$  lahusega happelises keskkonnas.

Sadestamine toimub järgmiselt.



Peale eespool märgitud ühendite võib sade sisaldada teatud hulga  $\text{KNa}_2[\text{Co}(\text{NO}_2)_6] \cdot \text{H}_2\text{O}$  kui ka  $\text{K}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6] \cdot \text{H}_2\text{O}$ .

Kui sademele lisada  $\text{KMnO}_4$  lahust, siis  $\text{H}_2\text{SO}_4$  manulusel sade lahustub ja vabanev  $\text{NO}_2$  hapendub  $\text{NO}_3$ -ks. Samaaegselt taandub mangaan seitsmevalentsest kahevalentseks ja koobalt kolmevalentsest kahevalentseks.

Reageerinud kaaliumpermanganaadi hulga järgi võib arvutada  $\text{NO}_2$  hulga sademes ning järelikult ka kaaliumi hulga. Teatud tingimustes vastab 1 ml 0,01 N kaaliumpermanganaadilahust näiteks 0,06 ... 0,075 mg kaaliumile (koefitsient).

Sademe koostis oleneb temperatuurist, seismise ajast jm. Seepärast on antud tingimustes vaja standardlahuste abil kindlaks teha koefitsient, s. o. tuleb määrata, mitmele milligrammile kaaliumile vastab 1 ml 0,01 N kaaliumpermanganaadilahust.

Kaaliumi määramine uuritavates lahustes peab toimuma rangelt samades tingimustes milles koefitsiendi määraminegi.

Naatriumheksanitrokobaltaat võib peale kaaliumi sadestada ka ammoooniumioone ( $\text{NH}_4^+$ ). Seepärast on enne kaaliumi määramist vaja uuritavat lahust kindlasti kontrollida Nessleri reaktiiviga.

### Vahendid

Uuritav lahus, tsentrifuug, mikrobürett, naatriumheksanitrokobaltaat(III) —  $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ , mida valmistatakse lahuste a ja b segamisel: lahus a — 500 ml 18%-list koobalt(II)nitraadilahust [ $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ], millele on lisatud 125 ml 99%-list äädikhapet; lahus b — 29%-line  $\text{NaNO}_2$ -lahus.

Päev enne lahuse tarvitamist segatakse kolm osa a-lahust viie osa b-lahusega. Lämmastikoksiidide eraldamiseks pumbatakse läbi segu 2...3 tunni kestel õhku. Pärast seda jäetakse lahus 12...15 tunniks pimedasse ja filtreeritakse. Lahust säilitatakse pimedas ja jahedas (kasutamiskõlblik 2...3 nädalat).

0,01 N  $\text{KMnO}_4$ -lahus, 0,01 N  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -lahus, 25%-line  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -lahus, Nessleri reaktiiv, 40%-line formaliinilahus. Formaliini keemilist puhtust tuleb kontrollida naatriumheksanitrokobaltaadi lahusega. (Sadet ei tohi tekkida!)

Kaaliumi standardlahus valmistatakse keemiliselt puhtast kaaliumkloriidist. Kaalutakse 0,1900 g KCl ja lahustatakse väheses hulgas vees. Saadud lahust lahjendatakse veega ühe liitrini. Standardlahus sisaldab 100 mg kaaliumi.

### Töö käik.

Kaaliumi koefitsiendi määramine. Võtame pipetiga (jao-tuse täpsus 0,01 ml) 1 ml kaaliumi standardlahust ja asetame tsentri-fuugiklaasi. Lisame aeglaselt 0,5 ml naatriumheksanitrokobaltaadi lahust ja jätame 12...15 tunniks seisma. Seejärel tsentrifuugime segu 15 minutit (1500...2000 tiiru minutis).

Lahuse eemaldame sademelt Ambari pipetiga ja sademele lisame 1 ml destilleeritud vett. Seejärel tsentrifuugime uuesti 5 minutit ja eemaldame vedeliku. Sadet peseme seni, kuni vesi jääb värvusetuks.

Pestud sademele lisame mikrobüretist kindla hulga 0,01 N  $\text{KMnO}_4$ -lahuse ja 25%-lise väävelhappe segu. Viimase maht peab olema pool  $\text{KMnO}_4$  lahuse mahust. Lahust segame klaasis hoolikalt ja soojendame veevannil 60°C juures seni, kuni sade on täielikult lahustunud ja värvuse intensiivsus enam ei vähene. Kui soojendamisel värvus täielikult kaob, siis lisame veel  $\text{KMnO}_4$  ja väävelhapet.

Kui värvus jääb püsima, lisame 2...3 tilka 0,01 N  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -lahust, mille toimele värvus kaob. Liigse  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  tiitrime  $\text{KMnO}_4$  lahusega nõrga roosa värvuseni. Kaaliumpermanganaadi lahuse tiitrit kontrollime iga kord enne määramist.

Arvutame reaktsioonist osavõtnud  $\text{KMnO}_4$ -lahuse hulga. Selleks lahutame üldisest kaaliumpermanganaadi lahuse milliliitrite hulgast, mis valati klaasi, selle lahusehulga, mis kulus  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ -ga reageerimiseks. Teades kaaliumi hulka, mis võeti määramiseks, arvutame koefitsiendi, s. o. kaaliumi hulga, mis vastab 1 ml 0,01 N  $\text{KMnO}_4$ -lahusele. Seda koefitsienti kasutame edasistel arvutustel.

Kaaliumi määramine uuritavas lahuses. Kõigepealt kontrollime  $\text{NH}_4^+$ -ioonide esinemist lahuses. Selleks lisame 0,2...0,5 ml uuritavale lahusele 1...2 tilka Nessleri reaktiivi, mis annab  $\text{NH}_4^+$ -iooni-dega kollase värvuse.  $\text{NH}_4^+$ -ioonide puudumisel määrame K niisamuti nagu kaaliumi koefitsiendi määramisel. Enne sadestamist tuleb aga kontrollida lahuse pH-d, mis peab olema 4,5...6,5. Vajaduse korral kasutame

äädikhapet või naatriumhüdroksiidi, mis ei sisalda kaaliumi. Uuritava lahuse proovi paneme tsentrifuugiklaasi.

Kui uuritavas lahuses oli  $\text{NH}_4^+$ -ioone, siis pärast teatud lahusehulga valamist tsentrifuugiklaasi lisame sellele 35...40%-list formaliini (pool uuritava lahuse mahust). Klaasis olevat lahust soojendame veevannil  $60^\circ\text{C}$  juures 20 minutit. Pärast jahutamist toatemperatuurini määrame kaaliumi tavalisel viisil.

Kaaliumi arvutamiseks proovis kasutame järgmist valemit:

$$K = [(V_1 + V_2) \cdot K_1 - B] K_2,$$

kus  $V_1$  on  $\text{KMnO}_4$  lahuse hulk ml-tes, mis algul valati klaasi;

$V_2$  —  $\text{KMnO}_4$  lahuse hulk ml-tes, mis kulus tiitrimiseks;

$K_1$  —  $\text{KMnO}_4$  lahuse normaalsuse parandus;

$B$  —  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$  lahuse hulk ml;

$K_2$  — koefitsient (0,1951) (1 ml 0,01 N  $\text{KMnO}_4$ -lahusele vastab 0,1951 mg K).

### TÖÖ 63. TOORTUHA MÄÄRAMINE PUUDE ERINEVATES ORGANITES

#### Vahendid

Puude erinevad organid ja koed, tiigel, kaalud, muhvelahi.

#### Töö käik

Kaalume tühja, eksikaatorist võetud tiigli täpsusega 0,01 g. Tiigilise paneme uuritavat materjali (näiteks oksid või lehti) ja kaalume tiigli koos materjaliga. Puitu võtame tavaliselt 5 g, lehti ja seemneid 1 g, koort 2 g. Nüüd asetame tiigli koos kaalutisega 20...30 minutiks muhvelahju, kus materjal tuhastub. Pärast seda paneme tiigli 2...3 minutiks asbestalusele ja seejärel eksikaatorisse kuni täieliku jahtumiseni (umbes 30...45 minutiks).

Pärast jahtumist kaalume tiigli koos tuhaga. Kui saadud arvust lahutame tiigli massi, siis saame toortuha massi. Seejärel arvutame toortuha protsendi võetud materjalis.

Töö lõpul võrdleme toortuha hulka puude erinevates organites ja kudedes. Analüüsi tulemused fikseerime tabelis.

#### Toortuhasisaldus %-des

Puu liik	Puit	Võrsed	Lehed
Mänd Kuusk			

# TÖÖ 64. KOLORIMEETRIINE MIKROMEETOD RAUA MÄÄRAMISEKS

## Vahendid

0,1%-line dipüridüülilahus ( $C_5H_4N$ )<sub>2</sub>, 2,5%-line hüdrokinoonilahus (valmistatakse 0,17%-lises soolhappelahuses), atsetaatpuhver, mille pH on 4,6, kontsentreeritud soolhape, mis ei tohi sisaldada rauda, taimne materjal.

Kolorimeetreerimiseks valmistatakse standardlahus järgmiselt. 0,1404 g Mohri soola kristalle lahustatakse 5 ml kontsentreeritud väävelhappes ja lahust lahjendatakse veega ühe liitrini. 1 ml seda lahust sisaldab 0,02 mg rauda.

## Töö käik

Kaalume 5 g seemneid või 1 g taimelehti ja tuhastame (vt. töö 86). Tuha lahustame 20 ml 10%-lises soolhappes. Tuhalahuse filtreerime 100-ml mõõtekolbi ja lisame kuni märgini vett. Nüüd valame 10 ml seda lahust 100-ml kolbi, kuhu lisame 2 ml 2,5%-list hüdrokinoonilahust, 5 ml atsetaatpuhvrit ja 2 ml 0,1%-list dipüridüülilahust. Saadud värvilise lahuse kolorimeetreerime fotoelektrikolorimeetriga ja arvutame rauasisalduse.

Protsent	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
0,1					
0,2					
0,3					
0,4					
0,5					

## V. TAIMEDE KASV

### TÖÖ 65. KASVUKIIRUSE MÄÄRAMINE HORISONTAAL- MIKROSKOOBIGA

#### Vahendid

Niiskuskambrid idandatud seemnetega, horisontaalmikroskoop (joonis 34), okulaarmikromeeter.

#### Töö käik

Kinnitame mikroskoobi lauale niiskuskambri koos idandatud seemnetega, nii et väikese suurendusega mikroskoobi vaateväljas on näha sirge juurekese tipp. Juure tipu seame kokku okulaarmikromeetri ühe jaotusega ja jälgime juure kasvukiirust 30 minuti jooksul. Määrame okulaarmikromeetri jaotuse suuruse ning arvutame juure kasvukiiruse.

### TÖÖ 66. JUURE KASVUTSOONI MÄÄRAMINE

#### Vahendid

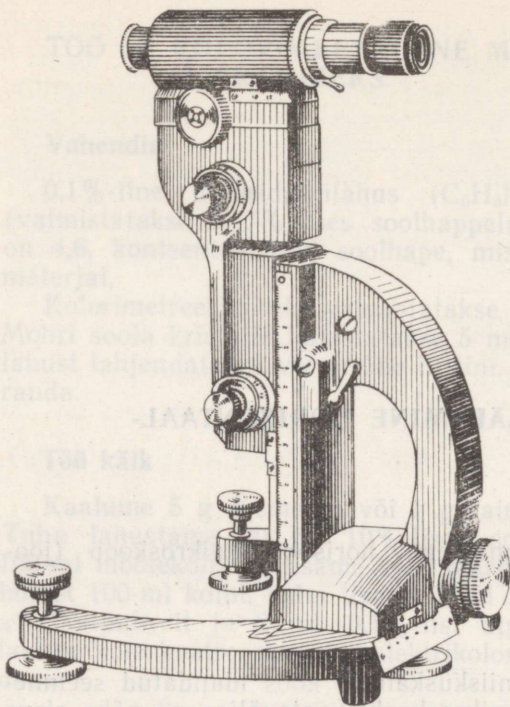
Idanenud seemned (hernes, uba), tušš, nõelad, millimeetripaber, niiskuskamber, korgid, käärid, filterpaber.

#### Töö käik

Võtame 10 1...1,5 cm pikkuste juurtega herne- või oaidandit. Igale juurele tõmbame kasvukuhikust alates tušiga 1-mm vahedega 10 kriipsu (joonis 35).

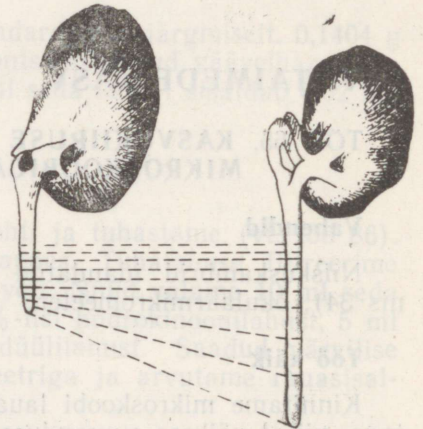
Idandid asetame niiskuskambrisse. Selleks võime kasutada ükskõik millist klaasnõu. Nõu katame pealt klaasplaadi (plaadi sisemisele küljele kleebime korgid) või lihtsalt korgiga.  $\frac{1}{3}$  anumast täidame veega. Anuma seinad katame filterpaberiga, mille alumine äär ulatub vette.

Seemned kinnitame nõela abil ettevaatlikult korgile, nii et juur ei vigastuks ega asetseks vertikaalselt. Seemnete kuivamise vältimiseks



Joonis 34. Horisontaalmikroskoop.

Joonis 35. Juure kasvutsooni määramine.



paneme nende alla vette ulatava filterpaberi kitsa riba. Asetame kambri pimedasse, kus temperatuur on 20...25°C. 24 tunni pärast mõõdame millimeetripaberiga märkide vahekauguse juurtel ja kirjutame tabelisse. Lõpuks arvutame keskmise vahekauguse. Mõõtmisega teeme kindlaks juurte keskmise juurdekasvu jaotuste vahel. Joonistame ja määrame juurte kasvutsooni.

Saadud arvud kanname tabelisse.

#### Juurte kasvu ja kasvutsooni määramine

Juured	Kriipsude vahekaugus juurtel mm									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1										
2										
3										
4										
5										
6										
7										
8										
9										
10										
Keskmine										

## TÖÖ 67. GEOTROPISM

### Vahendid

Idandatud herned või oad, tušš, niit, nõel, filterpaber, nuga, skalpell, termostaat, millimeetri-paber, korgiga klaasnõu.

### Töö käik

Valime kuus ühesugust sirge juurega idane-nud seemet ja tõmbame juure tipust alates tušiga juurtele iga millimeetri tagant kriipsud.

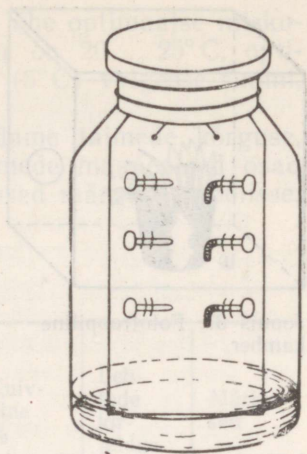
Kolmel idandil lõikame skalpelliga ära juure kasvukuhiku. Seejärel asetame kõik idandid niiskuskambrisse või avara kaelaga purki. Purki valame vett. Neljakordsest filterpaberist lõikame nõusse sobiva laiuse ja pikkusega riba, nii et see ulatub vette. Siis õmbleme idandid filterpaberile (joonis 36). Paber märgub mõõdukalt ja moodustab idandite kasvuks soodsa keskkonna.

Paneme nõu termostaati (20...25°C). 24...48 tunni pärast märgime idanditel esinevad erinevused. Katsetega selgitame järgmist.

Missuguses juure osas avaldub geotropism?

Kirjeldame juuri, millel lõikasime ära kasvukuhiku.

Tulemused joonistame ja teeme järeldused vihikusse.



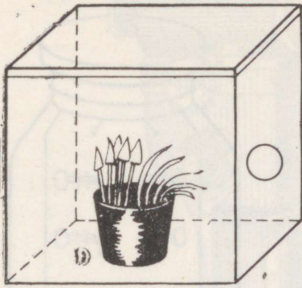
Joonis 36. Idandid niiskel filterpaberil.

## TÖÖ 68. FOTOTROPISM

Taime kasvamisel toimuva liikumise tundmaõppimiseks tuleb pöörata tähelepanu valgusele kui ärritajale. Selleks tehaksegi pimekambris katse üheiduleheliste taimede koleoptilidega.

### Vahendid

Nisu, odra jt. üheiduleheliste taimede terve koleoptiliga noored idandid, stanniolpaber, tuletikud, fototroopiline kamber (pimekamber ühepoolse valgustusega).



Joonis 37. Fototroopiline kamber.

## Töö käik

Külvame nisu-, odra- või teiste üheiduleheliste taimede terised potti ja paneme pimedasse idanema. Kui idandite pikkus on 1,0...1,5 cm ja koleoptiil veel terve, katame 5 taime koleoptiili stanniolpaberiga (ei lase valgust läbi). Stanniolpaberist katte valmistame järgmiselt. Võtame 1 cm suurused paberitükid ja keerame ümber tiku, kusjuures tipmise osa keerame kokku. Saadud koonusekujulise stanniolpaberist vormi paneme tihedalt ja ettevaatlikult koleoptiilile. Ülejäänud idandid jätame kontrolliks katmata. Nüüd paneme poti fototroopilisse kambris (joonis 37), kus valguskiir tungib ühelt

küljelt pimedasse kambris. Asetame kambri sooja ruumi (20...25°C). 24 tunni pärast avaldub fototropism.

Katse näitab, et need taimed, mis olid kaetud valgust mitteläbilaskva stanniolpaberiga, ei kõverdunud valguse poole, ülejäänud taimede koleoptiilid aga kõverdusid.

Siit saame järeldada, et valgusärritust võtavad vastu koleoptiili tipmised rakud, kust ärritus liigub edasi teistesse rakkudesse, kutsudes seal esile maapealsete organite kõverdumise valguse suunas.

Tulemused joonistame.

## TÖÖ 69. VALGUSE, TEMPERATUURI JA MULLANIISKUSE MÖJU TAIMEDE KASVULE

### Vahendid

Nisu-, odra- või herneidandid, 4 vegetatsiooninõu, muld, pimekamber, mensuur, kühvel, joonlaud, termostaat, kaaluklaasid, tehnilised ning analüütilised kaalud, pintsetid, värvipliiatsid.

### Töö käik

Võtame neli kaalutud vegetatsiooninõu ja täidame õhukuiva mullaga (400 g mulda), mille niiskus on näiteks 17%. Niiskusprotsendi alusel saame teada, et 400 g õhukuiva mulda sisaldab 68 g vett ja 332 g absoluutkuiva mulda. Mulla optimaalse niiskuse (65% täielikust veemahutavusest) puhul on 332 g mullas 107,9 g vett. Et 17%-lise niiskuse puhul on mullas juba 68 g vett, peame igasse nõusse lisama veel 39,9 g vett. Antud katses säilitame optimaalse niiskuse kolmes nõus vee lisamisega. Ühte nõusse me vett juurde ei vala, sest see jääb kontrolliks. Pärast nõude ettevalmis-

tamist istutame igäühte 10 idandit. Kontrollnõu ja ühe optimaalse niiskusega nõu jätame laboratooriumi, kus temperatuur on 20...25°C, optimaalse valguse kätte. Ühe nõu paneme jahedasse (5°C) valgesse ruumi, teise pimedasse sooja (20...25°C) ruumi.

Kahe nädala pärast kontrollime katset. Mõõdame taimede kõrguse, kirjeldame lehtede kuju ja värvust. Lõikame taimede maapealsed osad maha ja määrame biomassi ning kuivaine. Tulemused märgime tabelisse.

#### Valguse, temperatuuri ja niiskuse mõju taimede kasvule

Katse algus ..... Katse lõpp .....

Variandid	Nõu nr.	Taimede kõrgus cm	Bio-mass 10 taimede kohta g	Kuiv-aine %	Lehtede kirjeldus	Märkused
1. Kuiv, valgus, t° 20...25°C	1					
2. Optimaalne niiskus, valgus, t° 20...25°C	2					
3. Optimaalne niiskus, pimedus, t° 20...25°C	3					
4. Optimaalne niiskus, valgus, t° ca 5°C	4					

#### TÖÖ 70. SEEMNE VARUAINETE HULGA MÕJU TAIME KASVULE

Taimede esialgne kasv sõltub suurel määral seemnes olevatest varuainetest. Mida suuremad on seemned ja mida rohkem varuaineid nad sisaldavad, seda tugevamaks taimed kasvavad.

#### Vahendid

Nisu, maisi, herne jt. taimede leotatud seemned, 4 lillepotti, saepuru, skalpell, kaaluklaasid, termostaat, tehnilised ja analüütilised kaalud, pintsetid.

#### Töö käik

Jaotame kaheksakümmend ühtlaselt paisunud seemet nelja ossa, igäühte kakskümmend seemet. Katse teeme neljas variandis järgmiselt. Esimeses variandis on terved seemned (kontroll), teises lõikame igal seemnel

pool endospermi või idulehte ära. Kolmandas variandis lõikame ära  $\frac{1}{4}$  endospermi või idulehte ja neljandas  $\frac{1}{8}$ .

Lillepotid täidame saepuruga. Saepuru niisutame ühtlaselt, nii et üleliigne vesi poti august välja voolab. Potid nummerdame. Seejärel istutame seemned niiskesse saepurusse. Esimesse potti istutame terved seemned, teise poole endospermi või idulehega seemned, kolmandasse  $\frac{1}{4}$  ja neljandasse  $\frac{1}{8}$  endospermi või idulehega seemned.

Kõik potid paneme kaheks nädalaks pimedasse termostaati. Vajaduse korral niisutame saepuru.

Kahe nädala pärast võtame taimed ettevaatlikult potist välja, loputame juured veega puhtaks ja teeme kindlaks taimede arvu igas potis eraldi. Taimed kaalume ja asetame kaaluklaasi, millele märgime ka poti numbri. Nii saame neli klaasi (igas klaasis 20 taimet). Klaasid paneme kuueks tunniks termostaati ( $100 \dots 105^{\circ}\text{C}$ ). Seejärel määrame taimede kuivaine ja arvutame selle ümber 100 taime kohta.

Tulemused kirjutame tabelisse.

Taimede biomass ja kuivaine

Variandid	Poti nr.	20 seemnest idanes		100 taime	
		arv	%	biomass g	kuivaine %
Kontroll	1				
$\frac{1}{2}$ endospermiga	2				
$\frac{1}{4}$ „	3				
$\frac{1}{8}$ „	4				

Saja taime tervete seemnete kuivaine võtame 100%-ks. Teiste variantide taimede kuivaine arvutame protsentides kontrollvariandist.

## TÖÖ 71. LEHTEDE TÄHTSUS JUURTE MOODUSTUMISEL

Pistikud juurduvad paremini, kui neile jääb vähemalt üks leht või osa lehest, sest lehtedes moodustuvad valguse käes kasvuregulaatorid, näiteks auksiinid, mis liiguvad pistiku alumisse ossa ja kutsuvad esile kalluse, seejärel aga juurte tekke.

