

А.ЗИКИРЯЕВ, П.МИРҲАМИДОВА

**ЎСИМЛИКЛАР
БИОКИМЁСИДАН
АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАР**

Тошкент — «Меҳнат» — 2001

Мазкур қўлланма фармацевтика институтининг агроэкология факультети талабалари учун мўлжалланган бўлиб, талабаларни ўсимликлар таркибидаги муҳим бирикмаларнинг хусусиятлари ва кенг миқёсда қўлланиладиган баъзи биокимёвий усуллар билан таништиradi.

Қўлланмада оқсиллар, аминокислоталар, нуклеин кислоталар, ферментлар, витаминлар кимёси бўйича бир қатор лаборатория ишлари келтирилган.

Тақризчилар: М.Н.ВАЛИХОНОВ — биология фанлари доктори,
профессор.

С.Н.ДОЛИМОВА — биология фанлари доктори.

З $\frac{1903010000-6}{M359(04)-2001}$ эълонсиз 2001

ISBN 5-8244-1434-3

© «Меҳнат» нашриёти, 2001 й.

КИРИШ

Ўсимликлар биокимёсидан амалий машғулотлар ўтказиш учун мўлжалланган бу қўлланма фармацевтика институтларининг агроэкология факультети талабалари учун ёзилган.

Қўлланмада ҳар қайси машғулотга олдиндан назарий тushunchалар берилган, ҳар бир усулнинг моҳияти ва қўлланиши кўрсатилган, бу эса машғулотларни юқори савияда ўтказишга ёрдам беради. Шунингдек, ҳар бир лаборатория иши учун керакли асбоблар, идишлар, материаллар ва реактивлар ҳам ёритиб берилган. Қўлланмада оқсиллар, нуклеин кислоталар, углеводлар, ёғлар ва витаминларни аниқлашда ишлатиладиган асосий сифат реакциялари берилган. Шу билан бирга миқдорий анализда қўлланиладиган, унчалик мураккаб бўлмаган бир қатор лаборатория ишлари ҳам келтирилган.

Қўлланма 8 бўлим ва 74 машғулотдан иборат. Танлаб олинган лаборатория ишларини талабалар бемалол бажара оладилар. Назарий курсга оид айрим жадваллар китоб охирида илова бўлимида келтирилган.

Маълумки ҳозирги вақтда аҳолини доривор ўсимликлар маҳсулотларига бўлган эҳтиёжини қондириш учун кўпчилик доривор ўсимликлар маданийлаштирилмоқда. Доривор ўсимликларни экиш ва минерал ўғитлардан фойдаланиш, агротехника усулларини ўрганиш билан бирга, уларнинг маҳсулот сифати ҳам катта аҳамият касб этади. Бу борада қўлланмада ўсимликларда нитратларни, хлорорганик пестицидларни аниқлаш усуллари берилган.

Лаборатория учун берилган ҳар бир амалий машғулотлар биокимё назарий курсининг тегишли боблари билан узвий боғлиқ бўлиб, бу эса шу фанни янада чуқурроқ ўзлаштиришга ёрдам беради.

Қўлланмадаги материаллардан талабалар илмий ишларида ҳам фойдаланишлари мумкин.

I боб. ОҚСИЛЛАР

ОҚСИЛ ВА АМИНОКИСЛОТАЛАРГА ХОС РАНГЛИ РЕАКЦИЯЛАР

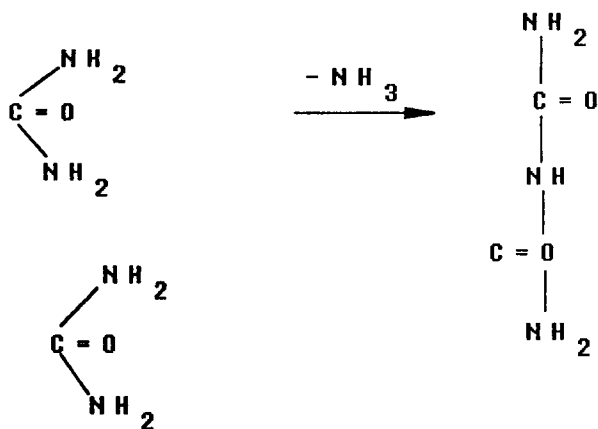
Оқсил-тирик организмларнинг энг муҳим таркибий қисмини ташкил этади.

Оқсил юқори молекулали коллоид бирикма бўлиб, аминокислоталардан ташкил топган. Улар гидролизланганда аминокислоталаргача парчланади. Оқсил таркибидаги аминокислоталар ўзаро пептид боғлари орқали бирикади. Айрим аминокислоталар бир-биридан таркибидаги турли-туман функционал группалари билан фарқланади. Бу группаларга хос рангли реакциялар ёрдамида оқсиллар, биологик суюқликлар ва аралашмалар таркибидаги аминокислоталарни аниқлаш мумкин. Оқсил ва аминокислоталарнинг сифат ва миқдор жиҳатдан аниқлашда қўлланадиган рангли реакциялар икки группага бўлиб ўрганилади: биринчи группага оқсил таркибидаги ҳар хил кимёвий боғлар билан ҳосил қилинадиган рангли реакциялар (биурет реакцияси), иккинчи группага эса аминокислоталарнинг функционал группалари билан ҳосил қилинадиган рангли реакциялар киради.

1-иш. Биурет реакцияси

Ишқорий шароитда оқсил эритмалари мис сульфат ионлари иштирокида пушти бинафша ёки кўк бинафша ранг беради. Бу ранг оқсил молекуласи таркибидаги пептид боғлар билан мис ионлари ҳосил қилган комплексга хосдир. Биурет реакциясини оқсиллардан ташқари турли-туман пептидлар, полипептидлар, пептонлар ҳам беради. Бу реакцияни мочевиначининг ҳосиласи бўлмиш биурет ҳам беради. Реакциянинг номи ҳам ана шу биурет номи билан аталади.

Биурет комплексининг ранги эритмадаги мис ионларининг миқдори билан белгиланади. Агар мис сульфат эритмаси кўпроқ қўшилса кўк ранг, камроқ қўшилса пуштиранг устунлик қилади.



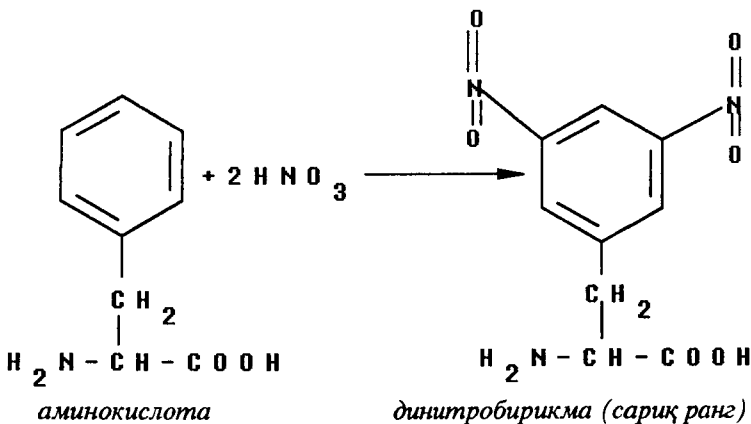
Иш тартиби. Иккита пробирка олиб, биринчисига 1мл тухум оқсилидан, иккинчисига 1 мл соя оқсилдан қуйилади. Ҳар иккала пробиркага 30% ли натрий гидроксид эритмасидан баравар ҳажмда қўшилади. Пробиркаларга 4-5 томчи 2 % ли мис сульфат эритмасидан томизилса, пушти бинафша ёки кўк бинафша ранг ҳосил бўлади.

Ишни мочевина билан ҳам такрорлаш мумкин. Бунинг учун пробиркага озгина мочевина кристалларидан солиб, қиздирилади. Мочевина аввал эрийди, сўнг қота бошлайди. Шу вақтда қиздириш тўхтатилади. Пробирка совигач, унга 1 мл 30 % ли натрий гидроксид эритмасидан солинса, пробиркада бинафша ранг ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : соя оқсилнинг эритмаси, 30 % ли натрий гидроксид эритмаси, 2 % ли мис сульфат эритмаси ва мочевина.

2-иш. Ксантопротеин реакцияси

Кўпчилик оқсил эритмалари концентрланган нитрат кислота билан реакцияга киришиб, сариқ ёки тўқ сариқ (зарғалдоқ) ранг беради. Бу реакцияга оқсил молекуласидаги ароматик (ҳалқали) аминокислоталар (фенилаланин, тирозин, триптофанлар) га хос бўлиб, улар нитрат кислота билан ўзаро реакцияга киришиб, сариқ рангли нитробирикмаларни ҳосил қилади:



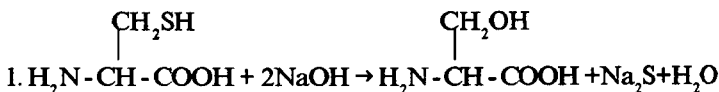
Бу реакция таркибида ароматик аминокислота тутувчи барча оқсилларга хосдир. Желатина оқсили таркибида ароматик аминокислоталар бўлмаганлиги сабабли у ксантопротеин реакциясига киришмайди.

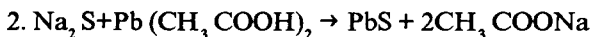
Иш тартиби. 3 та пробирка олиб, 1 мл тухум оқсилидан, иккинчисига 1 мл соя оқсилидан, учинчисига 1 мл желатина қуйилади. Ҳар учала пробирка 0,5 мл дан кучли нитрат кислотадан қўшилади. Пробиркалар секинлик билан қиздирилса, биринчи ва иккинчи пробиркаларда сариқ ранг пайдо бўлади. Учинчи пробиркада эса ранг ўзгармайди. Пробиркалар совитилиб, ҳар бирига концентрланган аммиак ёки 40% ли натрий гидроксид эритмасидан 1 мл дан қўшилади. Пробиркадаги сариқ ранг, тўқ сариқ (зарғолдоқ) рангига айланади.

Р е а к т и в л а р : соя оқсили эритмаси, 1% ли желатина эритмаси, 40% ли натрий гидроксид эритмаси, концентрланган нитрат кислота ва концентрланган аммиак.

3 - иш. Фоль реакцияси

Таркибида олтингурут бўлган аминокислоталар - цистеин, ишқор билан қиздирилганда парчаланиб, олтингурут сульфид ҳосил қилади. Сульфид эса қўрғошин ацетат билан реакцияга киришиб жигарранг ёки қора рангга эга бўлган қўрғошин сульфид чўкмасини ҳосил қилади.





Иш тартиби. Учта пробирка олиб, биринчисига 1 мл 0,05% ли цистеин эритмасидан, иккинчисига 1 мл соя оқсили эритмасидан, учинчисига 1 мл желатина эритмасидан қўйилади. Барча пробиркаларга 30%ли натрий гидроксид эритмасидан 1 мл дан қўшиб, 2-5 минут давомида қиздирилади. Пробиркалар совига, 0,5 мл 5% ли қўрғошин ацетат қўшилади. Шунда биринчи ва иккинчи пробиркаларда қора чўкма ҳосил бўлади, учинчи пробиркада эса бундай чўкма ҳосил бўлмайди, чунки желатина таркибида олтингургуртли аминокислоталар йўқ.

Р е а к т и в л а р : 0,05% ли цистеин эритмаси, 30%ли натрий гидроксид эритмаси, 5% ли қўрғошин ацетат эритмаси, 1% ли соя оқсили эритмаси.

4-иш. Миллон реакцияси

Тирозин аминокислотаси Миллон реактиви (симоб (I) нитрат ва симоб (II) нитрат тузларининг концентрланган нитрат кислотада эриган аралашмаси) билан реакцияга киришиб тўқ қизил ранг беради. Бу ранг тирозин аминокислотасининг фенол ҳалқаси ва Миллон реактиви оқсил ҳосил қилган нитро ҳосиланиннг симобли тузига хосдир.

Одатда Миллон реакцияси тирозин аминокислотаси ёки тирозинли полипептид ёрдамида намоиш қилинганда чўкма ҳосил бўлмайди, балки эритма секин-аста тўқ қизил рангга киради. Реакция оқсил эритмаси билан ўтказилганда эса қизил чўкма ҳосил бўлади. Миллон реакцияси тирозин аминокислотаси учун қатъий специфик реакция эмас. Бу реакцияни феноллар, полифеноллар ва қисман алкалоидлар ҳам беради. Бироқ оқсил эритмалари таркибида юқоридаги бирикмалар учрамайди. Реакция оқсил эритмаси билан ўтказилганда Миллон реактиви кўп қўшиб юборилса, сариқ чўкма тушиши мумкин.

Иш тартиби. Иккита пробирка олиб, биринчисига 2 мл фенол эритмасидан, иккинчисига 2 мл тирозин аминокислотаси эритмасидан қўйилади. ҳар иккала пробиркага 1 мл Миллон эритмасидан қўйилади. Пробиркалар секин-аста қиздирилганда қизил ранг ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : 0,1% ли фенол эритмаси, 0,05% ли тирозин эритмаси, миллион реактиви, 20 г симоб ва 30 г концентрланган нитрат кислота қўшиб, сув ҳаммомида секин қиздирилади. ҳосил бўлган эритмага икки баравар ҳажмда сув қўйилади ва бир оз вақт қолдириб, эритма чўкмадан ажратиб олинадиди (реакция мўрили шкафта олиб борилади).

5 - иш. Сакагучи реакцияси

Аргининнинг гуанидин группаси а-нафтол билан реакцияга киришиб қизил рангли мураккаб бирикма ҳосил қилади. Аргининли оқсиллар билан ўтказиладиган реакцияларни гипобромит қўшиб, ишқорий шароитда олиб борилади.

Иш тартиби. Пробиркага 0,01% ли аргинин эритмасидан 2мл қуйилади. Унинг устига 2 мл 10% ли натрий гидроксид эритмасидан ва 1-5 томчи 0,2% ли а-нафтолнинг спиртдаги эритмасидан қўшилади. Пробиркадаги аралашмани яхшилаб аралаштириб, сўнгра 0,5 мл гипобромит эритмасидан қуйилади, сарғиш қизил ранг ҳосил бўлади.

Реактивлар. 0,01% ли аргинин эритмаси, 10% ли натрий гидроксид эритмаси, 0,2% ли спиртдаги а-нафтолнинг эритмаси, 1 грамм а-нафтол 100 мл этил спиртда эритилади. Иш бошланишидан олдин 5 мл а -нафтол эритмаси 2 мл сув билан аралаштирилади. Гипобромит, 1 грамм бром 50 мл 5% ли натрий гидроксидда эритилади (реакция муз ёрдамида сови тиб турилади).

6 - иш. Адамкевич реакцияси

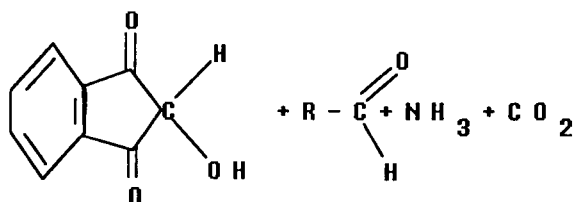
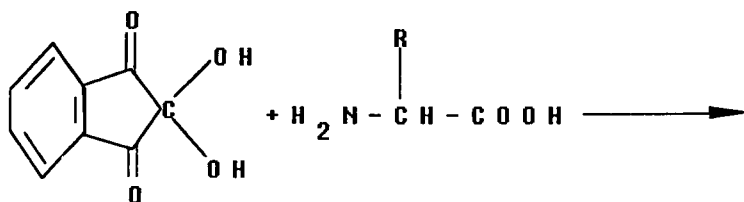
Триптофан аминокислота эритмасига концентрланган ацетат кислота қўшиб, пробирка девори бўйлаб пипеткадан концентрланган сульфат кислота секин қуйилади. Бунда икки суюқлик чегарасида қизил-бинафша ҳалқа ҳосил бўлади. Бу, ацетат кислота таркибида аралашма сифатида учрайдиган глиоксалат билан триптофан кислотали муҳитда рангли маҳсулотлар ҳосил қилиш хусусиятига эга эканлигидан далолат беради.

Иш тартиби. Пробиркага 1 мл 0,05% ли триптофан ва 1 мл концентрланган ацетат кислотадан қуйилади. Пробиркани бир оз қиздириб, тенг ҳажмда пробирка девори бўйлаб яна концентрланган ацетат кислотадан қўшилади (суюқликлар бир-бири билан аралашмаслиги керак), 10 минут ўтгач ҳар иккала суюқлик чегарасида қизил-бинафша ранг ҳосил бўлади.

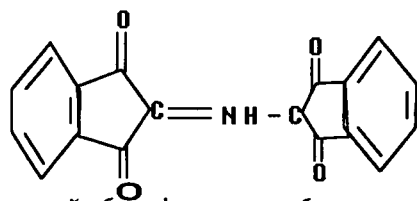
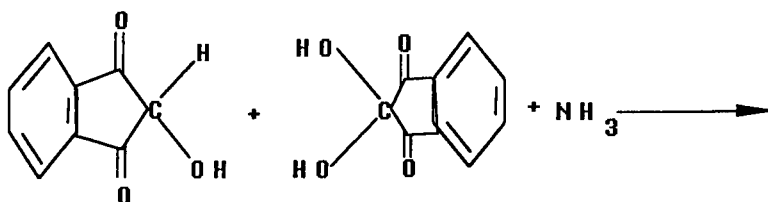
Р е а к т и в л а р: концентрланган ацетат кислота, концентрланган сульфат кислота ва 0,05% ли триптофан эритмаси.

7 - иш. Нингидрин реакцияси

Барча а-аминокислоталар нингидрин (трикетогидринденат) билан ўзаро реакцияга киришиб, кўк ёки бинафша рангли бирикма ҳосил қилади. Нингидрин билан аминокислотанинг ўзаро таъсир реакцияси қуйидагича боради:



Реакция натижасида алдегид, аммиак, CO_2 ва қайтарилган нингидрин ҳосил бўлади. Қайтарилган нингидрин, аммиак ва яна бир молекула нингидрин ўзаро реакцияга киришиб, кўк бинафша бирикма ҳосил қилади.



кўк бинафша рангли бирикма

Иш тартиби. Аминокислоталар аралашмасидан 1-2 мл олиб, пробиркага солинади, устига 3-5 томчи 1% ли нингидрин эритмасидан қўшилади ва қайнатилади. 1-2 минутдан сўнг текшириляётган эритма таркибида а-аминокислоталар борлигини

билдирувчи кўк бинафша ранг ҳосил бўлади. Бу усул ёрдамида аминокислоталарни миқдор жиҳатдан ҳам аниқлаш мумкин.

Р е а к т и в л а р . Аминокислоталар аралашмаси, нингидриннинг 1% ли спиртли эритмаси.

ОҚСИЛЛАРНИНГ ФИЗИК ВА КИМЁВИЙ ХУСУСИЯТЛАРИ.

✓ ОҚСИЛЛАРНИ ЧЎКТИРИШ РЕАКЦИЯСИ

Оқсилларни турли реактивлар таъсирида чўкмага тушириш мумкин. Бу одатда улар таркибидаги зарядларнинг йўқолиш ёки эрувчанлик даражасини камайтириш билан боғлиқ. Бу жиҳатдан оқсилларни чўктириш реакциялари иккига бўлинади.

Нейтрал тузлар, баъзи бир органик эритувчилар масалан, спирт, эфир таъсирида чўкмага тушган оқсиллар яна эритмага қайтиб ўтиши мумкин. Бу реактивлар таъсирида оқсиллар денатурацияга учрайди. Улар ўзларининг дастлабки натив ҳолатларини сақлаб қоладилар. Бундай реакциялар қайтар реакциялар дейилади. қайтар реакцияларда дегидратация ҳодисаси рўй беради, шу билан бирга оқсил молекулалари таркибидаги зарядлар нейтралланади.

Оқсилларни денатурацияга учратиб чўктириш реакциялари қайтмас реакцияларга мисол бўлади. Бунда оқсил ўзининг кўпгина хусусиятларини йўқотади. Аввало, оқсилларга хос бўлган эрувчанлик ва биологик(ферментатив активлик) хусусиятлари йўқолади. Шу билан бирга оқсилнинг шакли, солиштира оптик активлиги, ёруғликни ютиши, электрофоретик ҳаракатчанлиги ва шунга ўхшаш физик, химиявий хусусиятлари ҳам ўзгаради. Қайтмас реакцияларга мисол қилиб оқсилларнинг юқори температура, оғир металл тузлари, алкалоид реактивлар, минерал ва органик кислоталар таъсирида чўктириш реакцияларини кўрсатиш мумкин.

8-иш. Оқсилларни нейтрал тузлар ёрдамида чўктириш

Оқсилларни нейтрал тузлар ёрдамида чўкмага тушириш реакциялари оқсилларни тузлаш деб аталади. Оқсилларни тузлаш реакцияларида кўпинча ишқорий ёки ишқорий-ер металлари тузларидан фойдаланилади. Бу тузларнинг турли хил концентрациясида ҳар хил оқсиллар чўкмага тушади. Масалан, юқори молекуляр оғирликка эга бўлган глобулинлар, альбуминларга нисбатан анча паст концентрацияда чўкмага тушади. Оқсилларни натив (табиий) ҳолда ажратиб олиш учун тузлаш реакцияла-

ри яхши натижа беради. Нейтрал тузлар ҳар хил муҳитда турлича таъсир кўрсатиш хусусиятига эга. Масалан сульфат аммоний тузи таъсирида оқсиллар нейтрал шароитда, натрий хлорид таъсирида эса нордон шароитда чўкмага яхши тушади.

Иш тартиби. Тўртта пробирка олиб, ҳар бирига 1 мл соянинг оқсил эритмасидан солинади. Биринчи пробиркага 1 мл аммоний сульфат тузининг ярим тўйинган эритмасидан, иккинчисига 1 мл аммоний сульфат тузининг тўйинган эритмасидан, учинчи пробиркага 1 мл ош тузининг тўйинган эритмасидан, тўртинчи пробиркага ацетат кислотанинг 3-5 томчи концентрланган эритмасидан ва 1 мл ош тузининг тўйинган эритмасидан қўшилади. Натижаларини қуйидаги жадвалга ёзамиз.

1 - ж а д в а л

Оқсилларни тузлаш реакциялари

Гартиб рақами	Фойдаланилган туз эритмалари	Эритманинг тўйиниш даражаси	Чўкма ҳосил бўлиш даражаси
1	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	ярим тўйинмаган	-
2	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	тўйинган	+ +
3	NaCl	ярим тўйинмаган	-
4	$\text{NaCl} + \text{CH}_3\text{COOH}$ кислота	тўйинган	+

Р е а к т и в л а р : соя оқсилининг 1% ли эритмаси, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - тўйинган эритмаси, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - ярим тўйинган эритмаси ва NaCl нинг тўйинган эритмаси, ацетат кислотанинг концентрланган эритмаси.

9-иш. Оқсилларни органик эритувчилар ёрдамида чўктириш

Оқсил эритмаларига кўп миқдорда спирт ёки ацетон қўшилса, оқсиллар қуйқум ҳосил қилиб, чўкмага тушади. Қисқа вақт давомида ва паст температурада органик эритувчилар чўкма тушган оқсилларга салбий таъсир кўрсатмайди.

Иш тартиби. Иккита пробирка олиб, ҳар бирига 1 мл дан оқсилнинг эритмасидан солинади. Биринчи пробиркага 4-5 мл 96% ли этил спирти, иккинчисига 4-5 мл ацетон қўшилади. Пробиркаларда қуйқум ҳосил бўлади. Агар ҳар иккала пробиркага 0,5 мл дан ош тузининг тўйинган эритмасидан қўшилса, бир оз вақт ўтгач, чўкма ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : 1 % ли соя оқсили эритмаси, 96 % ли этил спирти, ацетон ва NaCl нинг тўйинган эритмаси.

10-иш. Оқсилларни юқори температура таъсирида чўкмага тушириш

Юқори температура таъсирида барча оқсиллар чўкмага тушади. У, айниқса, кучсиз нордон муҳитда осонлик билан чўкмага тушади. Кучли ишқорий ва кучли нордон муҳитда юқори температура таъсирида оқсилларнинг чўкма тушиши кузатилмайди. Бунга сабаб оқсил молекулаларининг кучли манфий ёки кучли мусбат зарядга эга бўлишидир.