### Vahendid

Taimede pistikud, katseklaasid, statiiv, vatt.

## Töö käik

Katsed teeme kiiresti juurduvate taimedega, näiteks tomati, pelargooniumi ja teistega. Võtame 5...6 lehega pistikud. Variandid on järgmised.

1. Jätame pistikule alles kõik lehed ja ladva (normaalne pistik).
2. Lõikame ära kõik lehed.
3. „ „ kõik lehed ja ladva.
4. „ „ kolm alumist lehte.
5. „ „ kolm ülemist lehte.

Pistikud asetame katseklaasidesse vette. Katseklaasi sisse paneme veepinna lähedale 1,5 cm laiuselt ümber pistiku vatti. Katseklaasi katame musta paberiga ja asetame statiivile valguse kätte.

Katse kestab 2...3 nädalat. Katse lõpul mõõdame juurte pikkuse, loeme ära külgsuured ja teeme järeldused.

## TÖÖ 72. TAIMEDE PUHKEPERIOODI KATKESTAMINE SOOJADE VEEVANNIDEGA

Taimede puhkeperioodi katkestamist nimetatakse ajatamiseks. Ajatamisel kiirendatakse taimede hingamisprotsesse kunstlikult ja taimed hakkavad aktiivselt kasvama.

### Vahendid

Mitmesuguste puude oksad (kirsipuu, pirnipuu), kast (60×60×80 cm), ämber, papp, terav nuga, saepuru, kott saepuru jaoks, nõu okste jaoks.

### Töö käik

Üks või kaks päeva enne praktikumi toome oksad laboratooriumi. Praktikumi ajal uuendame okste lõikepinda vee all endisest 2...3 cm kauguselt. Ühesuguse suurusega oksad jagame kahte ossa: üks osa jääb katseks, teine kontrolliks. Kontrolloksad paneme vette ja jätame laboratooriumi, kusjuures temperatuur peab olema 15...18°C. Katseoksad paneme 9...12 tunniks soojaveevanni (37...39°C). Soojaveevanniks võib olla lihtne termos, mille valmistame järgmiselt. Võtame laudadest või vineerist kasti (60×60×80 cm), paneme põhja 10...15 cm paksuse saepurukihhi ja tambime kõvasti kinni. Kasti keskele paneme soojaveeämbri, mille ümbruse tambime kõvasti saepuru täis.

Kastis olevat saepuru on vaja eelnevalt soojendada. Selleks asetame ämbri keeva veega (90...100°C) 1 tunniks enne katse algust kasti saepurusse ja katame kaanega, millele asetame saepurukoti. Mõne aja pärast kontrollime ämbris oleva vee temperatuuri. Kui see on 37...39°C, paneme oksad üleni vette ja katame pealt saepurukotiga. Nii püsib vee temperatuur ühtlane, langedes katse kestel vaid 2...3°C võrra. Taime liigist

olenevalt kestab katse 9...12 tundi. Näiteks sirelioksi tuleb vannis hoida 12 tundi. Pärast seda võtame oksad veest välja, paneme teise nõusse vette ja jätame samasse ruumi, kus on kontrolloksadki. Vette on soovitatav käärimisprotsesside kõrvaldamiseks lisada veidi puusütt. Ruumi temperatuur peab olema 15...18°C. Oksi hoiame akna lähedal või valgustame neid kunstlikult. 5...6 päeva pärast puhkevad pungad ja arenevad õied.

Oksi ei tohi väga kaua soojas vees hoida, sest pungade hingamine on väga intensiivne ja hapnikupuuduse korral võib aeroobne hingamine üle minna anaeroobseks, mille tagajärjel pungad hävivad. Kõige paremaid võrdluskatseid saab septembris ja oktoobris, mil pungad on sügavpuhkefaasis. Hilisemad katsed võivad anda ühesuguseid tulemusi: pungad puhkevad ajatatud ja ajatamata okstel üheaegselt.

### **TÖÖ 73. PUNGADE PUHKEPERIOODI KATKESTAMINE EETRIGA**

#### **Vahendid**

Mitmesuguste puude oksad, vaseliin, purgid veega, eeter, klaaskuppel, klaas, madal kristallisaator, gradueeritud pipett.

#### **Töö käik**

Päev enne katset lõikame erinevatelt puudelt oksa ja paneme vette. Katse algul jagame oksad kahte ossa: üks osa jääb kontrolliks, teine katseks. Värskendame okste lõikepinda vee all ja paneme nad veega täidetud purkidesse. Kontrollpurgi koos okstega jätame laboratooriumi, katseokstega purgi aga paneme suure klaaskupli alla, mille ääred on eelnevalt määritud vaseliiniga. Kupli alla asetame ka madala kristallisaatori, milles on eeter (0,5 ml eetrit 1 l õhu kohta). Kupli paneme klaasile.

Taimed jätame kupli alla üheks kuni kaheks päevaks. Seejärel toome nad kontrollokste juurde. Võrdleme pungade puhkemist ja teeme katsest järelduse.

### **TÖÖ 74. TAIMEDE AJATAMINE SUITSUGA**

#### **Vahendid**

Mitmesugused oksad, vaseliin, paber, vatt, kolvid, kaks klaasplaati, kuplid.

#### **Töö käik**

Võtame uuritavad oksad ja paneme veega täidetud kolvi. Kolvi jätame laboratooriumi (kontroll). Katseokstega kolvi paneme kupli alla suitsu sisse, kusjuures kupli ääred määrime vaseliiniga. Enne vaseliiniga määri-

mist süütame kortsutatud paberi põlema, mis annab tugevat suitsu. Kui kupli all olev ruum on ühtlaselt suitsuga täitunud, jätame oksad 24...48 tunniks seisma. Pärast katseaja möödumist paneme oksad kontrollokste juurde.

Jälgime suitsu mõju pungade puhkemisele ja võrdleme kontrollokstega.

## TÖÖ 75. GIBERELLIINI MÕJU TAIMEDE KASVULE

### Vahendid

Päevalille, maisi, oa, kanepi või lina noored taimed, 0,01% - ja 0,005%-line giberelliinilahus, pulverisaator, joonlaud.

Katseks võetakse giberelliin A<sub>3</sub>, mis on füsioloogiliselt aktiivne kasvu-regulaator.

### Töö käik

Katseks võtame 9 vegetatsiooninõu. Igas nõus kasvab viis taime. 1., 2. ja 3. nõu taimi pritsime 0,01%-lise ning 4., 5. ja 6. nõu taimi 0,005%-lise giberelliinilahusega. 7., 8. ja 9. nõu taimi, mis jäävad kontrolliks, pritsime aga destilleeritud veega. Pritsime pulverisaatoriga üks kord päevas 5 päeva jooksul.

Enne esimest pritsimist märgime ära taimede kasvufaasi, mõõdame taimede kõrguse ja loeme lehed. Mõõtmisi ja vaatlusi teeme iga 3 päeva järel ning märgime vihikusse kõik muutused, mis ilmnesisid taimedel kuu aja vältel.

Töö lõpul koostame tabeli, kuhu märgime katse tulemused kasvufaaside kaupa ja teeme järeldused.

### Giberelliini toime taimede kasvule

Katse algus ..... Katse lõpp .....

Taimede nimetus ja analüüsi kuupäev	Variandid	Kasvu- faas	Tai- mede kõr- gus cm	Leh- te arv	Kõrre läbi- mõõt mm	Märku- sed
Oder 7. märts	Destilleeritud vesi 0,01% -line gibe- relliinilahus 0,005% -line gibe- relliinilahus					

# TÖÖ 76. HETEROAUKSIINI PIDURDAVAST JA STIMULEERIVAST TOIMEST JUURTE KASVULE

## Vahendid

Filterpaber, Petri kausid, nisuterised, 0,1%-line heteroauksiinilahus, 1-ml pipett, 10-ml mõõtesilinder, filterpaber.

## Töö käik

Katame Petri kausid filterpaberiga. Pabereid niisutame heteroauksiinilahuse ja veega järgmise skeemi järgi:

- 1) 0,01%-line heteroauksiinilahus,
- 2) 0,001%-line „
- 3) 0,0001%-line „
- 4) 0,00001%-line „
- 5) destilleeritud vesi.

Nende lahuste saamiseks võtame 1 ml 0,1%-list heteroauksiinilahust ja valame 10-ml mõõtesilindrisse, mille täidame veega kuni märgini. Siit valame 9 ml Petri kaussi nr. 2. Järelejäanud 1 ml lahjendame veega veel 10-kordselt, millest jälle 9 ml valame Petri kaussi, jne.

– Niisutatud filterpaberile asetame 25 nisuterist ja katame kausi kaanega. Kausid paneme pimedasse ruumi.

5...6 päeva pärast mõõdame joonlauaga juurte pikkuse. Teeme kindlaks, missugused heteroauksiini kontsentratsioonid stimuleerivad ja missugused pidurdavad kasvu.

## Heteroauksiini toime juurte kasvule

Var. nr.	Variandi nimetus	Juurte pikkus summaarselt cm	Juurte keskmine pikkus 1 taime kohta cm	Järeldused
1	Destilleeritud vesi			
2	0,01%-line heteroauksiinilahus			
3	0,001%-line „			
4	0,0001%-line „			
5	0,00001%-line „			

## VI. ORGAANILISTE AINETE SISALDUSE JA ENSÜÜMIDE AKTIIVSUSE MÄÄRAMINE

### PROOVIDE ETTEVALMISTAMINE JA KESKMISE PROOVI VÕTMINE

Värsked puu- ja köögiviljad puhastatakse enne analüüsimist hoolikalt. Juur- ja mugulvilju tuleb mullast puhastada harjaga, pesta veega ja kuivatada.

Keskmise proovi võtmiseks eraldatakse igast eksemplarist ainult väike osa, kuid selliselt, et proov sisaldaks kõiki kudesid proportsionaalselt. Näiteks porgandid lõigatakse pikuti kaheks või neljaks võrdseks osaks, igast juurviljast eraldatakse 1 osa ja need peenestatakse.

Kui keskmine proov on liiga suur, siis eraldatakse sellest laboratoorseteks analüüsideks ainult teatud osa. Keskmise proovi võtmist taimelehtedest on lähemalt kirjeldatud töös 101.

### TÖÖ 77. MONOSAHHARIIDIDE, DISAHHARIIDIDE JA POLÜSAHHARIIDIDE MÄÄRAMINE LAHUSTES

#### Vahendid

Porgand, kartulimugul, katseklaasid, kolvid, filterpaber, joodilahus, Fehlingi lahused (I ja II) (valmistamist vt. lisas 3), 10%-line NaOH-lahus, 6%-line  $\text{CuSO}_4$ -lahus, kontsentreeritud  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ja kontsentreeritud HCl, 10%-line  $\alpha$ -naftoolalkohollahus.

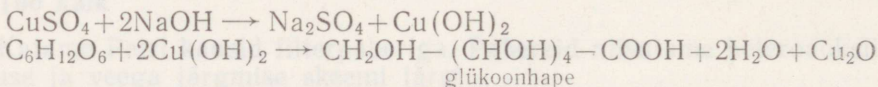
#### Töö käik

1. Monosahhariidide lahuse saamiseks võtame 5 g riivitud porgandit ja paneme kolbi. Lisame 20 ml vett, kuumutame ja filtreerime. Saadud filtraadiga teeme Trommeri ja Molischi reaktsiooni.

## Trommeri reaktsioon

5 ml filtraadile lisame 1 ml 10%-list NaOH- ja 4 ml 6%-list  $\text{CuSO}_4$ -lahust. Tekkinud  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  sade algul lahustub ja lahus värvub siniseks.  $\text{CuSO}_4$  lahuse edasisel lisamisel tekib lahustumatu  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ . Seejärel keedame lahust 2 minutit.

Suhkur, võtnud  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ -lt ära hapniku, hapendub glükoonhappeks, tekkinud punane vask(I)oksiid sadestub. See näitab glükoosi olemasolu lahuses.



## Molisch'i reaktsioon

5 ml uuritavale lahusele lisame 1 tilga 10%-list  $\alpha$ -naftoolalkohollahust ja 1 ml kontsentreeritud  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (väävelhapet tuleb valada ettevaatlikult, et lahused ei seguneks). Lahuste piirile ilmub punakasvioletne kiht. Loksutamisel värvub kogu lahus monosahhariidide olemasolu korral punakasvioletseks. (Katse teeme tõmbekapis.)

2. Suhkrupeet on rikas disahhariidide poolest. Võtame 10 g riivitud suhkrupeeti ja lisame 30 ml vett. Segu jätame 20 minutiks seisma. Pärast seismist filtreerime segu. Võtame filtraadist kaks 5 ml suurust proovi. Ühele proovile lisame 3...5 tilka kontsentreeritud väävelhapet ja keedame 20 minutit, et disahhariidid laguneksid monosahhariidideks. Teise prooviga teeme kohe Fehlingi reaktsiooni.

Võrdleme katse tulemusi ja kirjutame andmed vihikusse.

## Fehlingi reaktsioon

Uhte katseklaasi võtame 2,5 ml Fehlingi I ja 2,5 ml Fehlingi II lahust, millele lisame 5 ml suhkrupeedi filtraati, mida eelnevalt on keedetud väävelhappega. Teise katseklaasi võtame samasugused kogused Fehlingi lahuseid, kuid lisame 5 ml suhkrupeedi tavalist filtraati. Mõlemaid lahuseid keedame 2 minutit.

Katse tulemusi võrdleme ja kirjeldame.

3. Polüsahhariidide lahuse saamiseks võtame kartulimugulaid ja riivime peeneks. Saadud massile lisame vett, segame hästi segamini, kurname läbi marli ja laseme filtraadil selgineda. Nõu põhja tekib valge sade. Valame vedeliku sademelt ja analüüsime selles olevaid suhkruid. Selleks võtame 5 ml filtraati, lisame 5 tilka kontsentreeritud soolhapet ja keedame 2 minutit (katse teeme tõmbekapis). Monosahhariidide teket kontrollime Trommeri või Fehlingi reaktsioonidega. Nõu põhja jäänud valget sadet peseme külma veega ja kuivatame. 1 g saadud pulbrit segame 10 milliliitris külmas vees, valame 50 ml-sse keeva vette ja kuumutame mõni minut. Saame klištri. Külmale klištrile valame joodilahust. Kliister muutub siniseks. Järelikult on meil tegemist tärglisega. Kuumutamisel sinine värvus kaob, jahtumisel aga ilmub uuesti.

Katse tulemused kirjutame vihikusse.

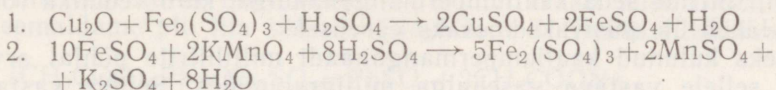
## TÖÖ 78. SUHKRUTE KVANTITATIIVNE MÄÄRAMINE

Antud töö põhimõte seisneb selles, et taandavate suhkrute manulusel tekib vask(II)oksiidi (CuO) keetmisel vask(I)oksiidi (Cu<sub>2</sub>O) sade, mille hulk vastab uuritavale suhkruhulgale lahuses.

Vask(I)oksiidi sade pestakse ja lahustatakse raudsulfaadi lahuses. Seejuures taandub kolmevalentne raud kahevalentseks.

Taandatud raua kogus leitakse tiitrimisel KMnO<sub>4</sub> lahusega. KMnO<sub>4</sub> tiiter leitakse omakorda oblikhappega või ammooniumoksalaadiga tiitrimisel.

Reaktsioonid on järgmised.



Võrrandist 1 nähtub, et kahele vase aatomile vastab kaks raua aatomit.

Võrrandist 2 nähtub, et kümnele raua aatomile vastab kaks molekuli KMnO<sub>4</sub>. Nii vastab ka kümnele vase aatomile (635,4 mg) 2 molekuli KMnO<sub>4</sub> (316,08 mg). Seega vastab 1 mg KMnO<sub>4</sub>-le 2,01 mg vaske ehk 1 ml 0,1 N KMnO<sub>4</sub>-lahusele 6,35 mg vaske.

### Vahendid

Suhkrulahus, 0,1 N KMnO<sub>4</sub>-lahus, raud(III)sulfaat, Fehlingi lahused (I ja II), 100...200-ml koonilised kolvid, klaasfiltrid, imikolb, vaakuum-pump, elektripliit, liivakell, pipetid, keeduklaasid, destilleeritud vesi.

### Töö käik

Pipeteerime 100...150-ml koonilisse kolbi või keeduklaasi 20 ml uuritavat suhkrulahust, mis võib sisaldada 10...100 mg suhkrut. Kui lahuses on rohkem suhkrut, siis võtame suhkrulahust vähem ja lahjendame veega 20 ml-ni. Suhkrulahusele lisame 20 ml Fehlingi I ja 20 ml Fehlingi II lahust. Segame lahused ja keedame. Esimeste mullide tekkimisest alates keedame lahust kolvis täpselt 3 minutit (hoiduda liiga tormilisest keetmisest).

Pärast keetmist peab lahus olema sinine. Punase värvuse ilmumine viitab sellele, et suhkrut oli rohkem kui 100 mg ja analüüsitavat lahust tuleb lahjendada.

Pärast keetmist laseme tekkinud Cu<sub>2</sub>O sademel põhja vajuda. Seejärel valame kuuma vedeliku ettevaatlikult klaaspulga abil imikolvile asetatud filtrile. (Lahust tuleb valada alati ühest kolviservast.) Imikolvi ühendame vaakumpumbaga. Filtreerimise algul ei tohi Cu<sub>2</sub>O sadet filtrile valada, sest Cu<sub>2</sub>O moodustab tiheda kihi, mis takistab vedeliku filtreerumist. Kui sinine vedelik on filtreeritud, peseme kolbi jäänud sadet sooja destilleeritud veega ja valame samuti filtrile. Seejuures ei tohi kolvist ära valada

kogu vett, sest õhuga kokku puutudes  $\text{Cu}_2\text{O}$  sade hapendub. Ka filtrile sattunud  $\text{Cu}_2\text{O}$  sadet ei tohi kuivaks jätta.

Sadet peseme seni, kuni pesuvesi ei anna lakmusega aluselist reaktsiooni. Pesemisel loputame korduvalt ka filtri ja kolvi seinu. Pärast seda eemaldame imikolvilt filtri ja asetame teisele puhtale imikolvile. Kolvis oleva  $\text{Cu}_2\text{O}$  sademe lahustamiseks lisame 20 ml raudsulfaadi lahust, kusjuures loputame hoolikalt kolvi seinu ja jälgime, et  $\text{Cu}_2\text{O}$  sade täielikult lahustuks. Lahuse valame filtrile. Kolbi loputame veel 10 ml raudsulfaadi lahusega ja valame selle samuti filtrile.

Pärast kolvi ja filtri loputamist peseme algul kolbi ja siis filtrit hoolikalt 200 ml destilleeritud veega. Kui oleme kogu lahustunud  $\text{Cu}_2\text{O}$  kogunud imikolbi, tiitrimise seda kaaliumpermanganaadiga, kuni vedeliku roheline värvus läheb üle püsivaks roosaks värvuseks.

Tiitrimiseks kulunud kaaliumpermanganaadi milliliitrite põhjal arvutame välja sellele vastava vasehulga milligrammides. Sellele vastava proovis leiduva suhkruhulga milligrammides leiame lisadest 13, 14 ja 15.

Näide. Tiitrimiseks kulus 7,35 ml  $\text{KMnO}_4$  lahust. 1 ml 0,1 N  $\text{KMnO}_4$ -lahusele vastab 6,35 mg vaske. Sellele lahusehulgale vastab  $7,35 \cdot 6,35 = 46,67$  mg Cu. Lisast 14 leiame, et 45,80 mg vasele vastab 23 mg glükoosi, 46,67 mg vasele vastab  $x$  mg glükoosi. Siit

$$x = \frac{46,67 \cdot 23}{45,80} = 23,40 \text{ mg.}$$

Seega vastab 46,67 mg vasele 23,40 mg glükoosi.

## TÖÖ 79. MONO- JA DISAHHARIIDIDE MÄÄRAMINE TAIMELEHTEDES

### Vahendid

Taime õhukuivad lehed, koonilised kolvid, analüütilised kaalud, filter, veevann või termostaat, 100-ml mõõtekolvid, keeduklaasid, 10%-line pliiatsetaadilahus  $[(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}]$ , 10%-line naatriumsulfaadilahus ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), naatriumkarbonaat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).

### Töö käik

Kaalume analüütilistel kaaludel kaaluklaasis 3...5 g õhukuiva taimset materjali, mis on eelnevalt söelutud läbi 0,5 mm suuruste avadega sõela.

Samal ajal kaalume taimelehtedes esineva niiskuse määramiseks teise 3...5-grammise proovi ja asetame lahtise kaaluklaasiga 100...105°C juures termostaati (vt. töö 85).

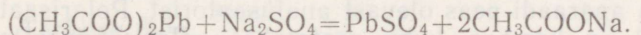
Nüüd viime suhkrute määramiseks kaalutud proovi ettevaatlikult lehtri abil 100-ml mõõtekolbi. Lisame kuni märgini soojendatud destilleeritud

vett. Suhkrute väljutamiseks asetame mõõtekolvi 50...60 minutiks 40...45°C juures veevannile (või termostaati).

Seejärel filtreerime vedeliku läbi filtri kuiva keeduklaasi. Võtame 70 ml filtraati ja valame 100-ml mõõtekolbi. Lisame soojale filtraadile tilkhaaval 10%-list neutraalset või aluselist pliiatsetaadi lahust, kuni valgud on täielikult sadestunud (pliiatsetaati ei kulu tavaliselt üle 3...5 ml).

Sadestumise kontrollimiseks võime lisada ettevaatlikult mööda kolvi seina 1 tilga pliiatsetaadi lahust. Kui sademe peal asuv vedelikukiht ei muutu häguseks, võib sadestumise lugeda lõppenuks. Vastasel juhul tuleb lisada veel pliiatsetaati.

Seejärel täidame mõõtekolvi destilleeritud veega kuni märgini ja filtreerime läbi kuiva filtri. Paneme 70 ml filtraati teise 100-ml mõõtekolbi ja eemaldame plii liia 10%-lise Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> abil (lisada tilkhaaval):



Märgime üles kulutatud pliiatsetaadi ja naatriumsulfaadi milliliitrite arvu.

Pärast seda lisame vett kuni märgini ja filtreerime läbi filtri. Filtraadist määrame suhkruid järgmiselt.

1. Viime 20 ml filtraati 150-ml koonilisesse kolbi. Lisame 20 ml Fehlingi I lahust ja 20 ml Fehlingi II lahust ning määrame suhkrud nii, nagu töös 78. Seega määrame monosahhariidid otseselt filtraadist.

2. Esmalt hüdrolüüsime disahhariidid. Sahharoos hüdrolüüsib happes ning tekib glükoosi ja fruktoosi segu.

Hüdrolüüsiks valame 20 ml filtraati 100-ml kolbi, lisame 2,2 ml 20%-list HCl ja kuumutame veevannil 70°C juures 5 minutit. Aega hakame lugema sellest momendist, kui kolvis oleva lahuse temperatuur on tõusnud 70°-ni.

Pärast hüdrolüüsi neutraliseerime kolvis oleva lahuse naatriumkarbonaadiga (viimast lisame väikeste portsjonitena, et kihisev vedelik kolvist välja ei viskuks). Seejärel lisame vett kuni 50 ml-ni, loksutame hästi ja võtame 20 ml lahust suhkrute määramiseks (töö 78).

3. Võtame 20 ml filtraati ja hüdrolüüsime 25%-lise soolhappega 3 tundi keeval veevannil, kasutades püstjagutit. Hüdrolüüsist määrame suhkrud 78. töö eeskujul. Sellisel kestval hüdrolüüsil laguneb 10% fruktoosist.

Suhkrud arvutame järgmiselt:

sahharoosi hulk  $mg = (b - a) \cdot 0,95$ ;

maltoosi hulk  $mg = (c + k - b) \cdot 2 \cdot 0,95$ ;

monosahhariidide hulk  $mg = a - (c + k - b)$ ;

*a* on esimesel määramisel saadud monosahhariidid;

*b* — teisel määramisel saadud disahhariidid;

*c* — kolmandal määramisel saadud maltoos, sahharoos ja monosahhariidid;

*k* — lagunenuid fruktoosi hulk;

0,95 — sahharoosi koefitsient.

Kogu suhkrusisalduse ( $X$ ) määrame järgmiselt:

$$X = \frac{A \cdot 100 \cdot 100}{n(100 - h)} \%,$$

kus  $A$  on süsivesikute sisaldus võetud proovis mg;

$n$  — proovi suurus mg;

$h$  — materjali niiskus %.

## TÖÖ 80. TÄRKLISE MÄÄRAMINE POLARIMEETRILISELT

Optiliselt aktiivsete ainete, sealhulgas ka tärglise määramiseks kasutatakse polarimeetrit. Polarimeeter koosneb polarisaatorist, mis paikneb kondensaatori taga, ja aparaadi peas olevast analüsaatorist. Polarisaatori ja analüsaatori vahel on kamber, kuhu asetatakse polarisatsioonitoru. Aparaadi peas on kaks okulaari: üks vaatevälja ja teine skaala vaatlemiseks.

Aparaadi peas paiknevad nooniused ja kremaljeerülekanne-kiilu ja skaala liigutamiseks.

Polarimeetriga töötatakse pimedas või hämaras ruumis, et kõrvalt tulev valgus ei satuks vaateleja silma.

Kui polarisaatori ja analüsaatori vahel olevasse torusse asetada optiliselt aktiivne aine, pöörab see polarisatsioonitasapinda ja vaateväli muutub tumedaks. Et endist seisust taastada, on vaja analüsaatorit pöörata sellesama nurga võrra, mille võrra lahuse tasapinna kõrvale pööras. Uriitava lahuse pöördenurk ( $\alpha$ ) loetakse skaalalt.

Optiliselt aktiivset ainet iseloomustab eripöörang  $[\alpha]_D$ , s. o. pöördenurk, mille tekitab 1 dm paksune lahusekiht kontsentratsiooniga üks. Määratud lahuse pöördenurga ja teades eripöörangut ning lahusekihi paksust, võime arvutada lahuse tärglisesisalduse.

Enne aine polarisatsiooni määramist on vaja kontrollida nullpunkti. Seda tehakse 20°C juures. Polarimeetri torusse valatakse destilleeritud vett. Et leida koht, kus vaateväli on võimalikult ühtlaselt valgustatud, pööratakse analüsaatorit vasakule või paremale. Seis märgitakse üles. Määratakse 3 korda ja arvutatakse aritmeetiline keskmine.

### Vahendid

Tärglis, 1%-line soolhape, veevann, 10%-line dodekavolframatofosforhape —  $H_3[P(W_3O_{10})_4]$ , filterpaber, aktiivsüsi, polarimeeter.

### Töö käik

Võtame 5 g tärglist ja paneme 100-ml mõõtekolbi. Valame peale 25 ml 1%-list soolhapet ja segame hästi. Pärast seda lisame veel 25 ml hapet, peseme seintelt prooviosakesed maha ja asetame veevannile 15 minutiks

keema. Lahust segame pidevalt, sest ekstrakt kliisterdub. Pärast keetmist valame peale 30 ml vett ja laseme jahtuda. Seejärel lisame 5 ml 10% -list dodekavolframatofosforhapet ja kuni märgini vett. Veidi aja pärast filtreesime ekstrakti läbi filtri kuiva kolbi. Kui lahus ei ole läbipaistev (harilikult kartuli puhul), filtreerime uuesti läbi aktiivsöe. Läbipaistva värvitu filtraadi valame polarisatsioonitorusse.

Toru täitmisel on üks toruots klaaskettaga suletud, teise kaudu valame torusse ettevaatlikult filtraati kolvist või pipetist. Toru täidame väikese liiaga, nii et toru otsale jääb kumer menisk. Nüüd asetame meniskile klaasseibi ja laseme sellel vajuda ühtlaselt toru lihvitud otsale. Seejärel vajutame seibi kinni keermetatud muhviga, asetame toru polarimeetrise ja määrame pöördenurga.

Tärglise protsendi arvutame järgmiselt.

$$\text{Tärglise \%} = \frac{100ab}{[\alpha]_D l n},$$

kus  $a$  on polarisatsioonitasapinna pöördenurk;

$b$  — mõõtekolvi maht ml (lahuse hulk);

$[\alpha]_D$  — tärglise eripöörang (vastavalt kultuurile);

$l$  — polarimeetri toru pikkus dm;

$n$  — aine kaalutis g.

Polarimeeter on varustatud 100, 200 ja 400 mm pikkuse polarisatsioonitoruga. 100 mm pikkust toru kasutatakse ainult värvunud lahuste vaatlemiseks, 400-mm toru aga väga suure lahjenduse korral. Ülejäänud juhtudel kasutatakse 200-mm toru.

Erinevate kultuuride tärglise eripöörangud on järgmised:

nisu	— 182,7,	mais	— 184,6,
rukis	— 184,0,	kartul	— 195,4,
oder	— 181,5,	hirss	— 171,4,
riis	— 185,9,	tatar	— 179,5.

## TÖÖ 81. VARUVALGUD JA NENDE OMADUSTE UURIMINE

### Vahendid

Nisujahu, 70% -line alkohol, 0,2% -line NaOH, kontsentreeritud HNO<sub>3</sub>.

### Töö käik

Segame 25 g nisujahu 12 ml veega. Saadud taigat peseme seni, kuni vesi ei muutu enam häguseks ega anna joodireaktsiooni. See näitab, et tärglis on eemaldunud. Järele jääb pihkaine, mis sisaldab peamiselt kahe-  
suguseid valke: prolamiine ja gluteeliine.

Jaotame pihkaine kahte ossa. Prolamiini määramiseks lahustame pihkaine 70%-lises alkoholis, gluteliini määramiseks aga 0,2%-lises NaOH-s.

Mõlemas proovis tõestame valgu kvalitatiivselt.

**Biureedireaktsioon.** Võtame 2...3 ml uuritava valgu lahust, lisame 1 ml 20%-list naatriumhüdroksiidi- ja tilkhaaval 1%-list vask-sulfaadilahust. Tekkiv  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  sade lahustub valgu manulusel ja värvib lahuse violetseks. Reaktsioon on iseloomulik valgus olevatele peptiidside-metele.

**Ksantoproteiinireaktsioon.** Lisame valgulahusele kontsentreeritud  $\text{HNO}_3$ . Valk kalgendub. Sade ja lahus värvuvad kollaseks. Kuumutamisel värvus intensiivistub.

## TÖÖ 82. VALGU HISTOKEEMILINE ANALÜÜS LEHTEDES

### Vahendid

Taimelehed, 96%-line alkohol, 10%-line NaOH-lahus, 5%-line  $\text{CuSO}_4$ -lahus, kontsentreeritud  $\text{HNO}_3$ , kontsentreeritud  $\text{NH}_4\text{OH}$ , kolb, Millon'i reaktiiv (valmistamist vt. lisast 3).

### Töö käik

Keedame lehti vees 2 minutit. Siis asetame nad kolbi ja valame peale 96%-list alkoholi. Varustame kolvi püstjahutiga ja paneme klorofüllil ekstraheerimiseks keevaveevanni. Poole või ühe tunni jooksul muutuvad lehed värvusetuks. Lehtedest ekstraheeruvad peale klorofüllil veel kristalliseerunud suhkrud, vabad aminohapped ja albumiinid. Pärast ekstraheerimist leotame neid väheses destilleeritud vees ja laotame Petri kaussidesse. Siis teeme valgu tõestamise reaktsioonid.

1. **Biureedireaktsioon.** Paneme lehed 1 tunniks 5%-lisse  $\text{CuSO}_4$ -lahusesse. Seejärel peseme neid destilleeritud veega ja valame peale 10%-list NaOH-d. Lehed muutuvad mustjaslillaks. See osutab valkude ja teiste peptiidside-metega ühendite olemasolule lehtedes.

2. **Ksantoproteiinireaktsioon.** Valame lehtedele kontsentreeritud  $\text{HNO}_3$ . 15...30 minuti jooksul värvuvad lehed kollaseks. Selle reaktsiooni annavad kõik valgud peale prolamiinide. Kontsentreeritud  $\text{NH}_4\text{OH}$  lisamisel muutub kollane värvus oranžiks. Pärast seda valame  $\text{NH}_4\text{OH}$  ära. (Katse teeme tõmbekapis!) Värvimuutus on iseloomulik aro-maatset tuuma omavatele aminohapetele.

3. **Millon'i reaktsioon.** Hoiaime lehti Millon'i reaktiivis 0,6...1 tunni vältel (võib ka keeta paar minutit). Lehed värvuvad liha-punaseks, mis näitab, et lehtedes on türosiini sisaldavaid valke.

Värvuste intensiivsust võib määrata 5-pallise skaala järgi. Seega võib meetodit kasutada füsioloogilistes uuringutes.

## TÖÖ 83. VALKUDE MÄÄRAMINE HERNESTES

### Vahendid

Hernejahu, kolvid, filterpaber, lehtrid, katseklaasid, pipetid, 10%-line  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -lahus ja tahke  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0,001 N NaCl-lahus, kontsentreeritud  $\text{HNO}_3$ , HCl ja  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

### Töö käik

Paneme kolbi 3...4 g hernejahu, lisame 20...30 ml 10%-list  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  ja suleme kolvi korgiga. Seejärel loksutame 3...5 minutit ja jätame seisma. Hernes sisalduv valk lahustub 30 minuti jooksul. Siis filtreerime lahuse läbi filtri, mis on eelnevalt niisutatud sama soola lahusega. Kui filtraat on algul hägune, siis valame selle filtrile tagasi. Valgulahusega teeme järgmised reaktsioonid.

1. Globuliinid ei lahustu vees. Selle tõestamiseks valame katseklaasi 1 ml valgulahust ja lisame paar milliliitrit vett. Lahus muutub häguseks, sest globuliinid sadestuvad välja. 10%-lise ammooniumsulfaadi- või 0,001 N naatriumkloriidilahuse lisamisel sade kaob ja lahus muutub uuesti selgeks.

2. Kontsentreeritud ammooniumsulfaadis sadestuvad valgud välja. Valame katseklaasi 2...3 ml valgulahust ja lisame  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  kontsentreeritud lahust või kuiva soola. Kui lahuse kontsentratsioon on üle 50%, hakkab globuliin sadestuma. Kui lahusele lisame vett, siis kontsentratsioon väheneb, globuliinid lahustuvad ja sade kaob.

3. Keetmisel või kontsentreeritud hapete ( $\text{HNO}_3$ , HCl,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) mõjul valgud denatureeruvad. Valame katseklaasi 2...3 ml valgulahust ja kuumutame keemiseni. Tekib sade, mis nõrkades lahustes ei lahustu. Kui valgulahusele lisame kontsentreeritud hapet, tekib sade (ilma keetmata), mis ei lahustu nõrkades vesilahustes.

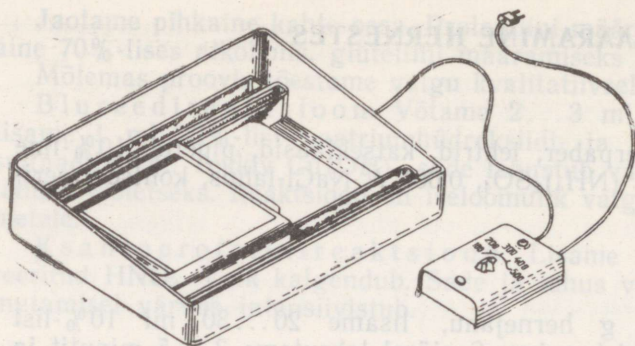
4. Globuliinilahusega teeme biureedi- ja ksantoproteiinireaktsiooni.

## TÖÖ 84. AMINOHAPETE MÄÄRAMINE ELEKTROFOREESIL

Elektroforeesi abil on võimalik aminohapete segusid fraktsioneerida kromatograafilisel paberil. Meetod põhineb aminohapete liikumisel alalisvoolu-elektriväljas. Aminohapete ja teiste lämmastikainete laengust sõltuvalt liiguvad nad kas anoodile või katoodile. Anioonid, mis on negatiivse laenguga (näiteks dikarboksüülhapped), liiguvad positiivsele elektroodile. Katioonid, mis on positiivse laenguga (aluselised ja neutraalsed aminohapped), liiguvad negatiivsele elektroodile.

Elektroforeesikambreid on mitmesuguseid. Joonisel 38 on toodud Tartu Riiklikus Ülikoolis konstrueeritud elektroforeesikamber.

Selle viniplastist kambri põhiliseks osaks on neljakandiline kast mõõt-



Joonis 38. Elektrofooresikamber.

metega  $410 \times 310 \times 85$  mm. Kambri servades on süvendid puhverlahuste vannide jaoks. Vannid pannakse kasti vastaskülgede süvendisse paari-kaupa. Vannidesse ulatuvad raamile asetatud kromatograafilise paberi otsad. Koos raamiga võetakse paber kambrist välja.

Elektroodina kasutatakse kambri plaatinatraati ( $\text{Ø} 0,3$  mm). Kamber on suletav 5 mm paksuse klaaskaanega. Et vältida kondensvee langemist paberilintidele, asub kaas kaldu  $6^\circ$  all. Aparaadiga töötamisel kasutatakse 220-voldist vahelduvvoolu.

### Vahendid

8 N soolhappelahus, atsetaatpuhver (1760 ml 0,5 N äädikhapet ja 240 ml 0,5 N naatriumatsetaadilahust ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ); puhvri pH peab olema 3,8, mida kontrollitakse potentsiomeetriga), 0,1%-line ninhüdrini-lahus ( $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_3\text{H}_2\text{O}$ ) (lahustiks butüülalkohol ja etüülalkohol), kromatograafiline paber, elektrofooresikamber, taimne materjal, mõõtekolb, fotoelektrikolorimeeter.

### Töö käik

Elektroforeetilisel määramisel kasutame eespool kirjeldatud kambrit.

Kaalume kolm taimse materjali proovi, iga proov 25 g, ja asetame need 300-ml koonilistesse kolbidesse. Igasse kolbi valame 100 ml 8 N HCl-lahust ja segame. Siis kaalume kolvi koos sisuga, suleme korgiga, millel on püstjahuti, ja paneme 8 tunniks veevannile keema. Pärast hüdro-lüüsi jahutame kolbi voolavas vees ja lisame siis destilleeritud vett endise kaaluni. Hüdrolysaadi filtreerime läbi klaasfiltri. Filtraati kasutame elektrofooresimisel. Filtraadi kanname paberile ja paberi asetame elektrofooresikambrisse.

Elektrofoores kestab 2 tundi. Aminohapped liiguvad paberil järgmises suunas ja järjekorras: dikarboonhapped liiguvad anoodile (asparagiinhappe edasilikumine on kiirem kui glutamiinhappel), neutraalsed ja aluselised happed (monoaminokarboon- ja diaminokarboonhapped) aga katoodile.

Saadud elektroforeogrammi kuivatame ettevaatlikult 5 minuti kestel ja pritsime pulverisaatorist 0,1%-lise nihüdiinilahusega. Elektroforeogrammi hoiame termostaadis violetsete laikude ilmumiseni.

Laigud ümbritseme harilikku pliiaatsi joonega, lõikame välja ja paneme 10-ml mõõtekolbi. Seejärel lisame 3 ml 0,1%-list nihüdiini ja keedame veevannil 10 minutit. Jahutame lahuse, lisame kuni märgini 96%-list etüülalkoholi ja kolorimetreerime, kasutades rohelist filtrit.

Fotoelektrikolorimeetriga määrame aminohapete, näiteks glutamiinihappesisalduse:

$$g = 0,24D,$$

kus  $g$  on glutamiinhappe hulk mg;

$D$  — värvilahuse optiline tihedus butanoolis või atsetoonis.

Glutamiinhappe hulga määrame järgmiselt:

$$G = \frac{0,24D \cdot 100 \cdot 125}{V \cdot 25} \text{ mg}\%,$$

kus  $G$  on glutamiinhappe hulk;

$V$  — hüdroliisaadi hulk ml, mis kanti elektroforeogrammidele;

125 — hüdroliisaadi lõplik maht ml;

25 — materjali mass g.

## TÖÖ 85. NIISKUSE MÄÄRAMINE TAIMSES MATERJALIS

### Vahendid

Õhukuiv taimne materjal, termostaat, kaaluklaasid.

### Töö käik

Kaalume analüütilistel kaaludel kaanega varustatud kaaluklaasi, milles on 2...3 g (toore materjali puhul on kaalutis suurem) õhukuiva taimset materjali. Asetame proovi avatud kaaluklaasis 3...4 tunniks termostaati, kus temperatuur on 100...105°C. Pärast ettenähtud aja möödumist suleme termostaadist väljavõetud kaaluklaasi kaanega, laseme 20...30 minutit eksikaatoris jahtuda ja kaalume täpsusega 0,2 mg. Massi konstantsust kontrollime pärast 45-minutist kuumutamist endisel temperatuuril ja pärast jahtumist.

Massi loeme konstantseks, kui kahe viimase kaalumise vahe ei ületa 1 mg.

Niiskusprotsendi arvutame järgmise valemi järgi:

$$x = \frac{100(a-b)}{a},$$

kus  $x$  on niiskusprotsent;

$a$  — kaalutis enne kuivatamist;

$b$  — kaalutis pärast kuivatamist.

Kuivain % = 100 -  $x$ .

## TÖÖ 86. TAIMSE MATERJALI TUHASTAMINE JA MIKRO-KEEMILINE ANALÜÜS

Taimede tuhasisalduse määramiseks põletatakse taimset materjali õhu manulusel. Tuhana jäävad alles ainult mineraalained. Katsematerjaliks sobivad erinevatel tootesooladel kasvatatud vesikultuurid.

Põlemise kiirendamiseks lisatakse taimsele materjalile mõnda hapendajat, näiteks ammooniumnitraati, lämmastikhapet või vesinikperoksiidi.

Taimede keemilise koostise selgitamiseks määratakse tuha üldhulk ja selles leiduvad elemendid.

Õhukuiv materjal peenestatakse enne tuhastamist ja kaalutakse analüütilistel kaaludel portselankausis või tiiglis.

Kaalutud materjal asetatakse tiigliga muhvelahju. Ahju uks jäetakse lahti. Materjali hoitakse ahjus 25...30 minutit, kuni materjal on täielikult söestunud ja suitsu enam ei eraldu. Pärast seda võetakse tiigel ahjust välja ja lastakse õhu käes jahtuda.

Pärast jahtumist lisatakse tiiglisse 5...8 tilka kontsentreeritud lämmastikhapet, vesinikperoksiidi või 10%-list ammooniumnitraati.

Tiigel asetatakse uuesti muhvelahju. Ahju kuumutatakse edasi seni, kuni ta hakkab hõõguma. Hõõguvas ahjus hoitakse materjali 25...30 minutit. Kui tuhastumine pole lõppenud, lisatakse pärast jahtumist veel kord hapendajat ja tiigel pannakse uuesti muhvelahju.

Lehtede, varte ja üldse rohtse materjali tuhastamisel lisatakse kaalutisele 5 ml alkoholi, mis süüdatakse põlema. Kui leek on kustunud, asetatakse tiigel muhvelahju ja tuhastatakse nii, nagu eespool kirjeldatud. Saadud tuhast võib määrata üksikuid elemente.

### Vahendid

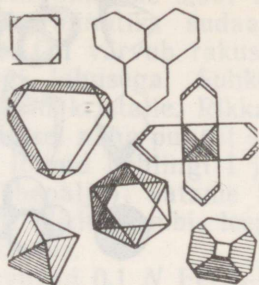
Taimetuhk, mikroskoop, alusklaasid, peenikesed klaaskapillaarid, katseklaasid, väikesed lehtrid, klaaspulgad, filterpaber, lakmuspaber, destilleeritud vesi, 1%-line väävelhappelahus, 1%-line plaatina(IV)kloriidilahus ( $\text{PtCl}_4$ ), 1%-line dinaatriumvesinikfosfaadilahus ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), 1%-line ammooniummolübdadilahun ( $[(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4]$ ), 1%-line strontsiumnitraadilahus [ $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$ ], 1%-line kaaliumheksatsüaanoferraadilahus ( $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ), 1%-line talliumsulfaadilahus ( $\text{Tl}_2\text{SO}_4$ ) või 1%-line argentumnitraadilahus ( $\text{AgNO}_3$ ), 10%-line soolhappelahus.

### Töö käik

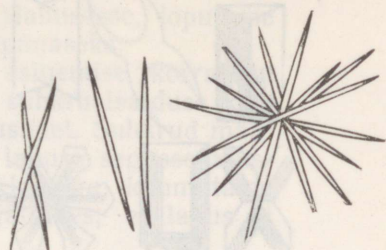
Valmistame katseklaasidesse ühe tuhalahuse veega ja teise 10%-lise soolhappega. 2 ml lahusti kohta võtame  $\frac{1}{4}$  cm<sup>3</sup> tuhka. Saadud lahused filtreerime. Kõik reaktsioonid teeme alusklaasil. Peenikese klaaspulga abil viime alusklaasile väikesed tilgad uuritavat lahust ja reaktiivi (teineteisest 5 mm kaugusele). Klaaskapillaari abil ühendame tilgad omavahel kaarekujulise kanalikesega. Ühinemiskohal toimub reaktsioon, kanalikeses



Joonis 39. Talliumkloriidi kristallid.



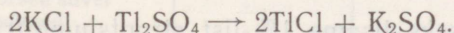
Joonis 40. Kaaliumkloroplatinaadi kristallid.



Joonis 41. Kaltsiumsulfaadi kristallid.

äärtel aga reaktsiooniproductide kiire kristallisatsioon. Kristallilist sadet vaatleme mikroskoobis.

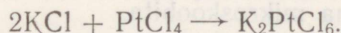
Tuha vesilahuses saab määrata vees lahustuvaid kloriide. Reaktiiviks on sel juhul talliumsulfaat. Reaktsioon toimub järgmiselt:



Talliumkloriid sadeneb mōõga- või ristikujuliste kristallidena, mis on värvuselt mustad (joonis 39).