Иш тартиби. Бешта пробирка олиб, ҳар бирига 1 мл дан соя оқсилининг 1 % ли эритмасидан қуйилади. Биринчи пробирка тўғридан-тўғри юқори температура таъсирида қиздирилади. Пробиркада оқиш қуйқум ҳосил бўлади. Иккинчисига 0,1 мл ацетат кислотанинг 1% ли эритмасидан қўшиб қиздирилади. Пробиркада оқиш чўкма ҳосил бўлади. Бунда оқсил ўзининг изоэлектрик нуқтаси яқин бўлганлиги учун чўкма ҳосил қилади. Учинчи пробиркага 0,5 мл 10% ли ацетат кислота қўшилади. Пробирка қиздирилганда чўкма ҳосил бўлмайди. Чунки кислотали шароитда оқсил молекулалари мусбат зарядга эга бўлиб қолади. Тўртинчи пробиркага 0,1мл тўйинган ош тузи эритмасидан қўшиб қиздирилади, бунда оқсил чўкмага тушади. Бунга сабаб оқсил молекуласининг мусбат заряди ош тузи ионлари таъсирида нейтралланишидир. Бешинчи пробиркага эса 0,5 мл 10% ли натрий гидроксиднинг эритмасидан қўшиб қиздирилади. Оқсил молекуласи манфий зарядга эга бўлиб, чўкма ҳосил қилмайди.

Р е а к т и в л а р : 1 % ли соя оқсили эритмаси, 1% ли ва 10% ли ацетат кислота эритмаси, 1% ли NaCl эритмаси ва 10% ли NaOH эритмаси.

11-иш. Оқсилларни минерал кислоталар ёрдамида чўктириш

Концентрланган минерал кислоталар таъсирида оқсиллар чўкмага тушади. Бу оқсил молекулаларининг гидротация ва денатурацияга учраши билан боғлиқ. Агар сульфат ва хлорид кислоталар узоқ вақт давомида таъсир эттирилса, оқсиллар қисман гидролизланиб чўкма эриб кетади. Нитрат кислота таъсирида эса чўкмага тушган оқсил эримайди.

Иш тартиби. Учта пробирка олиб уларнинг бирига нитрат, иккинчисига сульфат ва учинчисига хлорид кислоталарнинг концентрланган эритмасидан 1мл дан солинади. Пробиркаларни 45° бурчак остида қия ҳолда ушлаб, секинлик билан оқсил эритмасидан тенг ҳажмда қўшилади. Икки суюқлик чегарасида оқсил эритмасининг чўкмаси ҳосил бўлади. Агар пробиркалардаги суюқликлар арапаштириб юборилса, нитрат кислота таъсирида чўкма ортади, сульфат ва хлорид кислоталар таъсирида эса чўкма эриб кетади.

Р е а к т и в л а р : соя оқсилининг 1% ли эритмаси, концентрланган сульфат кислота эритмаси, концентрланган нитрат кислота эритмаси, концентрланган хлорид кислота эритмаси.

12-иш. Оқсилларни оғир металл тузлари ёрдамида чўктириш

Оғир металл тузлари таъсирида оқсиллар чўкма ҳосил қилади. Оқсилларни чўктиришда кўпинча симоб тузларидан (симоб нитрат), қўрғошин тузларидан қўрғошин ацетат, мис сульфат, кумуш нитрат, рух сульфат ва бошқалардан фойдаланилади. Агар тузли эритмалардан кўп миқдорда қўшилса, чўкма эриб кетади. Бунга сабаб оғир металл тузлари оқсил молекуласи томонидан адсорбция қилиниб мусбат зарядга айланишидир.

Иш тартиби. Иккита пробиркага 1мл дан соя оқсилининг эритмасидан қуйилади. Биринчи пробиркага қўрғошин ацетатнинг 5% ли эритмасидан 5-6 томчи, иккинчисига мис сульфатнинг 5%ли эритмасидан 5-6 томчи қўшилади. Ҳар иккала пробиркада ҳам чўкма ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : соя оқсилининг 1% ли эритмаси, қўрғошин ацетатнинг 5%ли эритмаси, мис сульфатнинг 5%ли эритмаси.

13-иш. Оқсилларни органик кислоталар ёрдамида чўкмага тушириш

Оқсиллар органик кислоталар таъсирида ҳам чўкмага тушади. Бироқ турли хил органик кислоталар турлича таъсир қилиш хусусиятига эга. Органик кислоталар ичида ўзига хос таъсир қилиш хусусиятига эга бўлган реактивлардан сульфосалицилат ва трихлорацетат кислоталарини мисол қилиб кўрсатиш мумкин. Трихлорацетат кислота фақат оқсилларни чўктириб, оқсилсимон юқори молекулали полипептидларга таъсир қилмайди. Шунинг учун оқсилларни чўктиришда кўпинча трихлорацетат кислотадан фойдаланилади.

Иш тартиби. Иккита пробиркага 1-2мл оқсил эритмасидан қўйилади. Биринчи пробиркага учлорацетат кислотанинг 5% ли эритмасидан 5-6томчи, иккинчи пробиркага сульфосалицилат кислотанинг 10% ли эритмасидан 5-6томчи қўйилади. Иккала пробиркада ҳам чўкма ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : соя оқсилининг 1%ли эритмаси учлорацетат кислотанинг 5% ли эритмаси, сульфосалицилат кислотанинг 10%ли эритмаси.

14-иш. Оқсилларни алкалоидлар ёрдамида чўктириш

Оқсилларни алкалоид моддаларни чўктиришда қўлланиладиган реактивлар ёрдамида ҳам чўктириш мумкин. Оқсилларни чўктириш учун калий ферроцианид, танин, пикринат, учлорацетат, фосфовольфрхлмат кислоталар каби алкалоидлардан фойдаланилади. Бу реактивлар кучсиз нордон шароитда яхши таъсир кўрсатади.

Иш тартиби. 3та пробирка олиб ҳар бирига 1мл соя дан оксили эритмаси қўйилади. Унинг устига ацетат кислотанинг 10% ли эритмасидан 1-2 томчидан кўйилади. Кейин биринчи пробиркага пикрин кислотанинг тўйинган эритмасидан 0,5 мл, иккинчи пробиркага таниннинг 10% ли эритмасидан 0,5 мл ва учинчисига калий ферроцианид тузининг 5% ли эритмасидан 0,5 мл қўйилади.

Ҳамма пробиркаларда ҳам оқсил чўкмага тушади.

Р е а к т и в л а р : соя оқсилининг 1% ли эритмаси, сирка кислотанинг 10% ли эритмаси, пикрин кислотанинг 10% ли эритмаси, калий ферроцианиднинг 5% ли эритмаси.

15-иш. Оқсилларни диализ қилиш

Оқсиллар диализ усулида турли хил тузлар ва кичик молекулали бирикмалардан тозаланади. Бу усулда улар махсус диализ қилувчи халтачаларга солиниб, оқарсувга узоқ вақт ботириб қўйилади. Диализ қилувчи халтачалар махсус материаллардан тайёрланади. Бу материаллар кичик молекулали бирикмаларни ва ионларни яхши ўтказадиган бўлиши керак. Ярим ўтказгич мембраналар сифатида целлофан ва ҳайвонларнинг сийдик пуфагидан фойдаланиш мумкин. Диализ учун кўпинча целлофан халтачалар ишлатилади. Агар оқсиллар турли хил тузлар ёрдамида ажратиб олинган бўлса, улар таркибидага туз диализ йўли билан тозаланади.

Иш тартиби. Узунлиги 10-12 см, диаметри 0,7 см бўлган шиша найнинг бир томонини целлофан билан беркитилади. Шиша найчага 5-6 томчи оқсил эритмасидан ва 2-3 томчи ош тузи эритмасидан қўйилади. Кейин шиша найча 2-3 мл суви бўлган пробиркага туширилади. 10-15 минут ўтгач, шиша найча олинади ва дистилланган сувда хлоридлар ва оқсил бор ёки йўқлиги текширилади.

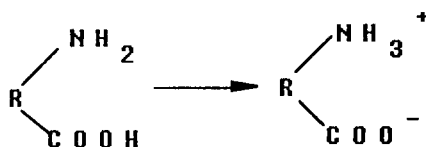
Хлоридларни аниқлаш учун дистилланган сувдан 0,5 мл пробиркага солиб, устига кумуш нитратнинг 1% ли эритмасидан 0,2 мл қўшилади. Бунда кумуш хлорид чўкмага тушади.

Оқсилларни аниқлаш учун биурет реакциясидан фойдаланилади. Бунинг учун дистилланган сувдан 0,5 мл олиб, унинг устига натрий гидроксиднинг 20% ли эритмасидан 0,5 мл ва мис сульфатнинг 2% ли эритмасидан 5-10 томчи қўшилади. Бинафша ранг ҳосил бўлмаганлиги оқсил йўқлигидан дарак беради.

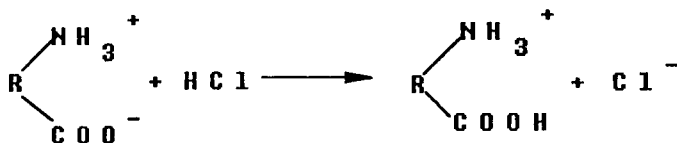
Р е а к т и в л а р : соя оқсилининг эритмаси, ош тузининг тўйинган эритмаси, кумуш нитратнинг 1% ли эритмаси, натрий гидроксиднинг 20% ли эритмаси, мис сульфатнинг 2% ли эритмаси.

16-иш. Оқсилларнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш

Оқсил молекулаларининг таркибида эркин карбоксил ва амин группалари бўлганлиги учун улар амфотерлик хоссасига эга, яъни ҳам асос, ҳам кислота сифатида диссоциланади.

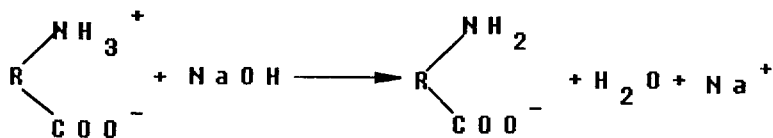


Оқсил эритмасига суюлтирилган кислота қўшилса, таркибидаги кислотали группаларнинг диссоциланиши камаяди. Демак, кислотали муҳитда оқсил молекулалари мусбат зарядга эга бўлади ва электр майдонида катодга томон ҳаракат қилади.



Оқсил эритмасига ишқор қўшилганда эса унинг таркибидаги асосли группаларнинг диссоциланиши камаяди, бинобарин,

ишқорий муҳитда оқсиллар ортиқча манфий зарядга эга бўлади ва электр майдонида анодга томон ҳаракат қилади.



Шундай қилиб, рН ни ўзгартириш билан оқсил молекуласи зарядларини ўзгартириш мумкин. Оқсил молекуласи таркибидаги мусбат ва манфий зарядлар йиғиндиси нолга тенг бўлган муҳит рН оқсилларнинг изоэлектрик нуқтаси деб аталади. Оқсиллар изоэлектрик нуқтада беқарор бўлади ва осонлик билан чўкмага тушади.

Иш тартиби. 6 та пробирка олиб унинг ҳар бирига натрий фосфат ёки нитрат кислотанинг 0,2 М эритмасидан қўйидаги жадвалда кўрсатилган миқдорда қўйилади. Пробиркадаги буфер эритма устига 1% ли соя оқсилнинг эритмасидан 0,5 мл қўшилади. Пробиркаларни яхшилаб чайқатиб, унинг устига 2 мл этил спирти қўйилади. Пробиркаларни яни бир марта яхшилаб чайқатиб 5-10 минутга қолдирилади ва қайси пробиркада энг кўп қуйкум ҳосил бўлганлиги аниқланади.

Қуйкум борлиги (+) белгиси ва йўқлиги (-) белгиси билан кўрсатилади.

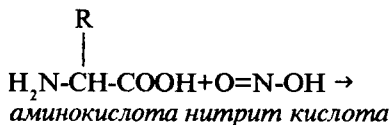
Соя оқсилнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш

Пробиркалар	Na ₃ HPO ₄ (мл ҳисобиди)	CH ₃ COOH (мл ҳисобиди)	Аралаш- манинг рНu	Оқсил миқдори (мл.ҳисобиди)	Этил спирти (мл.ҳисобиди)	Қуйкум ҳосил бў- лиши
1	0,25	0,75	3,2	0,5	2	
2	0,34	0,66	3,7	0,5	2	
3	0,41	0,59	4,2	0,5	2	
4	0,48	0,52	4,7	0,5	2	
5	0,54	0,46	5,2	0,5	2	
6	0,66	0,34	5,7	0,5	2	

Р е а к т и в л а р : натрий фосфатнинг 0,2 М эритмаси, сирка кислотанинг 0,1 М эритмаси, этил спиртнинг 96% ли эритмаси.

17-иш. Аминокислоталарнинг нитрит кислота билан ўзаро таъсири

Бунда аминокислоталар таркибига бирламчи эркин амин группа нитрит кислота билан реакцияга киришиб, оксикислота ҳосил қилади ва эркин азот ажралиб чиқади.



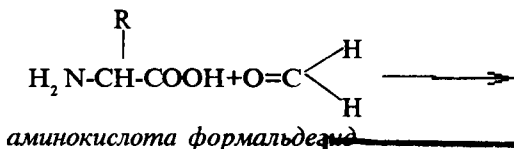
Нитрит кислота эркин ҳолатда беқарор бўлганлиги учун, унинг ўрнига натрий нитрит тузи ва бирор-бир кучли кислота олиш мумкин.

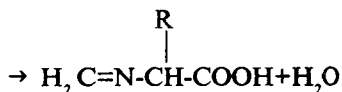
Иш тартиби. Иккита пробирка олиб, ҳар иккаласига натрий нитрит тузининг 20% ли эритмасидан 0,2 мл солинади. Биринчисига глицин аминокислотасининг 1% ли эритмасидан 1мл, иккинчисига 1мл дистилланган сув солинади. Биринчи пробиркада ҳаво пуфакчаларининг интенсив ажралиши кузатилади. Иккинчи пробиркада эса бундай ҳодиса кузатилмайди.

Р е а к т и в л а р : глициннинг 1% ли эритмаси, натрий нитритнинг 20% ли эритмаси, сирка кислотанинг 20% ли эритмаси.

18-иш. Эркин аминокислоталар микдорини формальдегид ёрдамида аниқлаш (Сёрнсен усули)

Аминокислоталар формальдегид билан реакцияга киришиб, метиллашган бирикмалар ҳосил қилади. Бунда аминокислотанинг амин группаси билан формальдегиднинг карбонил группаси ўзаро таъсир этади.





метиллашган бирикма

Бу реакция натижасида аминогруппа ўзининг ишқорий хусусиятини йўқотади. Карбоксил группа эса очиқ қолади. Шунинг учун метиллашган бирикма кислотали хусусиятга эга бўлади. Бу бирикмадаги карбоксил группани ишқор билан титрлаш мумкин. Титрлаш учун сарфланган ишқор миқдори формальдегид билан боғланган амин группа миқдorigа эквивалент бўлади.

Иш тартиби. 5 грамм унаётган соя ўсимтасидан олиб ҳовончада майдаланган шиша ёрдамида 5-10 мл сув билан яхшилаб эзилади. Ҳовончадаги аралашма фильтр орқали 50мл ли колбага ўтказилади. Ҳовонча 5-10 мл сув ёрдамида 2-3 марта ювилиб фильтр орқали колбага қуйилади. Эритма филтрдан тўлиқ ўтгандан сўнг, колба тўлгунча дистилланган сув қуйилади.

Иккита 50 мл ли стакан олиб, биринчисига 20 мл қайнатиб совитилган сув, иккинчисига эса 20 мл текширилатган эритмадан қуйилади. Ҳар иккала стаканга 10 мл формол аралашмасидан қўшиб, устига ортиқча миқдорда 0,2 NaOH эритмасидан қўшилади. (Тўқ қизил-гунафша ранг ҳосил бўлгунча). Сўнгра ҳар иккала колбадаги ортиқча ишқор 0,2 HCl эритмаси ёрдамида оч пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади. Сарфланган NaOH ва HCl эритмаларининг миқдорини ҳисобга олиб амин группа азотининг миқдори аниқланади.

Масалан, контрол, учун ҳаммаси бўлиб 5 мл 0,2 н NaOH қўшилди. Титрлаш учун эса 4,5 мл 0,2 н HCl сарфланади, демак буларнинг фарқи, 5-4, 5=0,5 мл 0,2 н NaOH. Тажриба учун эса 9 мл 0,2 н NaOH қўшилади, уни титрлаш учун 1,5 мл 0,2 н HCl сарфланади. Демак тажриба учун кетган 0,2 н NaOH миқдори 9-1, 5=7,5 мл га тенг. Тажриба билан контрол ўртасидаги фарқ 7,5-0,5=7 мл 0,2 н Na OH га тенг.

Маълумки, 1 мл нормал NaOH эритмасига 14 мг азот миқдorigа ёки 1мл 0,2 н NaOH эритмасига 2,8 мг азотга тенг бўлади.

$$7,0 \cdot 2,8=19,60\text{мг}$$

Дастлабки олинган маълумотларнинг процент ҳисоби қуйидагича бўлади:

$$\frac{19,60-50-100}{20-5-100} = 0,98\%$$

Бунда

50 мл - фильтратнинг умумий ҳажми.

20 мл - титрлаш учун олинган фильтрат миқдори.

5г - дастлабки олинган материал миқдори.

Р е а к т и в л а р : 5 кунли унаётган соя 0,2 н натрий гидроксид эритмаси, 0,2 н хлорид кислота эритмаси. Формол аралашма (500 мл 40% ли формалинга 1 мл фенолфталеин қўшилади. Аралашмага оч пуштиранг ҳосил бўлгунча 0,2 н хлорид кислота қўшилади).

19-иш. Аминокислоталарни қоғоз хроматографияси ёрдамида ажратиш

Аминокислоталарни бир-биридан ажратишда энг оддий, осон ва нисбатан аниқ усул қоғоз хроматографиясидир. Хроматография усули 1903 йилда рус олими М.С.Цвет томонидан кашф этилган. Қоғоз хроматографияси учун юқори сифатли ҳар қандай фильтр қоғоздан фойдаланиш мумкин. Аминокислоталарнинг ажратиш ва аниқлаш усули, уларнинг аралашмасини фильтр қоғозга томизишдан ва қоғознинг бир учини тегишли органик эритувчига туширишдан иборат. Эритувчи фильтр қоғоз томонидан шимилади ва ўзи билан аминокислоталарни кўчиради (илаштиради). Аминокислоталарни қоғоз бўйлаб кўчирилиш тезлиги уларнинг химиявий тузилишига, эритувчиларда эриш даражасига боғлиқ бўлади. Айрим аминокислоталар турли хил эритмаларда гурлича эриш хусусиятига эга. Одатда бу эритмалардан бири сув, иккинчиси эса сувда тўйдирилган органик эритувчи бўлади (фенол, бутил спирти ва бошқалар). Одатда сув билан аралашмайдиган ёки қисман аралашадиган органик эритувчилардан фойдаланилади.

Аминокислота босиб ўтган масофанинг (а) эритма босиб ўтган масофага (в) бўлган нисбати аминокислоталарнинг ажралиш коэффиценти деб аталади. Аминокислоталарнинг ажралиш коэффиценти (Rf) ҳар бир аминокислота учун берилган эритмада доимий бўлиб, у қуйидагича аниқланади.

$$Rf = \frac{a}{b}$$

Қоғоз хроматографиясида аминокислоталар икки усул ёрдамида ажратилади. Бу пастга ва юқорига ҳаракат қилувчи хроматография усулидир.

Бундан ташқари, яна бир томонлама ва икки томонлама хроматография усули ҳам мавжуд. Бир томонлама хроматография усулида моддаларнинг ажралиши бир йўналишда бўлади. Бунда R_f яқин бўлган аминокислоталар бир-бирига қўшилиб 2-3 тадан бўлиб ажралади. Уларни бир-бирдан ажратиш учун икки томонлама хроматография усулидан фойдаланилади. Бунда иккита органик эритувчи иштирок этади. Ажратиш кетма-кет иккита ўзаро перпендикуляр йўналишда олиб борилади.

Иш тартиби. Фильтр қоғоздан узунлиги 12-14 см ва эни 1,5 см келадиган лента қирқилади. Бу лентанинг юқори томонидан игна билан 15 - 20 см ип ўтқазилади. Қоғозни пастки қисмидан 1 см қолдириб тўғри чизиқ ва унинг ўртасига диаметри 0,5 см бўлган айлана чизилади. Айлана ўртасига капилляр ёрдамида 2 - 3 томчи аминокислота аралашмаси томизилади. Томчи томизилган жой ҳавода қуритилади. Узунлиги 18 - 20 см ва диаметри 2 см бўлган пробирканинг тубига секин-асталик билан пробирка деворларига текизмасдан сув билан тўйинтирилган фенол эритмасидан 2 мл қуямиз. Тайёрланган қоғоз ипини ушлаб туриб пробиркага туширамиз, бунда қоғознинг учи эритувчига 2 - 3 мм ботиб, қатъий равишда вертикал туриши керак. Пробиркани пробка билан беркитиб 40 - 50 °C температурада 1,5 - 2 соат давомида термостатга қуямиз. Пробиркадаги эритма қоғоз лента бўйлаб 10 - 12 см кўтарилгандан кейин хроматограммани олиб 100 °C да 10 - 15 минут давомида қуритилади. Хроматограммада рангли доғлар ҳосил бўлади. Доғларнинг R_t и аниқланиб жадвал (иловага қаранг) дан қайси аминокислота эканлиги аниқланади. Аминокислоталарнинг бир-бирдан ажралиши аниқ бўлиши учун одатда R_f бир-бирдан кўпроқ фарқ қилувчи аминокислоталар аралашмаси олиниши керак.

Р е а к т и в л а р : сув билан тўйинтирилган фенол эритмаси, нингидриннинг 0,1 % ли эритмаси, аминокислоталар аралашмасининг 0,1 % ли эритмаси (80 % ли этил спиртида эритилади).

ДОРИВОР ЎСИМЛИҚЛАРДАН ОҚСИЛЛАРНИ АЖРАТИБ ОЛИШ (ПЛЁШКОВ П.Б. БЎЙИЧА)

Ўсимликларнинг барча органларида оқсиллар бўлади. У айниқса дуккакли ўсимликларнинг уруғида кўп бўлади, вегетатив органларда эса 5 - 15 % га этади. Оқсилларнинг сифатини

аниқлаш учун аввало уларни тоза ҳолда ажратиб олиш керак. Бу оқсилларни биологик қийматини характерловчи белгилардан бири. Унинг аминокислотали таркиби, уни ажратиб олинган умумий оқсилларда кўрилади.

Р е а к т и в л а р : ўсимлик материали, суюқ азот, борат буфери (рН - 10) Натрий бисульфитнинг 0,2 % ли эритмаси, этил спирти, сирка кислотанинг 1% ли ва 10 % ли эритмаси, ўювчи натрийнинг 0,2 % ли эритмаси; трихлор ацетат кислотанинг 50 % ли эритмаси, ацетон, диэтил эфири.

20 - иш. Шифобахш ўсимликлардан умумий оқсилларни ажратиб олиш

Ўсимликларнинг турли органларидан оқсилларни ажратиб олишнинг турли усуллари мавжуд. Янги шифобахш сано ўсимлик материалдан, яъни барг, поя, мева ёки бошқа вегетатив органлардаги оқсилларни ажратиш учун 50 - 100 г намуна олиб, совитгичда ёки суюқ азот ёрдамида музлатилади. Сўнгра музлатилган намуна гомогенизаторда ёки чинни ҳовончада борат буфер эритмаси (рН-10) билан 1:4 нисбатида бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади. Эзиш давомида оқсилларнинг эрувчанлигини ошириш мақсадида бироз натрий бисульфатнинг 0,2 % ли эритмасидан ва кўпик ҳосил бўлмаслиги учун 3-4 томчи октил спирти қўшилади. Ҳосил бўлган гомогенат совитгичда музлатилади, сўнгра эритиб тебратувчи асбоб ёрдамида 1-2 соат давомида чайқатилади. Вақт тугагач, минутига 3 000 тезлик билан 10- 15 минут центрифугаланади. Эритма ҳажми 500 мл бўлганича ўлчов колбага қуйилади. Чўкма эса кам ҳажмдаги буфер эритма билан яна 5-6 марта экстракция қилинади. Ҳар сафар гомогенат центрифугаланиб эритмалар ўлчов колбага қуйилади. Экстракция колбадаги эритманинг умумий ҳажми дистилланган сув билан чизиққача тўлдирилади.

Эритмага ўтган азот миқдори, ўсимлик таркибидаги умумий азотнинг 90 - 95 % ни ташкил қилиши керак. Эритмадаги оқсилни аниқлаш учун ундан 20 мл олиб Къельдал бўйича азот миқдори топилади, шу билан бирга тўғридан-тўғри текширилаган ўсимлик материалидаги умумий азот ҳам аниқланади.

Эритмага ўтган оқсилларни чўктириш учун эритма 1000 мл ли стаканга қуйилади ва сирка кислотанинг 10 % ли эритмаси ёрдамида, рН 4,4 - 4,5 га келтирилади. Эритма рН ини қоғоз индикатор ёрдамида аниқланади. Агар муҳит кислотали бўлиб кетса, ишқор ёрдамида унинг рН ини 4,4 - 4,5 га келтириш мумкин. Эритма солинган стакан сув ҳаммомида 70°C да қиздири-

лади ва чўкмага тушган оқсиллар центрифугаланиб ажратилади. Чўкмага тушган оқсилларни сирка кислота билан ювилади. Бунинг учун центрифуга пробиркасига сирка кислотанинг 1% ли эритмасидан қуйиб чўкма аралаштирилади, центрифугаланади ва чўкма устидаги эритма тўкиб юборилади.

Оқсилларни янада тозароқ ҳолда ажратиш олиш учун уларни қайта чўктирилади. Бунинг учун центрифуга пробиркаларига ўювчи натрийнинг 0,2 н эритмасидан қуйилади ва чўкма яхшилаб аралаштирилиб, суяқлик пробиркадан стаканга қуйилади. Пробирка яна бир неча марта ўювчи натрийнинг 0,2 н эритмаси билан ювилади ва улар ҳам стакандаги суяқликка қўшилади. Стакандаги суяқлик сув ҳаммомида 50°C да оқсиллар тўлиқ эригунга қадар аралаштириб турилади. Эримаган заррачалар центрифугалаш йўли билан ажратилади.

Оқсилларни қайта чўктириш учун оқсил эритмаси бўлган стаканга 50% ли трихлорацетат кислотасидан, эритмадаги охириги концентрация 5% бўлгунча қўшилади. Бунда чўкмага тушган оқсиллар центрифугалаш билан ажратиш олинади. Центрифуга пробиркасидаги оқсил чўкмасини ацетон (5-6 марта), иссиқ этил спирти (1-2 марта) ва эфир (2-3 марта) билан ювилади (эфир билан центрифуга қилинганда, центрифуга қопқоғи очиқ бўлиши керак). Ҳар гал центрифугалашдан сўнг чўкма устидаги суяқлиги тўкиб юборилади. Шу йўл билан олинган оқсил препаратлари уй температурасида, вакуум эксикаторда қурилади ва сақланади. Оқсил препаратлари таркибидаги умумий азот Кьельдал бўйича аниқланади. Олинган оқсил препаратлари оқ ёки оч кулранг порошок бўлиб, таркибида 14-16% азот бўлади.

21-иш. Оқсилларни айрим фракцияларга ажратиш

Оқсилларни янада чуқурроқ ўрганиш учун уларни фракцияларга ажратиш керак. Оқсилларни фракцияларга ажратиш, уларни турли хил эритувчиларда эришига асосланган.

Ўсимлик тўқималаридан ажратиш олинган оқсиллар кетмакет равишда сув (альбулинлар), спирт (проламинлар) ва ишқорий эритмалар (глутенинлар) ёрдамида экстракция қилинади. Оқсилларни фракцияларга ажратиш ҳам совуқ хоналарда 4° С атрофида олиб борилади.

Иш тартиби. Текшириладиган ўсимлик материалидан 25-50г олиб, суяқ азот билан фиксация қилинади ва совиткичда музлатилади. Сўнгра музлатилган материал сув билан (1:4) нисбатда гомогенизация қилинади ёки чинни ҳовончада бир хил масса ҳосил бўлгунча майдаланади. Ҳосил бўлган гомоген масса кол-

бага ўтказилади ва махсус тебратувчи асбоб ёрдамида 1 соат чайқатилади. Бунда оқсилларни эритмага тўлиқ ўтиши таъминланади. Сўнгра колба 15-18 соатга 0°Сда совиткичда қолдирилади.

Ўсимликларнинг уруғларидан оқсилларни ажратишда эса уруғлар аввал майин ун ҳолига келгунча майдаланади. Уларнинг таркибидаги мой ва мойсимон моддалар эфир ва ацетон ёрдамида ажратилади. Порошоклар ацетонли эксикаторда қурилади. Порошокдан 5-10 г олиб, 30-60 мл сув билан аралаштирилади ва механик тебраткич ёрдамида 1 соат давомида чайқатилади. Сўнгра колба 15-18 соатга 0°С ли совиткичда қолдирилади.

Сувда эрувчи оқсилларни экстракция қилиш. Бундан кейинги иш тартиби ўсимлик материали қандай бўлишидан қатъи назар бир хилда олиб борилади. Оқсил эритмалари совиткичдан олингандан сўнг центрифугаланади ва чўкма устидаги суюқлик катта стаканга қуйилади. Центрифуга пробиркасидаги чўкма эса массага нисбатан уч баробар кўп сув билан гомогенизация қилинади ва конуссимон колбага қўйиб 30-40 минут чайқатилади. Шундан сўнг яна центрифуга қилинади ва чўкма устидаги суюқлик олдинги стаканга қуйилади. Сув билан экстракция қилиниб, центрифугалаш яна 4-5 марта такрорланади. Бунда сувда эрувчи оқсиллар тўлиқ экстракция қилинади, чўкма эса массага нисбатан 4-5 баробар кўп ҳажмдаги калий хлориднинг 1М эритмаси билан аралаштириб совиткичда қолдирилади.

Ўсимлик тўқималарини сув билан экстракция қилинганда эритмага фақат оқсиллар эмас, балки бошқа сувда эрийдиган бирикмалар, шу жумладан эркин аминокислоталар, шакарлар ва минерал тузлар ҳам ўтади. Шунинг учун олинган экстрактни кучсиз тузли эритма деб ҳисобласа ҳам бўлади. Бундай эритмага фақат сувда эрувчи оқсиллар (альбуминлар) эмас, балки қисман бўлсада, тузли эритмалардаги оқсиллар (глобулинлар) ҳам ўтади. Альбуминлар ва глобулинларни бир-биридан ажратиш учун экстракт дистилланган сувда диализ қилинади. Диализ вақтида кичик молекулали моддалар, шу жумладан минерал тузлар ҳам целлофан халтача ичидан сувга чиқади. Халтачада эса фақат оқсиллар қолади. Диализ охирида целлофан халтачада тузлар қолмаганлиги сабабли тузли эритмаларда эрийдиган оқсиллар дарҳол чўкмага тушади, эритмада эса альбуминлар қолади. Альбуминларни тузли эритмаларда эрийдиган оқсиллардан ажратиш учун целлофан халтачадаги эритма ва чўкма центрифуга пробиркаларига ўтказилади. Халтача 2-3 марта дистилланган сув билан ювилади ва у ҳам центрифуга пробиркасига қуйилади. Сўнгра 5-10

минут давомида минутига 3-4 минг тезлик билан центрифугаланади. Эритма 250 мл ли ўлчов колбага қуйилади. Чўкма эса дистилланган сув билан 2-3 марта ювилиб центрифугаланади. Барча эритмалар ўлчов колбага қуйилади ва дистилланган сув ёрдамида чизиққача тўлдирилади. Таркибида альбумин бўлган бу эритма совиткичда сақланади.

Центрифуга пробиркаларида қолган чўкма 10-15 мл 1 М калий хлорид эритмаси билан эритилади ва 250 мл ли колбага қуйилади. Пробиркалар 2-3 марта калий хлорид эритмаси билан ювилади ва улар ҳам колбага қуйилади. Колбадаги суюқлик калий хлорид эритмаси ёрдамида чизиққача тўлдирилади. Таркибида осонлик билан эрувчи глобулинлар бўлган бу эритма совиткичда сақланади.

Тузда эрувчи оқсилларни экстракция қилиш. Калий хлориднинг 1 М эритмаси билан қолдирилган ўсимлик массаси, механик тебраткич ёрдамида 1 соат давомида аралаштирилади. Сўнгра центрифугаланиб эритма ажратиб олинади. Чўкма эса яна 3-4 марта калий хлориднинг 1 мл ли эритмаси билан экстракция қилиниб, центрифугаланади. Эритмалар эса ҳаммаси дастлабки эритмага қўшилади ва ўлчов колба чизигигача калий хлорид эритмаси билан тўлдирилади. Бу эритма глобулинлардан иборатдир.

Глобулинлар ажратиб олингандан кейин қолган чўкма этил спиртининг 80% ли эритмаси билан экстракция қилинади. Бунда спиртда эрувчи оқсиллар пролламинлар ажралади, экстракция 1 соат давом этади, сўнгра центрифугаланиб, оқсил эритмалари ўлчов колбага қуйилади. Чўкма эса яна 3-4 марта спирт эритмаси билан экстракция қилинади ва барча эритмалар колбага қуйилади. Колба чизигигача спирт эритмаси билан тўлдирилади. Спиртли эритмалар совиткичда сақланмайди. Уларни хона температурасида сақлаш мумкин ва иложи борича оқсил миқдори тезроқ аниқланиши керак.

Ишқорда эрувчи оқсилларни экстракция қилиш. Бунинг учун центрифуга пробиркасида қолган чўкма 0,2 м борат буферда (рН-10) тайёрланган бисульфит натрийнинг 0,2% ли эритмасида эритилади. Айрим оқсил фракцияларини ажратиб олиш кўп жиҳатдан ўсимлик материални эритувчида туриш вақтига боғлиқ.

Ҳамма оқсил фракцияларини ажратиб бўлгандан сўнг қолган ўсимлик материали сув билан ювилади ва филтрланади сўнгра, қолдиқ 50 - 60°C қиздирилиб қуритилади. Унинг таркибидаги умумий азот Кьельдал усулида аниқланади.

Шундай қилиб, ўсимлик материалидан б хил оқсил фракциялари альбуминлар, осонлик билан эрийдиган глобулин ва калий хлорид ёрдамида ажратиладиган глобулинлар; проламинлар, глютеинлар ва эрмайдиган азот ажратиб олинади. Оқсил миқдорини аниқлаш учун ҳар бир колбадан (охирги фракциялардан ташқари) 20-50 мл эритма олиниб Къельдал колбасида қуйидаги оқсиллар аниқланади.

22-иш. Сано таркибидаги умумий оқсилларни ажратиб олиш

Ўсимликлар таркибида оқсиллар тоза ҳолда учрамайди. Улар кўпгина бошқа моддалар - углеводлар, липидлар ва нуклеин кислоталар билан биргаликда учрайди. Шунинг учун оқсилларни ажратиб олишда, аввало уларни бошқа моддалардан тозаланади. Оқсиллар ажратиб олинadиган ўсимлик материали иложи борича майдаланиши керак. Бунинг учун турли хил асбоблардан, масалан гомогенизатор, ультратовуш, қум, шиша кукуни ёрдамида эзиш ва бошқа усуллар қўлланилади.

Иш тартиби. Сано ўсимлик материали махсус электр тегирмонида унга айлантирилади. Ун қанча майин бўлса, оқсилларни ажратиш шунча осон бўлади. Тайёрланган ун чинни ҳовончада эфир билан яхшилаб аралаштирилиб 20-30 минут қолдирилади, сўнгра Бухнер воронкаси орқали эфирда тозаланади. Агар мойлар яхши ажралмаса (унинг сарғиш рангидан билинади) бу процесс 1-2 марта такрорланади, сўнгра яна бир марта ацетон билан ювилади. Шу йўл билан олинган порошок вакуум-эксикаторда уй температурасида қуритилади ва сақланади.

Тайёрланган порошокдан 10-20 г олиб колбага солинади, унга 0,2 % ли натрий бисульфит аралаштирилган 100-200 мл борат буфер қўшилади (рН-10,0). Колба механик тебраткич ёрдамида бир соат чайқатилади ва 15-18 соат давомида советкичда 0° да сақланади. Маълум вақт ўтгандан сўнг аралашма 5-10 минут давомида (минутига 3-4 минг марта айланadиган тезликда) центрифугаланади. Бу процесс яна 3-4 марта такрорланиб, умумий эритманинг ҳажми 300-400 мл га етказилади. Эритмадаги оқсилларни чўкмага тушириш учун уни иккита стаканга баравар қилиб қуйилади, эритманинг рН и 10% ли ацетат кислота ёрдамида 4,4 - 4,5га келтирилади. Сўнгра сув ҳаммомида 60° қиздирилади. Чўкмага тушган оқсиллар центрифуга ёрдамида ажратиб олинади ва эксикаторда қуритилади. Ажратиб олинган оқсил таркибида 15 - 17 % азот бўлади.

Р е а к т и в л а р : эфир, ацетон, борат буфер, натрий бисульфитнинг 0,2 % ли эритмаси, ацетат кислотанинг 10 % ли эритмаси.

23-иш. Оқсил миқдорини таркибидаги азот бўйича аниқлаш (Микрокьельдал усули)

Оқсил миқдорини таркибидаги азот бўйича ҳисоблаш энг қулай ва аниқ усулдир.

Бунинг учун ўсимлик материалидаги оқсил бирор йўл билан (20-иш) чўкмага туширилади. Сўнгра чўкма ва эритмадаги умумий азот аниқланади. Чўкмадаги азот оқсил миқдорини билдирса, эритмадаги азот оқсил бўлмаган бошқа азотли моддалар миқдорини кўрсатади. Агар ўсимлик материалидаги умумий азот маълум бўлса, унда фақат чўкма ёки эритмадаги азотни аниқлаб, умумий азотдан айириш йўли билан оқсил бўлмаган азотли моддалар миқдорини ҳисоблаш мумкин.

Биологик материал таркибидаги азотни аниқлашда кенг қўлланиладиган усуллардан бири Кьельдал усулидир. Кўп ҳолларда эса жуда кам миқдордаги азотни аниқлашга имкон берадиган микрокьельдал усулидан фойдаланилади. Кьельдал усулида текшириляётган модда кучли сульфат кислота ёрдамида куйдирилиб минерал ҳолатга келтирилади. Бунда катализатор сифатида водород пероксид, мис сульфат ва бошқа моддалардан фойдаланилади. Минералланиш процессида ҳосил бўлган аммиак сульфат кислота билан бирикади. Сўнгра ишқор ёрдамида аммиак ажратилади. Аммиак миқдорига қараб азот миқдори аниқланади. Оқсил моддаларининг миқдорини аниқлашда топилган азот миқдорини тегишли коэффициентга кўпайтирилади. Кўпчилик оқсиллар учун бу коэффициент 6,25 га тенг.

Микрокьельдал усулида куйидагича кўринишга эга бўлган асбобдан фойдаланилади. Буғ ҳосил қилувчи колба (1), дистилланган сув билан воронка (2) ёрдамида тўлдирилади. Бунга қисқичлари (4, 11) бўлган вакуум ҳосил қилувчи идиш (3) уланади. Кьельдал колбаси (5) бир томондан воронкали (7) трубка (6) орқали идиш (3) га, иккинчи томондан сув томчиларини тутиб қолувчи мослама (8) орқали совиткич (9) га уланади. Совиткични бир учи Эрленмейер (10) колбасидаги суюқликка ботирилган бўлади. Азотни аниқлашдан олдин асбобни 15 - 20 мин давомида буғлаб тозаланади.

Иш тартиби. Таркибида 5-10 мг азот бўлган оқсил Кьельдал колбасига солинади ва 5 мл концентрланган сульфат кислота қўшиб қиздирилади. Бир оз вақт ўтгач, оқ буғнинг чиқиши тугайди ва колбадаги аралашма бир меъёрда қайнай бошлайди. Шу вақт реакцияни тезлатиш учун 2 - 3 томчи водород пероксиди ёки 100 мг калий сульфат ва 3-4 дона мис сульфат кристалларидан солинади. Эритма рангсиз ҳолга келгунча қайна-

тилади. Сўнгра Къельдал колбаси совитилиб асбобга уланади. Колбадаги аралашма 10-15 мл (1-2 томчи) метилрот қўшилган дистилланган сув ёрдамида суялтирилади. Унинг устига 5-6 мл 30% ли натрий гидроксид эритмасидан қўйилади. Сув ва ишқор воронка (7) орқали қўйилиб, воронка йўли қисқич билан тўсиб қўйилади. Аралашма рангининг ўзгариши муҳит ишқорий эканлигидан дарак беради. Кейин идиш (3) орқали буғнинг чиқишини қисқич (4) билан беркигилади ва буғ Къельдал колбасига ўтиб аралашмани қайнатади. Бунда аммиак ажралиб совиткич орқали Эрленмейер колбасига туша бошлайди.

Аммиакнинг ажралиши 15-20 минутда тамом бўлади. Охириги 5 минут давомида совиткични учи кислотага тегмай туриши керак, шунинг учун колбани пастга тушириш керак бўлади. Реакция тамом бўлгач, кислотага тегиб турган совиткични учи дистилланган сув билан ювилади, сўнгра 1-2 томчи метилрот қўшилиб колбадаги ортиқча кислота 0,05 н натрий гидроксид ёрдамида ранги ўзгаргунча титрланади. Контрол учун материал ўрнига дистилланган сув олинади ва юқоридаги ҳамма процесс яна бир марта такрорланади. Ажратилган азот миқдорини аниқлашда 1мл 0,05 натрий гидроксиди 0,7 мг азотга тенг деб қабул қилинади. Азот миқдори процент ҳисобида қўйидагича аниқланади.

$$X = \frac{(a - b) * 7 * 0,7 - 100}{H * 10}$$

X – азот миқдори, процент ҳисобида (граммда);

a – контролни титрлаш учун сарфланган 0,05 н ўювчи натрий эритмаси миқдори;

b – тажрибани титрлаш учун сарфланган 0,05 н ўювчи натрий эритмасининг миқдори;

T – 0,05 н натрий гидроксиди титрига тузатма;

100 – процентга айлантириш коэффиценти;

H – олинган модда миқдори, мг ҳисобида.

Худди шу усул билан оқсил бўлмаган моддалар таркибидаги азот ва ўсимлик материалидаги умумий азотни аниқлаш мумкин.

Р е а к т и в л а р : сано оқсили, концентрланган сульфат кислота, водород пероксид, калий сульфат, мис сульфат, 0,05 г метилрот 150 мл этил спиртида эритилади ва сув билан 250 мл га етказилади, натрий гидроксидининг 30% ли эритмаси натрий гидроксидининг 0,05 н эритмаси.

24-иш. Оқсил миқдорини биурет реакцияси бўйича аниқлаш

Оқсиллар ишқорий шароитда мис атомлари билан реакцияга киришиб кўк-бинафша ранг ҳосил қилади. Бу рангнинг интенсивлиги эритмадаги оқсил миқдорига қараб ўзгаради. Биурет усули Кьельдал усулига нисбатан тез ва осонлик билан бажарилади. Бу усул фақат оқсил миқдори юқори бўлган материалларни текширишда қўлланилади.

Иш тартиби. Санодан тайёрланган ацетон унидан 1–1,5 г олиб чинни ҳовончада 3 мл борат буфер ёрдамида эзилади. Кейин яна 1 мл буфер қўшилади ва эзиш давом эттирилади. Шу йўл билан тайёрланган аралашма 30 минут қолдирилади. Сўнгра центрифугаланади ва эритмадаги оқсил миқдори аниқланади.

Пробиркага 1 мл эритмадан солиб, устига 1,5 мл биурет реактивидан қўшилади. Аралашма чайқатилиб 30 минутга қолдирилади. Кейин фотоколориметрда 1 см кювета ёрдамида 540 нм тўлқин узунлигида (яшил филтр) кўрилади. Оқсил миқдори стандарт оқсил ёрдамида аниқланган калибровка чизиги бўйича топилади. Калибровка чизигини тузиш учун тоза кристалл оқсилдан 100 мг олиб 10 мл дистилланган сувда эритилади ва ундан 1 мл эритмада 1 мг дан 10 мг гача оқсили бўлган стандарт эритмалар тайёрланади.

Буларни биурет реакцияси ёрдамида фотоколориметрда кўрилиб, қиймати аниқланади. Шу қиймат асосида калибровка чизиги чизилади.

Р е а к т и в л а р : санодан олинган ацетон порошок, биурет реактиви 1 л эритмада 9 г, сегнет тузи, 3 г мис сульфат 5 г калий йодид эритилади. Сегнет тузи 400 мл 0,2 н натрий гидроксидида эритилиб, мис сульфат қўшилади. Тузлар яхши эригач, калий йодид қўшилади ва эритма ҳажми 1 л га етказилади.

25-иш. Оқсил миқдорини Лоури усулида аниқлаш

Оқсил миқдорини аниқлашда қўлланиладиган усуллардан энг кенг тарқалгани Лоури усули ҳисобланиб, у ўта аниқлиги ва қулайлиги билан бошқа усуллардан фарқ қилади. Лоури усули оқсилларнинг биурет ва фолин реактивлари таъсирида рангли комплекслар ҳосил қилиш хусусиятига асосланган. Комплекс рангининг интенсивлиги текшириляётган эритмадаги оқсил миқдорига боғлиқ бўлиб, бу фотоколориметр ёрдамида аниқлана-

ди. Бу усул ўта суюлтирилган эритмалар таркибидаги жуда кам миқдордаги оқсилларни аниқлашга имкон беради.

Иш тартиби. Пробиркага таркибида 5–10 мкг оқсил бўлган текширилаётган эритмадан 0,1–0,2 мл олинади. Унинг устига 1 мл В реактивидан қўшилади ва яхшилаб аралаштирилиб 10 минут қолдирилади. Аралашма устига 0,1 мл Фолин реактивидан тезда қўшиб, чайқатилади ва 30–40 минутга қолдирилади. Бунда пробиркадаги сариқ ранг аста-секин кўк ранггача ўзгаради. Эритма рангининг интенсивлиги фотоколориметрда (қизил ёруғлик фильтри ёрдамида) ёки спектрофотометрда 750 нм тўлқин узунлигида ўлчанади (бунда қалинлиги 1 см ли кюветалардан фойдаланилади).

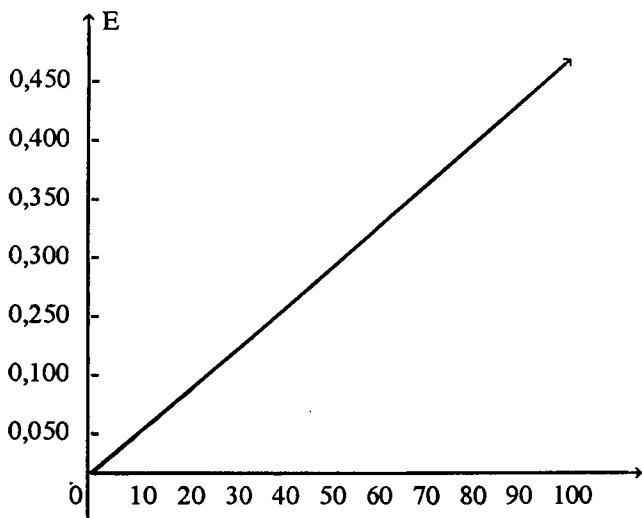
Текширилаётган намуна таркибидаги оқсил миқдори тоза оқсил ёрдамида тайёрланган калибровка чизиги бўйича аниқланади.

Калибровка чизигини тузиш. Аввало маълум концентрацияга эга бўлган оқсил эритмалари тайёрланади. Бунинг учун тайёрланган оқсил эритмасидан фойдаланиб бир қатор стандарт эритмалар ҳам тайёрланади. Улардаги оқсил миқдори 10,20..... ва ҳоказо 100 мкг бўлиши керак.