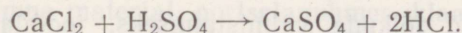
Soolhappes lahustatud tuhast määrame kaaliumi, kaltsiumi, magneesiumi, fosfori, väävli ja raua.

Kaaliumi määrame  $\text{PtCl}_4$  1% lahusega:



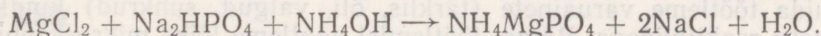
Saadud kaaliumkloroplatinaat kristalliseerub välja kollakasroheliste oktaeedritena ja teiste korrapäraste kristallidena (joonis 40).

Kaltsiumi määrame 1%-lise väävelhappega:

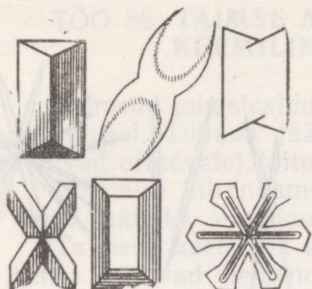


Sadenevad nõelakujulised kaltsiumsulfaadi kimbud (joonis 41).

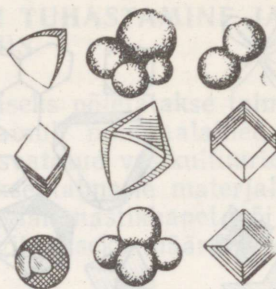
Magneesiumi määramiseks peame tilga uuritavat lahust neutraliseerima ammoniumhüdrosiidiga. Reaktiiviks on 1%-line dinaatriumvesinikfosfaat:



Tekivad kastikeste- või tähekestekujulised  $\text{NH}_4\text{MgPO}_4$  kristallid (joonis 42).

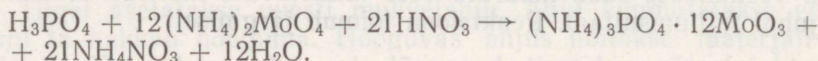


Joonis 42. Magneesiumi kristallid.

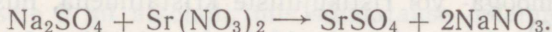


Joonis 43. Fosfori kristallid.

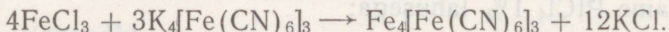
Fosfori määramiseks kasutame ammooniummolübdaati. Saame rohekaskollase kristallilise  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3$  sademe (joonis 43), mis muutub järjest kollasemaks. Reaktsioon toimub järgmiselt:



Väävlisisalduse kindlakstegemiseks lisame 1%-list strontsiumnitraati. Moodustuvad peenikesed ümardunud kristallid:



Raua avastamiseks kasutame värvilist reaktsiooni kollase veresoola 1%-lise lahusega. Moodustub berliini sinine järgmise reaktsiooni järgi:



Reaktsiooni jälgime portselanplaadil ilma mikroskoobita.

## TÖÖ 87. VARUAINETE SISALDUS PUUDE VÕRSETES

### Vahendid

Pärna-, tamme- ja männivõrsed lõikude valmistamiseks, joodilahus, 0,001 N sudaan(III)alkohollahus, Fehlingi I ja II lahus, 0,1 N  $\text{FeCl}_3$ -lahus, katteklaasid, mikroskoop, piirituslamp.

### Töö käik

Erinevatel aastaegadel lõigatud erinevate puude võrsetest teeme lõigud, mida töötleme varuainete (tärklis, õli, valgud, suhkrud) kindlakstegemiseks reaktiividega. Pärast töötlemist vaatleme lõike mikroskoobis ja võrdleme omavahel.

Tärklisesisalduse määrame joodilahusega, mis värvib rakus tärkliserad tumelillaks või tumesiniseks.

Õlisisalduse kudedes teeme kindlaks 0,001 N sudaan(III)alkohollahusega. Lõigud paneme paariks minutiks sudaan(III)lahusesse, loputame veega ja vaatleme veetilgas. Õli värvub rakus helepunaseks.

Suhkru määrame Fehlingi lahusega. Suhkrute esinemise korral on rakus näha üliväikesi punakaid kristalle. Rikkaliku suhkrusisalduse korral võib isegi nõrgal suurendusel näha punast suhkrusadet. Suhkrud määratakse järgmiselt. Paneme lõigud Fehlingi I ja II lahuse segusse alus- klaasile (lahuseid võtame ühepalju), katame katteklasisiga, kuumutame ettevaatlikult 2...3 minutit piirituslambi leegil, jälgides, et lahus ei auruks, ja vaatleme mikroskoobis.

Parkained ja vaigud värvuvad 0,1 N FeCl<sub>3</sub>-lahuse mõjul sinakaks või tumeroheliseks. Pärast värvimist paneme lõigud vette ja vaatleme mikroskoobis.

Lõikude vaatluse ja võrdluse tulemused kanname tabelisse.

#### Ainete sisaldus võrsetes

Võrsed	Tärklis	Õlid	Suhkrud	Parkained
Pärnavõrsed talvel				
Pärnavõrsed suvel				
Tammevõrsed talvel				
Tammevõrsed suvel				
Männivõrsed talvel				
Männivõrsed suvel				

### TÖÖ 88. ASKORBIINHAPPE MÄÄRAMINE

Askorbiinhappe määramise meetod põhineb C-vitamiini redutseerivatel omadustel.

#### Vahendid

Taimne materjal, portselanuhmer, klaaspulk, lehter, 100-ml mõõtekolb, 50-ml kolvid, pipetid, bürett, 1%-line HCl, 0,001 N KIO<sub>3</sub>-lahus, kristalne KI, 0,5%-line tärkliselahus, 1%-line oblikhape. 0,001 N KIO<sub>3</sub>-lahuse saamiseks lahustatakse 3,567 g täpselt kaalutud keemiliselt puhast KIO<sub>3</sub> (kuivatatud 105° juures) destilleeritud vees ja lisatakse vett 1 liitrini. Saadud lahuse sajakordsel lahjendamisel saadakse 0,001 N KIO<sub>3</sub>-lahus.

#### Töö käik

Võtame 5...10 g taimset materjali, paneme portselanuhmrise, valame üle 5 ml 1%-lise soolhappega ja hõõrume kiiresti homogeenseks massiks. Pärast hõõrumist lisame uhmrisse veel 15 ml soolhapet.

Valame massi klaaspulga ja -lehtri abil 100-ml mõõtekolbi. Uhmrit loputame mõned korrad 1%-lise oblikhappega, mille valame samasse mõõtekolbi. Täidame kolvi märgini 1%-lise oblikhappega, suleme korgiga, loksutame tugevasti ja laseme 5 minutit seista. Seejärel filtreerime osa kolvi sisust kuiva kolbi.

Saadud filtraadist võtame pipetiga kaks 5 ml suurust proovi. Kummalegi proovile lisame 0,5 ml 1%-list KI-lahust, 2 ml 0,5%-list tärkliislahust ja nii palju destilleeritud vett, et lahuse üldruumala oleks 10 ml. Kolvi sisu tiitrimise mikrobüretist 0,001 N KIO<sub>3</sub>-lahusega helesinise värvuse tekkimiseni.

Reaktiivi paranduse (kontrollkatse) teeme järgmiselt. Kallame koonilisse kolbi 0,5 ml 1%-list KI-lahust, 2 ml 0,5%-list tärkliislahust, 1 ml 2%-list HCl-lahust ja nii palju vett, et lahuse üldruumala oleks 10 ml. Tiitrimise 0,001 N KIO<sub>3</sub>-lahusega helesinise värvuse tekkimiseni.

C-vitamiini sisalduse mg%-des (x) arvutame järgmiselt:

$$x = \frac{V_1 V_2 \cdot 0,088 \cdot 100}{V_3 n}$$

kus V<sub>1</sub> on tiitrimisel kulunud (reaktiivi parandus on maha arvatud) 0,001 N KIO<sub>3</sub>-lahuse hulk ml;

V<sub>2</sub> — kaalutisest valmistatud ekstrakti hulk ml;

V<sub>3</sub> — tiitrimiseks võetud ekstrakti hulk ml;

n — kaalutis g;

0,088 — 0,001 N KIO<sub>3</sub>-lahuse 1 ml-le vastav askorbiinhappe hulk mg.

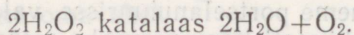
## TÖÖ 89. KATALAASI KVALITATIIVNE MÄÄRAMINE

Rahvusvahelise Biokeemia Liidu juures asuva Ensüümide Komisjoni poolt 1961. a. antud soovitude kohaselt väljendatakse ensüümide hulka unifikseeritud ühikutes. Mistahes ensüümi ühikuks (E) loetakse selline ensüümihulk, mis optimaalsetes tingimustes katalüüsib 1 mikromooli substraadi muutumist ühe minuti jooksul.

Ensüümpreparaadi eraktiivsust väljendatakse ensüümiühikute arvuga 1 mg valgu kohta, ensüümi kontsentratsiooni lahuses aga ensüümiühikute arvuga 1 ml-s.

Mittepuhaste ja vähepuhaste ensüümpreparaatide aktiivsust taime biokeemilistel analüüsidel on väljendatud seniajani analüüsitava aine massiühiku kohta. Et me kasutame katsetes samuti mittepuhtaid ensüüme, siis väljendame ensüümide aktiivsust samuti massiühiku kohta.

Ensüüm katalaas (EC 1.11.1.6) lagundab vesinikülihapendi veeks ja hapnikuks järgmiselt:



## Vahendid

Vesikatk, 3% -line  $H_2O_2$ , keeduklaas, mikroskoop, alus- ja katteklaasid.

## Töö käik

Paneme alusklaasile kaks tilka  $H_2O_2$  ja kummassegi tilka asetame ühe eri vanusega vesikatkulehe. Katame preparaadi katteklaasiga ja vaatleme mikroskoobis.

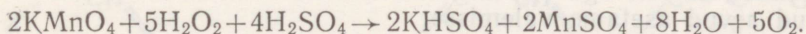
Vesinikperoksiid, mis tungib lehe rakkudesse, lagundatakse rakus leiduva katalaasi toimel veeks ja vabaks hapnikuks. Viimane eraldub mullikestena. Jälgime protsessi kiirust noortel ja vanadel lehtedel.

Teisele alusklaasile paneme tilga vesinikperoksiidi, millesse asetame eelnevalt 1 minuti jooksul keedetud lehed, ja vaatleme mikroskoobis.

Kirjeldame erinevusi.

## TÖÖ 90. KATALAASI AKTIIVSUSE MÄÄRAMINE

Katalaasi kvantitatiivne määramine põhineb katalaasi poolt lagundatud vesinikperoksiidi hulga kindlakstegemisel kaaliumpermanganaadiga tiitrimise teel. Reaktsioon toimub järgmiselt:



Et määrata kindlaks vesinikperoksiidi hulk, mida ensüüm lagundab, leitakse erinevus 0,1 N  $KMnO_4$ -lahuse kulus kontroll- ja katselahuse tiitrimisel.

## Vahendid

1% -line  $H_2O_2$ -lahus, 0,1 N NaOH-lahus, 0,1 N  $KMnO_4$ -lahus, 10% -line  $H_2SO_4$ -lahus, taimelehed, elektripliit, filterpaber, klaasipuru, klaaspulk, uhmer, 100-ml mõõtekolb.

## Töö käik

Kaalume analüütilistel kaaludel 1...2 g taimelehti. Peenestame uhmris klaasipuruga ja lisame veidi destilleeritud vett. Valame massi klaaspulga abil läbi leetri 10-ml kolbi. Täidame kolvi veega kuni märgini, loksutame hästi ja jätame 25° C juures 2 tunniks seisma.

Seejärel filtreerime segu läbi kuiva filterpaberi või tsentrifuugime. Saadud filtraadist määrame katalaasi.

Võtame neli 20 ml suurust filtraadiproovi: kaks katse- ja kaks kontrollproovi. Viimaseid keedame 5 minutit elektripliidil, et ensüümi inaktiveerida.

Igale katse- ja kontrollproovile lisame üheaegselt 20 ml destilleeritud vett ja 3 ml 1% -list  $H_2O_2$  ning jätame 30 minutiks 25° C juures seisma. Pärast inkubeerimist lisame igale proovile 5 ml  $H_2SO_4$  10% -list vesilahust.

Proovis säilinud vesinikperoksiidi tiitrimise 0,1 N KMnO<sub>4</sub>-lahusega. Katalaasi aktiivsuse üle otsustame vesinikperoksiidi hulga järgi, mida ensüüm 30 minuti jooksul ei lagundanud. Kui vesinikperoksiidi jäi kudedesse vähe, siis oli ensüüm väga aktiivne.

Katalaasi aktiivsuse ( $E$ ) ühes minutis ( $t^{\circ}$  25°C) arvutame järgmiselt:

$$E = \frac{(a - b) \cdot 1,7V}{nV_1 t},$$

kus  $a$  on 0,1 N KMnO<sub>4</sub>-lahuse hulk ml-tes, mis kulus kontroll-lahuse tiitrimisel;

$b$  — 0,1 N KMnO<sub>4</sub>-lahuse hulk ml-tes, mis kulus katselahuse tiitrimisel (1 ml 0,1 N KMnO<sub>4</sub>-lahust on ekvivalentne 1,7 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>);

$V$  — lahuse üldhulk ml;

$V_1$  — analüüsiks võetud lahuse hulk ml;

$n$  — uuritava materjali kaalutis g;

$t$  — inkubeerimisaeg min.

### Arvutamise näide

Materjali on 2,1675 g. Kontroll-lahuse tiitrimiseks kulus 12,51 ml KMnO<sub>4</sub>-lahust, katsele aga 9,86 ml. Tiitrimiseks võeti 20 ml filtraati.

Saadud arvud asetame valemisse:

$$E = \frac{(12,51 - 9,86) \cdot 1,7 \cdot 100}{2,1675 \cdot 20 \cdot 30}.$$

## TÖÖ 91. OKSÜDAASIDE MÄÄRAMINE TAIMEDES

### Vahendid

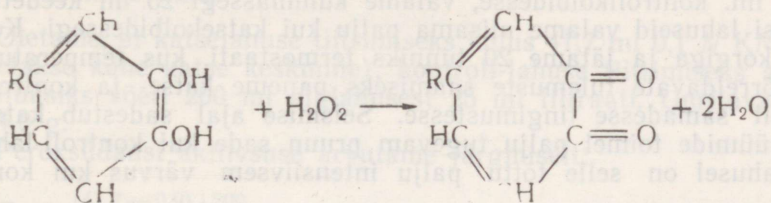
Kartulimugulad, 1%-line kvajakvaigu alkohollahus, katseklaasid, filterpaber.

### Töö käik

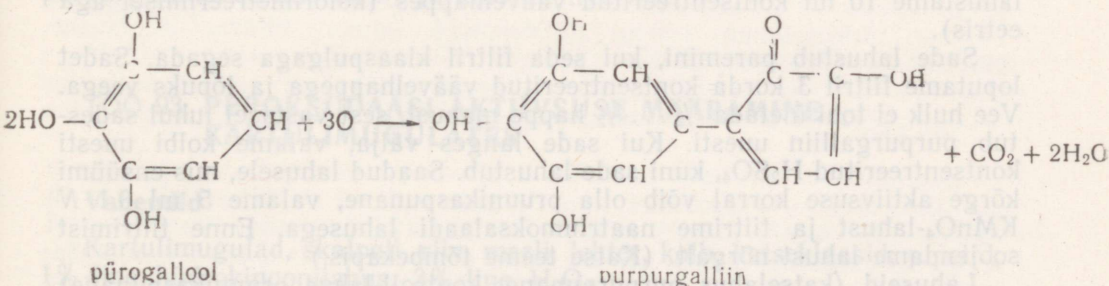
Purustame kartulimugula uhmris ja lisame natuke destilleeritud vett. Saadud segu filtreerime. Paneme filtraati kahte katseklaasi, kummassegi 5 ml. Ühte katseklaasi keedame 1 minuti jooksul, teise jätame keetmata. Nüüd lisame kummassegi katseklaasi mõne tilga 1%-list kvajakvaigu alkohollahust ning jälgime värvust. Aktiivsete oksüdaaside olemasolu korral muutub lahus siniseks.

## TÖÖ 92. PEROKSÜDAASI AKTIIVSUSE MÄÄRAMINE

Peroksüdaas (EC 1.11.1.7) hapendab paljusid fenoole ja mõningaid aromaatsiid amiine. Vesinikperoksiidi toimel hapenduvad need ühendid peroksüdaasi osavõtul järgmiselt:



Peroksüdaasi aktiivsuse määramine laboratooriumides põhineb pürogallooli hapendamisel vesinikülisahapendi manulusel kuni purpurgalliini tekkimiseni. Purpurgalliin sadestub vees lahustumatu pruuni sademena.



### Vahendid

1%-line vesinikperoksiidilahus ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), 2,5%-line pürogalloolilahus, 5%-line  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -lahus, 0,1 N  $\text{KMnO}_4$ -lahus, 0,1 N naatriumoksalaadilahus, kontsentreeritud  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (tihedus 1,84), eeter, lehtrid, 200-ml mõõtekolvid, tsentrifuug, 100-ml koonilised kolvid, liiv või klaasipuru.

### Töö käik

Kaalume 2...4 g taimset materjali ja peenestame liiva või klaasipuruga. Peenestamisel lisame aeg-ajalt destilleeritud vett. Kogu massi valame läbi lehtri 200-ml mõõtekolbi, täidame veega kuni märgini, loksutame hästi segi ja jätame 2 tunniks seisma  $25^\circ\text{C}$  juures. Seejärel filtreerime segu. Filtraadist määrame peroksüdaasi aktiivsuse.

Peroksüdaasi aktiivsuse määramisel tuleb silmas pidada, et lahuseid lisataks järjekorras, mida järgnevalt käsitlemegi.

Võtame kaks 100-ml koonilist kolbi. Valame neisse 5 ml 2,5%-list pürogalloolilahust, 2 ml 1%-list vesinikperoksiidi ja 18 ml vett. Seejärel lisame kummassegi kolbi pipetiga 25 ml filtraati. Kolmandasse ja neljandasse kolbi, nn. kontrollkolbidesse, valame kummassegi 25 ml keedetud filtraati. Teisi lahuseid valame niisama palju kui katsekolbidessegi. Kolvid suleme korgiga ja jätame 20 tunniks termostaati, kus temperatuur on 25°C. Võrreldavate tulemuste saamiseks paneme katse- ja kontrollkolvid täpselt samadesse tingimustesse. Seismise ajal sadestub katselahusest ensüümide toimel palju tugevam pruun sade kui kontrolllahusest. Katselahusel on selle tõttu palju intensiivsem värvus kui kontrolllahusel.

Pärast 20-tunnist inkubeerimist lisame kolbidesse ensüümide tegevuse katkestamiseks 1 ml 5%-list väävelhappelahust. Seejärel kolbides oleva lahuse kas filtreerime või tsentrifuugime. Sadet peseme külma destilleeritud veega 3...4 korda ja iga kord pärast pesemist tsentrifuugime. Lõpuks kanname purpurgalliini sademe üle klaasfiltrile nr. 1 või 2 ja lahustame 10 ml kontsentreeritud väävelhappes (kolorimetreerimisel aga eetris).

Sade lahustub paremini, kui seda filtril klaaspulgaga segada. Sadet loputame filtril 3 korda kontsentreeritud väävelhappega ja lõpuks veega. Vee hulk ei tohi ületada  $\frac{1}{3}$ ... $\frac{1}{2}$  happe mahust, sest vastasel juhul sadestub purpurgalliin uuesti. Kui sade langeb välja, valame kolbi uuesti kontsentreeritud  $H_2SO_4$ , kuni sade lahustub. Saadud lahusele, mis ensüümi kõrge aktiivsuse korral võib olla pruunikaspunane, valame 5 ml 0,1 N  $KMnO_4$ -lahust ja tiitrimise naatriumoksaali lahusega. Enne tiitrimist soojendame lahust nõrgalt. (Katse teeme tõmbekapis.)

Lahuseid (katselahus purpurpunane, kontroll-lahus pruunikaspunane) võime tiitrida ka otseselt 0,1 N  $KMnO_4$ -lahusega.  $KMnO_4$ -ga tiitrimisel muutub purpurpunane lahus algul tumepruuniks, siis kollaseks ja lõpuks heleroheliseks. Reaktsiooni kiirendamiseks soojendame lahust veevannil.

Tiitrimise lõpetame, kui üks tilk  $KMnO_4$  värvib lahuse roosaks ja see värvus püsib 0,5 minutit.

Peroksüdaasi aktiivsuse ( $E$ ) ühes minutis ( $t^\circ 25^\circ C$ ) arvutame järgmiselt:

$$E = \frac{(a - b) \cdot V}{nV_1t}$$

kus  $a$  on 0,1 N  $KMnO_4$ -lahuse hulk ml-tes, mis kulub kontroll-lahuse tiitrimisel;

$b$  — 0,1 N  $KMnO_4$ -lahuse hulk ml-tes, mis kulub katselahuse tiitrimisel;

$V$  — lahuse üldhulk ml;

$V_1$  — analüüsiks võetud lahuse hulk ml;

$n$  — uuritava materjali kaalutis g;

$t$  — inkubeerimisaeg min.

### Arvutamise näide

Oletame, et katselahuse tiitrimiseks kulus 41,7 ml 0,1 N  $\text{KMnO}_4$ -lahust (võetakse kahe katse keskmine), kontroll-lahuse tiitrimiseks aga 0,9 ml. Analüüsiks võeti 200 ml alglahusest 25 ml filtraati. Uuritavat materjali oli 4,0 g.

Peroksüdaasi aktiivsuse arvutame järgmiselt:

$$E = \frac{(41,7 - 0,9) \cdot 200}{4,0 \cdot 25 \cdot 1200}$$

Purpurgalliini hulka võime määrata ka kolorimetreerimisel. Sel juhul lahustame pestud sademe kindlas eetrihulgas (näiteks 25 ml). Paralleelselt valmistame purpurgalliini puhtast preparaadist standardlahuse (5 mg purpurgalliini 50 ml eetris) ja kolorimetreerime.

## TÖÖ 93. PEROKSÜDAASI AKTIIVSUSE MÄÄRAMINE KARTULIMUGULATES

### Vahendid

Kartulimugulad, skalpell, riiv, marli, lehter, kolb, katseklaasid, pipetid, 1%-line hüdrokinoonilahus, 3%-line  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

### Töö käik

Riivime mõne kartulimugula ja pigistame saadud massist läbi marli mahla välja. Võtame kolm katseklaasi ja valame neisse järgmisi lahuseid kindlas järjekorras:

1) 5 ml 1%-list hüdrokinoonilahust, 1 ml 3%-list  $\text{H}_2\text{O}_2$  ja 1 ml kartulimahla;

2) 5 ml 1%-list hüdrokinoonilahust, 1 ml 3%-list  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;

3) 5 ml 1%-list hüdrokinoonilahust, 1 ml kartulimahla.