Кристалл оқсиллар, масалан ҳайвон альбумини, казеин ёки тухум альбуминидан 100 мг олиб, 100 мл ўювчи натрийнинг 0,1 н эритмасида эритилади. Ҳажми 10 мл ли 10 дона ўлчов пробиркага тайёрланган оқсил эритмасидан ортиб борувчи миқдорда яъни биринчи пробиркага 1 мл, иккинчи пробиркага 2 мл ва ҳоказо 10-пробиркага 10 мл оқсил эритмасидан қўйилади. Пробиркадаги эритмалар дистилланган сув билан чизиққа етказилади. Бунда пробиркалардаги оқсил миқдори 0,1 мг дан 1 мг гача боради. Пробиркадаги эритмалар яхшилаб аралаштирилади. Оқсил миқдорини аниқлаш учун ҳар бир пробиркадан 0,1 - 0,2 мл олиниб юқорида кўрсатилган реактивлар қўшилади. Турғун ранг ҳосил бўлгач ФЭК ёки спектрофотометр ёрдамида ранг интенсивлиги аниқланади. Тайёрланган эритмаларнинг ҳар бири билан камида 3 марта Лоури реакциясини қайтариш керак ва олинган ўртача маълумотга қараб калибровка чизиги тузилади.

Р е а к т и в л а р : А реактиви - 0,1 н натрий карбонат тузининг натрий гидроксиддаги 0,2% ли эритмаси. Б реактиви - мис сульфатнинг 1% ли цитрат натрийдаги 0,5% ли эритмаси, В реактиви - 60 мл А эритмасини 1 мл Б реактиви билан аралашмаси. Фойдаланишдан олдин аралаштирилади. Фолин реактиви, ҳажми 1 л бўлган колбага 50 г натрий вольфрамат, 12,5 г натрий молибдат ва 350 мл дистилланган сув қўшилади. Колба сови-

гач, 25 мл 85% ли ортофосфат кислота ва 50 мл хлорид кислота қўшилади. Колбага қайтар совитгич уланиб 10 соат давомида қайнатилади. Сўнгра яна 75 г литий сульфат, 25 мл сув, 2-3 томчи бром қўшилади ва 15 минут давомида совиткичсиз қайнатилади. Аралашма совигандан кейин ҳажми сув ёрдамида 500 мл га етказилади. Эритма тиниқ, ранги тўқ сариқ бўлиши керак.



Эритма таркибидаги оқсил концентрацияси, мкг
Стандарт оқсил эритмаси асосида тузилган калибровка чизиги

26-иш. Оқсилларни гидролизлаш ва уларнинг аминокислотали таркибини аниқлаш

Оқсилларнинг аминокислотали таркибини аниқлаш учун улар аввало гидролизланиши керак. Сўнгра хроматография усули ёрдамида уларнинг аминокислотали таркиби аниқланади.

Иш тартиби. Аввало оқсиллар гидролизланади. Бунинг учун 50–100 мг тоза оқсил тортиб олинади ва шиша ампулага солинади, унга 10 мл 6 н хлорид кислота қўшилади. Сўнгра ампула азот билан тўлдирилиб, унинг очиқ томони эритиш йўли билан беркитилади. Қайнаётган сувда гидролиз 24 соат давом этади. Гидролиз тамом бўлгач, ампула совитилади ва эритма чинни косачага солинади. Чинни косачадаги эритма сув ҳаммомида буғлатилади. Қуруқ косачага 3-4 томчи дистилланган сув қўшиб

яна қуригунча буглатилади. Бу процесс косачадаги кислотали хусусият йўқолгунча 3—4 марта такрорланади. Ампулани музхонада сақлаб қўйиш ҳам мумкин. Кислотали гидролизда триптофан аминокислотаси парчаланиб кетади.

Хроматограммага томизиладиган оқсил гидролизатининг миқдори, оқсил таркибидаги аминокислоталарнинг миқдорига боғлиқ бўлади. Агар оқсил таркибида аминокислоталар кўп бўлса, кам ҳажмдаги гидролизат ва аксинча, аминокислоталар миқдори кам бўлса, кўп ҳажмдаги гидролизат олинади. Одатда олинган намуна таркибидаги оқсил миқдори 0,6 мг дан 2 мг гача бўлади. Гидролизатни хроматограммага томизиш ва аминокислоталарни ажратиш юқорида баён қилинган усул ёрдамида амалга оширилади.

Р е а к т и в л а р : тоза оқсил намунаси, б н хлорид кислота эритмаси.

27-иш. Аминокислоталарни юпқа қаватли хроматография усулида аниқлаш

Юпқа қаватли хроматография усулида оқсил гидролизатлари ёки аминокислоталар аралашмасидан барча аминокислоталарни ажратиш мумкин. Юпқа қават сифатида кўпинча силикагель, алюминий оксиди, целлюлоза ҳосилалари ва бошқа моддалардан, тайёр ҳолдаги махсус пластинка (силуфол) лардан фойдаланилади.

Иш тартиби. Стандарт силуфол пластинкалар 4—5 см дан қилиб қирқилади. Пластинканинг пастки қисмидан 1—1,5 см қолдириб юмшоқ қалам билан старт чизиғи белгиланади. Текширилётган оқсил гидролизати (0,5 мкг) ёки тайёр ҳолдаги аминокислоталар аралашмаси капилляр найча ёрдамида старт чизиғига юмалоқ шаклда томизилган жой ҳавода қуритилиб ўша жойга яна намуна эритмасидан томизилади. Герметик берк стакан ёки камерага баландлиги 1 см келадиган буфер эритма қўйилади ва 10-15 минут давомида 45 °С гача қиздирилади. Қиздирилган стаканга пластинка туширилади. Ҳар бир стаканга 2—3 та пластинка қўйиш мумкин.

Ишнинг мақсадига кўра буфер эритма рН ҳар хил бўлади. Оқсил гидролизатлари таркибидаги аминокислоталарни бир вақтда ажратиш учун қўлланиладиган буфер эритманинг рН и 3,3 га тенг бўлиши шарт. Пластинка туширилган стаканда хроматография 3 - 3,5 соат давом этади. Ҳаво температураси ҳам 45° С да бўлиши шарт. Буфер эритма fronti 18 см кўтарилганда тажриба тўхтатилиб пластинка олинади ва иссиқ ҳавода ёки фен ёрдамида қуритилади.

Сўнгра пластинка коллидин - нингидрин реактиви билан ишланади ва яна бир бор қуритилади. Бунда пластинкада ҳар хил доғлар ҳосил бўлади. Аспартат кислота ҳаво ранг, глицин ва тирозин қўнғир, қолган аминокислоталар эса тўқ қизил ранг беради.

Аминокислоталарнинг ажралиши буфер эритма рН ининг ўзгаришига ўта таъсирчан бўлиб, ҳатто эритма рН и 0,1 бирликка ўзгарса ҳам, аминокислоталарнинг ажралиши аниқ бўлмаслига мумкин. Температуранинг паст бўлиши ҳам аминокислоталарнинг ажралишига таъсир қилади. Пластинкада аминокислоталар старт чизигидан бошлаб қуйидаги тартибда ажралади, аргинин, лизин, гистидин, фенилаланин, тирозин, лейцин, изолейцин, метионин, валин, (цистин), аланин, глицин, цистеин, глутамат кислота, треонин, серин, аспартат кислота. Текширилаётган оқсил гидролизати билан бирга контрол (стандарт) эритмалар ҳам хроматография қилинади. Бу текширилаётган намунадаги аминокислоталарни тезда аниқлашга имкон беради. Шунини таъкидлаб ўтиш керакки, юпқа қаватли хроматография усулида аминокислоталар сифат жиҳатдан баҳоланади ва уларнинг миқдорини аниқлашга имкон бўлмайди.

Р е а к т и в л а р : нингидрин. Бу реактивни тайёрлаш учун 3 хил эритма тайёрланади. А эритма - 1 г нингидрин 100 мл ацетон ва 10 мл сирка кислотада эритилади. Б эритма - 1 г кадмий ацетат 100 мл 50% ли сирка кислота эритмасида эритилади. В эритма - Коллидин.

Нингидрин реактивини тайёрлаш учун А эритмадан 100мл, Б эритмадан 10 мл ва В эритмадан 10 мл олиб аралаштирилади. Ҳар вақт янги тайёрланган аралашмадан фойдаланилади.

Буфер эритма. Аминокислоталарни ажратиш учун тайёрланадиган буфер эритма 84,0 г цитрат кислота, NaOH 16,0 г, HCl 37% ли (солиштирама оғирлиги 1,19) 5,9 мл олиниб, умумий ҳажми дистилланган сув билан 1 литрга етказилади. Эритма рН-3,3.

Нуклеопротеинлар

Нуклеопротеинлар оқсил ва нуклеин кислоталарнинг бирикишидан ҳосил бўлган мураккаб бирикмалардир. Нуклеопротеинлар барча тирик организмлар ҳужайрасининг таркибида учрайди ва ядро ҳамда цитоплазманинг ажралмас компоненти ҳисобланади.

Нуклеопротеинлар ўсимликларнинг тез ўсаётган ва ривожланаётган органларида учрайди. Масалан, ёш ўсимликлар баргида, ўсиш нуқтасида, шунингдек уруғ муртагида, гулнинг

чанг донида кўп бўлади. Нуклеопротеинлар гидролиз қилинганда оқсиллар (кўпинча гистонлар) ва нуклеин кислоталарга парчаланadi.

Нуклеин кислоталар икки хил бўлади. Рибонуклеин кислоталар (РНК) ва дезоксирибонуклеин кислоталар (ДНК) биринчи хил нуклеин кислота таркибида рибоза, иккинчи хил нуклеин кислота таркибида эса дезоксирибоза учрайди. Нуклеопротеинларни ажратиб олишда турли хил усуллардан фойдаланилади.

28-иш. Нуклеопротеинларни ажратиб олиш ва уларни гидролизлаш

Нуклеопротеинларни ажратиб олиш уларни ишқорларда эришига ва кучсиз кислоталар таъсирида чўкишига асосланган. Нуклеопротеинларни ўрганиш учун кўпинча ачитқи замбуруғларидан фойдаланилади. Қисқа муддат давомида ачитқи замбуруғлари кислотали гидролиз қилинса, улар полипептидлар, пурин ва пиридин асослари ҳамда рибоза, дезоксирибоза ва фосфат кислотасига парчаланadi. Натижада ҳосил бўлган маҳсулотлар махсус реакциялар ёрдамида аниқланади.

Иш тартиби. 2г ачитқи замбуруғини чинни ҳовончага солиб, 3-4 томчи эфир ва 2-4 мл дистилланган сув қўшиб эзилади. Яхши эзилиши учун озроқ шиша кукунларидан қўшиш мумкин. Ачитқи бир хил масса ҳосил бўлгунча 1-2 минут давомида эзилади натрий гидроксидининг 0,4 % ли эритмасидан 8 мл қўшиб 10-15 минут давомида эзилади.

Сўнгра ҳовончадаги аралашма филтрдан ўтказилиб, филтратга 2-3 мл 5% ли ацетат кислота қўшилади. Бунда нуклеопротеинлар чўкмага тушади. Чўкмани кенг пробиркага солиб, устига 6-10 мл сульфат кислотанинг 10% ли эритмасидан қўшилади. Советкич сифатида узунлиги 25-30 см шиша найча ўрнатилган пробка билан беркитиб қайнаб турган сувда 1 соат давомида гидролизланади. Гидролизатдан қуйидаги ишларни бажаришда фойдаланилади.

Оқсилларни аниқлаш. Пробиркага гидролизатдан 1 мл олиб, унинг устига 1 мл 20% ли натрий гидроксид эритмасидан, 3-5 томчи мис сульфатнинг 2% ли эритмасидан қўшамиз. Суюқлик бинафша ранг беради.

Пурин асосларини аниқлаш. Пробиркага гидролизат дан 1 мл олиб унга аммиакнинг 10% ли эритмасидан 5-7 томчи қўшиб нейтралланади. (Лакмус қоғоз ёрдамида аниқланади). Кейин кумуш нитратнинг 1 % ли эритмасидан, 0,5 мл қўшсак, 5-10 ми-

нутдан сўнг чўкма ҳосил бўлади. Бу, пурин асосларининг мавжудлигини билдиради.

Рибоза ва дезоксирибозани аниқлаш. Пробиркага гидролизатдан 1 мл олиб, унинг устида 1 мл 20% ли натрий гидроксид ва 5-6 томчи мис сульфатнинг 2 %ли эритмасидан қўшамиз. Суюқликни яхшилаб аралаштириб, қайнагунга қадар қиздирамиз. Қизил чўкма ҳосил бўлади. Бу углевод компонентларининг борлигини билдиради.

Фосфор кислотасини аниқлаш. Пробиркага гидролизатдан 1 мл олиб, тенг ҳажмда молибден реактивдан қўшиб қиздирамиз. Сарик рангнинг ҳосил бўлиши фосфор кислота борлигини кўрсатади.

Р е а к т и в л а р : ачитқи замбуруғлари, эфир, натрий гидроксиднинг 0,4%ли эритмаси, сирка кислотанинг 5 % ли эритмаси, сульфат кислотанинг 5 % ли эритмаси, натрий гидроксиднинг 20 % ли эритмаси, мис сульфатнинг 2 % ли эритмаси, кумуш нитратнинг 1% ли эритмаси, аммиакнинг концентрланган эритмаси. Аммоний молибдат тузининг нитрат кислотадаги эритмаси (7,5 г аммоний молибдат 100мл 32% ли нитрат кислотада эритилади).

II боб. ФЕРМЕНТЛАР

Тирик организмларда содир бўладиган барча химиявий реакциялар махсус катализаторлар ёрдамида боради. Оқсил тибиатига эга бўлган бундай катализаторлар ферментлар деб аталади. Ферментларнинг оқсилларга мансуб эканлигини исботловчи далиллардан бири протеолитик ферментлар таъсирида улар активлигининг камайишидир.

Оддий оқсиллардан, яъни фақат аминокислоталардан ташкил топган ферментлар бир компонентли ферментлар дейилади. Масалан, рибонуклеаза, трипсин, папаин ва бошқалар. Агар ферментлар мураккаб оқсиллардан ташкил топган бўлса, яъни уларнинг таркибида аминокислоталардан ташқари бошқа бирикмалар ҳам учраса, улар икки компонентли ферментлар деб аталади. Оксидланиш-қайтарилиш реакцияларида иштирок этувчи ферментлар икки компонентли ферментлардир.

Ферментлар бир қатор ўзига хос хусусиятларга эга. Буларга ферментларнинг термолабиллиги, спецификлиги, муҳит рНининг ўзгаришига нисбатан сезувчанлиги, активатор ва ингибиторларнинг таъсирига сезувчанлиги, активатор ва ингибиторларнинг таъсирига мойиллиги киради. Ферментларнинг таъсири ва уларнинг активлиги реакцияда иштирок этаётган модданинг камайишига (модда субстрат деб аталади) ёки ҳосил бўлаётган модданинг ортиб боришига қараб белгиланади. Одатда ферментатив препарат сифатида ўсимлик тўқималарининг шираларидан фойдаланилади. Бундай шираларда ферментлар эриган ҳолда бўлади. Ҳозирга қадар маълум бўлган ферментлар б синфга бўлинади.

1. Оксидоредуктазалар — оксидланиш ва қайтарилиш реакцияларини катализлайди.

2. Трансферазалар — маълум химиявий группаларни бир бирикмадан иккинчи бирикмага кўчирилишини таъминлайди.

3. Гидролазалар-мураккаб органик бирикмаларнинг сув ёрдамида парчаланиш реакцияларини катализлайди.

4. Лиазалар — субстратдан сув иштирокисиз маълум группаларнинг ажралишини катализлайди. Бу ферментлар фаолияти туфайли ё қўшбоғ ҳосил бўлади ёки маълум группаларнинг қўш боғларга бирикиши таъминланади.

5. Изомеразалар — ҳар хил органик бирикмаларнинг изомерланиш реакцияларини катализлайди.

6. Лигазалар — АТФ ёки шунга ўхшаш нуклеозид трифосфатлар энергиясини ҳисобига оддий молекулалардан мураккаб бирикмалар ҳосил бўлиш реакцияларини катализлайди.

Ферментларнинг активлигини аниқлашда химиявий усуллар билан бир қаторда спектрофотометрик, монометрик, хроматографик ва бошқа усуллардан кенг фойдаланилмоқда.

29-иш. Амилазанинг крахмалга таъсири

Амилаза ферменти крахмални қандгача парчалайди. Амилаза ферментнинг муҳим манбаларидан бири дон ўсимликлари ҳисобланади. Улар қуруқ дондан ва айниқса унаётган донларнинг таркибида кўп миқдорда тўпланади. Унаётган донлар таркибидаги ферментлар энг юқори активликка эга бўлади.

Крахмал йод билан кўк ранг беради, унинг парчаланиши натижасида ҳосил бўлган декстрин заррачалар катта-кичиклигига қараб йод билан бинафша, қўнғир - қизил, сарғиш ва сариқ ранггача (йоднинг сувдаги ранги) ўзгаради. Шунинг учун агар крахмал эритмасига амилаза ферментидан қўшилса, маълум вақт ичида йод таъсирида аралашма аввал кўк, кейин эса бинафша, қизил сарғиш ва сариқ ранггача ўзгаради.

Иш тартиби. 9 та пробирка олиб, ҳар бирига 2-3 мл дистилланган сув ва бир томчидан 1%ли йод эритмасидан қуйилади. Вақти белгилаб, пробиркадаги аралашмани яхшилаб чайқатилади. Сўнгра пипетка ёрдамида 1 томчи аралашма биринчи пробиркага солинади. Пробиркадаги суюқлик кўк ранг беради. Шундай қилиб, ҳар 30 секунддан кейин 2-,3-,4- ...ва ҳоказо 9-пробиркаларга бир томчидан 10-пробиркадаги аралашмадан солиб чиқилади. Пробиркалардаги суюқликлар яхшилаб аралаштирилади ва тегишли ранг ҳосил бўлади. Агар иккинчи пробиркадаги суюқлик кўк ранг берса, унда кейинги пробиркаларга бир мунча узоқроқ вақтдан кейин, масалан, ҳар бир минутдан сўнг солиш керак. Бордию иккинчи пробиркада бинафша ёки қизғиш ранг ҳосил бўлса, унда вақтини тезлатиш керак, яъни ҳар 15 секундда солиш керак бўлади. Пробиркалар биридаги сариқ ранг ўзгармай қолса, бу крахмал гидролизининг тугаганлигини билдиради. Тажриба натижаси қуйидаги жадвалга ёзилади.

Р е а к т и в л а р : фермент шираси (5-10 грамм унга ёки 5 кунлик дон майсалари яхшилаб майдаланади ва колбага солиниб устига 100 мл дистилланган сув қуйилади. Яхшилаб ара-

лаштирилиб, 30 минут давомида қолдирилади, сўнгра филтрланади (Филтрдан ўтган суюқлик фермент шираси ҳисобланади). Йоднинг 1% ли эритмаси, крахмалнинг 0,5% ли эритмаси.

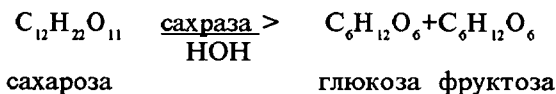
3 - ж а д в а л

Амилаза ферментининг крахмалга таъсири

Пробиркалар	1	2	3	4	5	6	7	8	9
суюқлик ранги ҳосил бўлган маҳсулот									

30-иш. Сахараза ферментининг активлигини аниқлаш

Сахараза (инвертаза) ферменти сахарозани гидролизлаб глюкоза ва фруктозагача парчалайди.



Сахараза ферменти кўпчилик ўсимликлар таркибида учрайди. Айниқса у ачитқи замбуруғларидан кўп бўлади. Фермент активлигини аниқлашда бир қатор усуллардан фойдаланилади. Булардан бири юқоридаги реакция маҳсулотларининг қайтарувчанлик хусусиятларига асосланган бўлиб, глюкоза ва фруктоза тегишли кислоталаргача оксидланади, мис ионлари эса қайтарилди.

Иш тартиби. 2 та пробиркага 1 мл дан 0,5 % ли сахароза эритмасидан солинади. 1 пробиркага 1 мл сув, иккинчисига эса 1 мл сахароза ферменти ширасидан қўшилади ва 15 минут 35°C термостатига қўйилади. Белгиланган вақт тугагач, ҳар иккала пробиркага 2 мл натрий гидроксиднинг 20 % ли эритмасидан ва 5-6 томчи мис сульфатнинг 2 % ли эритмасидан қўшиб қиздирилади. Фермент таъсир қилган пробиркада қизил чўкма ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : Сахараза ферменти шираси, шира ачитқи замбуруғларидан олинади. Бунинг учун 5 грамм ачитқи чинни ҳовончада эзилади, сўнгра унга 5 мл дистилланган сув қўшиб эзишни давом эттирилади. Ҳовончага яна 10 мл иссиқ (60°) сув қўшилади ва 10 минут давомида эзилади. Бунда сахароза фер-

менти эритмага ўтади. Аралашма филтрдан ўтказилади, филтратдан фермент шираси сифатида фойдаланилади. Сахарозанинг 0,5 % ли эритмаси натрий гидроксиднинг 20 % ли эритмаси, мис сульфатнинг 2 % ли эритмаси.

31-иш. Ферментларнинг термолабиллиги

Температура кўтарилиши билан ферментлар ёрдамида катализланувчи реакцияларнинг тезлиги ортиб боради. Бироқ маълум температурада ферментлар қайтмас денатурацияга учраши туфайли активлигини йўқотади. Ферментларнинг каталитик активлиги йўқолади. Ферментларнинг каталитик активлиги максимал бўлган температура оптимуми дейилади. 1. Ҳар бир фермент ўз оптимал температурасига эга. 2. Ўсимликлар таркибидаги ферментларнинг температура оптимуми 40°-60° га тенг бўлади. Паст (0° дан паст) температураларда ферментларнинг активлиги пасаяди ёки бутунлай тўхтади. Бироқ бунда улар денатурацияга учрамайди.

Иш тартиби. 3 та пробиркага 2-3 мл дан амилаза ферменти ширасидан солинади, биринчи пробирка 2-3 минут давомида қайнатилади. Пробирка совиғач, ҳар учала пробиркага 1 мл дан 0,5 % ли крахмал эритмасидан солинади. 1-ва 2-пробиркалар 37°С да термостатга, 3-пробирка эса музли идишга қўйилади. 10 минут ўтгач, ҳар қайси пробиркага 5 томчидан 1 % ли йод томизилади. Тажриба натижаси қўйидаги жадвалга ёзилади.

4- жадвал

Пробирка номери	Фермент	Субстрат	Температура	Маҳсулот ранги
1	амилаза	крахмал	0°	
2	амилаза	крахмал	37°	
3	амилаза	крахмал	100°	

Р е а к т и в л а р : Амилаза фермент шираси, крахмалнинг 0,5 % ли эритмаси, йоднинг 1 % ли эритмаси.

32-иш. Ферментларнинг активлигига муҳит рН нинг таъсири

Ферментларга хос бўлган хусусиятлардан бири муҳит рН и ўзгаришнинг сезувчанлигидир, яъни ҳар бир фермент муҳит рН нинг маълум қийматида максимал активликка эга бўлади.

Одатда, бу қиймат рН оптимуми деб аталади. Ферментларнинг активлигига рН нинг таъсирини ўрганиш учун бир қатор рН қиймати ҳар хил бўлган эритмалар тайёрланади. Бу эритмаларда фермент активлиги аниқланади.

Иш тартиби. 10 та пробирка олиб, ҳар бирига жадвалда кўрсатилганидек 2,5 мл дан буфер эритма солинади. Буфер эритма- Na_2HPO_4 ва цитрат (лимон) кислота ёрдамида тайёрланади.

5 - ж а д в а л

Пробиркалар номери	Буфер эритмаси		Буфер эритма рНи
	Na_2HPO_4	цитрат кислота 0,1 М эритма	
1	0,27	2,23	2,6
2	1,10	1,40	4,4
3	1,29	1,21	5,0
4	1,39	1,11	5,4
5	1,51	0,99	5,8
6	1,65	0,85	6,2
7	1,82	0,68	6,6
8	2,06	0,44	7,0
9	2,27	0,23	7,4
10	2,43	0,07	8,0

Кейин ҳар бир пробиркага 1,5 мл дан крахмалнинг 0,5% ли эритмаси ва 1,9 мл дан фермент шираси қўшилади. Пробиркалардаги суюқлик яхшилаб аралаштирилиб, 15 минут 37°C да термостатга қўйилади. Кўрсатилган вақт тамом бўлгач, барча пробиркаларга 3-4 томчидан йоднинг 1% ли эритмасидан қўшилади ва қайси пробиркада крахмал яхши парчалангани аниқланади. Шунинг асосида ферментнинг оптимал рНи топилади.

Р е а к т и в л а р : Na_2HPO_4 , 0,2М эритма, цитрат кислотанинг 0,1М эритмаси, крахмалнинг 0,5% ли эритмаси, амилаза фермент шираси.

33-иш. Ферментларнинг спецификлиги

Ферментлар аорганик катализаторлардан фарқ қилиб, специфик таъсир қилиш хусусиятига эга. Уларнинг бундай спецификлиги тирик организмларга хос бўлган муҳим хусусиятлардан бири ҳисобланади. Айрим ферментлар спецификлик даражасига қараб бир-биридан фарқ қилади. Масалан, амилаза

фақат крахмални парчалайди, мальтоза ва сахарозага эса таъсир қилмайди.

Иш тартиби. Амилазанинг специфик таъсири. Иккита пробиркага 1 мл дан амилаза ферменти солинади, биринчи пробиркага 1 мл 0,5% ли крахмал эритмасидан, иккинчисига 1 мл 0,5% ли сахароза эритмасидан солиб, 15 минут 40°C сув ҳаммомига қуйилади. Кўрсатилган вақт тугагач, ҳар иккала пробиркага тенг ҳажмда 20% ли натрий гидроксиди ва 5-6 томчи 5% ли мис сульфат эритмасидан солинади ва қайнагунча қиздирилади. Натижада фақат крахмал парчаланиб, сахароза ўзгармай қолгани аниқланади.

Сахаразанинг специфик таъсири. Иккита пробиркага 1 мл дан сахароза ферменти ширасидан солинади.

Биринчи пробиркага 1 мл 0,5% ли сахароза эритмасидан, иккинчисига 1 мл 0,5% ли крахмал эритмасидан қўшилади ва 15 минут 40°C термостатга қўйилади. Вақт ўтгач, ҳар иккала пробиркага тенг ҳажмда 20% ли натрий гидроксид ва 5-6 томчи 5% ли мис сульфат эритмасидан солинади. Кейин аралашма қайнагунча қиздирилади. Натижада фақат сахароза парчаланиб, крахмал ўзгармай қолади. Тажриба натижалари жадвалга ёзилади.

Ферментлар	Субстрат	
	Крахмал	Сахароза
Амилаза		
Сахароза		
Хулоса		

Р е а к т и в л а р : амилаза ферментининг шираси, крахмалнинг 0,5% ли эритмаси, сахарозанинг 0,5% ли эритмаси, натрий гидроксидининг 20% ли эритмаси, мис сульфатнинг 5% ли эритмаси.

34-иш. Ферментларнинг активлигига таъсир қилувчи моддалар (ингибиторлар ва активаторлар)

Ферментларнинг активлигига реакция муҳотида иштирок этаётган бир қатор химиявий моддалар ҳам таъсир кўрсатади. Реакция муҳотида баъзи бир ионларнинг иштирок этиши ферментатив реакция тезлигини орттиради. Бундай моддалар акти-

ваторлар деб аталади. Активаторлик вазифасини кўпинча Na^+ , K^+ , Mg^{++} , Ca^{2+} каби металл катионлари бажаради. Ферментатив реакция активлигини пасайтирувчи моддалар ингибиторлар дейилади. Ингибиторларга цианидлар, оғир металл тузлари мисол бўла олади.

Р е а к т и в л а р : амилаза ферментининг шираси (солод), нитрий хлориднинг 0,04% ли эритмаси, мис сульфатнинг 0,1% ли эритмаси, крахмалнинг 1% ли эритмаси, йоднинг 1% ли эритмаси.

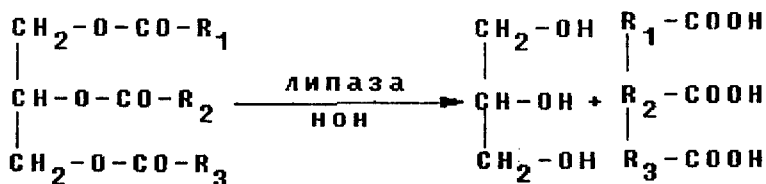
Иш тартиби. Уч қатор (ҳар бир қаторда 6 тадан) пробирка тайёрлаб, ҳаммасига 1 мл дан сув қуйилади. Кейин ҳар бир қаторнинг биринчи пробиркасига 1 мл дан амилаза ферменти ширасидан қуйилади. Пипетка ёрдамида 1-пробиркадаги суyoқлик аралаштирилиб, аралашма 2-пробиркага олинади ва яна бир марта аралаштириб 2-пробиркадан 3-пробиркага солинади ва ҳоказо. Охириги 6-пробиркадан 1 мл ортиқча аралашма олиб ташланади. Қолган қаторларда ҳам худди шундай қилинади.

Биринчи қатор пробиркаларга 1 мл сув, иккинчи қатор пробиркаларга натрий хлорид тузининг 0,04% ли эритмасидан, 1 мл учинчи қатор пробиркаларга мис сульфат тузининг 0,1% ли эритмасидан 1 мл қуйилади. Кейин ҳамма пробиркаларга 2 мл дан крахмал солинади ва 10 минутга 40°C термостатига қуйилади. Вақт тамом бўлгач, ҳамма пробиркаларга 2-3 томчидан йод томизилади ва активатор ҳамда ингибиторлар таъсири аниқланади.

35-иш. Канакунжутдаги липаза ферментининг активлигини аниқлаш

Липаза ферменти ўсимликларда кенг тарқалган бўлиб, айниқса улар мойли ўсимликлар уруғида кўп бўлади. Унаётган чигит таркибида ҳам липаза ферментининг активлиги энг юқори бўлади.

Липаза ферменти мойларни ёғ кислоталари ва глицеринга-ча парчалайди.



Мойлар

Глицерин

Ёғ кислоталари

Липаза ферменти таъсирида ёғ кислоталарининг миқдори ортади, шунинг учун фермент активлиги реакция муҳитининг нордонлигини титрлаш усули билан топилади.

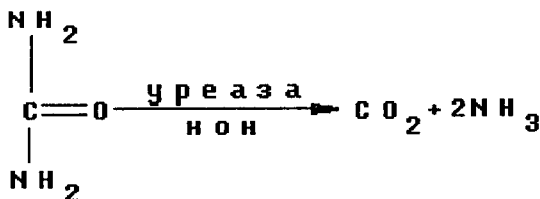
Иш тартиби. Липаза ферментини олиш учун 2-3 кунлик бўртган канақунжут мағзидан 2 грамм олиб, чинни ҳовончада бир хил масса ҳосил бўлгунча майдаланган шиша ёрдамида эзилади ва 5 мл 0,2 м ацетат буфер (рН - 4,8) қўшиб ҳажми 100 мл бўлган колбага қўйилади. Колбага 2 мл тоза пахта мойи қўшиб 2 соатга 40 °С термостатга қўйилади. Бу вақт давомида колбани 3-4 марта яхшилаб чайқатиб турилади. Вақт тугагач, колбага 20 мл 96% ли этил спирти ва 20 мл эфир солинади. 2-3 томчи фенолфталеин қўшиб, 0,1 н калий гидроксиди ёрдамида титрланади.

Контрол ҳам худди тажрибага ўхшаш тайёрланади, фақат инкубацияга қўймасдан дарҳол титрланади.

Р е а к т и в л а р : 2 - 3 кунлик бўртган канақунжут мағзи, ацетат буфер, 0,2М эритмаси (рН-4,8) пахта мойи, этил спиртининг 96% ли эритмаси, эфир, фенолфталеин, калий гидроксидининг 0,1 н эритмаси.

36-иш. Тарвуз уруғи мағзидаги уреaza ферментининг активлигини аниқлаш

Уреaza ферменти дуккакли ўсимликларда кенг тарқалган. Айниқса улар соя, нўхат, канавалияда кўп миқдорда бўлади. У тарвуз уруғларида ҳам кўп учрайди. Уреaza ферменти мочеви-нани карбонат ангидрид ва аммиаккача парчалайди.



Мочевина

Иш тартиби. Соя ёки тарвуз уруғи мағзидан 5 грамм олиб, чинни ҳовончада ун ҳосил бўлгунча яхшилаб эзилади. Сўнгра 2 та пробирка олиб, ҳар бирига 1 г соя ёки тарвуз уруғи унидан

солинади. 1-пробиркага 1 мл сув, 2-пробиркага 1 мл мочеви-
нинг 1% ли эрит маси қўйилади. Пробиркалар 40°C да 15 минут
давомида термостатга қўйилади.

Кейин ҳар иккала пробиркага 1-2 томчидан фенолфталеин
томизилади. 2-пробиркадаги муҳит фермент таъсирида ҳосил
бўлган аммиак ҳисобига ишқорий муҳит бўлиб, пушти рангга
эга бўлади.

Р е а к т и в л а р : соя ва тарвуз уруғлари, мочеви-
нинг 1% ли эритмаси, фенолфталеин.

37-иш. Картошкада тирозиназа ферментининг активлигини аниқлаш

Тирозиназа ферменти оксидланиш-қайтарилиш реакцияла-
рини анализ қилувчи ферментларга мансуб бўлиб, ўсимликлар
таркибида кенг тарқалган. Улар ўсимлик маҳсулотларида ранг-
ли моддалар меланинларни ҳосил бўлишида муҳим аҳамиятга
эга.

Иш тартиби. Картошка қирғич ёрдамида майдаланиб 2-3
қават дока орқали сиқиб шираси олинади. Иккита пробиркага 1
мл дан картошка шираси солинади. 1-пробиркага 2-3 томчи сув,
2-пробиркага 2-3 томчи тирозиннинг 0,5% ли эритмаси қўши-
лади. Пробиркадаги суюқлик яхшилаб аралаштирилиб, 60 минут
давомида 40°C термостатга қўйилади. Вақт-вақти билан 3-4 мар-
та пробиркалар яхшилаб аралаштирилиб турилади. Вақт ўтгач,
тирозин қўшилган пробиркада қора ранг ҳосил бўлади. Бу ранг
тирозиназа ферменти таъсирида тирозиндан ҳосил бўлган мела-
нинга хосдир.

Р е а к т и в л а р : картошка, тирозиннинг 0,1% ли эритмаси,
(0,1 г тирозин 100 мл 0,01 н Na_2CO_3 эритмасида кучсиз қиздири-
либ эритилади).

38-иш. Пероксидаза ферментининг активлигини аниқлаш

Пероксидаза ферментлари ўсимликларда кенг тарқалган
бўлиб оксидланиш реакцияларида катта аҳамиятга эга. Перок-
сидаза ферменти кўпчилик фенолларни оксидлайди. Бу бирик-
маларни оксидланиши водород перексиди иштрокида амалга
оширилади.

Иш тартиби. Доривор ўсимлик барги ёки бошқа қисмидан
1 - 2 г олиб, чинни ҳовончада бир хил масса ҳосил бўлгунча
майдаланган шиша билан эзилади. Ҳосил бўлган массага 10-15

мл дистилланган сув қўшилади ва филтрдан ўтказилади. Иккита пробирка олиб ҳар бирига 2 мл филтрат қуйилади. 1-пробирка 1-2 минут қайнатилади ва совитилади. Ҳар иккала пробиркага ҳам 0,5 мл 2,5% ли пирогаллол эритмасидан, водород пероксиднинг 1% ли эритмасидан 2-3 томчидан қўшилади. Пробиркалар аралаштирилиб қизил чўкма пурпургаллин ҳосил бўлиши кузатилади.

Р е а к т и в л а р : Доривор ўсимлик материали, пирогаллолнинг 2,5% ли эритмаси, водород пероксидининг 1% ли эритмаси.

39-иш. Қалампир ялпиз таркибидаги фосфотаза ферментининг активлигини аниқлаш

Фосфотаза ферменти ўсимлик дунёсида кенг тарқалган бўлиб, моддалар алмашинуви процессида катта аҳамиятга эга. Бу фермент гидролазалар синфига мансуб бўлиб, фосфор кислотасининг мураккаб эфирларини гидролиз қилишда иштирок этади.

Ўсимликларнинг турли қисмларида учрайдиган фосфотаза ферментлари ҳар хил муҳитда кўрсатадиган таъсирга қараб, «ишқорий фосфотазалар» (рН оптимуми 8 дан юқори) ва «Нордон фосфотазалар»га (рН оптимуми 6 дан паст) бўлинади.

Иш тартиби. Қалампир ялпиз ўсимталаридан 1-3 грамм тортиб олинади ва чинни ҳовончада 1-5 мл, трис - буфер ёрдамида (рН-5,5 ёки рН-9,0) бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади. Ҳосил бўлган гомогенат минутига 1500-3000 тезликда 10 минут давомида центрифугаланади. Сўнгра центрифугатни ҳажми 10 мл га етказилади. Бу эритма фосфотаза ферментининг манбаи ҳисобланади.

2 та пробирка олиб, ҳар бирига 1 мл буфер эритмадан ва натрий глицерофосфатининг 0,05% ли эритмасидан 1 мл дан солинади. Биринчи пробиркага фермент эритмасидан 2 мл қўшиб 37 °С га сув ҳаммомига 30 минут давомида қўйилади. Иккинчи пробиркага эса трихлорацетат кислотасининг 10 % ли эритмасидан 2 мл солинади ва унинг устига 2 мл фермент эритмасидан қўшилади. Иккинчи пробирка ҳам сув ҳаммомига қўйилади. Вақт тугагач, биринчи пробиркага ҳам трихлорацетат кислотасининг 10% ли эритмасидан 2 мл қўшилади. Сўнгра ҳар иккала пробирка 10 минут давомида минутига 3000 тезликда центрифугаланади. Центрифугатда фосфор миқдори колориметрик усулда аниқланади. Тажриба ва контрол пробиркадаги фосфор

миқдорининг фарқи ферментнинг активлигини кўрсатувчи белги ҳисобланади.

Реактивлар: трис-буфер эритмаси (иловага қаранг), натрий глицерфосфатнинг 0,05% ли эритмаси, трихлорацетат кислота-нинг 10% ли эритмаси.

III боб. УГЛЕВОДЛАР. ДОРИВОР ЎСИМЛИКЛАРДА УГЛЕВОДЛАРНИ АНИҚЛАШ

Углеводлар ўсимликлар ҳаётида муҳим аҳамиятга эга бўлган органик бирикмалардир. Улар ўсимликлар таркибий қисмининг 80-90% ни ташкил қилади. Углеводлар фотосинтез процессининг асосий маҳсулидир. Улар ўсимликларнинг нафас олиш процессида парчаланиб, кўп энергия ажратади.

Углеводлар ҳаётий процессларда муҳим роль ўйнайдиган бирикмалар нуклеин кислота ва ёғлар ҳосил бўлишида алоҳида аҳамиятга эга. Углеводларнинг кўпчилиги ўсимликларда запас модда сифатида тўпланади. Улар илдизмеваларда ҳам запас модда сифатида илдизда кўп тўпланади.

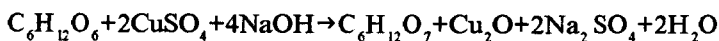
Углеводлар тузилиши ва хусусиятига қараб иккита катта гурпуага: оддий углеводлар - моносахаридлар ва мураккаб углеводлар полисахаридларга бўлинади. Полисахаридлар иккита кичик гурпуани ташкил қилади. Булар молекуляр оғирлиги унча катта бўлмаган олигосахаридлар ва ҳақиқий полисахаридлардир. Ўсимликлардаги углеводларнинг таркиби ва миқдорини аниқлашда қўлланиладиган жуда кўп усуллар мавжуд.

40-иш. Моносахаридларнинг қайтарувчанлик хусусиятлари

Шакарларнинг таркибидаги эркин альдегид ёки кетон гурпуалари ишқорий шароитда ва қиздирилганда оксидланиб, оғир металллар (Cu, Bi, Ag) ни қайтариш хусусиятига эга. Масалан мис (II) -оксиднинг тузи мис (I) -оксидигача, кумуш (I) тузи металл кумушга қайтарилади. Бу реакциялар қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлган шакарларни сифат ва миқдор жиҳатидан аниқлашга имкон беради.

1.Троммер реакцияси. Пробиркага 1-2 мл глюкоза ёки доривор ўсимлик ширасидан олиб, унинг устига тенг ҳажмда 10% ли натрий гидроксид қўшилади. Сўнгра мис сульфатининг 2% ли эритмасидан 4-5 томчи томизиб, қайнагунча қиздирилади. Сарик

ёки қизил чўкма ҳосил бўлади. Мис сульфатдан кўп солинса, SiO ҳосил бўлиб, қора чўкма беради.



2. Феленг реакцияси. Пробиркага 2 мл глюкоза ёки текширилаётган ўсимлик ширасидан солиб, устига 1 мл феленг суюқлигидан қўшилади. Яхшилаб аралаштириб қиздирилса мис (I) - оксиднинг қизил чўкмаси ҳосил бўлади. Феленг суюқлигини афзаллиги шундаки, агар мис сульфат миқдори ортиб кетса мис (II) - оксиди сифатида чўкма ҳосил қилмайди ва қора ранг бермайди.

Р е а к т и в л а р : глюкозанинг 1 % ли эритмаси, натрий гидроксиднинг 10% ли эритмаси, мис сульфатнинг 2 % ли эритмаси, феленг суюқлиги иккита эритмадан иборат. (1-346 г сегнет тузи, 103,2 г NaOH 1 л сувда эритилади. 2- $\text{Cu}_2\text{SO}_5\text{H}_2\text{O}$ нинг 69,28-1 л сувда эритилади. Ишлатишдан олдин баравар ҳажмда 1:1 аралаштирилади).

МОНОСАХАРИДЛАРНИ АНИҚЛАШДА ҚЎЛЛАНИЛАДИГАН РАНГЛИ РЕАКЦИЯЛАР

41-иш. Гексозаларга доир реакциялар Подобедов - Молиш реакцияси

Шакарлар *a* —нафтол ва тимол билан реакцияга киришиб рангли бирикмалар ҳосил қилади.

Иш тартиби. Пробирка олиб, уларнинг ҳар бирига 2 мл глюкозанинг 1% ли эритмасидан солинади. 1-пробиркага 5 томчи 0,2 % ли *a*-нафтол эритмаидан, 2-пробиркага 5 томчи 1% ли тимол эритмасидан қўшилади. Иккала пробиркага эҳтиёткорлик билан пробирка девори бўйлаб, 2 мл концентрланган сульфат кислота қўшилади. Сульфат кислота ва шакар эритмаси ўртасида биринчи пробиркада бинафша ранг, иккинчи пробиркада қизил ранг ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : глюкозанинг 1 % ли эритмаси, *a*-нафтолнинг 0,2 % ли спиртдаги эритмаси, (0,5 г *a*-нафтол 50 мл этил спиртида эритилади. Ишлатишдан олдин 5 марта суюлтирилади). Тимолнинг 1% ли спиртли эритмаси, концентрланган сульфат кислота.

Селеванов реакцияси. Кетогексозалар, жумладан фруктоза хлорид кислота ва резорцин билан қиздирилганда тўқ-қизил ранг

беради. Бу ранг реакция маҳсулоти бўлган оксиметилфурфуролга хосдир.

Иш тартиби. 2та пробирка олиб 2 мл Селеванов реактивидан солинади. Биринчи пробиркага 2 томчи фруктоза эритмасидан, иккинчи пробиркага 2 томчи глюкоза эритмасидан қўшилади. Иккала пробиркани қайнаб турган сув ҳаммомига 1-2 минут қолдирилади. Фруктоза бор пробиркада қизил ранг ҳосил бўлади, глюкоза солинган пробиркада эса ранг ҳосил бўлмайди.

Р е а к т и в л а р : Селеванов реактиви (100мл 20%ли хлорид кислотада 0,05 г резорцин эритилади), глюкозанинг 1%ли эритмаси, фруктозанинг 1%ли эритмаси.

Дифениламин реакцияси. Кетоза жумладан фруктоза ҳам кислотали муҳитда дифениламин билан кўк ранг беради. Бу реакция фруктозани миқдорий жиҳатдан аниқлашда (Колориметрик усул) ҳам қўлланилади.

Иш тартиби. Пробиркага 1мл фруктозанинг 1% ли эритмасидан олиб унга 0,5мл дефениламин ва 1мл хлорид кислота қўшилади. Аралашма қайнаб турган сув ҳамомида 5 минут давомида ушланади. Реакция натижасида кўк ранг ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : дефениламиннинг 20% ли эритмаси, (96% ли спиртда тайёрланади).

Хлорид кислотанинг 20% ли эритмаси, фруктозанинг 1% ли эритмаси.

42-иш. Пентозаларга реакциялар

Пентозалар ўсимликлар дунёсида кенг тарқалгандир. Улар ачитқи замбуруғлари томонидан оксидланмайди. Пентозалардан рибулоза, рибоза, дезоксирбозалар кўп учрайди. Ксилоза ва арабиноза эркин ҳолда бўлмай, кўпинча пентозаларни парчаланishi натижасида ҳосил бўлади.

Флорглоцин реакцияси. Пробиркага 2 мл 0,2% ли флорглоцин эритмасидан олинади, қайнагунча қиздириб, 6 томчи пентоза қўшилади. Пушти ранг ҳосил бўлиб, кейин қизил рангга айланади.

Орцин реакцияси. Пробиркага 2 мл арцин қуйилади ва қайнагунча қиздирилади. Сўнгра 6 томчи пентоза эритмасидан қуйилади. Пушти ранг ҳосил бўлиб кейинчалик яшил рангга айланади.

Р е а к т и в л а р : флорглоциннинг 0,2% ли эритмаси, 30% ли хлорид кислота, 1г орцин 500 мл 30% ли хлорид кислотада тайёрланиб, унга 4-5 мл. 10% ли темир хлорид қўшилади эритма рангли идишда сақланади, пентозанинг 1% ли эритмаси.

43 иш. Дисахаридларнинг қайтарувчанлик хусусиятлари

Таркибида эркин гидроксил группаси бўлган дисахаридлар масалан мальтоза, лактоза, целлобиозалар металлларни қайтариш хусусиятига эга. Бироқ сахароза бундай хусусиятга эга эмас. Чунки сахарозани ташкил қилувчи глюкоза ва фруктозанинг реакцияга кириш хусусиятига эга бўлган альдегид ва кетон группалари ўзаро бириккан бўлади. Агар сахароза кислота ёки ферментатив йул билан гидролиз қилинса реакцияга кириш хусусиятига эга бўлган группалар очилади ва улар қайтарувчанлик хусусиятини тиклайди.

Иш тартиби. 3 та пробирка олиб, биринчисига мальтоза, иккинчисига лактоза ва учинчисига сахарозанинг 1% ли эритмасидан 1 мл тўртинчи пробиркага қанд лавлаги ширасидан солинади. Ҳар қайси пробиркага 1 мл натрий гидроксиднинг 30% ли эритмасидан ва 3-4 томчи мис сульфатнинг 5% ли эритмасидан қўшилади. Пробиркаларни қайнагунча қиздирилади. Мальтоза ва лактоза ижобий реакция беради, яъни мис қайтарилиб сариқ ёки қизил ранг ҳосил килади. Сахароза эса салбий реакция беради, яъни пробиркадаги ранг ўзгармай қолади.

Бошқа бир пробиркага 1 мл сахарозанинг 1% ли эритмасидан олиб, унинг устига 3-4 томчи концентрланган сульфат кислотасидан қўшилади. Пробиркани қайнаб турган сув ҳаммомида 10-15 минут ушланади, сўнгра унинг устига 1 мл 30% ли натрий гидроксиднинг эритмасидан ва 3-4 томчи 5% ли мис сульфат эритмасидан қўшиб қиздирилади. Пробиркада сариқ ёки қизил ранг ҳосил бўлади. Чунки гидролиз натижасида ҳосил бўлган моносахаридлар қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлади.

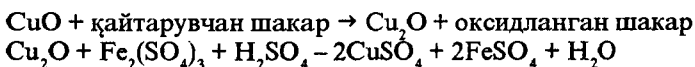
Р е а к т и в л а р : мальтозанинг 1% ли эритмаси, лактозанинг 1% ли эритмаси, сахарозанинг 1% ли эритмаси, натрий гидроксиднинг 30% ли эритмаси, мис сульфатнинг 5% ли эритмаси, сульфат кислотанинг концентрланган эритмаси.