Katseklaase jälgides näeme, et esimeses hakkavad eralduma gaasimullikesed. Toimub hüdrokinooni hapendumine peroksüdaasi mõjul.

Peroksüdaas kuulub oksüdoreduktaas-ensüümide hulka. Ta kasutab substraadi vesiniku hapendamiseks  $\text{H}_2\text{O}_2$  aktiveeritud hapnikku. Peroksüdaas võib hapendada polüfenoole kinoonideks.

## Peroksüdaasi aktiivsus

Variandi nr.	Katsetingimused			Tulemuste seletus	Märkused
	Kartulimahl	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hüdrokinoon		
1	+	+	+		
2	—	+	+		
3	+	—	+		

### TÖÖ 94. O-DIFENOOLOKSÜDAASI<sup>1</sup> AKTIIVSUSE MÄÄRAMINE

o-difenooloksüdaasi (EC 1.10.3.1) aktiivsuse määramine põhineb tema omadusel hapendada askorbiinhapet.

#### Vahendid

100 mg askorbiinhapet, mis on lahustatud 100 ml vees, 0,02 M pürokatehiinilahus, 10%-line meta- või ortofosforhappelahus, 0,01 N KIO<sub>3</sub>-lahus, 1%-line tärkliiselahus, 100-ml mõõtekolvid, uhmer, filterpaber, keeduklaasid.

#### Töö käik

Kaalume analüütilistel kaaludel 2 g taimset materjali ja peenestame hoolikalt uhmrís. Purustatud massile lisame 5 ml destilleeritud vett ja valame läbi leetri 100-ml mõõtekolbi. Uhmrit loputame mitmel korral veega. Loputusvee valame samuti kolbi. Lõpuks täidame kolvi kuni märkele veega. Siis loksutame seda hoolikalt ja jätame 25°C juures 3...4 tunniks seisma. Pärast seismist filtreerime segu. Filtraadist määrame o-difenooloksüdaasi.

Võtame kaks kolbi või keeduklaasi ja mõõdame kummassegi 1 ml filtraati, millele lisame 3 ml vett, 2 ml askorbiinhappe lahust ja 1 ml 0,02 M pürokatehiinilahust. Seejärel võtame 2 kolbi kontrollilahuste jaoks ja mõõdame kummassegi 1 ml filtraati, mida keetsime enne 5 minutit. Kõiki teisi lahuseid lisame samas järjekorras ja niisama palju kui katsekolvidesse. Kolbe loksutame ühtlaselt 2 minutit. Seejärel lisame igasse kolbi 1 ml 10%-list fosforhappelahust ja 5 tilka tärkliiselahust ning tiitrimise 0,01 N KIO<sub>3</sub>-lahusega sinise värvuse tekkimiseni.

o-difenooloksüdaasi aktiivsuse (*E*) väljendame kas tiitrimisel kulunud KIO<sub>3</sub>-lahuse hulga järgi või tekkinud askorbaadi kaudu. Viimasel juhul kasutame järgmist valemit:

$$E = \frac{(a - b) \cdot 0,088 \cdot V}{nV_{1t}}$$

<sup>1</sup> Endine nimetus polüfenoooloksüdaas.

kus  $a$  on 0,01  $N$   $KIO_3$ -lahuse hulk ml-tes, mis kulus kontroll-lahuse tiitrimisel;

$b$  — 0,01  $N$   $KIO_3$ -lahuse hulk ml-tes, mis kulus katselahuse tiitrimisel (1 ml 0,01  $N$   $KIO_3$  on ekvivalentne 0,088 mg askorbaadiga);

$n$  — uuritava materjali kaalutis g;

$V$  — lahuse üldhulk ml;

$V_1$  — analüüsiks võetud lahuse hulk ml;

$t$  — inkubeerimisaeg min.

## TÖÖ 95. DEHÜDROGENAASIDE KVALITATIIVNE MÄÄRAMINE

Dehüdrogenaaside olemasolu korral ühineb aktiveeritud  $H^+$  metüleensinise, muutes selle värvusetuks.

### Vahendid

Metüleensinise vesilahus (50 mg/l), vesikatki, presspärm, 0,5%-line sahharoosilahus, kestadeta herned, lehter, filterpaber, katseklaasid, mikroskoop, 0,87%-line  $K_2HPO_4$ , veevann, termostaat, glütseriin.

### Töö käik

1. Katseobjektiks võtame vesikatki, mille rakkudel on kõrge redokspotentsiaal.

Asetame rohkete lehtedega vesikatki pooleks tunniks metüleensinise lahusesse. Seejärel peseme oksa veega. Siis võtame erineva vanusega lehti, asetame alusklaasile veetilka, katame katteklaasiga ja vaatleme mikroskoobis nõrgal suurendusel. Näeme, et noored lehed ei värvu, vanad aga värvuvad hästi. Lehes olevad dehüdrogenaasid muudavad metüleensinise värvusetuks.

2. Dehüdrogenaasiderikkad on pärmseened. Katseklaasi yalame 5 ml 0,5%-list sahharoosilahust, millele on lisatud 1 ml metüleensinise lahust. Sellesse lahusesse asetame pärmitükikese. Katseklaasi suleme korgiga. Pärmis olevad ensüümid taandavad metüleensinise ja lahus muutub umbes tunni aja pärast värvusetuks. Öhu käes muutub lahus uuesti siniseks.

3. Pärmis võime asendada kestadest vabastatud herneltega, mis on eelnevalt värvitud metüleensinise. (Kestades olevad parkained pidurdavad ensüümide tegevust.) Kui täidame katseklaasi siniseks värvitud herneltega ja suleme korgiga, siis kaob hernelte sinine värvus mõne tunni pärast, õhuga kokku puutudes aga muutuvad nad uuesti siniseks.

4. Taimekudede dehüdrogenaaside aktiivsus on määratav katseklaasis. Selleks purustame 1...2 g taimset materjali ja lisame 5 ml 0,87%-list

$K_2HPO_4$ -lahust. Katseklaasi paneme termostaati, kus temperatuur on  $25^\circ C$ . 15 minuti pärast lisame katseklaasi 1...1,5 ml metüleensinise lahust ja segame. Hapniku juurdepääsu takistamiseks valame vedeliku pinnale glütseriini. Aeg, mis kulub vedeliku värvuse kadumiseks, näitab dehüdrogenaaside aktiivsust.

## TÖÖ 96. DEHÜDROGENAASIDE AKTIIVSUSE MÄÄRAMINE

Töö printsiip põhineb sellel, et dehüdrogenaasid taandavad metüleensinise hapnikuta keskkonnas leukoühendiks. Et parkained inaktiveerivad dehüdrogenaase, tuleb seemnete dehüdrogenaaside määramisel neilt kestad eemaldada.

Dehüdrogenaaside aktiivsuse määramiseks kasutatakse Thunbergi katsuti (joonis 44), milles võib tekitada vaakumi mitmeks tunniks.

### Vahendid

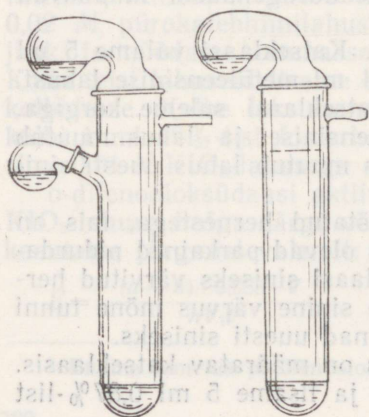
Metüleensinine (kontsentratsioon 1 : 10 000 või 1 : 20 000; lahust säilitatakse pimedas), 0,87%-line  $K_2HPO_4$ -lahus, Thunbergi katsuti, uhmer, termostaat, vaakumpump, Tištšenko pudel, elavhõbemanomeeter, seemned.

### Töö käik

Kaalume 5 g taimset materjali ja purustame uhmis koos liivaga. Purustamise ajal lisame 5 ml 0,87%-list  $K_2HPO_4$ -lahust. Purustatud massi paneme 100-ml mõõtekolbi, mille seejärel täidame  $K_2HPO_4$  lahusega kuni märgini. Loksutame segu hästi ja jätame 30 minutiks seisma temperatuuril  $25^\circ C$ . Pudrutaolist massi segame mitmel korral. Siis tsentrifuugime või filtreerime.

Thunbergi katsuti alumisse ossa valame 3 ml ensüüme sisaldavat filtraati, ülemisse ossa 1 ml metüleensinist. Suleme katsuti korgiga ja ühendame äravoolutoru Tištšenko pudeliga ning elavhõbemanomeetriga.

Õhu pumpame Thunbergi katsutist välja, kuni rõhk manomeetril näitab 10...12 mm. Kui vedelik hakkab vahutama, siis eemaldame õhku aeglasemalt. Seejärel pöörame kraani  $90^\circ$  võrra, eraldame aparadi vaakumpumbast ja asetame termostaati, kus temperatuur on  $25^\circ C$ . Thunbergi katsuti



Joonis 44. Thunbergi katsuti.

sisaldise loksutame hästi segamini ja märgime metüleensinise valastumiseks kuluva aja minutites.

Dehüdrogenaaside aktiivsust määrame taime eri organitest. Kokkuvõtte tehtud tööst kirjutame vihikusse.

## TÖÖ 97. TÄRKLISE HÜDROLÜÜS AMÜLAASIDE TOIMEL

### Vahendid

Linnased, 2%-line tärklikekliister, katseklaasid, kolvid, termostaat, veevann, termomeeter, filterpaber, joodilahus (vt. lisa 3), glütseriin, Fehlingi lahused (I, II).

### Töö käik

Võtame kaks katseklaasi ja valame kummassegi 5 ml 2%-list tärklikekliistrit ning 1 ml linnaseekstrakti. Ühe katseklaasi jätame seisma toatemperatuuril, teise asetame veevannile või termostaati, kus temperatuur on 40°C.

Tärglike suhkrustamise astme määramiseks jaotame joodilahust võrdsetes hulkades mitmesse katseklaasi. Iga 3 minuti järel võtame pipetiga veevanni asetatud katseklaasist proovi. Toatemperatuuril olevast katseklaasist võtame proovi iga 10 minuti järel. Iga kord võtame võrdse arvu tilku (3...4).

Tärglike suhkruks muutumisel on vaheproduktideks mitmesugused dekstriinid. Sõltuvalt hüdrolyüsi astmest saame joodiga erinevad värvused. Hüdrolyüsi algstaadiumidel ilmnevad sinivioletsed, violetsed ja kirsipunased värvused, vahepealsed staadiumid annavad punase, roosa ja kollase värvuse. Lõpuks värvus ei muutu, s. o. joodi värvus jääb samaks, mis tal oli (helekollane). Pärast seda teeme kummaski katseklaasis Fehlingi reaktiividega reaktsiooni suhkrutele (maltoosile).

Teises katseklaasis, mis on toatemperatuuril, hüdrolyüsub tärglik väga aeglaselt. Kui ajapuuduse tõttu ei saa hüdrolyüsi lõpule viia, võime protsessi kiiruse võrdlemiseks erinevatel temperatuuridel võtta mistahes staadiumi (näiteks dekstriinide staadium annab joodiga punase värvuse) ja võrrelda aega, mis kulus selle staadiumini jõudmiseks 40°C juures ja toatemperatuuril.

Näidis katsetulemuste registreerimiseks.

### Tärglike hüdrolyüsi dünaamika

Katsetingimused	Joodilahuse värvus katseklaasides										Katse algus	Katse lõpp	Järeldused
	Katseklaasid												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Toatemperatuur t° 40°C													

## TÖÖ 98. AMÜLAASIDE TOIME TÄRKLISELE

### Vahendid

Idanenud herned või linnaseekstrakt, Petri kauss, kartulitärklis, želatiin, joodilahus, pintsetid, pintsel.

### Töö käik

Valame 2%-lise tärkliselahuse ja 10%-lise želatiinilahuse kokku, kuumutame mõne minuti, et tärklis muutuks klištriiks, ja valame ühtlase kihina Petri kaussi. Jahtunud tardunud želatiinikihile laotame pooleks lõigatud idanenud herned, mille lõikepinda on niisutatud veega. 30...40 minuti pärast võtame herned pintsettidega ettevaatlikult ära ja kallame kogu plaadi üle joodilahusega. Võrdleme joodilahuse toimet tärkliseplaadile ja kohtadele, kus asusid idanenud herned.

Idanenud herneste asemel võime kasutada ka linnaseekstrakti, millega joonistame pintsliga želatiinikihile mitmesuguseid kujundeid. Kuivamise vältimiseks katame Petri kausi kaanega. 1,5 tunni pärast valame kausi üle joodilahusega. Väljaspool linnaseekstrakti figuure värvub želatiinikiht joodilahuse mõjul siniseks, muu osa jääb värvusetuks.

## TÖÖ 99. $\beta$ -FRUKTOFURANOSIDAASI<sup>1</sup> TOIME SAHHAROOSI HÜDROLÜÜSILE

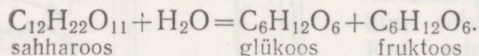
### Vahendid

Pärm, 1%-line sahharoosilahus, keeduklaasid, termostaat, termomeeter, elektripliit, Fehlingi lahused (I, II), 6%-line  $\text{CuSO}_4$ -lahus, 10%-line  $\text{NaOH}$ -lahus, 1%-line  $\text{HCl}$ -lahus.

### Töö käik

Lisame 10 g presspärmile klaasipuru ja mõneminutilise hõõrumise järel 5 ml vett. Hõõrume 30 minutit. Seejärel lisame pärmile 20 ml 40°-ni soojendatud vett ja hõõrume veel mõne minuti. Segu filtreerime.

Saadud filtraat sisaldab  $\beta$ -fruktofuranosidaasi (EC 3.2.1.26), mis lagundab sahharoosi järgmise võrrandi järgi:



Et uurida  $\beta$ -fruktofuranosidaasi toimet sahharoosile, valame kolme katseklaasi 1%-list sahharoosilahust, igasse 10 ml. Esimesele proovile lisame 2 ml  $\beta$ -fruktofuranosidaasi lahust, teisele 2 ml  $\beta$ -fruktofuranosidaasilahust, mis on eelnevalt läbi keedetud. Kolmandasse katseklaasi

<sup>1</sup> Endine nimetus sahharoos e. invertaas.

$\beta$ -fruktofuranosidaasilahust ei lisa. Selle jätame kontrolliks. Kõik kolm proovi asetame veevannile või termostaati temperatuuril 40° C.

20 minuti pärast teeme kõigi kolme prooviga Fehlingi või Trommeri reaktsiooni.

Paralleelselt võime teha sahharoosi lagundamise katse soolhappega. Selleks lisame 5 ml sahharoosilahusele 5 ml 1%-list HCl ja keedame veevannil. Pärast jahtumist teeme Trommeri reaktsiooni.

## TÖÖ 100. TEMPERAATUURI JA KESKKONNAREAKTSIOONI MÕJU $\beta$ -FRUKTOFURANOSIDAASI AKTIIVSUSELE

### Vahendid

Pärm, 20%-line sahharoosilahus, katseklaasid, veevann või termostaat, elektripliit, 1,5%-line äädikhape, 0,1 N KOH Fehlingi lahused (I ja II).

### Töö käik

Ekstraheerime  $\beta$ -fruktofuranosidaasi pärmist (vt. töö 99). Seejärel valmistame kuude katseklaasi järgmised segud: katseklaasi 1 ja 2: 10 ml sahharoosilahust, 4 ml vett ja 1 ml  $\beta$ -fruktofuranosidaasi lahust; katseklaasi 3: sama mis eelmisse, kuid  $\beta$ -fruktofuranosidaasi inaktiveerime eelnevalt keetmisega;

katseklaasi 4: 10 ml sahharoosilahust, 3 ml vett, 1 ml 1,5%-list äädikhapet, 1 ml  $\beta$ -fruktofuranosidaasilahust (nõrk happeline keskkond);

katseklaasi 5: 10 ml sahharoosilahust, 4 ml 1,5%-list äädikhapet, 1 ml  $\beta$ -fruktofuranosidaasilahust (tugev happeline keskkond);

katseklaasi 6: 10 ml sahharoosilahust, 4 ml 0,1 N KOH-lahust, 1 ml  $\beta$ -fruktofuranosidaasilahust (aluseline keskkond).

### Temperatuuride ja pH mõju ensüümi aktiivsusele

Katseklaasi nr.	t°C	pH	Tilkade arv, mis kulus Fehlingi lahuse sinise värvuse kadumiseks		
			Katse kordused		
			1	2	3
1	20°	6,5			
2	40°	6,5			
3	40°	7,5			
4	40°	5,0			
5	40°	4,5			
6	40°	7,5			

Esimese katseklaasi jätame toatemperatuurile, kõik teised asetame veevannile või termostaati temperatuuril 40° C. Tunni aja pärast võtame katseklaasid välja ja paneme külma vette, et edasine hüdrolüüs peatuks.

Uurime  $\beta$ -fruktofuranosidaasi aktiivsust erinevates katseklaasides. Selleks valame igasse kuuest tühjast keeduklaasist 2 ml Fehlingi I ja 2 ml Fehlingi II lahust, lisame 4 ml vett ja kuumutame kuni keemiseni. Siis lisame tilkhaaval uuritavat  $\beta$ -fruktofuranosidaasi lahust kuni sinise värvuse kadumiseni. Teeme kindlaks tilkade hulga, mida oli vaja  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  täielikuks taandamiseks Fehlingi lahuses.

Katse andmed registreerime, teeme järeldused temperatuuri ning keskkonnareaktsiooni mõju kohta  $\beta$ -fruktofuranosidaasi aktiivsusele.

## TÖÖ 101. VAAKUUM-INFILTRATSIOONIMEETOD

Et uurida mineraalelementide või mõne aine otsest mõju taimorganismile, on vaja taimekudedesse sisestada neid elemente või aineid. Seda tehakse vaakuum-infiltratsioonimeetodil. Infiltratsioonil tungivad uuritavad ained taime raku-vaheruumi, kust nad adsorptsiooni teel satuvad rakkudesse. Selle meetodiga määras A. L. Kursanov elavas organismis ka ensüümide aktiivsust.

Vaakuum-infiltratsioonimeetodi kasutamisel tuleb kõigepealt arvestada järgmisi asjaolusid.

1. Taimse materjali uurimise üheaegsus. Võetakse üheaegselt mitu võrdse raskusega proovi. Võivad olla nii terved kui ka poolikud lehed. Proovid kaalutakse ning määratakse nende vee- ja sahhariidide sisaldus. Pärast lahuste infiltratsioonist lehtedesse võrreldakse neid lehtedega, millesse infiltreeriti destilleeritud vett.

2. Vaakuum-infiltratsiooni kestus. Täielik infiltratsioon saavutatakse momendil, mil raku-vaheruumid on lahusega täitunud. Eri taimedel kulub selleks erinev aeg. Mõnel taimel, näiteks põldoal, saabub vaakuumil 25...35 mm täielik infiltratsioon 8...15 minuti jooksul, päevalillelehtedel aga samades tingimustes 50...60 minuti jooksul.

3. Infiltreeritava lahuse pH ja kontsentratsioon. Lahuse kontsentratsiooni määramisel tuleb arvestada rakumahla osmootset rõhku. Hüpotoonilised lahused ei sobi, sest nendega siseneb kudedesse vähe uuritavat ainet. Väga kõrged, hüpertoonilised lahused võivad välja kutsuda koguni plasmolüüsi. Näiteks alpikannilehte on sobiv infiltreerida 0,1 M sahharoosilahust või 0,2 M glükoosilahust. KCl ja NaCl lahuse infiltratsioonil päevalillelehtedesse kasutati vastavalt 0,08 N...0,12 N lahuseid.

Enne katseid on vaja määrata uuritava materjali üksikute kudede või väljapressitud taimemahla osmootne rõhk (osmootse rõhu määramine kudedes plasmolüüsimeetodil).

4. Uuritava aine sisestamine lehtedesse. Vaakuum-infiltratsiooniga taimekudedesse sisestatud uuritava aine hulk sõltub sel-

lest, kui palju lahust mahub lehe raku-vaheruumidesse. Lahuse hulk oleneb koe anatoomilisest ehitusest, seega raku-vaheruumide suuruselt.

Kui arvestada, et lehte infiltreeritakse lahuse, mille kontsentratsioon on võrdne rakumahla kontsentratsiooniga, võib pärast infiltreerimist massi suurenemise järgi välja arvutada lehte sisestatud lahuse hulga. Sellise lehe massi võrreldakse lehe massiga enne infiltreerimist. Näiteks põldoa-lehte saab sisestada lahust 110...120% lehe esialgsest biomassist, päevalillelehte aga ainult 35...40%.

## Vahendid

Taimelehed, vaakumpump, vaakuum-eksikaator, katseklaasid, infiltreeritavad lahused, kaalud.

## Töö käik

Paneme taimedelt lõigatud lehed vartega 1...2 tunniks vette, et lehekudede veesisaldus oleks ühtlane. Lehti on sel ajal parem hoida valguses, et õhulõhed oleksid avatud.

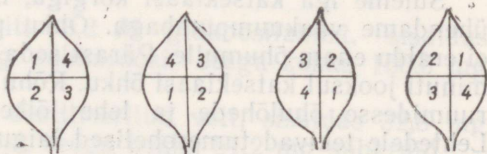
Töö täpsus oleneb materjali ühtsusest ja võetud keskmisest proovist.

Kui katse koosneb kahest variandist, on otstarbekohane võtta nendest kaks proovi, nii et kummassegi proovi jääb osa kummaski lehepooldest. Nelja variandi korral võime keskmise proovi võtta nii, nagu on näidatud joonisel 45. Ettevalmistuse ajal hoiame proove vaakuum-eksikaatoris olevas klaasis, milles infiltreeritav lahuse. Et lehed ei ujuku vedeliku pinnal, asetame nende peale klaaspulga või mõne muu raskuse.

Infiltreerimisel eraldub läbi õhulõhede ja vigastatud kudede õhku. Õhk eraldub seni, kuni on näha mullikesi. Siis suleme vaakuum-eksikaatori kraani ja avame aeglaselt (1...2 minuti jooksul) vaakumpumbaga ühenduses oleva kraani. Lahuses taastub normaalne rõhk ning tänu sellele tungib lahuse läbi õhulõhede ja lõigatud kudede raku-vaheruumidesse, täites need. Infiltreeritud lahust sisaldavad koed on teistest tumedamad. Algul ilmuvad üksikud tumerohelised laigud, mis hiljem ühinevad. Pärast seda kui rõhk vaakuum-eksikaatoris on võrdne atmosfäärirõhuga, jätame lehed veel 3...5 minutiks lahusesse. Sel ajal tungib vedelik veel raku-vaheruumidesse. Siis võtame lehed lahusest välja, loputame neid kaks korda destilleeritud veega ja kuivatame kergelt filterpaberiga.

Kui on vaja teada taimematerjalisse tunginud lahuse hulka, siis kaalume lehed kohe pärast kuivatamist. Seejärel asetame nad filterpaberil

Joonis 45. Keskmise proovi võtmine  
taimelehest.



valgusesse, alumine külg ülespoole. Vesi eraldub lehtedest länu transpi-ratsioonile. 1,5...2 tunni pärast kaotavad lehed tumeda värvuse ja saavu-tavad normaalse seisundi, raku-vahe ruumid aga täituvad õhuga.