44-иш. Қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлган шакларни Бертран усулида аниқлаш

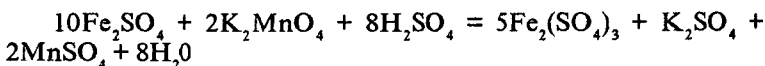
Қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлган қандлар ишқорий шароитда мис ионлари билан реакцияга киришиб мис (I)-оксидни ҳосил қилади. Ҳосил бўлган мис (I)-оксиди тегишли равишда сув билан ювилгандан сўнг сульфат кислота билан нордонлаштирилган темир (III) - сульфат тузи эритмаси таъсир эт-

тирилади. Бунда мис (I)-оксиди мис (II)-оксидига айланади. Темир (III)-оксиди эса, темир (II)-оксидигача қайтарилади.

Реакция қуйидагича боради:



Қайтарилган темир (II)-оксидининг миқдори, перманганат эритмаси билан титрланиб аниқланади.



Бу тенгламадан 1 мл калий перманганат эритмаси 10,05 мг мис миқдorigа тенг.

Иш тартиби. Ўсимлик материалдан 5-10 грамм (таркибидаги углеводларнинг миқдorigа қараб) тортиб олиниб, чинни ҳовончада шиша кукунлари ёрдамида бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади. Сўнгра 50 мл сувни 2-3 бўлиб ҳовончага қуйилади ва масса 100 мл гача белгиланган ўлчовли колбага ўтказилади. Сувнинг охириги порцияси билан ҳовонча ювилади ва у ҳам колбага қуйилади. Кейин колбани температураси 70-80° бўлган сув ҳаммомида 20-30 минут ушланади. Колба совигач, аралашма таркибидаги углеводларни аниқлашга тўсқинлик қиладиган оқсил ва бошқа моддалар аралашма тиниқ рангга киргунча қўрғошин ацетат тузидан оз-оздан (0,5-1 мл) қўшиб чўкмага туширилади. Ортиқча қўрғошин эса тўйинган натрий сульфат ёрдамида йўқотилади. (Оқ қуйқум ҳосил бўлиш тўхтагунча қўшилади). Кейин аралашма филтрланади ва 1-2 марта иссиқ сув билан ювилади. Филтратнинг умумий ҳажми 100 мл га етказилади. Филтрат таркибидаги эрувчан шакарлар қуйидагича аниқланади. Колбага 5-20 мл (текшириляётган эритмадаги углеводларнинг оз-кўплигига қараб) филтрат қуйилади. Шакарларни аниқлаш усули олинаятган эритмалар маълум ҳажмда бўлишини талаб қиладди. Шунинг учун агар филтратдан 5 ёки 10 мл олинса тегишли равишда 15 ёки 10 мл дистилланган сув қўшиб, умумий ҳажми 20 мл га етказиш керак. Филтратга 20 мл А ва Б реактивидан қўшилади. Аралашма қиздирилади ва аниқ 3 минут давомида қайнатилади. Натижада қизил мис (I) оксиди чўкмага тушади. Агар у рангсиз бўлса текширишга олинадиган филтратни камайитириш керак. Пробирка совигач эритма шиша филтрга аста - секин қуйилади. Кейин колбадаги чўкма билан шиша филтрдаги чўкма сульфат кислотадаги темир сульфат тузи ёрдамида эритилади. Чўкма эритилгандан

сўнг колба ва шиша фильтр дистилланган совуқ сув билан нордон реакция йўқолгунгача ювилади. Сўнгра колбадаги суюқлик калий перманганат ёрдамида оч пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади.

Титрлаш учун сарфланган 0,1н калий перманганат ҳажми мис титрига кўпайтирилади ва таблицадан шакарлар миқдори аниқланади. Шакарлар проценти қуйидаги формула бўйича аниқланади.

$$X = \frac{A \times V \times 100}{V_1 \times H}$$

A - Бертран жадвали бўйича топилган (олинган ҳажм таркибидаги) шакар миқдори;

V - ўсимлик материалидан олинган аралашма ҳажми;

V₁ - шакарни аниқлаш учун олинган эритма ҳажми;

H - ўсимлик материали грамм ҳисобида.

7 - жадвал

Мис миллиграммларига тенг бўлган эрувчан шакарлар миқдори (Бертран бўйича)

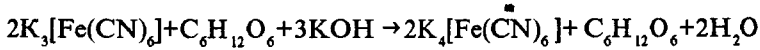
Глюкоза	Мис	Глюкоза	Мис	Глюкоза	Мис
10	20,4	31	60,9	61	114,5
11	22,4	32	62,8	62	116,2
12	24,3	33	64,6	63	117,9
13	26,3	34	66,5	64	119,6
14	28,3	35	68,3	65	121,3
15	30,2	36	70,1	66	123,0
16	32,2	37	72,0	67	124,7
17	34,2	38	73,8	68	126,4
18	36,2	39	75,7	69	128,1
19	38,1	40	77,5	70	129,8
20	40,1	41	79,3	71	131,4
21	42,0	42	81,1	72	133,1
22	43,9	43	82,9	73	134,7
23	45,8	44	84,7	74	136,3
24	47,7	45	86,4	75	137,9
25	49,6	46	88,2	76	139,6
26	51,5	47	90,0	77	141,2
27	53,4	48	91,8	78	142,8
28	55,3	49	93,6	79	144,5
29	57,2	50	95,4	80	146,1
30	59,1	51	97,1	81	147,7
		52	98,9	82	149,3

1	2	3	4	5	6
		52	98,9	82	149,3
		53	100,6	83	150,9
		54	102,3	84	152,5
		55	104,1	85	154,0
		56	105,8	86	155,6
		57	107,6	87	157,2
		58	109,3	88	158,8
		59	111,1	89	160,4
		60	112,8	90	162,0

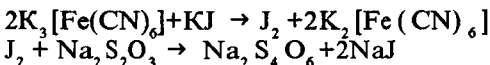
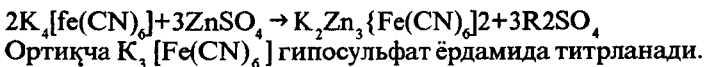
Реактивлар : 1. А реактиви-мис сульфат эритмаси, 40 г сульфат ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 1л дистилланган сувда эритилади. 2. Б реактиви-Сегнет тузининг ишқорли эритмаси. 200 г сегнет тузи ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \text{KNa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) ва 150 г NaOH 1л дистилланган сувда эритилади. 3. Перманганат эритмаси 5 г калий перманганат 1 л дистилланган сувда эритилади. Бунда 1 мл эритма 10 мг мис миқдорига тўғри келади. 0,1 н перманганат эритмаси ишлатилса (3,16 г KMnO_4) . миллитр эритма 6,36 мг мисга тўғри келади. 4.50 г $\text{Fe}(\text{SO}_4)_3$ ва 200г (108 мл) концентраланган сульфат кислота аралаштириб, дистилланган сув билан 1 л га етказилади.

45-иш. Эрувчан углеводлар миқдорини Хагедорн-Иенсен усулида аниқлаш

Бу усул ёрдамида турли хил биологик объектлар таркибидаги глюкоза ва бошқа қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлган шакарларни аниқлаш мумкин. Реакция натижасида шакарлар ишқорий шароитда оксидланиб, қизил қон тузи (калий феррицианид) сариқ қон тузи (калий феррицианид) гача қайтарилади.



Ҳосил бўлган $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ эса рух сульфат ёрдамида чўкмага туширилади.



Иш тартиби. Алое ўсимлик материалдан 1 грамм олиб ҳовончада 5 - 10 мл дистилланган сув билан бир хил масса ҳосил

бўлгунча эзилади. Сўнгра пробирка ёки кичик ҳажмли колбага қуйилади. Ҳовонча 2-3 марта 3-5 мл дистилланган сув билан ювилади ва олдинги эритмага қўшилади. Пробирка ёки колбадаги умумий эритманинг ҳажми 10-15 мл дан ошмаслиги керак. Эрувчан углеводларни тўлиқ ажратиб олиш учун пробирка ёки колба 70 ° - 80 °С сув ҳаммомида 30 минут қайнатилади. 3 мл натрий гидроксиднинг 0,2 н эритмасидан ва 2 мл рух сульфитнинг 5% ли эритмасидан қўшиб 3 минут давомида қайнатилади. Натижада аралашмадаги оқсиллар чўкмага тушади (рух сульфат эритмаси ҳар доим янги тайёрланган бўлиши керак). Аралашма ҳажми 50 мл ли ўлчов колбага филтрланади. Идиш иссиқ сув билан ювилади ва у ҳам филтрланади. Филтрат совигач, унинг умумий миқдори дистилланган сув билан чизикқача етказилади. Иккита колба олиб, ҳар бирига 2-5 мл филтратдан (текширилаётган материал таркибидаги шакар миқдорига қараб) қуйилади. Унинг устига 11-8 мл сув қуйиб умумий ҳажми 13 мл га етказилади. Унинг устига 2 мл калий ферроцианид эритмаси қўшилади. Худди шу йўл билан 2 та контрол колба тайёрланади. Бунда 13 мл дистилланган сув устида 2 мл калий ферроцианид эритмаси қўшилади. Сўнгра колбалар қайнаб турган сув ҳаммомига 15 минутга туширилади. Моддалар - а - текширилаётган ўсимлик материали таркибидаги углеводнинг қайтарилиш хусусиятига асосланган бошқа усуллар каби бу усулда ҳам қайнаш учун кўрсатилган вақтга қатъий риоя қилиш керак. Вақт тугагач, колбалар дарҳол олинади ва совуқ сув ёрдамида совитилади. Совиган эритма устига 3 мл мураккаб аралашмадан (KI, ZnSO₄, NaCl) ва 2 мл сирка кислотанинг 3% ли эритмасидан қўшилади. Бунда ажралиб чиққан йод гипосульфит эритмаси ёрдамида сариқ ранг ҳосил бўлгунча титрланади. Сўнгра аралашмаларга 2-3 томчидан крахмалнинг 1% ли эритмасидан қўшиб, рангсиз ҳолатга келгунча титрлаш давом эттирилади. Титрлаш учун сарфланган гипосульфит миқдорига қараб жадвал бўйича (иловага қаранг) глюкоза миқдори аниқланади.

Тажриба бўйича топилган сондан контрол бўйича топилган соннинг айирмаси, текшириш учун олинган эритма таркибидаги қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлган углеводлар миқдорини беради. Кейин текшириш учун олинган ҳажмдаги углеводлар миқдори ҳисобланади. Текширилаётган ўсимлик материалидаги углеводларнинг процент миқдори қуйидагича топилади.

$$X = \frac{a \times 100}{H}$$

а- текширилаётган материал таркибидаги углевод миқдори, Н- олинган намуна массаси.

Р : а к т и в л а р : натрий гидроксиднинг 0,2 н эритмаси, рух сульфатнинг 5%ли эритмаси, натрий карбонатнинг 0,1 н эритмаси калий ферроцианиднинг 0,005 н эритмаси (1,65 г калий ферроцианид, 1066 г сода билан 1 л сувда эритилади). Бу эритма рангли идишда узоқ вақт сақланиши мумкин.

Мураккаб аралашма (калий йодат, рух сульфат, натрий хлорид). Рух сульфатдан 50 г ва натрий хлориддан 250 г олиб 1 л сувда эритилади. Бу асосий эритма вазифасини бажаради. Мураккаб эритма тайёрлаш учун ҳар куни калий йодатнинг асосий эритмадаги 2,5% ли эритмаси керакли миқдорда тайёрланади, сирка кислота (3% эритма) крахмал (1% эритма), бу натрий хлориднинг тўйинган эритмасида тайёрланади.

Гипосульфит (0,005 н эритма). Бу эритма ҳам ҳар вақт янгидан тайёрланади. Бунинг учун 0,1 н асосий эритмадан фойдаланилади.

46-иш. Қайтарувчан шакарларни Бьерр усулида аниқлаш

Бу усул ёрдамида текширилаётган ўсимлик материалида жуда кам миқдордаги (0,1 - 0,9 мг) шакарни ҳам аниқлаш мумкин. Бьерр усулида ҳам Бертран усулида қўлланиладиган реактивлардан фойдаланилади.

Иш тартиби. Текширилаётган эритмадан 3 мл олиб, центрифуга пробиркасига қуйилади, унинг устига янги тайёрланган Феленг суюқлигидан қўшилади. Пробирка қайнаб турган сув ҳаммомига туширилади ва 6 минут давомида қайнатилади. Вақт тугагач, тезда совуқ сув ёрдамида пробиркалар хона температурасигача совитилади. Бунда пробирка тагига қизил чўкма тўшади. Ҳосил бўлган чўкма минутига 2000 тезликда 2-3 минут центрифугаланади, чўкма ажратиб олинади. Чўкма 3 - 5 мл темир (II)-сульфат эритмаси билан эритилади. Сўнгра 0,01 н калий перманганат эритмаси билан эритилади. Сўнгра 0,01 н калий перманганат эритмаси ёрдамида титрланиб эрувчан шакарлар миқдори жадвал бўйича аниқланади. Сарфланган калий перманганат эритмасининг 1 мл миснинг 1 мг га тўғри келади. Шу йўл билан топилган мис миқдорига қараб жадвалдан қайтарувчан шакар миқдори топилади (8-жадвал).

Р е а к т и в л а р : Феленг эритмаси (52-бетга қаранг) Калий перманганатнинг 0,01 н эритмаси, 0,5 г KMnO_4 , 1 л дистиллан-

ган сувда эритилади. Темир (II)-сульфат эритмаси. 50 г $Fe_2(SO_4)_3$ ва 200 г (108 мл) концентранган сульфат кислота аралаштирилади ва дистилланган сув билан 1 л га етказилади.

47-иш. Андиз доривор ўсимлигида фруктозани аниқлаш

Фруктоза кўпчилик меваларнинг таркибида учрайди. Фруктоза нордон шароитда резорцин билан реакцияга киришиб рангли бирикма ҳосил қилади.

Иш тартиби. 5 - 20 г андиз доривор ўсимлик материалдан олиб, чинни ҳовончада бир хил масса ҳосил бўлгунча шиша кукунлари ёрдамида 10-20 мл сув билан эзилади. Сўнгра ҳажми 200 мл ли колбага қуйилади. Колбани температураси 80 - 90 °C бўлган сув ҳаммомига туширилади ва 1 соат давомида экстракция қилинади. Сўнгра колбани совитиб, кўрғошин ацетатнинг 10% ли эритмасидан 5-6 мл қўшилади. Бунда фруктозани аниқлашга халақит берадиган бошқа моддалар чўкмага тушади.

Колбадаги сууюқликни яхшилаб аралаштириб сув билан чиқиқача тўлдирилади ва филтрланади.

Филтратдан 50 мл ли колбага 5 мл олиб, устига 5 мл резорциннинг спиртли эритмасидан ва 15 мл хлорид кислотанинг 30% ли эритмасидан қўшилади. Колбадаги сууюқликни яхшилаб аралаштириб, 80°C температурали сув ҳаммомига 20 минутга қўйилади. Сўнгра колбани совитиб ранг интенсивлигини ФЭК да кўрилади. Бунда яшил ёруғлик филтратдан (540 НМ) фойдаланилади. Фруктоза миқдорини аниқлаш учун стандарт эритмалар ёрдамида калибровка чизиги график сифатида чизилади. Стандарт эритмадан ҳажми 50 мл ли колбаларга 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 мл дан қўйилади. Уларнинг устига тегишли равишда 4,5; 4,0; 3,0; 2,0; 1,0; 0,0 мл дистилланган сув қўйилади. Сўнгра барча колбаларга 5 мл резорцин эритмаси ва 15 мл хлорид кислотанинг 30% ли эритмасидан қўшиб, температураси 80,50°C бўлган сув ҳаммомида 20 мин давомида сақланади. Вақт тугагач, колбалар совитилиб ҳосил бўлган ранг интенсивлиги ФЭК да ўлчанади.

Р е а к т и в л а р : резорциннинг спиртли эритмаси (1г резорцин 1 л 25% ли этил спиртида эритилади). Хлорид кислотанинг 30% ли эритмаси. Фруктозанинг стандарт эритмаси. 100 мг фруктоза 100 мл бензоат кислотанинг сувда тўйинган эритмасида эритилади ва совитгичда сақланади. Шу эритмадан 10 мл олиб 100 мл сувда суюлтирилади.

48-иш. Қанд лавлагида сахароза миқдорини аниқлаш

Сахароза ўсимликларда кенг тарқалган шакарлардан ҳисобланади. У қайтарувчанлик хусусиятига эга эмас. Сахарозани химиявий усулда аниқлаш учун турли хил гидролиз усуллари-дан фойдаланилади. Сахароза одатда ферментатив ёки кислота-тали гидролиз йўли билан фруктоза ва глюкозагача парчалана-ди. Гидролиз маҳсулоти ҳисобланган моносахаридларнинг қай-тарувчанлик хусусиятига қараб сахарозанинг миқдори аниқланади.

Сахарозани сувли экстрактларда аниқлаш бирмунча қийин, чунки бундай экстракт таркибида бошқа юқори молекулали полисахаридлар ҳам бўлиб, уларнинг гидролизланиши натижа-сида ҳам қайтарувчан шакарлар ҳосил бўлади. Бундай сувли экстрактларни филтрлаш бирмунча қийиндир. Шу сабабли са-харозани аниқлашда спиртли экстрактлардан фойдаланиш тав-сия қилинади.

8-жадвал

Мис миқдорига тенг бўлган глюкоза миқдори (мг да)
(Бьерр бўйича)

Гликоза	Мис	Глюкоза	Мис	Глюкоза	Мис	Глюкоза	Мис
0,1	0,55	1,20	2,80	2,25	5,00	5,50	10,80
0,2	0,80	1,30	3,00	2,50	5,30	6,00	11,90
0,3	1,00	1,40	3,20				
0,4	1,15	1,50	3,40	2,75	5,95	6,50	12,80
0,5	1,35	1,60	3,60	3,00	6,25	7,00	13,90
0,6	1,60	1,70	3,80	3,50	7,10	7,50	14,90
0,7	1,80	1,80	4,00	4,00	8,00	8,00	15,90
0,8	2,00						
1,0	2,40	1,90	4,15	4,50	8,50	9,00	16,90
1,10	2,60	2,00	4,30	5,00	8,95	9,00	17,80

Иш тартиби. Қанд лавлагидан 10 - 25 г олиб, чинни ҳовон-чада шиша кукунлари билан бир хил масса ҳосил бўлгунча 5- 10 мл 96% ли этил спирти ёрдамида эзилади. Сўнгра эзилган масса ҳажми 200 мл ли колбага қуйилади. Чинни ҳовонча яна 10-15 мл спирт билан ювилади ва у ҳам колбага қуйилади. Экстракция учун олинган спиртнинг концентрацияси 75 - 80% дан ошмасли-ги керак. Колбадаги экстракт 75-80 °С температурали сув ҳам-момида 30 минут давомида ушлаб турилади. Кейин у бошқа

колбага филтрланади. Қолган материал яна 1-2 марта спирт ёрдамида экстракция қилинади ва ҳамма экстрактлар бирлаштирилади. Экстрактлар таркибидаги спирт махсус совитгич ва сув ҳаммоми ёрдамида ҳайдалади (вакуум остида). Колба тагида қолган спиртли экстракт сув билан чизиққа тўлдирилади. Тайёрланган экстрактдан 25 мл олиб, ҳажми 50 мл ўлчов колбага қуйилади ва 67-70°C температурали сув ҳаммомида 10 минут ушланади. Сўнгра колбага 1,5 мл хлорид кислота (зичлиги 1,19) қўшилади. Бунда колбадаги кислота концентрацияси тахминан 2% га яқин бўлади. Гидролиз 67-70 °С да 6-7 минут давом этади. Гидролиз тамом бўлгач колба тезда совуқ сув ёрдамида уй температурасигача совитилади ва 4-5 томчи метил қизил қўшилади. Сўнгра колбадаги суюқлик 4% ли ўювчи натрий билан тўқ сариқ ранг ҳосил бўлгунча нейтралланади. Бунда ишқорни аста-секин томчилатиб қўшиш керак. Нейтралланган эритма сув ёрдамида чизиққа тўлдирилади. Шакар миқдори Бертран усулида аниқланади (85-бетга қаранг). Бунда экстракт таркибидаги умумий шакарлар йиғиндиси (қайтарувчан шакарлар+сахароза) топилади. Сахароза миқдорини аниқлаш учун қайтарувчан хусусиятига эга бўлган шакар миқдоридан умумий шакар айириб ташланади.

$$X = 2(A-B) \times 0,95;$$

X – сахароза миқдори, мг;

A – умумий шакар, мг;

B – қайтарувчан хусусиятига эга бўлган шакар, мг.

Р е а к т и в л а р : Бертран усули бўйича шакарларни аниқлашда қўлланиладиган барча реактивлар. Натрий ишқорининг 4% ли эритмаси, хлорид кислота (зичлиги 1,19), метил қизили.

ДОРИВОР ЎСИМЛИКЛАР ТАРКИБИДАГИ КРАХМАЛНИ АНИҚЛАШ

Крахмал ўсимликлар танасида энг кўп тўпланадиган ва энг муҳим полисахаридлардан ҳисобланади. У айниқса, ўсимликлар донида кўп бўлади. Кўп йиллик ўт ўсимликларда эса ер остки органларида тўпланади.

Ҳамма ўсимликларда – сув ўтлардан юксак ўсимликларгача фотосинтез процессида хлоропластларда ҳосил бўладиган углеводлар бевосита крахмалга айланади. Крахмал икки хил бирикмадан, яъни амилоза ва амилопектиндан ташкил топган.

Амилопектин йод таъсирида бинафша ҳамда қизғиш-бинафша рангга киради.

Амилоза эса йод таъсирида кўкаради. Крахмални аниқлаш усулари унинг йод билан ҳосил қилган рангининг интенсивлигини аниқлаш ёки кислотали ва ферментатив гидролиз натижасида ҳосил бўлган глюкоза миқдорини аниқлашга асослангандир. Юқоридаги усулларда ҳар бирининг ўзига хос салбий томонлари мавжуд. Масалан, крахмални йод таъсир қилиб аниқлашнинг яхши натижа бермаслигига сабаб амилоза билан амилопектин йод таъсирида ҳар хил ранг беради. Амилоза билан амилопектиннинг крахмал таркибидаги миқдори ўсимлик нави, органларига қараб ҳар хил бўлиши мумкин.

49-иш. Крахмал миқдорини Починка усулида аниқлаш

Бу усул крахмални йод билан комплекс ҳосил қилишига асосланган. Ҳосил бўлган комплекс калий бихромат ёрдамида нордон шароитда CO_2 ва H_2O га оксидланади. Реакция натижасида йод эркин ҳолда ажралади. Бу йод гипосульфит билан титрланиб, сарфланган гипосульфит миқдорига қараб крахмал миқдори аниқланади.

Иш тартиби. Текширилаётган доривор ўсимлик материали (1 г картошка, 3 г барг) чинни ҳовончада 5 мл 80% ли кальций нитрат эритмаси ёрдамида гомоген ҳолигача яхшилаб майдаланади. Сўнгра ҳажми 200 мл ли колбага экстракт қуйилади. Кальций нитратнинг 80% ли эритмаси билан ҳовонча 2-3 марта ювилади. Колбадаги суyoқликнинг умумий ҳажми 30 мл дан ошмаслиги керак. Колба устини воронка билан беркитиб электр плитка устида 3 минут давомида аста-секин қайнатилади. Бунда крахмал эритмага ўтади. Колбани совитиб воронка яхшилаб ювилади ва эритма бошқа ҳажми 100 мл ли ўлчов колбага қуйилади. Сўнгра дистилланган сув билан чизиққача тўлдирилади ва стаканга филтрланади. Шу филтратдан 5 мл центрифуга пробиркасига олинади. Унинг устига 2 мл йод эритмаси қўшилади, яхшилаб аралаштириб 30 минутга қолдирилади.

Натижада крахмалнинг йодли комплекси чўкмага тушади. Чўкмадаги йоднинг миқдори 15% га яқин бўлади. Вақт тугагач, пробирка минутига 4000-5000 тезликда 5-10 минут центрифугаланади. Чўкма яна 5% ли кальций нитрат эритмаси ёрдамида 2-3 марта ювилади. Ҳар гал эритма қўйилганида колбадаги чўкма яхшилаб аралаштирилади. Сўнгра чўкма 200 мл ли колбага 0,2 - 0,3 мл сув билан ўтказилади. Пробирка эса 3-4 марта дистил-

ланган сув билан ювилади (сувнинг умумий ҳажми 3 мл дан ошмаслиги керак). Колбага 10мл 0,25н калий бихроматнинг 85%ли сульфат кислотада тайёрланган эритмасидан қўшилади, яхшилаб аралаштириб, 15 минутга қайнаб турган сув ҳаммомига қўйилади. Бунда крахмал бихромат ёрдамида карбонат ангидрид ва сувгача парчаланеди. Колба совигач, унга 5 мл 20 % ли калий йодид эритмасидан ва 120 мл сув қўшилади. Бунда калий бихромат йодни ажратади. Ажралган йод 0,1 н гипосульфит эритмаси билан титрланади. Титрлаш сариқ ранг ҳосил бўлгунча давом эттирилади, кейин колбага 1 мл 0,5 % ли крахмал эритмасидан қўшиб, эритма ранги оч-ҳаво ранг бўлгунча титрлаш давом эттирилади. 1 мл 0,1 н гипосульфит эритмаси 0,675 мл крахмалга тўғри келади. (Реакция бошланишидан крахмал томонидан адсорбция қилинган йод реакция натижасига таъсир қилмайди). Алоҳида контрол титрлаш ҳам ўтказилади. Бунинг учун ҳажми 20мл колбага 10мл калий бихроматнинг 0,25 н эритмасидан, 120 мл сув, 5мл калий йодиднинг 20 % ли эритмасидан солинади ва 0,1 н гипосульфит эритмаси билан титрланади. Крахмал миқдори қуйидагича аниқланади.

$$X = \frac{0,675 \cdot b \cdot T \cdot (a-b)}{H}$$

X – крахмал миқдори, % ҳисобида;

a – 0,1 н гипосульфит эритмасининг контрол титрлаш учун сарфланган миқдори, мл;

a – 0,1 н гипосульфит эритмасининг тажрибадаги крахмални титрлаш учун сарфланган миқдори мл;

b – крахмални чўкмага тушириш учун олинган ҳажм (5мл);

T – 0,1 н гипосульфит эритмасининг титрига тузатма;

H – тажриба учун олинган ўсимлик материалининг вазни, грамм ҳисобида.

Р е а к т и в л а р : 0,25 н калий бихромат эритмаси (12,3 г $K_2Cr_2O_7$, икки литрли колбада 250 мл сув билан эритилади ва совигач, 800 мл концентрланган H_2SO_4 қўшилади. Эритма совигач, рангли склянкага қўйилади). 2. Кальций нитратнинг 80% ли эритмаси. (200 грамм $Ca(NO_3)_2 \times 4H_2O$ 250 мл сувда эритилади. Бу эритмадан 20 % ли ва 5% эритмалар тайёрланади 3.0,5% йод эритмаси (10 г KI ва 5 г I_2) аввал ҳовончада яхшилаб майдаланади, сўнгра 10 мл дистилланган сув билан 1 ли ўлчов колбага қўйилади ва дистилланган сув билан чизиққача тўлдирилади. 4.0,1 н гипосульфит эритмаси.

50-иш. Клетчатка миқдорини аниқлаш

Кюршер ва Ганек томонидан таклиф қилинган бу усул ўсимлик материалидан сирка ва нитрат кислоталарнинг аралашмасидан эрийдиган моддаларни ажратиб, қолган клетчаткани аниқлашга асосланган.

Иш тартиби. Ўсимлик материалдан 1 г олиб чинни ҳовончада яхшилаб, бир хил масса ҳосил булгунча эзилади. Уни 100-200 мл ли колбага ўтказиб, устига сирка ва нитрат кислота аралашмасидан 40 мл қуйилади. Колбага совиткични улаб бир соат давомида қум ҳаммомига қўйилади. Сўнгра совитиб, махсус шиша филтлда филтранади ёки центрифугаланеди. Чунки бир неча марта қайноқ 0,2 М ўювчи калийнинг спиртли эритмасида ва дистилланган сув билан охирида эса 10 мл этил спирти ёрдамида ювилади. Сунгра чўкма бир хил оғирлигига 105° С да термостатда қуритилади. Чўкманинг оғирлигига қараб клетчатканинг % миқдори аниқланади.

$$X = \frac{a \times 100}{H}$$

X – клетчатканинг миқдори, % ҳисобида,
a – тажрибада аниқланган чўкма оғирлиги,
H – ўсимлик материали оғирлиги, г.

Р е а к т и в л а р : Ўсимлик материали, сирка ва нитрат кислотанинг аралашмаси., нитрат кислота (зичлиги 1,4) билан сирка кислотанинг 80% ли эритмаси 1:10 нисбатда (ҳажми бўйича) аралаштирилади 0,2 М ўювчи калийни спиртдаги эритмаси, этил спирти.

ДОРИВОР ЎСИМЛИКЛАРДАГИ ПЕКТИН МОДДАЛАР

Пектин моддалар тузилиши бўйича углеводларга ўхшаш бўлиб, ўсимликлар дунёсида кенг тарқалган. Улар юқори молекулали бирикмалар бўлиб, молекуляр оғирлиги 50.000 дан 300.000 минггача боради. Пектин моддалар ўсимлик ҳужайралари таркибига кириб, ҳужайра деворларини мустаҳкамлашда қатнашади. Пектин моддалари эримайдиган пектин, эрувчан пектин, пектинат кислота, пектат кислотага бўлинади. Пектин моддалар олмада, кунгабоқар, лимон, тарвуз ва лавлагида кўп учрайди. Уларни саноат миқёсида шу ўсимликлардан тайёрланади.

51-иш. Пектин моддаларини ажратиб олиш

Пектин моддаларини ўсимлик меваларидан, туганакларидан, илдизмеваларидан ва пояларидан ажратиб олиш мумкин.

Иш тартиби: 25 г янги узилган ўсимлик материалдан (картошка, олма, лимон, қанд лавлаги) олиб чинни ҳовончада бир хил масса бўлганча қум ёки шиша кукунлари ёрдамида майдаланади. Сўнгра майдаланган массани ҳажми 500 мл ли конуссимон колбага солинади ва унинг устига 45°C гача иситилган сувдан 100 мл қуйилади. Колба 45°C иссиқликдаги сув ҳаммомида 30 минутча қолдирилади ва вақт-вақти билан аралаштирилиб турилади. Вақт тугагач, колбанинг оғзи каучук пўкак билан беркитилади ва 15-20 минут давомида қаттиқ чайқатилади (махсус чайқатувчи аппаратга қўйса ҳам бўлади). Кейин колбадаги суюқлик минутига 3000 тезликда 10-15 минут давомида центрифугаланади ва пектинли тиниқ эритма ажратиб олинади. Пектин моддаларни тўлиқ ажратиб олиш учун центрифуга стаканидаги чўкма яна 2-3 марта 50-60 мл сув билан ювилади ва ҳар сафар центрифугаланади. Барча эритмалар қўшилиб унинг ҳажми 250 мл га етказилади. Эрувчан пектат модда миқдорини чўкмага тушириш усули билан аниқланади.

52-Иш. Пектин моддалари миқдорини аниқлаш

Пектин моддалари миқдорини аниқлаш кўпинча уларнинг гидролизлаш ва кальций пектат сифатида чўкмага туширишга асосланган.

Иш тартиби: Ҳажми 500 мл бўлган стакан ёки колбага юқоридаги усул билан ажратиб олинган пектинли эритмадан 25 мл қуйилади ва унга 100 мл натрий ишқорининг 0,1 н эритмасидан қўшиб, 30 минут қолдирилади. Шу вақт ичида эрувчан пектин совунланади ва пектат кислотанинг натрийли тузига айланади. Сўнгра 50 мл ли сирка кислотанинг 1 н эритмасидан қўшилади ва эркин пектинат кислота олинади.

Шу йўл билан олинган пектинат кислотага 5 минутдан сўнг кальций хлориднинг 2 н эритмасидан 50 мл қўшилади. Бунда кальций пектат чўкмага тушади. Чўкма олдиндан фильтр қоғозга ўтказилади. Чўкма хлор ионлари йўқолгунча сув билан ювилади. (Хлор ионларини йўқотиш кумуш нитратнинг 1%ли эритмаси билан салбий реакция беришга қараб аниқланади). Сўнгра фильтр қоғозга чўкма билан бюксга солинади ва термостатда 100°C да масса доимий оғирликка эга бўлгунча қуритилади. Пектат кислота қуйидагича аниқланади:

$$X = \frac{a \times V \times 92}{c \times V_1}$$

бунда X – пектат кислота миқдори (% ҳисобида);

a – топилган пектат кальций миқдори;

c – текширилаётган ўсимлик материалнинг миқдори;

V_1 – совунлаш ва пектат кальцийни чўктириш учун олинган эритма ҳажми;

V – пектинли эритманинг дастлабки ҳажми;

92 – ҳисоблаш коэффициенти (% ҳисобида). Бу сон пектат кальций таркибидаги кальций миқдорининг 8% га тенглигидан олинган.

Ҳисоблаш учун мисол. Каноп поясидан 100г олиб ҳажми 500мл (V) колбага майдалаб солинади ва дистилланган сув билан чизиққача тўлдирилади. Пектин моддасини аниқлаш учун 25мл (V_1) филтрат олинади. Кальций пектатнинг доимий массаси 0,0370г га (a) тенг бўлади.

Бунда

$$X = \frac{0,0370г \ 500 \times 92}{100 \times 25} = 0,68 \%$$

Р е а к т и в л а р : ўювчи натрийнинг 0,1 н эритмаси, сирка кислотанинг 1 н эритмаси, кальций хлориднинг 2 н эритмаси, кумуш нитратнинг 1% ли эритмаси.

IV боб. ЛИПИДЛАР

Липидлар ўсимликларнинг барча қисмларида кўп тарқалган сувда эримайди, аммо органик эритувчиларда - эфир, ацетон, бензол, хлороформ ва бошқаларда яхши эрийдиган табиий органик бирикмалардир. Липидлар юқори молекулали мой кислоталар ҳосиласи бўлиб, иккита асосий группадан ташкил топган. Биринчи группага мой кислоталар, глицерин ва бошқа моддалардан иборат ҳақиқий липидлар, иккинчи группага эрувчанлигига кўра ёғларга ўхшаш бошқа бирикмалар-липоидлар киради.

Ўсимликлар таркибидаги мой ва мойсимон моддалар запас ҳолда тўпланиши ёки ҳужайранинг структура компонентларини ташкил қилиши мумкин. Запас ҳолдаги ва протоплазматик мойлар турли хил биохимиявий вазифаларни бажаради.

Ўсимлик органларида, хусусан уруғ таркибидаги мойларни аниқлаш учун аввало улар диэтил эфир ёрдамида экстракция қилинади. Бунда эфирли экстрактга турли хил липидлар ўтади. Шу сабабли бу экстракт ҳамой деб юритилади. Чунки ҳамой таркибида ҳақиқий липидлар билан бирга фосфатидлар, стероллар, мумлар ва бошқалар учрайди. Ҳозирги пайтда ҳамойлар эркин липидлар деб аталади. Ўсимликлар таркибида эркин липидлардан ташқари боғланган липидлар ва мустаҳкам боғланган липидлар ҳам бўлади. Боғланган липидларни ажратиб олиш учун аввал қайноқ этанол, сўнгра диэтил эфир билан экстракция қилинади. Мустаҳкам боғланган липидларни эса эркин липидлар ва боғланган липидларни ажратиб олгандан сўнг қолган чўкма кислота ёки ишқор ёрдамида ишланади ва сўнгра диэтил эфир билан ажратиб олинади.

53-иш. Мойларнинг эриши ва эмульсия ҳосил қилиши

1) 5та пробиркага 10 томчидан ўсимлик мойи томизилади. Биринчи пробиркага 2мл бензол, иккинчи пробиркага 2мл ацетон, учинчи пробиркага 2 мл бензин, тўртинчи пробиркага 2мл этил спирти ва бешинчи пробиркага 2 мл сув қуйилади. Мой-

ларни турли хил эритувчиларда эриш даражаси аниқланади. 2) 4 та пробирка олиб, биринчи пробиркага 1мл сув, иккинчи пробиркага 1мл 1%ли оқсил эритмасидан, учинчи пробиркага 1мл суюлтирилган совун, тўртинчи пробиркага 1мл натрий карбонатнинг 10%ли эритмасидан солинади, ҳар бир пробиркага 5 томчидан ўсимлик мойидан қўшилади ва яхшилаб аралаштирилади. Биринчи пробиркадан бошқа ҳамма пробиркаларда турғун эмульсия ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : тозаланган ўсимлик мойи, бензол, бензин, сирка кислота, этил спирти, оқсил эритмасининг 1% ли эритмаси, суюлтирилган совун, натрий карбонатнинг 10% ли эритмаси.

54-иш. Мойларни аниқлашда қўлланиладиган сифат реакциялари

Мойларни сифат анализ қилишда бир қатор реакциялардан фойдаланилади. Буларга осьмий ёрдамидаги рангли реакция, мой доғини ҳосил қилиш, совунланиш реакцияси ва галлоидлар реакциясини мисол қилиб кўрсатиш мумкин.

Рангли реакция. Микроскоп ойнаси устига 1 томчи мой томизилади, унинг устига осьмий кислотасининг 1% ли эритмасидан 1 томчи қўшилади. Мой қора ранг беради.

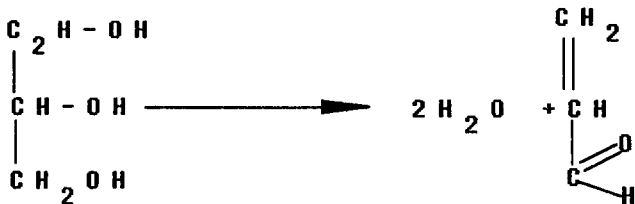
Мой доғи. Кунгабоқарнинг мағзини олиб қоғозда эзилса, мой доғи ҳосил бўлади. Қоғоз қиздирилганда ҳам доғ йўқолмайди. Бу ҳақиқатда ҳам мой борлигидан дарак беради.

Галлоидлар. Бу реакция айниқса тўйинмаган мой кислоталари кўп бўлган мойларга характерлидир. Пробиркага 1-2 томчи мой ва 1-2 мл эфир солинади. Унинг устига 1-2 томчи бромли сув қўшилади ва яхшилаб аралаштирилади. Бромли сувнинг сариқ рангининг тез йўқолиши тўйинмаган ёғ кислоталари борлигини кўрсатади.

Р е а к т и в л а р : тозаланган зиғир мойи, осьмий кислотасининг 1% ли эритмаси, эфир, бромли сув.

55-иш. Мой таркибидаги глицеринни аниқлаш (акролеин реакцияси)

Акролеин мой таркибидаги глицериндан ҳосил бўлади. Бу сувсизлантирувчи моддалар (калий гидросульфит, борат кислота, магний сульфат) ёрдамида амалга оширилади. Акролеин этилен қаторида энг оддий альдегиддир.



Глицерин

Акролеин

Акролеин реакцияси мой таркибидаги глицеринни очиш учун қўлланилади.

Иш тартиби. Пробиркага 2-3 томчи тозаланган зиғир мойидан солинади, унинг устига 0,3 - 0,5 грамм калий гидросульфат ёки бошқа сувсизлантирувчи моддадан қўшилади ва қиздирилади, қуюқ оқ тутун ҳосил бўлади. Қўланса ҳид (эҳтиёткорлик билан ҳидланг) ҳосил бўлиши акролеин ҳосил бўлганлигини билдиради.

Реактивлар : Зиғир мойи, калий гидросульфат тузи.

МОЙЛАРНИНГ СИФАТ КЎРСАТКИЧЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Мойларнинг сифатини ва олинган манбаи уларнинг химиявий кўрсаткичларини текшириш йўли билан аниқланади. Ўсимлик мойларининг сифати уруғнинг пишган, пишмаганлигига ва уни сақлаш муддатига боғлиқ бўлади. Бу ўз навбатида уларнинг физик, химиявий кўрсаткичларининг ўзгаришига олиб келади. Масалан мой узоқ вақт сақланганда парчаланиб эркин мой кислоталар миқдорининг ортишига олиб келади. Кислотали соннинг ортиши мой сифатининг ортиши мой сифатининг пайинидан дарак беради. Тўйинмаган мой кислоталардаги қўшбоғларни осонлик билан реакцияга кириб оксидланиши туфайли ҳам мойларнинг сифати бузилади. Ҳозирги пайтда мой сифатини аниқлашда қўлланиладиган бир қатор усуллар ишлаб чиқилган бўлиб улардан кислотали, йодли сонни аниқлаш муҳим аҳамиятга эга.

56-иш. Зиғир мойининг кислота сонини аниқлаш

1 г мой таркибидаги эркин мой кислоталарни нейтраллаш учун сарфланган калий гидроксиднинг миллиграмм миқдори би-

лан ифодаланган сон мойларнинг кислота сони деб аталади. Бу сон мойларнинг сифатини белгиловчи муҳим кўрсаткичлардан бири ҳисобланади.

Иш тартиби. 2 та колба олиб, биринчисига 3- 5 г зиғир мойи ва 15-20мл спирт-эфир аралашмаси, иккинчига эса фақат 15-20 мл спирт-эфир аралашмаси солинади. Колбалар яхшилаб чайқатилиб, 2-3 томчи фенолфталеин томизилади. Сўнгра калий гидроксиднинг спиртли эритмаси ёрдамида 0,5 - 1 минут давомида ўзгармайдиган оч пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади.

Кислотали сон қуйидаги формула бўйича аниқланади.

$$X = \frac{T(a-b)}{H}$$

X – кислота сони;

T – тузатма;

a – тажриба учун сарфланган ишқор миқдори;

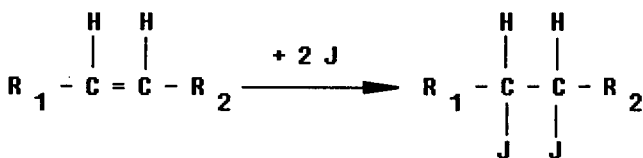
b – контрол учун сарфланган калий гипосульфит;

H – олинган мой миқдори.

Реактивлар: тозаланган зиғир мойи, спиртли эритма фенолфталеин эритмаси.

57-иш. Доривор зиғир мойининг йод сонини аниқлаш

100г мойни бириктириб олган йоднинг грамм миқдори билан ифодаланган сони мойларнинг йодли сони деб аталади. Бу сон мойлар таркибига кирадиган мой кислоталарнинг тўйинмаслик даражасини ифодалайди. Йодни бириктириб олиш реакцияси қуйидагича боради:



Йодли сон қанча катта бўлса, мой шунча суюқ бўлади, одатда суюқ мойларни озиқ сифатида истеъмол қилиб бўлмайди.

Иш тартиби. Яхшилаб қурилган тоза колбага (ҳажми 250мл) 0,1-0,2г (2-5 томчи) тозаланган зиғир мойидан солинади. Мой колба деворларига тегмаслиги керак. Колбага 25 мл спирт

қўшилади. Агар мой спиртда яхши эримаса бир қиздирилади. Иккинчи колбага фақат 25 мл спирт эритмаси олинади. Ҳар иккала колбага 12,5 мл дан 0,2 н йоднинг спиртли эритмаси солиниб яхшилаб аралаштирилади ва 100 мл сув қўшилиб яна бир марта аралаштирилади. 5-10 минут ўтгандан сўнг, 0,1 н гипосульфит ёрдамида оч- сариқ ранг ҳосил бўлгунча титрланади. Тажириба ва контрол учун сарфланган 0,1 н калий гипосульфит миқдорининг фарқи олинган мойнинг йодли сонининг кўрсаткичи ҳисобланади. Йодли сон қуйидаги формула ёрдамида аниқланади.

$$\text{И.С.} = \frac{(a-b)T \cdot 0.01269 \cdot 100}{H}$$

a – тажириба учун сарфланган калий гипосульфит;

b – контрол учун сарфланган калий гипосульфит;

T – тузатма;

0,01269 – сарфланган гипосульфит миқдорини, йод миқдorigа айлантириш коэффициентини;

H – ёғ миқдори, г ҳисобида.

Р е а к т и в л а р : зигир мойи, этил спиртининг 96% ли эритмаси. Йоднинг спиртли эритмаси, гипосульфитнинг 0,1 н эритмаси, крахмалнинг 2% ли эритмаси.

58-иш. Мойларнинг совунланиш сони

Бир грамм мой таркибидаги эркин ва боғланган мой кислоталарини нейтраллаш учун сарфланган калий ишқори миқдори мойларнинг совунланиш сони деб аталади. Ўсимлик мойларининг совунланиш сони ўсимлик тури, ташқи факторлар таъсирида ўзгариши мумкин. Масалан, тропик ўсимликлардан кокос, пальма ва бошқа ўсимлик мойларининг совунланиш сони анча юқори бўлади.

Иш тартиби. Тоза ва қуруқ колбага 0,5 г мойни аналитик тарозида тортиб қуйилади. Худди шундай иккинчи колбага 0,5 мл сув қуйилади. Сўнгра ҳар иккала колбага 15 мл дан 0,5 н калий ишқорининг спиртли эритмасидан қуйилади. Колбалар резинали пробка билан беркитилади ва ҳаво совитгичига уланиб, сув ҳаммомида 1 соат давомида қайтарилади. Колбалар вақти-вақти билан чайқатиб турилади. Совунланиш тамом бўлгач, ҳар бир колбага 15-20 мл сув, 3-4 томчидан фенолфталеин қуйилади ва хлорид кислота эритмаси билан пушти ранг

йўқолгунча титрланади. 1 мл 0,5 н калий ишқори 28 мг га тенг бўлганлигини ҳисобга олиб совунланиш сони қуйидагича аниқланади.

$$X = \frac{(a-b) T - 2,8}{N}$$

59-иш. Доривор ўсимликлар таркибидаги умумий мой миқдорини аниқлаш

Ажратиб олинган мойларнинг физик-химиявий хусусиятларини ўрганиш талаб қилинмаса ва фақат мойнинг умумий миқдорини аниқлаш зарурияти бўлганда, материални экстракциягача ва экстракция қилингандан кейинги массасини фарқига қараб мой миқдори аниқланади.

Иш тартиби. 1,0-1,5 г доривор ўсимликлар материаллар (шафтоли данаги мағзи, бодом, ёнғоқ мағзи) тарозида тортиб олинади ва чинни ҳовончада яхшилаб эзилади. Сўнгра фильтр қоғоздан тайёрланган тарозида тортиб массаси аниқ бўлган пакетларга солинади. Пакетлар номерланган бўлиши керак. Ўсимлик материали пакет билан бирга тортилади, унда қуруқ пакет массасини айириб, намуна массаси аниқланади. Олинган ўсимлик материалнинг массаси унинг таркибидаги мой миқдорига боғлиқ. Агар ўсимлик материалида 50% дан ортиқ мой бўлса 1,0 - 1,5 г; 30% дан 50% гача бўлганда 2, 0-2,5 г; 30% дан кам бўлганда эса 3,0 - 3,5 г олинади. Материал солинган пакет янада каттароқ пакетга солинади ва у ҳажми 250 мл ли колбага туширилади. Колбага 50-60 мл хлороформ ва 50-60 мл метанол қуйилади. Колба герметик беркитилади ва кейинги дарсгача (бир ҳафта давомида) қолдирилади. Кейинги дарсда мойсизлантирилган материалли пакет колбадан олинади ва хлороформ билан 2 - 3 марта ювилади , сўнгра мўрили шкафда қурилади. Кейин пакетлар 1-1,5 соат давомида термостатда 100-105°C да қурилади. Қурилган пакетлар бюксга солинади, эксикаторда 30-45 минут давомида совитилади ва тортилади. Агар пакетларда сариқ ёки жигарранг доғлар ҳосил бўлса, бу мойлар яхши тозаланмаганлигидан дарак беради. Бу тажрибани қайта такрорлашни талаб қилади. Мой миқдорини абсолют қуруқ моддага нисбатан аниқлаш учун текширилаётган материалдаги сув миқдорини ҳам аниқлаш керак. Тажиба натижаси қуйидаги жадвалга ёзилади.

Текширилаётган материал таркибидаги мойнинг процент миқдори олинган намунанинг экстракциягача ва экстракциядан кейинги массасининг фарқига қараб аниқланади.