Sooja õhuvoolu (26...28°C) pealejuhtimisel aurub vesi lehtedest kiiremini.

Kaalu erinevuste järgi katse algul ja lõpul otsustame infiltreeritud ainete mõjul toimunud muutuste üle.

Katse kontrolliks kasutame lehti, millesse infiltreeriti vett ja mis asu-vad katselehtedega samades tingimustes.

## TÖÖ 102. ENSÜÜMIDE AKTIIVSUSE MÄÄRAMINE KUDEDES VAAKUUM-INFILTRATSIOONIMEETODIL

Ensüümide aktiivsuse määramine põhineb sellel, et taimekudedesse sisestatakse mingisuguse aine (näiteks sahharoosi) lahus, mille kontsent-ratsiooni muutumine näitab vastavate ensüümide aktiivsust. See meetod võimaldab ensüümide aktiivsust kindlaks teha elusates kudedes.

Näiteks lehte sisestatud glükoosist tekkinud sahharoosi põhjal saab kindlaks teha sahharoosi sünteesivate ensüümide aktiivsuse, ja vastupidi, lehte sisestatud sahharoosist tekkinud glükoos viitab hüdroolüüsivate ensüü-mide olemasolule. Sünteesivate ja hüdroolüüsivate ensüümide aktiivsust määratakse monosahhariidide ja disahhariidide hulga järgi kontroll- ja katsevariandis.

### Vahendid

2...3. lehe faasis olevad nisutaimed, käärid, kaalud, katseklaasid, 100-ml mõõtesilindrid, vaakumpump, filterpaber, kaanega kristallisaato-rid, termostaat, 150...200-ml koonilised kolvid, 0,2 M glükoosilahus, 0,1 M sahharoosilahus, klaaslehtid, paberfilter, toluool, pliiatsetaat, keeduklaa-sid, uhmer.

### Töö käik

Võtame 3 kaalutist nisulehti ja asetame laiadesse katseklaasidesse. Esimesse katseklaasi lisame 60 ml 0,1 M sahharoosilahust, teise 60 ml 0,2 M glükoosilahust ja kolmandasse 60 ml destilleeritud vett (kont-rolliks).

Suleme iga katseklaasi korgiga, millest on läbi pandud klaastoru, ja ühendame vaakumpumbaga. Õhku pumpame välja seni, kuni lehtedest ei eraldu enam õhumulle. Pärast seda avame veidi kraani ja laseme 1...2 minuti jooksul katseklaasi õhku. Rõhu suurenemise tõttu tungib raku-vahe-ruumidesse õhulõhede ja lehe lõikepindade kaudu infiltreeriv vedelik. Lehtedele tekivad tumerohelised laigud, mis kiiresti suurenevad ja ühine-vad. Pärast rõhu taastumist jätame lehed 2...3 minutiks lahusesse, sest

lahus tungib veel raku-vaheruumidesse. Seejärel loputame lehti kiiresti kaks korda destilleeritud veega ja kuivatame filterpaberiga. Edasi on vaja kõrvaldada vesi raku-vaheruumidest. Selleks laotame lehed klaasalusele ja soojendame elektripirniga 10...12 minuti jooksul 26...28°-ni. Lehed kaotavad tumeda värvuse ja muutuvad normaalseks. Pärast kuivatamist paneme lehed keeduklaasi ja koos sellega kristallisaatorisse, mille seinad katame seestpoolt ettevaatlikult niiske filterpaberiga. Rakkudes olevate ensüümide aktiveerimiseks asetame kristallisaatori kolmeks tunniks termostaati, kus temperatuur on 25° C.

Selle aja möödumisel võtame klaasid termostaadist välja, paneme keevaveevannile ja hoiame neid seal ensüümide inaktiveerimiseks 5 minutit. Seejärel purustame lehed uhmris, lisades neile hapete neutraliseerimiseks 0,2 g kriiti. Purustatud massile lisame veel 15 ml destilleeritud vett ja valame siis keeduklaasi tagasi. Keeduklaasi asetame jälle 30 minutiks keevaveevannile, et suhkrud ekstraheeruksid. Aeg-ajalt loksutame keeduklaasi. Pärast seda lisame valkude ja värvainete sadestamiseks 2 ml pliiatsetaati ja loksutame. Segul laseme 5 minutit seista. Siis filtreerime läbi kuiva filtri 100-ml mõõtekolbi ning plii ülejäägi eraldamiseks lisame tilkadena naatriumsulfaadi lahust, sest vaba plii segab suhkrute määramist. Naatriumsulfaati lisame seni, kuni  $PbSO_4$  sadet enam ei teki. Pärast seda täidame kolvi kuni märgini destilleeritud veega, suleme kolvi korgiga, loksutame, laseme sademel settida ja filtreerime läbi kuiva filtri. Filtraadist määrame suhkrud 78. töö eeskujul. Sahharoosi määramiseks hüdrolüüsime kõik kolm filtraati. Selleks võtame 50-ml mõõtekolbi 25 ml filtraati ja lisame 2,5 ml 20%-list HCl. Seejärel asetame kolvi veevannile, mille temperatuur on 70...75° C. Samaaegselt asetame veevannile ka kontrollkolvi 25 ml vee ja 2,5 ml 20%-lise HCl-ga. Sellesse kolbi paneme ka termomeetri. Hüdrolüüs kestab 70° C juures 5 minutit. Siis jahutame kolvi ja neutraliseerime vedeliku 10%-lise NaOH-lahusega indikaatori (metüülpunase) järgi kuni roosa värvuse kadumiseni, lisame destilleeritud vett kuni märgini ja segame, seejärel määrame glükoosi ja fruktoosi (vt. töö 78).

## Ensüümide aktiivsuse arvutamine

Oletame näiteks, et saadi järgmised katseandmed.

1. Kaalutis, millesse infiltreeriti 0,1 M sahharosilahust, sisaldas 67,2 mg monosahhariide ja 97,2 mg sahharoosi, seega kokku 164,4 mg suhkruid.

2. Kaalutis, millesse infiltreeriti 0,2 M glükoosilahust, sisaldas 125 mg monosahhariide ja 35,6 mg sahharoosi, seega kokku 160,6 mg suhkruid.

3. Kaalutis, millesse infiltreeriti destilleeritud vett, sisaldas 32,8 mg monosahhariide ja 18,4 mg sahharoosi, seega kokku 51,2 mg suhkruid.

Andmeist nähtub, et antud juhul infiltreeriti esimesse kaalutisse



## LISAD

Lisa 1

### Lahuste valmistamine

Käesoleva raamatu mahu piiratuse tõttu käsitletakse lahuste valmistamise üldisi viise. Üksikasjalisemaid juhendeid võib leida keemiaalases kirjandusest.

Analüüsideks vajalikud vesilahused tuleb valmistada destilleeritud veega, pidades silmas vajalikke kontsentratsioone. Kontsentratsiooni all mõistetakse lahustunud aine kaalu-  
list kogust, mis sisaldub lahuse teatavas kindlas kaalu- või mahulises hulgas. Lahustunud aine hulka väljendatakse gramm-molekulides ehk moolides või gramm-ekvivalentides. Näiteks väljendab lahuse molaarsus, mitu gramm-molekuli ainet on lahustunud 1 liitris lahuses.

Lahuse normaalsus näitab, mitu grammekvivalenti või milligrammekvivalenti lahustunud ainet sisaldab 1 liiter lahust. Lahuste valmistamisel tuleb arvestada, et sama aine grammekvivalenti suurus oleneb ka keemilise reaktsiooni iseloomust, millest see aine osa võtab.

Grammekvivalentiks nimetatakse aine hulka grammides, mis on antud reaktsioonis keemiliselt võrdväärne (ekvivalentne) 1 grammaatomi (või grammiooni) vesinikuga. HCl puhul näiteks võrdub grammekvivalent gramm-molekuliga, s. t. 36,5 grammiga, sest niisugune hulk HCl sisaldab 1 grammi vesinikku;  $H_2SO_4$  grammekvivalent võrdub  $\frac{1}{2}$  mooliga (98 : 2 = 49 g) ja  $H_3PO_4$  grammekvivalent  $\frac{1}{3}$  mooliga (32,67 g), kuid seda ainult siis, kui fosforhappe kõik kolm vesinikiooni asenduvad reaktsioonis metalli ionidega. Et ühesuguse normaalsusega lahuste võrdsed ruumalad sisaldavad võrdel arvu vastavate ainete grammekvivalente, siis tuleb reaktsioonide teostamiseks kasutada neid lahuseid võrdses ruumalades.

Kui reageerivate lahuste normaalsus on erinev, tuleb suurema normaalsusega lahust võtta vastav arv kordi vähem. Reaktsiooniks kulutatud lahuste ruumalad on pöördvõrdelised nende lahuste normaalsustega. Tiitrimisel kulutatavad lahuste ruumalad on järelikult pöördvõrdelised nende lahuste normaalsustega.

Järelikult, kui ühe lahuse ruumala ja normaalsus on vastavalt  $V_1$  ja  $N_1$ , teise lahuse ruumala ja normaalsus aga  $V_2$  ja  $N_2$ , siis  $\frac{V_1}{V_2} = \frac{N_2}{N_1}$  ehk  $V_1 N_1 = V_2 N_2$ .

Teiste sõnadega, lahuse ruumala ja normaalsuse korrutis on mõlema reageeriva aine puhul püsiv suurus.

Molaarsete ja normaalsete lahuste üleminek ühelt teiselt on väga lihtne, on ainult vaja teada, kui suure osa molekulmassist moodustab vastava aine ekvivalent.

Näide 1. Missugune on  $Al_2(SO_4)_3$  0,3 N lahuse molaarsus?

Lahendus.  $Al_2(SO_4)_3$  grammekvivalent on võrdne  $\frac{1}{6}$  mooliga. Järelikult selleks, et teada saada, mitu mooli on selle soola 0,3 grammekvivalentis, tuleb 0,3 korrutada  $\frac{1}{6}$ -ga.

$$\text{Seega } M = N \cdot \frac{1}{6} = \frac{0,3 \cdot 1}{6} = 0,05,$$

s. t. antud lahuse molaarsus on 0,05.

Näide 2. Missugune on  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  0,2 M lahuse normaalsus?

Lahendus. Et  $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3$  gramm-molekul vastab  $\text{HNO}_3$  kolmele gramm-molekulile, s. o.  $\text{H}^+$  kolmele grammioonile, siis on selle soola grammekvivalent  $\frac{1}{3}$  mooli. Järelikult on 1 M lahus 3-normaalne, 0,2 M lahus vastavalt  $0,2 \cdot 3 = 0,6$ -normaalne.

Paljudes analüüsides on mugav kasutada kindla normaalsusega lahuseid. Järgnevalt on toodud mõned näited lahuste valmistamiseks.

Näide 1. Valmistada 250 ml 0,5 N baariumkloriidilahust.

Baariumkloriid kristalliseerub kahe molekuli kristallisatsiooniveega, s. t. vastab valemile  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Järelikult on tema molekulmass 244,3, grammekvivalent aga 122,2 g. Üks liiter 0,5 N lahust sisaldab seega  $0,5 \cdot 122,2$  g, 250 milliliitrit aga  $0,5 \cdot 122,2 \cdot 0,25 = 15,3$  g baariumkloriidi.

Näide 2. Valmistada 1 liiter 2 N HCl-lahust, lähtudes kontsenteeritud soolhapest, mille tihedus on 1,19.

HCl grammekvivalent võrdub gramm-molekuliga, s. t. 36,5 grammiga. Seega tuleb võtta  $36,5 \cdot 2 = 73$  g HCl. Arvutame, missuguses kontsenteeritud happe hulgas sisaldub niisama palju vesinikkloriidi (soolhapet). Lisas 11 on toodud hapete ja aluste tihedused, mille kaudu saame tabelist uuritava aine protsendid. Soolhape tihedusega 1,19 sisaldab 37,23% HCl.

Koostame võrde:

100 g kontsenteeritud happes sisaldub 37,23 g HCl,

x " 73 · 100 " " " 73 g HCl.

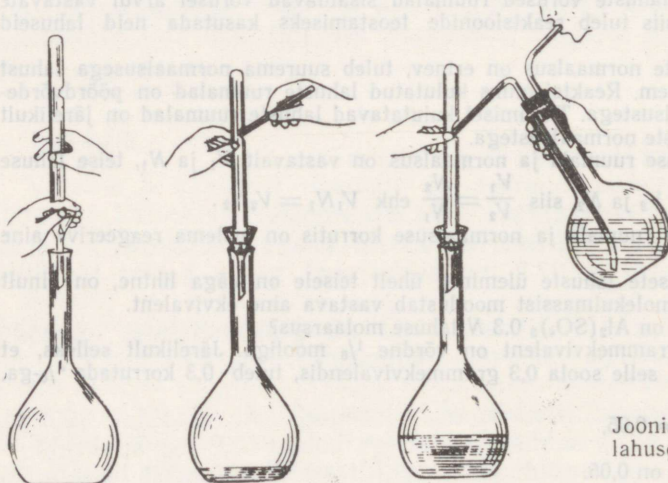
$x = \frac{73 \cdot 100}{37,23} = 196,1$  g kontsenteeritud hapet.

Niisuguse hulga kontsenteeritud happe kaalumise asemel on mugavam mõõta vastav ruumala hapet. Ülesande tingimuse järgi kaalub 1 ml kontsenteeritud hapet 1,19 g; otsitav ruumala

$$V = \frac{196,1}{1,19} = 165 \text{ ml.}$$

Praktikas kasutatakse mõõtlahuste saamiseks tihti nõndanimetatud fiksaanaale, mis kujutavad endast kinnisulatatud klaasampullides olevaid täpselt kaalutud reaktiivikoguseid ja on vajalikud 1 liitri 0,1 või 0,01 N lahuse valmistamiseks.

Fiksaanaalidena kasutatakse meil  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , HCl, NaCl, KCl,  $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ,  $\text{KMnO}_4$ ,  $\text{AgNO}_3$ , KSCN,  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ,  $\text{BaCl}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , NaOH, KOH jt.



Joonis 46. Fiksaanaali avamine lahuse valmistamisel.

Fiksanaalist viiakse aine mõõtekolbi (joonis 46) järgmiselt. Kolbi asetatakse klaaslehter, mille alumine ots ulatub allapoole mõõtekriipsu. Fiksanaalide karbist võetud spetsiaalne teravikuga klaaspulk asetatakse lehtri avasse. Ampull pestakse hoolikalt puhtaks ja kuivatatakse. Seejärel tõstetakse lehter pisut ülespoole ja lastakse ampull otsapidi kukkuda klaaspulga teravikule. Ampulli põhja tekib auk. Teise klaaspulgaga surutakse sisse ampulli ülemine ava ja selle sisul lastakse voolata kolbi. Klaaspulk, mida kasutati avause sissesurumiseks, loputatakse lehtri kohal veeга üle. Ampullist endast lastakse vesi vähemalt 6 korral läbi voolata. Hoolikalt tuleb üle loputada ka lehter, algul väljastpoolt ja siis seestpoolt. Seejärel loputatakse seestpoolt üle ka kolvi kaelaosa. Lõpuks valatakse lahustajat kolbi kuni ettenähtud koguseni.

Kõrvuti molaarse ja normaalse kontsentratsiooniga on praktikas kasutusel ka protsentuaalne kontsentratsioon.

Protsentuaalne kontsentratsioon näitab, mitu grammi lahustatud ainet on 100 grammi lahuses. Väljend «KCl 3%-line lahus» tähendab, et 100 grammis lahuses on 3 g KCl ja 97 g vett.

Lisa 2

### Kaaliumpermanganaadi mõõtlahuse valmistamine ja normaalsuse määramine

Tiiter annab lahustunud aine kaaluühikud (grammid või milligrammid) lahuse 1 milliliitris.

Kaaliumpermanganaadi tiitrit ei saa kindlaks teha tema täpse kaalutise põhjal, sest selle tiiter muutub väga kiiresti mitmesuguste redutseerijate, näiteks orgaaniliste ainete mõjul.

KMnO<sub>4</sub> tiiter tehakse kindlaks mingi põhiaine abil, milleks võib olla kas Mohri sool või oblikhape.

KMnO<sub>4</sub> ekvivalentmass =  $\frac{\text{molekulmass}}{5} = \frac{158,03}{5} = 31,60$ . Ühe liitri 0,01 N lahuse valmistamiseks kaalutakse seega 0,32 g KMnO<sub>4</sub>.

KMnO<sub>4</sub> lahustub võrdlemisi aeglaselt, mistõttu seda on vaja pidevalt soojendada ja klaaspulgaga segada. Algul lahustatakse kaaliumpermanganaat väheses vees. Pärast suurema osa aine lahustumist lisatakse vett kuni ühe liitrini. Pudel suletakse korgiga ja pannakse mõneks päevaks pimedasse seisma. Lahust filtreeritakse läbi klaasfiltrit. Paberfiltrit ei tohi kasutada, sest paber ja teised orgaanilised ained redutseerivad kaaliumpermanganaati.

Nüüd määratakse KMnO<sub>4</sub> lahuse tiiter. Selleks valmistatakse põhiaine, näiteks oblikhape 0,01 N mõõtlahus.

Oblikhappe grammekvivalent võrdub poole gramm-molekuliga, s.o. 63,04 grammiga. Seepärast tuleb ühe liitri oblikhappe 0,01 N lahuse valmistamiseks võtta 0,63 g ainet, mis lahustatakse destilleeritud vees.

Pipetiga võetakse 25 ml oblikhappe lahust, lisatakse 10...15 ml 2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-lahust ning soojendatakse temperatuurini 70...80°C. Nüüd tiitritakse 0,01 N KMnO<sub>4</sub>-lahust kuuma oblikhappelahusesse. Tehakse kindlaks moment, mil üks kaaliumpermanganaadiltik värvib kogu lahuse üheks minutiks kahvaturossaks. Tiitrimist korratakse 2...3 korda ja tehtud lugemitest võetakse keskmine.

KMnO<sub>4</sub> lahuse normaalsus leitakse järgmiselt:

$$N_1 = \frac{N_2 V_2}{V_1},$$

kus  $N_1$  on KMnO<sub>4</sub> lahuse normaalsus;

$N_2$  — oblikhappe lahuse normaalsus;

$V_2$  — oblikhappe lahuse maht;

$V_1$  — KMnO<sub>4</sub> lahuse maht.

## Erireaktiivid

Nimetus	Valmistamisjuhised
Baariumhüdroksiidi lahus (barüütvesi) $[Ba(OH)_2]$	Hingamise intensiivsust määratakse 0,02 N baariumhüdroksiidilahusega. Selleks kaalutakse 3,15 g baariumhüdroksiidi ühe liitri vee kohta. $Ba(OH)_2$ lahustub keevas vees. Lahuse valmistamisel ja ülevalamisel teise kolbi kasutatakse sifooni. Barüütveti säilitatakse hermeetiliselt suletud nõus, et vältida õhust süsihappegaasi sidumist.
Difenüülamiin	0,5 g ainet lahustatakse 20 ml destilleeritud vees, millele lisatakse 10 ml kontsentreeritud väävelhapet (tihedus 1,84).
Fehlingi I lahus	40 g ümberkristalliseeritud vask(III)sulfaati lahustatakse vees. Lahust lahjendatakse veega ühe liitrini.
Fehlingi II lahus	200 g Seignette'i soola ( $KNaC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$ ) ja 150 g NaOH lahustatakse vees. Lahust lahjendatakse veega ühe liitrini.
Fenooltaleiin	0,5 g fenoolftaleiini lahustatakse 50 ml alkoholis. Lahust lahjendatakse veega 100 ml-ni.
Höbenitraadi ammoniakaalne lahus	1,7 g $AgNO_3$ , 25 g $KNO_3$ ja 17 ml kontsentreeritud $NH_4OH$ lahustatakse vees. Lahust lahjendatakse veega ühe liitrini.
Joodilahus	1,3 g joodi ja 3 g KI lahustatakse väheses hulgas vees. Lahust lahjendatakse veega ühe liitrini ja säilitatakse pimedas ruumis või tumedas pudelis.
2 N kaaliumhüdroksiidilahus (KOH)	112 g KOH lahustatakse vees. Lahust lahjendatakse veega ühe liitrini.
2 N naatriumhüdroksiidilahus (NaOH)	80 g NaOH lahustatakse vees. Lahust lahjendatakse veega ühe liitrini.
Nessleri reaktiiv	115 g $HgI_2$ ja 80 g KI lahustatakse küllaldases hulgas vees. Saadud lahust lahjendatakse veega 500 milliliitriini. Seejärel lisatakse 500 ml 6 N NaOH-lahust ning segu valatakse sademelt, mis võib tekkida seismisel. Varulahust säilitatakse pimedas.
0,02 N oblikhappelahus ( $H_2C_2O_4$ )	1,26 g oblikhapet lahustatakse vees. Lahust lahjendatakse veega ühe liitrini.
Raudsulfaadi lahus $[Fe_2(SO_4)_3]$	50 g raudsulfaati lahustatakse 300...350 ml vees. Lahusele lisatakse 200 g (108,7 ml) kontsentreeritud väävelhapet tihedusega 1,84. Saadud lahust lahjendatakse veega ühe liitrini.
Millon'i reaktiiv	1 ml elavhõbedat lahustatakse 9 ml kontsentreeritud lämmastikhappes. Segu soojendatakse Hg täieliku lahustumiseni. Siis lisatakse 10 ml vett.
Tärkliselahus	1 g tärklist segatakse väheses hulga külma veega. Saadud segu valatakse 100 ml keevasse vette, keedetakse paar minutit ja jahutatakse.
Vesinikperoksiid (3%-line lahus)	10 ml 30%-list $H_2O_2$ -lahust lahjendatakse veega 100 milliliitriini.

## Fosfaat-tsitraatpuhver

pH	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,2 M lahus ml	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,1 M lahus ml	pH	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,2 M lahus ml	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,1 M lahus ml
2,2	0,40	19,60	5,2	10,72	9,28
2,4	1,24	18,76	5,4	11,15	8,85
2,6	2,18	17,82	5,6	11,60	8,40
2,8	3,17	16,83	5,8	12,09	7,91
3,0	4,11	15,89	6,0	12,63	7,37
3,2	4,94	15,06	6,2	13,22	6,78
3,4	5,70	14,30	6,4	13,85	6,15
3,6	6,44	13,56	6,6	14,55	5,45
3,8	7,10	12,90	6,8	15,45	4,55
4,0	7,71	12,29	7,0	16,47	3,53
4,2	8,28	11,72	7,2	17,39	2,61
4,4	8,82	11,18	7,4	18,17	1,83
4,6	9,35	10,65	7,6	18,73	1,27
4,8	9,86	10,14	7,8	19,15	0,85
5,0	10,30	9,70	8,0	19,45	0,55

## Sahharosilahuste murdumisnäitajad sõltuvalt lahuste kontsentratsioonist (%) temperatuuril 20°C

%	Murdumisnäitaja	%	Murdumisnäitaja	%	Murdumisnäitaja	%	Murdumisnäitaja
0,0	1,3330	12,0	510	23,5	698	35,0	902
1,0	344	12,5	518	24,0	706	35,5	911
1,5	351	13,0	526	24,5	715	36,0	920
2,0	359	13,5	533	25,0	723	36,5	929
2,5	367	14,0	541	25,5	731	37,0	939
3,0	374	14,5	549	26,0	740	37,5	949
3,5	381	15,0	557	26,5	749	38,0	958
4,0	388	15,5	565	27,0	758	38,5	968
4,5	395	16,0	573	27,5	767	39,0	978
5,0	403	16,5	582	28,0	775	39,5	987
5,5	411	17,0	590	28,5	784	40,0	997
6,0	418	17,5	598	29,0	793	40,5	1,4007
6,5	425	18,0	606	29,5	802	41,0	016
7,0	433	18,5	614	30,0	811	41,5	026
7,5	441	19,0	622	30,5	820	42,0	036
8,0	448	19,5	631	31,0	829	42,5	046
8,5	456	20,0	639	31,5	838	43,0	056
9,0	464	20,5	647	32,0	847	43,5	066
9,5	471	21,0	655	32,5	856	44,0	076
10,0	479	21,5	663	33,0	865	44,5	086
10,5	487	22,0	672	33,5	874	45,0	096
11,0	494	22,5	681	34,0	883	45,5	107
11,5	502	23,0	689	34,5	893	46,0	117

%	Murdumis- näitaja	%	Murdumis- näitaja	%	Murdumis- näitaja	%	Murdumis- näitaja
46,5	127	55,0	307	63,5	497	72,0	700
47,0	137	55,5	318	64,0	509	72,5	713
47,5	147	56,0	329	64,5	521	73,0	725
48,0	158	56,5	340	65,0	532	73,5	737
48,5	169	57,0	351	65,5	544	74,0	749
49,0	179	57,5	362	66,0	558	74,5	762
49,5	189	58,0	373	66,5	570	75,0	774
50,0	200	58,5	385	67,0	581	75,5	787
50,5	211	59,0	396	67,5	593	76,0	799
51,0	221	59,5	407	68,0	605	76,5	812
51,5	231	60,0	418	68,5	616	77,0	825
52,0	242	60,5	429	69,0	628	77,5	838
52,5	253	61,0	441	69,5	639	78,0	850
53,0	264	61,5	453	70,0	651	78,5	863
53,5	275	62,0	464	70,5	663	79,0	876
54,0	285	62,5	475	71,0	676	79,5	888
54,5	296	63,0	486	71,5	688	80,0	901

## Sahharoosilahuste osmootne rõhk temperatuuril 20°C

Lahuse kontsent- ratsioon M	Osmootne rõhk at	Lahuse kontsent- ratsioon M	Osmootne rõhk at	Lahuse kontsent- ratsioon M	Osmootne rõhk at
0,00	0,0	0,75	23,4	1,50	65,8
0,05	1,3	0,80	25,5	1,55	69,7
0,10	2,6	0,85	27,6	1,60	73,9
0,15	3,9	0,90	29,7	1,65	78,3
0,20	5,3	0,95	32,1	1,70	83,0
0,25	6,7	1,00	34,6	1,75	88,0
0,30	8,2	1,05	37,2	1,80	93,2
0,35	9,6	1,10	39,8	1,85	98,7
0,40	11,1	1,15	42,5	1,90	104,5
0,45	12,7	1,20	45,4	1,95	110,3
0,50	14,3	1,25	48,4	2,00	116,0
0,55	15,9	1,30	51,6	2,05	123,1
0,60	17,7	1,35	54,9	2,10	130,1
0,65	19,6	1,40	58,4	2,15	137,3
0,70	21,5	1,45	62,1		

Temperatuuri parandus sahharoosi määramiseks refraktomeetril PJIV

Temperatuur °C	Sahharoos %-des									
	5	10	15	20	30	40	50	60	70	75
	Lahutada leitud näidust									
15	0,25	0,27	0,31	0,31	0,34	0,35	0,36	0,37	0,36	0,36
16	0,21	0,23	0,26	0,27	0,29	0,31	0,31	0,32	0,31	0,29
17	0,16	0,18	0,20	0,20	0,28	0,23	0,23	0,23	0,20	0,17
18	0,11	0,12	0,14	0,14	0,15	0,16	0,16	0,15	0,12	0,09
19	0,06	0,07	0,08	0,08	0,08	0,09	0,09	0,07	0,07	0,05
	Liita leitud näidule									
21	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
22	0,12	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,14	0,14	0,14
23	0,18	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,23	0,21	0,22	0,22
24	0,24	0,26	0,26	0,27	0,28	0,28	0,30	0,28	0,29	0,29
25	0,30	0,32	0,32	0,34	0,36	0,36	0,38	0,36	0,36	0,37
26	0,36	0,39	0,39	0,41	0,43	0,43	0,46	0,44	0,43	0,44
27	0,43	0,46	0,46	0,48	0,50	0,51	0,55	0,52	0,50	0,51
28	0,50	0,53	0,53	0,55	0,58	0,59	0,63	0,60	0,57	0,59
29	0,57	0,60	0,61	0,62	0,66	0,67	0,71	0,68	0,65	0,67
30	0,64	0,67	0,70	0,71	0,74	0,75	0,80	0,76	0,73	0,75

Erinevate kontsentratsioonidega sahharoosilahuste tihedus

Tihedus	%	g/l	Tihedus	%	g/l
1,002	1	10,02	1,104	25	275,9
1,006	2	20,12	1,108	26	288,1
1,010	3	30,30	1,113	27	300,5
1,014	4	40,56	1,118	28	312,9
1,018	5	50,89	1,122	29	325,4
1,022	6	61,31	1,127	30	338,1
1,026	7	71,81	1,132	31	350,8
1,030	8	82,40	1,137	32	363,7
1,034	9	93,06	1,142	33	376,7
1,038	10	103,8	1,146	34	389,8
1,042	11	114,7	1,151	35	402,9
1,046	12	125,6	1,156	36	416,2
1,051	13	136,6	1,161	37	429,7
1,055	14	147,7	1,166	38	443,2
1,059	15	158,9	1,171	39	456,8
1,064	16	170,2	1,176	40	470,6
1,068	17	181,5	1,182	41	484,5
1,072	18	193,0	1,187	42	498,4
1,076	19	204,5	1,192	43	512,6
1,081	20	216,2	1,197	44	526,8
1,085	21	227,9	1,202	45	541,4
1,090	22	239,8	1,208	46	555,6
1,094	23	251,7	1,213	47	570,2
1,099	24	263,8	1,219	48	584,9

Tihedus	%	g/l	Tihedus	%	g/l
1,224	49	599,8	1,347	70	943,0
1,230	50	614,8	1,354	71	961,0
1,235	51	629,9	1,360	72	979,0
1,241	52	645,1	1,366	73	997,3
1,246	53	660,5	1,372	74	1016
1,252	54	676,0	1,379	75	1034
1,258	55	691,6	1,385	76	1053
1,263	56	707,4	1,392	77	1072
1,269	57	723,3	1,398	78	1091
1,275	58	739,4	1,405	79	1110
1,281	59	755,6	1,412	80	1129
1,286	60	771,9	1,418	81	1149
1,292	61	788,3	1,425	82	1169
1,298	62	804,9	1,432	83	1188
1,304	63	821,7	1,439	84	1208
1,310	64	838,6	1,445	85	1229
1,316	65	855,6	1,452	86	1249
1,322	66	872,8	1,459	87	1269
1,329	67	890,1	1,466	88	1290
1,335	68	907,6	1,473	89	1311
1,341	69	925,2			

## Indikaatorlahuste skaala

Indikaatori nimetus	pK	pH piirid	Värvus		Kontsentratsioon %	0,1 N NaOH-lahuse hulk ml-tes 0,1 g indikaatori kohta
			happelisel vormil	aluselisel vormil		
Tümoosinine Metüüloranž	1,7	1,2 ... 2,8	Punane	Kollane	0,04	2,15
	3,7	3,1 ... 4,5	Punane	Kollakas-oranž	0,05	0,00
Broomfenoosinine Broomkresool-roheline	4,0	3,0 ... 4,6	Kollane	Sinine	0,04	1,50
	4,7	3,8 ... 5,4	Kollane	Sinine	0,04	1,45
Metüülpunane Broomkresool-purpur	5,1	4,4 ... 6,0	Punane	Kollane	0,02	3,70
	6,3	5,2 ... 6,8	Kollane	Purpur-punane	0,04	1,85
Broomtümoosinine	7,0	6,0 ... 7,6	Kollakas-roheline	Sinine	0,04	1,60
Fenoolpunane	7,9	6,8 ... 8,4	Kollane	Punane	0,02	2,85
Kresoolpunane	8,3	7,2 ... 8,8	Kollane	Punane	0,02	2,65
Tümoosinine	8,9	8,0 ... 9,6	Kollane	Sinine	0,04	2,15

## Reaktiivid keemilisteks analüüsideks

Reaktiivi nimetus	Valem	Molekul- mass
1	2	3
Alumiiniumammooniummaarjas	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$	906,69
Alumiiniumkaaliummaarjas	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$	948,81
Alumiinoon	$\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{O}_9\text{N}_3$	473,42
Alumiiniumnitraat	$\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	375,15
Alumiiniumsulfaat	$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$	666,45
Ammooniumatsetaat	$\text{CH}_3\text{COONH}_4$	77,08
Ammooniumvesinikkarbonaat	$\text{NH}_4\text{HCO}_3$	79,06
Ammooniumfluoriid	$\text{NH}_4\text{F}$	37,04
Ammooniumhüdroksiid	$\text{NH}_4\text{OH}$	35,05
Ammooniumkarbonaat	$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	114,11
Ammooniumkloriid	$\text{NH}_4\text{Cl}$	53,50
Ammooniummolüüdaat	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1235,90
Ammooniumnitraat	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	80,05
Ammooniumperoksoodisulfaat	$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$	228,21
Ammooniumsulfaat	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	132,15
Ammooniumtiotsüanaat	$\text{NH}_4\text{SCN}$	76,13
Ammooniummetavanadaat	$\text{NH}_4\text{VO}_3$	116,99
Ammooniumoksalaaat	$(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	142,12
Ammooniumraudmaarjas	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$	964,43
Baariumatsetaat	$\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	273,46
Baariumhüdroksiid	$\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	315,50
Baariumkloriid	$\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	224,31
Baariumnitraat	$\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$	261,38
Berthollet' sool vt. kaaliumkloraat	$\text{KClO}_3$	122,55
Boorhape	$\text{H}_3\text{BO}_3$	61,84
Booraks vt. naatriumtetraboraat	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	381,42
d-viinhape	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$	149,98
Diammooniumvesinikfosfaat	$(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{HPO}_4$	132,07
Difenüülamiin	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}$	169,23
Difenüülkarbasiid	$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{ON}_4$	242,29
Difenüülkarbasoon	$\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ON}_4$	240,26
Elavhõbe(II) jodiid	$\text{HgI}_2$	454,44
Elavhõbe(II) kloriid	$\text{HgCl}_2$	271,52
Elavhõbe(I) nitraat	$\text{HgNO}_3$	262,56
Elavhõbe(II) nitraat	$\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$	324,53
Fenüülantraniilhape	$\text{C}_{13}\text{H}_{11}\text{O}_2\text{N}$	213,23
Fluorvesnik	$\text{HF}$	20,01
Glükoos	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$	180,17
Glütseriin	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$	92,09
Höbenitraat	$\text{AgNO}_3$	169,89
Höbesulfaat	$\text{Ag}_2\text{SO}_4$	311,83
Jood (metalliline)	$\text{I}_2$	253,80
Kaadmiumatsetaat	$(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cd} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	266,53
Kaadmiumnitraat	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	308,49
Kaadmiumsulfaat	$\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	769,56
Kaaliumbromaat	$\text{KBrO}_3$	167,02
Kaaliumbromiid	$\text{KBr}$	119,02
Kaaliumbiftalaat	$\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$	204,22
Kaaliumdikromaat	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	294,22

1	2	3
Kaaliumfluoriid	KF · 2H <sub>2</sub> O	94,13
Kaaliumheksatsüanoferraat(II) (kollane veresool)	K <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] · 3H <sub>2</sub> O	422,41
Kaaliumheksatsüanoferraat(III) (punane veresool)	K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	329,27
Kaaliumhüdrosiid	KOH	56,11
Kaaliumiodaat	KIO <sub>3</sub>	214,01
Kaaliumjodiid	KI	166,01
Kaaliumkarbonaat (potas)	K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	138,21
Kaaliumkloriid	KCl	74,56
Kaaliumkloraat	KClO <sub>3</sub>	122,55
Kaaliumkromaat	K <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub>	194,21
Kaaliumdivesinikfosfaat	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	136,10
Kaaliumnaatriumkarbonaat	KNaCO <sub>3</sub> · 6H <sub>2</sub> O	230,20
Kaaliumnaatriumtartraat (Seignette'i sool)	KNaC <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> · 4H <sub>2</sub> O	282,23
Kaaliumnitrit	KNO <sub>2</sub>	85,11
Kaaliumnitraat	KNO <sub>3</sub>	101,11
Kaaliumperjodaat	KIO <sub>4</sub>	230,01
Kaaliumpermanganaat	KMnO <sub>4</sub>	158,04
Kaaliumperoksodisulfaat	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	270,33
Kaaliumdisulfaat	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	254,33
Kaaliumtiotsüanaat	KSCN	97,18
Kaaliumsulfaat	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	174,27
Kaaliumvesiniksulfaat	KHSO <sub>4</sub>	136,17
Kaaliumvesinikkarbonaat	KHCO <sub>3</sub>	100,12
Kaltsiumatsetaat	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Ca · 2H <sub>2</sub> O	176,18
Kaltsiumfosfaat	Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	310,20
Kaltsiumhüdrosiid	Ca(OH) <sub>2</sub> · H <sub>2</sub> O	92,10
Kaltsiumkarbonaat	CaCO <sub>3</sub>	100,09
Kaltsiumkloriid	CaCl <sub>2</sub>	110,99
Kaltsiumkloriid (granuleeritud)	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	147,03
Kaltsiumkloriid (kristalliline)	CaCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	219,09
Kaltsiumnitraat	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	164,10
Kaltsiumoksiid	CaO	56,08
Kaltsiumsulfaat	CaSO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	172,18
Kaltsiumvesinikfosfaat	CaHPO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	172,09
Koobalkloriid	CoCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	237,95
Koobaltnitraat	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	291,05
Koobaltsulfaat	CoSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	281,12
Kinhüdroom	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>	218,20
Kloorhape	HClO <sub>4</sub>	100,47
Kroomkaaliummaarjas	Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> · K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> · 24H <sub>2</sub> O	998,87
Kroomtrioksiid	CrO <sub>3</sub>	100,01
Kusihape	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>3</sub> N <sub>4</sub>	168,11
Lämmastikhape	HNO <sub>3</sub>	63,02
Magneesiumatsetaat	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Mg · 4H <sub>2</sub> O	214,47
Magneesiumkloriid	MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	203,33
Magneesiumnitraat	Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	256,43
Magneesiumoksiid	MgO	40,32
Magneesiumperkloraat (veevaba)	Mg(ClO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	223,13
Magneesiumsulfaat	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	246,50
Mangaänkarbonaat	MnCO <sub>3</sub>	114,95

1	2	3
Mangaankloriid	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	197,92
Mangaannitraat	$\text{Mn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	287,05
Mangaansulfaat	$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	277,11
Manniit	$\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$	182,18
Merevaikhape (butaandihape)	$\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4$	118,09
Mohri sool (ammooniumraud(II)-sulfaat)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{FeSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	392,16
Molübdeen(VI) oksiid	$\text{MoO}_3$	143,91
Mureksiid	$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_6\text{N}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$	300,08
Naatriumatsetaat	$\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	136,09
Naatribromaat	$\text{NaBrO}_3$	150,90
Naatriumdikromaat	$\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	298,04
Naatriumdivesinikfosfaat	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	156,02
Naatriumfluoriid	$\text{NaF}$	42,00
Naatriumhüdrosiid	$\text{NaOH}$	40,00
Naatriumfluorosilikaat	$\text{Na}_2\text{SiF}_6$	188,07
Naatriumjodaat	$\text{NaIO}_3$	197,91
Naatriumkarbonaat (veevaba)	$\text{Na}_2\text{CO}_3$	106,00
Naatriumkarbonaat (kristalliline)	$\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	286,15
Naatriumheksanitrokobaltaat(III)	$\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6] \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$	412,99
Naatriumkloriid	$\text{NaCl}$	58,44
Naatriumnitrit	$\text{NaNO}_2$	69,00
Naatriumnitraat	$\text{NaNO}_3$	85,00
Naatriumoksalaat	$\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$	134,01
Naatriumperoksodisulfaat	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$	238,11
Naatriumdisulfaat	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_7$	222,11
Naatriumsulfaat	$\text{Na}_2\text{SO}_4$	142,06
Naatriumsulfaat (kristalliline)	$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	322,21
Naatriumsulfit (veevaba)	$\text{Na}_2\text{SO}_3$	126,05
Naatriumsulfit (kristalliline)	$\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	252,17
Naatriumsulfiid (kristalliline)	$\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	240,20
Naatriumvesiniktarttraat	$\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	230,10
Naatriumtiosulfaat	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	248,21
Naatriumtiotsüanaat	$\text{NaSCN}$	81,08
Naatriumtsitraat	$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5,5\text{H}_2\text{O}$	357,18
Dinaatriumvesinikfosfaat	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	358,17
Naatriumvesinikkarbonaat	$\text{NaHCO}_3$	84,01
Naatriumvesiniksulfaat	$\text{NaHSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	138,09
Naatriumditionit	$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	210,15
Naatriumtrioksobismutaat	$\text{NaBiO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	—
Nikkelkloriid	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	237,70
Nikkelnitraat	$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	290,80
$\alpha$ -nitrooso- $\beta$ -naftool	$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$	173,16
Oblikhape (etaandihape)	$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	126,07
Ooleum	$\text{H}_2\text{SO}_4 \cdot n\text{SO}_3$	—
Ortofosforhape	$\text{H}_3\text{PO}_4$	98,00
Pikriinhape	$\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_7\text{N}_3$	229,11
Pürogallool (benseentriool)	$\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$	126,12
Raud(III) kloriid	$\text{FeCl}_3$	162,22
Raud(III) kloriid (kristalliline)	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	270,32
Raud (metalliline)	$\text{Fe}$	aatommass 55,85
Raud(II) sulfaat	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	278,03

1	2	3
Raud(III)sulfaat	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	562,04
Salitsüülhape (2-hüdroksü- benseenkarboksüülhape)	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$	138,13
Seleen (metalliline)	Se	aatom- mass
Sidrunhape	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	78,96
Soolhape (vesinikkloriid)	HCl	210,14
Sulfosalitsüülhape (sulfo-2-hüdroksü- benseenkarboksüülhape)	$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_6\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	36,47
Tina (II) kloriid	$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	254,22
Tsink (metalliline)	Zn	225,65
		aatom- mass
		65,38
Tsinkatsetaat	$(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	219,50
Tsinkkloriid (veevaba)	$\text{ZnCl}_2$	136,29
Tsinksulfaat	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	287,56
Vask(II) kloriid	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	170,49
Vaskoksiid	CuO	79,54
Vasknitraat	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	241,60
Vasksulfaat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	249,69
Vesinikperoksiid	$\text{H}_2\text{O}_2$	34,02
Väävelhape	$\text{H}_2\text{SO}_4$	98,08
Aädikhape (98% ... 99%) (etaanhape)	$\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$	60,05

Tugevate hapete, aluste ja ammoniaagilahuste tihedus temperatuuril 20°C

Konts. %	$\text{H}_2\text{SO}_4$	$\text{HNO}_3$	HCl	KOH <sup>1</sup>	NaOH	$\text{NH}_3$
2	1,012	1,009	1,008	1,016	1,021	0,990
4	1,025	1,020	1,018	1,033	1,043	0,981
6	1,038	1,031	1,028	1,048	1,065	0,973
8	1,052	1,043	1,038	1,065	1,087	0,965
10	1,066	1,054	1,047	1,082	1,109	0,958
12	1,080	1,066	1,057	1,100	1,131	0,950
14	1,095	1,078	1,068	1,118	1,153	0,943
16	1,109	1,090	1,078	1,137	1,175	0,936
18	1,124	1,103	1,088	1,156	1,197	0,930
20	1,139	1,115	1,098	1,176	1,219	0,923
22	1,155	1,128	1,108	1,196	1,241	0,916
24	1,170	1,140	1,119	1,217	1,263	0,910
26	1,186	1,153	1,129	1,240	1,285	0,904
28	1,202	1,167	1,139	1,263	1,306	0,898
30	1,219	1,180	1,149	1,286	1,328	0,892
32	1,235	1,193	1,159	1,310	1,349	—
34	1,252	1,207	1,169	1,334	1,370	—
36	1,268	1,221	1,179	1,358	1,390	—
38	1,284	1,234	1,189	1,384	1,410	—
40	1,303	1,246	—	1,411	1,430	—
42	1,321	1,259	—	1,437	1,449	—
44	1,338	1,272	—	1,460	1,469	—

Konts. %	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	HNO <sub>3</sub>	HCl	KOH <sup>1</sup>	NaOH	NH <sub>3</sub>
46	1,357	1,285	—	1,485	1,487	—
48	1,376	1,298	—	1,511	1,507	—
50	1,395	1,310	—	1,538	1,525	—
52	1,415	1,322	—	1,564	—	—
54	1,435	1,334	—	1,590	—	—
56	1,456	1,345	—	1,616	—	—
58	1,477	1,356	—	—	—	—
60	1,498	1,367	—	—	—	—
62	1,520	1,377	—	—	—	—
64	1,542	1,387	—	—	—	—
66	1,565	1,396	—	—	—	—
68	1,587	1,405	—	—	—	—
70	1,611	1,413	—	—	—	—
72	1,634	1,422	—	—	—	—
74	1,657	1,430	—	—	—	—
76	1,681	1,438	—	—	—	—
78	1,704	1,445	—	—	—	—
80	1,727	1,452	—	—	—	—
82	1,749	1,459	—	—	—	—
84	1,769	1,466	—	—	—	—
86	1,787	1,472	—	—	—	—
88	1,802	1,477	—	—	—	—
90	1,814	1,483	—	—	—	—
92	1,824	1,487	—	—	—	—
94	1,831	1,491	—	—	—	—
96	1,835	1,495	—	—	—	—
98	1,836	1,501	—	—	—	—
100	1,831	1,513	—	—	—	—

<sup>1</sup> KOH lahuste tihedused vastavad temperatuurile 15°C.

Lisa 12

## Lahuste valmistamine (ml/l)

Kontsentratsioonid happed ja alused	Aine tihedus t° 15°C	Aine massi %	25%	20%	10%	5%	2%	1%
HCl	1,19	37,23	634,8	496,8	236,4	115,2	45,2	22,6
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,84	95,6	167,7	129,9	60,6	29,3	11,5	5,6
HNO <sub>3</sub>	1,40	65,6	313,0	243,6	115,0	56,0	22,0	10,8
CH <sub>3</sub> COOH	1,05	99,5	247,8	196,7	97,1	48,2	19,2	9,0
NH <sub>4</sub> OH	0,91	25,0	1000,0	814,0	422,0	215,4	87,2	43,7

Invertsuhkrute määramise tabel (mg)

Suhkur	Vask	Suhkur	Vask	Suhkur	Vask	Suhkur	Vask	Suhkur	Vask
10	20,6	28	55,5	46	88,3	64	119,2	82	148,5
11	22,6	29	57,4	47	90,1	65	120,9	83	150,0
12	24,6	30	59,3	48	91,9	66	122,6	84	151,6
13	26,5	31	61,1	49	93,6	67	124,2	85	153,2
14	28,5	32	63,0	50	95,4	68	125,9	86	154,8
15	30,5	33	64,8	51	97,1	69	127,5	87	156,4
16	32,5	34	66,7	52	98,8	70	129,2	88	157,9
17	34,5	35	68,5	53	100,6	71	130,8	89	159,5
18	36,4	36	70,3	54	102,4	72	132,4	90	161,1
19	38,4	37	72,2	55	104,0	73	134,0	91	162,6
20	40,4	38	74,0	56	105,7	74	135,6	92	164,2
21	42,3	39	75,9	57	107,4	75	137,2	93	165,7
22	44,2	40	77,7	58	109,2	76	138,9	94	167,3
23	46,1	41	79,5	59	110,9	77	140,5	95	168,8
24	48,0	42	81,2	60	112,6	78	142,1	96	170,3
25	49,8	43	83,0	61	114,3	79	143,7	97	171,9
26	51,7	44	84,8	62	115,8	80	145,3	98	173,4
27	53,6	45	86,5	63	117,6	81	146,9	99	175,0
								100	176,5

Glükoosi määramise tabel (mg)

Suhkur	Vask	Suhkur	Vask	Suhkur	Vask	Suhkur	Vask	Suhkur	Vask
10	20,4	28	55,3	46	88,2	64	119,6	82	149,3
11	22,4	29	57,2	47	90,0	65	121,3	83	150,9
12	24,3	30	59,1	48	91,8	66	123,0	84	152,5
13	26,3	31	60,9	49	93,6	67	124,7	85	154,0
14	28,3	32	62,8	50	95,4	68	126,4	86	155,6
15	30,2	33	64,6	51	97,1	69	128,1	87	157,2
16	32,2	34	65,5	52	98,9	70	129,8	88	162,0
17	34,2	35	68,3	53	100,6	71	131,4	89	163,6
18	36,2	36	70,1	54	102,3	72	133,1	90	165,2
19	38,1	37	72,0	55	104,1	73	134,7	91	166,7
20	40,1	38	73,8	56	105,8	74	136,3	92	168,3
21	42,0	39	75,7	57	107,6	75	137,9	93	158,8
22	43,9	40	77,5	58	109,3	76	139,6	94	160,4
23	45,8	41	79,3	59	111,1	77	141,2	95	169,9
24	47,7	42	81,1	60	112,8	78	142,8	96	171,5
25	49,6	43	82,9	61	114,5	79	144,5	97	173,1
26	51,5	44	84,7	62	116,1	80	146,1	98	174,6
27	53,4	45	86,4	63	117,9	81	147,7	99	176,2
								100	177,8

## Maltoosi määramise tabel (mg)

Suhkur	Vask	Suhkur	Vask	Suhkur	Vask	Suhkur	Vask	Suhkur	Vask
10	11,2	28	31,1	46	50,6	64	70,0	82	89,4
11	12,3	29	32,2	47	51,7	65	71,1	83	90,4
12	13,4	30	33,3	48	52,8	66	72,2	84	91,5
13	14,5	31	34,4	49	53,9	67	73,3	85	92,6
14	15,6	32	35,5	50	55,0	68	74,3	86	93,7
15	16,7	33	36,5	51	56,1	69	75,4	87	94,8
16	17,8	34	37,6	52	57,1	70	76,5	88	95,8
17	18,9	35	38,7	53	58,2	71	77,6	89	96,9
18	20,0	36	39,8	54	59,3	72	78,6	90	98,0
19	21,1	37	40,9	55	60,3	73	79,6	91	99,0
20	22,2	38	41,9	56	61,4	74	80,8	92	100,1
21	23,3	39	43,0	57	62,5	75	81,8	93	101,1
22	24,4	40	44,1	58	63,5	76	82,9	94	102,2
23	25,5	41	45,2	59	64,6	77	84,0	95	103,2
24	26,6	42	46,3	60	65,7	78	85,1	96	104,2
25	27,7	43	47,4	61	66,8	79	86,1	97	105,3
26	28,9	44	48,5	62	67,9	80	87,2	98	106,3
27	30,0	45	49,5	63	68,9	81	88,3	99	107,4
								100	108,4

Lisa 16

## Tiitrimislahuste koostised ühe liitri kohta

Aine nimetus	Molekul- mass	1 N	0,5 N	0,2 N	0,1 N	0,05 N	0,02 N	0,01 N
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , tihedus 1,84	98,08	28 ml	14 ml	5,6 ml	2,8 ml	1,4 ml	0,56 ml	0,28 ml
HCl, tihedus 1,19	36,46	82 ml	41 ml	16,4 ml	8,2 ml	4,1 ml	1,64 ml	0,82 ml
H <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	126,07	—	—	—	6,30 g	3,15 g	1,26 g	0,63 g
KMnO <sub>4</sub> , hapeline keskkond	158,03	—	—	—	3,16 g	1,58 g	0,63 g	0,32 g
NaOH	40,00	40,00 g	20,00 g	8,00 g	4,00 g	2,00 g	0,80 g	0,40 g
KOH	56,11	56,11 g	28,06 g	11,20 g	5,60 g	2,80 g	1,12 g	0,56 g
Ba(OH) <sub>2</sub> · 8H <sub>2</sub> O	315,50	157,75 g	78,88 g	31,54 g	15,77 g	7,88 g	3,15 g	1,58 g
AgNO <sub>3</sub>	169,89	—	—	—	17,00 g	8,50 g	3,40 g	1,70 g
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> · 5H <sub>2</sub> O	248,21	—	—	—	24,80 g	12,40 g	5,00 g	2,50 g
FeSO <sub>4</sub> · (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> · 6H <sub>2</sub> O	392,16	—	—	78,40 g	39,20 g	19,60 g	7,84 g	3,92 g
(Mohri sool)	294,22	—	—	9,81 g	4,90 g	2,45 g	0,98 g	0,49 g
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	—	—	—	—	—	—	—	—

## Mõnede elementide aatommassid

Elemendi nimetus	Sümbol	Aatom-mass	Elemendi nimetus	Sümbol	Aatom-mass
Alumiinium	Al	26,9815	Molübdeen	Mo	95,94
Antimon	Sb	121,75	Naatrium	Na	22,9898
Arsen	As	74,9216	Nikkel	Ni	58,71
Baarium	Ba	137,34	Pallaadium	Pd	106,4
Boor	B	10,811	Plaatina	Pt	195,09
Broom	Br	79,909	Plii	Pb	207,19
Elavhõbe	Hg	200,59	Raadium	Ra	226,05
Fluor	F	18,9984	Raud	Fe	55,847
Fosfor	P	30,9738	Räni	Si	28,086
Hapnik	O	15,9994	Seleen	Se	78,96
Hõbe	Ag	107,870	Strontsium	Sr	87,62
Jood	I	126,9044	Süsinik	C	12,01115
Kaadmium	Cd	112,40	Tina	Sn	118,69
Kaalium	K	39,102	Titaan	Ti	47,90
Kaltsium	Ca	40,08	Tseesium	Cs	132,905
Kloor	Cl	35,453	Tsink	Zn	65,37
Koobalt	Co	58,9332	Uraan	U	238,03
Kroom	Cr	51,996	Vanaadium	V	50,942
Kuld	Au	196,957	Vask	Cu	63,54
Liitium	Li	6,939	Vesinik	H	1,00797
Lämmastik	N	14,0067	Vismut	Bi	208,980
Magneesium	Mg	24,312	Volfram	W	183,85
Mangaan	Mn	54,9381	Väävel	S	32,064

## Lisa 18

## Ohutustehnikast taimefüsioloogia praktikumis

Laboratoorsete tööde tegemisel tuleb rangelt kinni pidada ohutustehnika eeskirjadest. Tööd, mis tehakse tömbekapis, on märgitud juhendis. Erireaktiivide valmistamine tugevate hapete ja alustega nõuab kuumakindlaid nõusid. Taimefüsioloogia praktikumi algul peab iga üliõpilane tutvuma järgmiste ohutusreeglitega.

1. Enne katse algust kontrollida katsevahendite puhtust.
2. Kõik reaktsioonideks vajalikud reaktiivid võtta täpselt eeskirjades antud kogustes ja kontsentratsioonides.
3. Kontrollida katseks võetava aine etiketti.
4. Kontsentreeritud hapete lahendamisel valada hapet vette, mitte vastupidi.
5. Katseklaasi kuumutamisel mitte hoida ava enese ega naabri suunas.
6. Kuumutamisel hoida katseklaasi vastava klambri abil, selle puudumisel aga paberiribaga.
7. Hoiduda reaktiivide maitsmisest.
8. Kui töötatakse kergesti süttivate ainetega, tuleb jälgida, et läheduses ei oleks lahtist tuld ega küttekehi.
9. Kui nahale satub kontsentreeritud hapet, tuleb seda kohta pesta rohke veega ja seejärel neutraliseerida 5% -lise soodalahusega.
- Leelise sattumisel nahale tuleb nahka hoolikalt pesta veega ja neutraliseerida äädik- või sidrunhappega.
10. Käte põletamisel kuuma esemega tuleb põletatud kohta niisutada kontsentreeritud  $\text{KMnO}_4$ -lahusega.



## KIRJANDUS

- Aleksejev, V. N., Kvalitatiivne keemiline poolmikroanalüüs, Tallinn, 1965.
- Brauner, L. und Bukatsch, F., Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum. Jena, 1964.
- Konsip, A., Toidukaupade analüüsi praktikum I ja II. TRU, 1964, 1966.
- Rapport, S. M. und Raderecht, H.-J., Physiologisch-chemisches Praktikum. 4. Auflage. Berlin, 1965.
- Академия Наук СССР институт научной информации. Номенклатура ферментов. М., 1966.
- Аринушкина Е. В., Руководство по химическому анализу почв. М., 1961.
- Баславская С. С., Трубецкова О. М., Практикум по физиологии растений. М., 1964.
- Валтер О. А., Пиневиц Л. М., Варасова Н. Н., Практикум по физиологии растений с основами биохимии. М.-Л., 1957.
- Вознесенский В. Л., Заленский О. В., Семихатова О. А., Методы исследования фотосинтеза и дыхания растений. М.-Л., 1965.
- Диксон М. и Уэбб Э. Ферменты. М., 1966.
- Ермаков А. И., Арасимович В. В., Смирнова-Иконникова М. И., Мурри И. К., Методы биохимического исследования растений. М.-Л., 1952.
- Зёдинг Г., Ростовые вещества. М., 1955.
- Лабораторные занятия по физиологии растений. Под редакцией А. А. Яценко-Хчелевского. Л., 1963.
- Ничипорович А. А., Световое и углеродное питание растений. М., 1955.
- Петров К. П., Практикум по биохимии пищевого растительного сырья. М., 1965.
- Плешков Б. П., Практикум по биохимии растений. М., 1968.
- Пособие для практических занятий по физиологии растений. Под редакцией И. И. Гуннар. М., 1956.
- Радов А. С., Пустовой И. В., Корольков А. В., Практикум по агрохимии. М., 1965.
- Сакс А. И., Мельник Т. К., Практикум по физиологии и биохимии растений для агрономов. Новосибирск, 1962.
- Семихатова О. А., Чулановская М. В., Манометрические методы изучения дыхания и фотосинтеза растений. М.-Л., 1965.
- Сисакян Н. М., Ферментативная активность протоплазменных структур. М., 1951.
- Сказкин Ф. Д., Ловчиновская Е. И., Миллер М. С., Аникиев В. В., Практикум по физиологии растений. М., 1958.
- Штруггер З., Практикум по физиологии растительных клеток и тканей. М., 1953.

## SISUKORD

	Lk.
Saateks . . . . .	5
<b>I. Raku ja kudede füsioloogia</b> . . . . .	7
Töö 1. Traube kunstliku raku valmistamine . . . . .	7
Töö 2. Plasmolüüs ja deplasmolüüs . . . . .	8
Töö 3. Rakumahla osmootse rõhu määramine plasmolüüsimeetodil . . . . .	9
Töö 4. Osmomeetri valmistamine ja osmootse rõhu määramine . . . . .	10
Töö 5. Rakkude imamisjõu määramine V. S. Šardakovi meetodil . . . . .	11
Töö 6. Tsütoplasma viskoossuse määramine tsentrifuugil . . . . .	13
Töö 7. Kaaliumnitraadi mõju tsütoplasma viskoossusele . . . . .	13
Töö 8. Elusa ja eluta raku membraanide läbilaskvus . . . . .	14
Töö 9. Rakkude värvimine vitaalsete värvidega . . . . .	14
Töö 10. Taimekudede isoelektrilise täpi määramine . . . . .	15
Töö 11. Adsorptsiooninähtus . . . . .	17
Töö 12. Seotud vee määramine taimekudedes . . . . .	18
Töö 13. Suhkrute tsütoplasmat kaitsev mõju miinustemperatuuridel . . . . .	21
<b>II. Veemajandus</b> . . . . .	22
Töö 14. Transpiratsiooni intensiivsuse määramine kaalumismeetodil . . . . .	22
Töö 15. Transpiratsiooni intensiivsuse määramine torsioonkaaludega . . . . .	23
Töö 16. Transpiratsiooni intensiivsuse võrdlemine lehe ülemisel ja alumisel poolel . . . . .	24
Töö 17. Transpiratsiooni intensiivsuse määramine transpiromeetriga . . . . .	24
Töö 18. Transpiratsiooni intensiivsuse määramine mahumeetodil . . . . .	26
Töö 19. Ohulõhede seisundi määramine Molischi infiltratsioonimeetodil . . . . .	26
Töö 20. Ohulõhede liikumise jälgimine mikroskoobis . . . . .	27
Töö 21. Juurerõhu kindlakstegemine . . . . .	27
Töö 22. Vee imamise kiiruse määramine . . . . .	29
Töö 23. Vee tõus taimede kudedes . . . . .	29
Töö 24. Lehtede imav tegevus . . . . .	30
Töö 25. Taimlehtede imamisjõu dünaamika päeva jooksul . . . . .	31
Töö 26. Lehtede veesisalduse dünaamika päeva jooksul . . . . .	32
Töö 27. Lehtedes seotud vee hulga päevase dünaamika määramine . . . . .	33
<b>III. Fotosüntees ja hingamine</b> . . . . .	34
Töö 28. Lehepigmentide ekstraheerimine . . . . .	34

Töö 29.	Pigmentide eraldamine Krause meetodil . . . . .	34
Töö 30.	Karotinoidide eraldamine Timirjazevi meetodil . . . . .	35
Töö 31.	Lehepigmentide eraldamine Tsweti adsorptsioonimeetodil . . . . .	35
Töö 32.	Leelise toime klorofüllisse . . . . .	37
Töö 33.	Feofütiini saamine . . . . .	37
Töö 34.	Pigmentide lahuse neeldumisspektri määramine . . . . .	38
Töö 35.	Klorofüllilahuse vaatlemine langevas ja läbivas valguses . . . . .	39
Töö 36.	Klorofüllihulga määramine taimelehtedes visuaalse kolorimeetriga . . . . .	39
Töö 37.	Klorofüllihulga määramine fotoelektrikolorimeetriga (FEK-M) . . . . .	41
Töö 38.	Karotiinilahuse valmistamine ja karotiinihulga määramine . . . . .	43
Töö 39.	Karotiini- ja ksantofüllisisalduse määramine taimekudedes . . . . .	44
Töö 40.	Taimelehe pigmentide paberchromatograafia . . . . .	45
Töö 41.	Tärglise moodustumine valguses . . . . .	46
Töö 42.	Fotosünteesi intensiivsuse määramine hapnikumullikeste lugemise meetodil . . . . .	47
Töö 43.	Fotosünteesi intensiivsuse määramine süsihappegaasi neeldumise järgi . . . . .	48
Töö 44.	Fotosünteesi ja hingamise määramine indikaatorlahuse pH muutuste järgi . . . . .	51
Töö 45.	Fotosünteesi ja hingamise määramine orgaanilise aine süsinikusisalduse muutumise põhjal . . . . .	55
Töö 46.	Taimede hingamise intensiivsuse demonstreerimine . . . . .	58
Töö 47.	Lihtsustatud meetod hingamise intensiivsuse määramiseks . . . . .	59
Töö 48.	Süsihappegaasi eraldumise määramine idanevatest seemnetest . . . . .	60
Töö 49.	Hingamiskoeffitsiendi määramine õli- ja valgurikaste seemnete idanemisel . . . . .	60
Töö 50.	Hingamise intensiivsuse määramine . . . . .	61
<b>IV. Taimede mineraalne toitumine . . . . .</b>		<b>63</b>
Töö 51.	Vesi- ja liivkultuuride toitelahused ning nende valmistamine . . . . .	63
Töö 52.	Vesikultuuride rajamine . . . . .	67
Töö 53.	Taimede kasvatamine vesikultuuris täielikul toitelahusel ja mõningate elementide puudumisel . . . . .	70
Töö 54.	Liivkultuuride rajamine . . . . .	72
Töö 55.	Muld- ja liivkultuuride rajamise tehnika . . . . .	75
Töö 56.	Juurestiku üldise ja aktiivselt adsorbeeriva pinna määramine . . . . .	75
Töö 57.	Ioonide antagonism . . . . .	77
Töö 58.	Taimede kasvu võrdlemine nende kasvatamisel tasakaalustatud ja tasakaalustamata lahustes . . . . .	77
Töö 59.	Füsioloogiliselt happelised ja aluselised soolad . . . . .	79
Töö 60.	Mineraalelementide hulga määramine taimemahlas . . . . .	8
Töö 61.	Mineraalelementide määramine mahtanalüütilisel mikromeetodil . . . . .	8
Töö 62.	Kaaliumi määramine mikromeetodil . . . . .	8
Töö 63.	Toortuha määramine puude erinevates organites . . . . .	8
Töö 64.	Kolorimeetriline mikromeetod raua määramiseks . . . . .	8
<b>V. Taimede kasv . . . . .</b>		<b>8</b>
Töö 65.	Kasvukiiruse määramine horisontaalmikroskoobiga . . . . .	8
Töö 66.	Juure kasvatsooni määramine . . . . .	8
Töö 67.	Geotropism . . . . .	8
Töö 68.	Fototropism . . . . .	8
Töö 69.	Valguse, temperatuuri ja mullaniiskuse mõju taimede kasvule . . . . .	8

Töö 70.	Seemne varuainete hulga mõju taime kasvule . . . . .	93
Töö 71.	Lehtede tähtsus juurte moodustumisel . . . . .	94
Töö 72.	Taimede puhkeperioodi katkestamine soojade veevannidega . . . . .	95
Töö 73.	Pungade puhkeperioodi katkestamine eetriga . . . . .	96
Töö 74.	Taimede ajatamine suitsuga . . . . .	96
Töö 75.	Giberelliini mõju taimede kasvule . . . . .	97
Töö 76.	Heteroauksiini pidurdavast ja stimuleerivast toimest juurte kasvule . . . . .	98
<b>VI. Orgaaniliste ainete sisalduse ja ensüümide aktiivsuse määramine . . . . .</b>		99
Töö 77.	Monosahhariidide, disahhariidide ja polüsahhariidide määramine lahustes . . . . .	99
Töö 78.	Suhkrute kvantitatiivne määramine . . . . .	101
Töö 79.	Mono- ja disahhariidide määramine taimelehtedes . . . . .	102
Töö 80.	Tärglise määramine polarimeetriliselt . . . . .	104
Töö 81.	Varuvalgud ja nende omaduste uurimine . . . . .	105
Töö 82.	Valgu histokeemiline analüüs lehtedes . . . . .	106
Töö 83.	Valkude määramine hernestes . . . . .	107
Töö 84.	Aminohapete määramine elektroforeesil . . . . .	107
Töö 85.	Niiskuse määramine taimses materjalis . . . . .	109
Töö 86.	Taimse materjali tuhastamine ja mikrokeemiline analüüs . . . . .	110
Töö 87.	Varuainete sisaldus puude võrsetes . . . . .	112
Töö 88.	Askorbiinhappe määramine . . . . .	113
Töö 89.	Katalaasi kvalitatiivne määramine . . . . .	114
Töö 90.	Katalaasi aktiivsuse määramine . . . . .	115
Töö 91.	Oksüdaaside määramine taimedes . . . . .	116
Töö 92.	Peroksüdaasi aktiivsuse määramine . . . . .	117
Töö 93.	Peroksüdaasi määramine kartulimugulates . . . . .	119
Töö 94.	o-difenooloksüdaasi aktiivsuse määramine . . . . .	120
Töö 95.	Dehüdrogenaaside kvalitatiivne määramine . . . . .	121
Töö 96.	Dehüdrogenaaside aktiivsuse määramine . . . . .	122
Töö 97.	Tärglise hüdroolüüs amülaaside toimed . . . . .	123
Töö 98.	Amülaaside toime tärglisele . . . . .	124
Töö 99.	$\beta$ -fruktofuranosidaasi toime sahharoosi hüdroolüüsile . . . . .	124
Töö 100.	Temperatuuri ja keskkonnareaktsiooni mõju $\beta$ -fruktofuranosidaasi aktiivsusele . . . . .	125
Töö 101.	Vaakuum-infiltratsioonimeetod . . . . .	126
Töö 102.	Ensüümide aktiivsuse määramine kudedes vaakuum-infiltratsioonimeetodil . . . . .	128
Lisad . . . . .		131
Kirjandus . . . . .		148

Айно Саар. ПРАКТИЧЕСКИЕ ЗАНЯТИЯ ПО ФИЗИОЛОГИИ РАСТЕНИЙ.

На эстонском языке. Художественное оформление Э.Тали. Издательство «Валгус», Таллин, Пярнуское шоссе, 10.

Toimetaja U. Grišakova. Kunstiline toimetaja R. Tungla. Tehniline toimetaja T. Linkvist. Korrektor M. Pohlak.

Laduda antud 27. II 1969. Trükkida antud 15. XII 1969. Läti NSV Staicele Paberivabriku trükipaber nr. 1, 70×90/16. Trükipoognaid 9,5. Tingtrükipoognaid 11,1. Arvestuspoognaid 10,61. Trükiary 2500. MB-11223. Tellimuse nr. 621. Trükkikoda «Ühiselu», Tallinn, Pikk t. 40/42. Hind 49 kop.







A  
30314

4197085

TÜ RAAMATUKOGU



1 0300 00419708 5