Тартиб номери	Пакет масса-си, г	Матери-ал со-линг-ан пакет масса-си, г	Мате-риал масса-си, г	Материал со-линг-ан пакет-нинг экстрак-циядан кейинги масса-си, г	экстрак-циядан кейинги масса-си, г	Материал таркиби-даги мой миқдори	
						г	%

Мойнинг процент миқдори қуйидагича топилади.

$$X = \frac{(a-b) \times 100}{b};$$

X – текширилаётган материал таркибидаги мой миқдори, процент ҳисобида

a – материалнинг экстракциягача бўлган масса-си, г,

b – материалнинг экстракциядан кейинги масса-си, г.

в – олинган намуна масаси, г.

Р е а к т и в л а р : 1. доривор ўсимлик материали, шафтоли данаги мағзи, хлороформ, метанол.

60-ши. Доривор ўсимликлар таркибидаги мой миқдорини Сокслет усулида аниқлаш

Бу усул мой миқдорини аниқлашда кенг қўлланилади. У тур-ли органик эритувчилар ёрдамида ўсимлик материалларидан мойни ажратиб олишга асосланган.

Иш тартиби. Ўсимлик уруғлари (масалан кунгабоқар, ка-накунжут) қобиғидан тозаланиб, мағзи бир хил оғирликкача қуритилади ва ҳовончада майдаланиб, 5-10 г ли қоғоз пакетлар-га солинади. Пакет осонлик билан Сокслет аппаратиغا сиғади-ган бўлиши керак. Сўнгра пакет 2 соат давомида 90-100 °С да қуритилади, совигач экстракторга (2) солинади. Сокслет аппа-рати эритувчи қуйилган колба (3), экстрактор (2) ва сув совитги-чи (1) дан иборат.

Олдиндан тортилган ва масса-си маълум бўлган колбага ҳаж-мининг 2/3-3/4 қисмига тенг эфир қуйилади ва экстрактор билан уланади. Совитгич улангач сув ҳаммоми ишга тушпирилади. Сув ҳаммоми температураси шундай бўлиши керакки, бунда ҳар бир

соатда эфир ўсимлик материални 8-10 марта тўлиқ равишда ювиб тушиши керак. Одатда, сув ҳаммомининг температураси 45-50°C атрофида бўлади. Мойнинг тўлиқ ажралиши материалдаги мой миқдорига боғлиқ бўлиб, 6-10 соат давом этади. Мой тўлиқ ажралгандан сўнг колба аппаратдан ажратиб олинади, эфир ҳайдалади ва колба қуритгич шкафта 90-100С қуритилади. Кейин колба яна тортилиб, мой миқдори аниқланади.

$$X = \frac{(A-B) \times 100}{B}$$

X – хом мой миқдори, процент ҳисобида;

A – мойли колба массаси, г;

B – қуруқ колба массаси, г;

B – ўсимлик материалнинг вазни, г;

Р е а к т и в л а р : доривор ўсимлик материали ва эфир.

61-иш. Доривор ўсимлик липидларининг фракцион таркибини аниқлаш

Кейинги йилларда липидларнинг фракцион таркибини аниқлашда юпқа қаватли хроматография усули кенг қўлланилмоқда, умумий липидлар таркибидаги мойсимон мураккаб моддалар силикагелда яхши ажралади.

Иш тартиби. Тайёр силуфол пластинка олиб, эни 4-5 см қилиб қайчида қирқилади ва 1,0-1,5 см қолдириб қаламда старт чизиги чизилади. Тажриба ўтказиш учун олдинги ишда (60-иш) ажратиб олинган хом мойдан фойдаланилади. Эфирли экстрактадаги липидлар концентрацияси 15-20%га етказилади. Юпқа қаватли хроматограмманинг старт чизигига капилляр ёки микропипетка ёрдамида чизиқ сифатида липидлар эритмаси томизилади. Агар липидлар концентрацияси камроқ бўлса хроматограмма ҳавода ёки фен ёрдамида қуритилиб 2-3 марта қайта томизилади. Хроматограмма пластинкаси герметик ёпиладиган стакан ёки камерага туширилади. Стакан тагида 0,3-0,5 см қалинликда эритма қуйилади. Стакан ички томонидан эритма буғлари билан тўйинтирилган фильтр қоғоз билан ўралган бўлиши керак. Бу эритмани хроматограмма бўйлаб тез кўтарилишига имкон беради. Эритма гексан: диэтил эфир: сирка кислотанинг 73:25:2 нисбатидаги аралашмасидан иборат бўлади. Эритма 15-18 см баландликка кўтарилганда тажриба тўхташлади. Пластинка камерадан олинади ва мўрили шкафта ёки фен ёр-

дамида қуригилади. Қуриган пластинкага фосфомолибдатнинг 10%ли эритмасидан пуркалади ва 80-100°С температурада кўк доғлар ҳосил бўлгунча қуригилади. Старт чизигидан бошлаб ҳар хил липидлар қуйидагича жойлашади: 1-фосфолипидлар, 2-идентификация (ажралмайдиган) қилинмайдиган липидлар, 3-холистерол, 4-моноглицеридлар, 5-диглицеридлар, 6-эркин юқори молекулали мой кислоталари, 7-триглицеридлар, 8-стеридлар. Старт чизигига яқин жойдан эса углеводлар ўрин олади.

Р е а к т и в л а р : силуфол пластинкалари, липидлар экстракти, гексан, диэтил эфир сирка қислота.

V боб. ВИТАМИНЛАР

Тирик организмларнинг ҳаёт фаолияти учун зарур бўлган ва одатда ўсимликлар таркибида учрайдиган кичик молекулали бир группа органик бирикмалар витаминлар деб аталади. Улар турли хил химиявий тузилишга эга. Витаминлар озиқ-овқат маҳсулотларининг таркибий қисми ҳисобланади. Озиқ моддалар таркибида витаминлар бўлмаслиги моддалар алмашинуви процессининг бузилишига сабаб бўлади, натижада организмни оғир касалликларга дучор қилади.

К.Е.Овчаровнинг аниқлашича, витаминлар ўсимликлар ҳаётида иккинчи даражали маҳсулотлар эмас, балки уларнинг ўсиши ва ривожланишида актив ишгирок этадиган муҳим биологик моддалардир. Баъзи бир ўсимликлар ва уларнинг айрим органларида бир ёки бир неча хил витаминлар тўпланиши мумкин. Масалан, сабзавот ва мевалар аскорбат, фолат кислоталари ва каротинни кўп миқдорда тўплаши мумкин. Умуман витаминларнинг ўсимликлардаги миқдори жуда кам бўлиб, уларни аниқлашда махсус ва ўта аниқ усулларни қўллашга тўғри келади. Барча витаминлар эрувчанлигига қараб 2 группага: сувда эрийдиган ва ёғда эрийдиган витаминларга бўлинади.

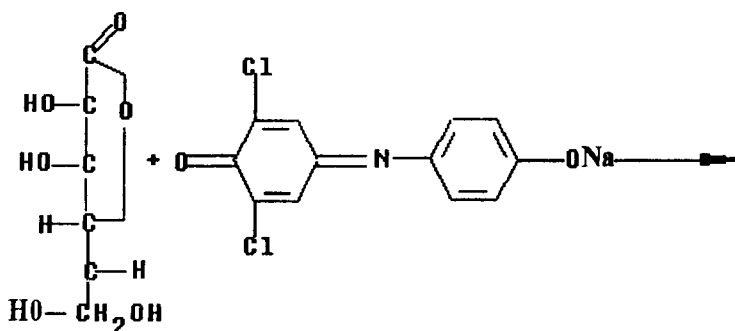
62-иш. Аскорбат кислотани аниқлаш (С витамини)

Аскорбат кислота доривор ўсимликлар таркибида кўп миқдорда учрайди. Айниқса ҳўл меваларда (смородина, апельсин, лимон, наъматак) ва сабзавотларда (булғор қалампири, гулкарам, укроп) кўп бўлади. Аскорбат кислотани аниқлаш унинг қайтарувчанлик хусусиятига асосланган.

Иш тартиби. 1. Наъматак ёки картошка ширасидан 1 мл олиб, пробиркага солинади. Унинг устига 2 томчи калий гидроксид ва 2 томчи калий гексоцианоферрат эритмасидан қўшилади ва пробирка чайқатилади.

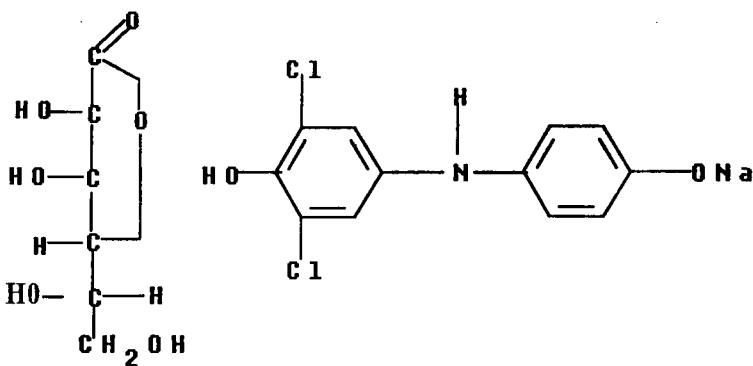
Сўнгра пробиркага 6-8 томчи хлорид кислотанинг 10%ли эритмасидан ва 1-2 томчи темир хлорид эритмасидан солинади. Пробиркада зангори кўк ёки кўк рангли чўкма ҳосил бўлади.

Реакция нативасида аскорбат кислота оксидланиб, Fe^{+++} ионлари Fe^{++} ионларигача қайтариледи.



Аскорбат кислота

*2,6 - дихлорфенол индофенол
(рангли шакл)*



*дегидроаскорбат
кислота*

*2,6 - дихлорфенолиндофенол
(рангсиз шакл)*

2. Пробиркага наъматак ёки картошка ширасидан 1 мл олиб устига 1 мл 2,6-дихлорфенолиндофенолнинг 0,02% ли эритмасидан солинади.

Эритма индикаторнинг рангсиз бўлиши ҳисобига оқаради. Индикаторни қўшиш давом эттирилса, пушти ранг ҳосил бўла-

ди, сабаби аскорбат кислота оксидланиб бўлган ва кейинги қўшилган индикатор қайтарилмайди.

Р е а к т и в л а р : наъматак, картошка, калий гексацианоферратнинг 5% ли эритмаси, калий гидроксиднинг 5% ли эритмаси, хлорид кислотанинг 10%ли эритмаси, 2,6-дихлорфенолиндофенолнинг 0,02% ли эритмаси.

63-иш. Доривор ўсимликлардаги аскорбат кислота миқдорини аниқлаш

Бу усул аскорбат кислотанинг нордон шароитда 2,6 - дихлорфенолиндофенолни қайтариш хусусиятига асосланган. Реакция қуйидагича боради. Бунда индикаторнинг тўқ кўк ранги (оксидланган шакл) аскорбат кислота қўшилганда рангсиз ҳолатга (қайтарилган шакл) ўтади.

Иш тартиби. Смородина ёки укроп ўсимлик материалдан 1-5 г олиб, чинни ҳовончада, шиша кукунлари ёрдамида яхшилаб эзилади ва хлорид кислотанинг 1%ли эритмасидан 5 мл қўшиб эзишни яна давом эттирилади. Кейин яна 15 мл хлорид кислота эритмасидан қўшилади ва аралашмани 100 мл ли ўлчов колбага қуйилади. Чинни ҳовонча оксалат кислота ёрдамида ювилади ва у ҳам колбага қўйилади. Кейин оксалат кислота ёрдамида колбадаги суюқлик чекланган ҳажмгача тўлдирилади. Колбадаги аралашма чайқатилиб, филтрдан ўтказилади. Филтрдан ўтказилган суюқликда аскорбат кислота миқдори аниқланади. 2 та колба олиб биринчисига 5-10 мл филтрат, иккинчисига 5-10 мл хлорид ва оксалат кислота (1:5) аралашмасидан солинади ва 0,001 Н 2,6-дихлорфенол индофенол эритмаси билан титрланади. Аскорбат кислота миқдори қуйидагича аниқланади.

$$X = \frac{(a-b)T \times 0,088 \times 100}{C}$$

X – ўсимлик материалдаги аскорбат кислота миқдори, мг% ҳисобида;

a – тажриба учун сарфланган индикатор миқдори;

T – тузатма, 0,088-1 мл 0,001 Н индикатор эритмасига тенг бўлган аскорбат кислота миқдори;

C – текширишга олинган ўсимлик миқдори, г ҳисобида;

b – контрол учун сарфланган индикатор миқдори.

Р е а к т и в л а р : ўсимлик материали, хлорид кислотанинг, 1%ли эритмаси, оксалат кислотанинг 1%ли эритмаси, 2,6-дихлорфенолинди фенолнинг 0,001 Н эритмаси.

64-иш. Тиамин (В₁ витамини)ни аниқлаш

Тиамин моддалар алмашинуви процессида муҳим рол ўйнайди. У кўпчилик дон экинларининг донида, уларнинг кепакларида учрайди. Тиаминни ишқорий шароитда гексоцианоферрат таъсирида оксидланишига асосланиб аниқланади.

Иш тартиби. Пробиркага 2-3 мг тиаминхлорид солинади, унга калий гексоцианоферратнинг 5% ли эритмасидан 5-10 томчи қўшилади ва яхшилаб аралаштирилади. Пробирка қиздирилганда аралашма сариқ рангга киради. Бунда тиамин оксидланиб тиохромга айланади.

Р е а к т и в л а р : тиаминхлорид, калий гексоцианоферратнинг 5%ли эритмаси.

65-иш. Ретинол (А витамини)ни аниқлаш

Ретинолни аниқлаш усули сурьма хлориднинг А-витамини билан ўзаро реакцияга киришиб сариқ ранг ҳосил қилишига асосланган.

Иш тартиби. Пробиркага 0,1 мл балиқ мойидан олинади ва 5 мл хлороформ қўшилади. Сўнгра аралашма устига 0,1 мл сурьма хлоридидан солинади, натижада кўк ранг ҳосил бўлади. Рангнинг интенсивлигини фотоколориметр ёрдамида аниқлаб А-витамини миқдорини билиш мумкин.

Р е а к т и в л а р : балиқ мойи, хлороформ, сурьма хлориднинг 30% ли эритмаси.

66-иш. Доривор ўсимликларда каротинни аниқлаш

Каротин кенг тарқалган бўлиб, у айниқса ўсимликларнинг яшил қисмларида, сабзида кўп бўлади. Каротин биринчи марта сабзидан ажратиб олинган. Каротинни экстрактлардан хроматография ёрдамида ажратиб олиб, калориметрик ўлчаш йўли билан аниқланади.

Иш тартиби. 5 г ўсимлик материали (сабзи ёки тирноқгул ўсимлик барглари) майдаланиб чинни ҳовончага солинади ва ацетон ёрдамида бироз шиша кукуни билан эзилади, аралашма цилиндрга қуйилади ва унинг ҳажми ацетон ёрдамида 50 ёки 100 мл га етказилади. Сўнг экстрактдан 1 мл олиб хроматогра-

фик қоғознинг пастки учидан 4 см қолдириб чўзинчоқ доғ сифатида шимдирилади ва қуригилади. Қоғоз юмалоқ қилиб ўралади ва юқори томонидан қисқич билан сиқиб қўйилади. Хроматографик қоғоз 2-3 см қалинликда эфир солинган цилиндр идишга туширилади. 20-30 минутдан кейин қоғоз олинади ва сариқ доғ бор жойи қайчи билан қирқиб бюксга солинади.

Каротин 1 мл эфир ёрдамида 3-4 марта (сариқ ранг йўқолгунча) ювилади. Кейин эфир эритмалари қўшилиб калориметр ёрдамида аниқланади.

Каротин миқдори қуйидаги формула ёрдамида аниқланади.

$$X = \frac{0,0235a \times b \times c \times V \times 100}{H \times b \times V} \quad M = 100 \text{ г.}$$

V – стандарт эритманинг калориметрдаги кўрсатган сони (одатда 10 га тенг);

V_1 – текширилаётган эритманинг калориметрдаги сони; а-олинган ацетон шира ҳажми; в-каротинни аниқлаш учун олинган ҳажм;

c – тайёр эфирли каротиннинг ҳажми;

H – олинган ўсимлик материали (г ҳисобида);

Реактивлар: ўсимлик материали, ацетон, эфир.

67-иш. Цистрин (Р витамини)ни аниқлаш

P – витамин активлигига эга бўлган моддаларга фенол табиатли бирикмалар киради. Буларга рутин, геспередин, кварцетин ва бошқалар киради. Ўсимлик гуллари ва меваларида кўп миқдорда учрайди.

Иш тартиби. 2-5 грамм лимон пўстлоғидан олиб чинни ҳовончада шиша кукунлари ёрдамида спирт билан бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади. Масса рангсиз бўлгунга қадар спиртининг оз-оз порцияси билан ювилади. Филтрат спирт ёрдамида 50 ёки 100 мл ҳажмга етказилади. Кейин аралашмадаги спирт Вюрц колбасида ажратилади. Колба тагидаги қолдиқ (3-5 мл) чинни косачага қўйилади ва спирт сув ҳаммомида тўлиқ ҳайдалади. Кейин косачага 3-5 мл сув қўйиб қолдиқ эритилади. Сувли эритма билан қуйидаги реакциялар олиб борилади.

1. Пробиркага 1 мл эритма олинади ва унга 4-5 томчи темир хлорид эритмаси томизилади яшил ранг ҳосил бўлади.

2. Пробиркага 1 мл эритма олинади. Унинг устига эҳтиётлик билан пробирка девори бўйлаб 1 мл концентрланган сульфид

фат кислота қуйилады. Икки суюқлик ўртасида сариқ рангли айлана ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р : лимон меваси, этил спиртнинг 80% ли эритмаси, темир хлориднинг 1% ли эритмаси, сульфат кислотанинг концентрланган эритмаси.

VI боб. ОРГАНИК КИСЛОТАЛАР

Органик кислоталар ўсимликлар таркибида учрайдиган бошқа муҳим бирикмалар - углеводлар ва оқсиллар каби жуда кенг тарқалган моддалар ҳисобланади. Улар ўсимликларнинг уруғи, барги, илдизлари, гули ва меваларида учрайди. Нордон мевалар таркибида органик кислоталар эркин ҳолда ва қисман нордон тузлар сифатида учрайди. Баъзи ўсимликлар масалан, ровоч, отқулоқнинг баргларида ва поясида эркин органик кислоталар ёки уларнинг нордон тузлари кўп тўпланади. Ўсимликларнинг турли қисмларида органик кислоталар турли миқдорда учрайди.

Уруғда улар 0,5% ни ташкил қилса, барг ва меваларда 8-12%ни ташкил қилади. Улар айниқса ловия, лимон ўсимликлари таркибида кўп тўпланади.

Ўсимликлар таркибида учрайдиган органик кислоталар миқдори ўсимлик тури, тупроқ-иқлим шароити ва бошқа факторлар таъсирида ўзгариб туради. Масалан, минерал ўғитлар, айниқса унинг нитрат формалари ўсимлик таркибидаги органик кислоталар миқдорининг ортишига сабабчи бўлади. Амалий аҳамиятга эга бўлган органик кислоталарга цитрат, малат, оксалат ва сукцинат кислоталарни мисол қилиб кўрсатиш мумкин. Кўпчилик қишлоқ хўжалик маҳсулотларининг сифати уларнинг таркибидаги органик кислоталар миқдори билан белгиланади.

Органик кислоталарни ўсимликлар таркибидан ажратиб олиш уларнинг сувда, спиртда ва эфирда эришига асосланган. Органик кислоталарни ажратиб олишнинг энг қулай усули минерал кислоталар билан нордонлаштирилган эфирда экстракция қилишдир.

68-иш. Ўсимликларнинг умумий кислоталигини аниқлаш

Ўсимликларнинг умумий ёки титрланувчи кислоталигини аниқлаш, улардан ажратиб олинган сувли экстрактлар таркибидаги барча эркин органик кислоталар ва улар тузларини

ишқор билан титрлашга асосланган. Бунга маълум индикаторларни қўллаш билан эришилади. Одатда, титрлаш натижаси шу объектда кўп учрайдиган асосий органик кислотанинг процент миқдори билан ифодаланади.

Иш тартиби. Цитрус ўсимлик материалидан (барг, мева, уруғ ёки бошқа органлар) 10-20 г тортиб олинади ва чинни ҳовончада 2-10 мл сув қўшиб шиша кукунлари ёрдамида бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади.

Ҳосил бўлган масса 50 мл сув ёрдамида ҳажми 200 мл ли ўлчов колбага қуйилади ва дистилланган сув билан чизиққача тўлдириб, 1 соатга қолдирилади. Вақт тугагач, экстракт филтратдан 50 мл олиб ҳажми 100 мл ли колбага қуйилади. Колбага бир неча томчи фенолфталеиннинг спиртли эритмасидан қўшиб, ўювчи натрийнинг 0,1 Н эритмаси билан оч пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади. Агар филтрат рангли бўлса, тимолфталеин билан титрлаш яхши натижа беради. Бунда кўк ранг ҳосил қилгунча титрланади. Рангли филтратларни фенолфталеин билан ҳам титрласа бўлади, бироқ пушти ранг ҳосил бўлгунча эмас, балки умуман ранг ўзгаргунча яшил ёки рангсиз бўлгунча титрланади. Нейтраллаш пайтида рангнинг ўзгариши яққол кўринади. Рангли экстрактларни худди шундай ҳажмда филтрат қуйилган ва фенолфталеин томизилган ёнма-ён турган колба билан таққослаб титрлаш тавсия қилинади.

Агар филтрат ҳаддан ташқари тўқ рангли бўлиб, уларни рангининг ўзгаришига қараб титрлашни иложи бўлмаса, унда рН-метрлар ёрдамида титрлаш мумкин. Потенциометрик титрлаш рН га тенг бўлганда тўхтатилади. Текшириладиган ўсимлик материалининг умумий кислоталиги (нордонлиги) 100 г қуруқ ўсимлик материални титрлаш учун сарфланган 0,1 Н ишқорнинг миқдори билан ёки шу маҳсулот таркибидаги кўп миқдорда учрайдиган органик кислотанинг миллиграмм миқдори билан ифодаланади:

$$X = \frac{a \times T \times K \times 100}{H \times 50};$$

X – текшириладиган ўсимлик материалининг кислоталиги, % ҳисобида;

a – титрлаш учун сарфланган 0,1 Н ўювчи натрийнинг миқдори мл;

T – титрга тузатма;

V – умумий экстракт ҳажми, мл. 50 титрлаш учун олинган
филтрат миқдори мл;

H – ўсимлик материалнинг вазни, г;

K – кўп учрайдиган органик кислота бўйича ҳисоблаш ко-
эффициенти.

Мисол. 20 г ўсимлик материалнинг экстракти 200мл га ет-
казилади. Титрлаш учун 50 мл тиниқ филтрат олинади. Бунга
3,5 мл ишқор сарфланади. Ишқорнинг титри 0,990 га тенг. Кис-
лоталилиги малат кислотаси бўйича аниқланади. Унда юқори-
даги формула қуйидаги кўринишга эга бўлади.

$$X = \frac{3,50 \cdot 0,9900 \cdot 200 \cdot 0,0067 \cdot 100}{20,0 \cdot 50} = 0,469\%$$

Р е а к т и в л а р : ўювчи натрийнинг 0,1 Н эритмаси, фенол-
фталеин индикатори (1 г фенолфталеин 60 мл этил спиртида эри-
тилиб, сув билан етказилади).

69- иш. Цитрат кислотани аниқлаш

Цитрат кислота ўсимликларда кенг тарқалган трикарбон
группали органик кислота ҳисобланади. Цитрат кислота ўсим-
лик мевалари ва баргларида тўпланади. У айниқса, гўза барг-
ларида кўп учрайди. Ўзбекистонда гўза баргларида цитрат
кислотани ажратиб олиш академик О.Содиқов томонидан иш-
лаб чиқилган.

Иш тартиби. Ўсимлик материалларида цитрат кислотали
шираларни қуйидагича ажратилади. Ўсимлик материалдан 50-
100г (қуруғидан 5-10г) олиб чинни ҳовончада бир хил масса ҳосил
бўлгунча эзилади ва ҳажми 250 мл бўлган колбага қуйилади,
унинг устига 100мл дистилланган сув қўшилади. Сўнгра суль-
фат кислотанинг 20% ли эритмасидан 10 мл (1;10) қуйилади ва
15-30 минутга қолдирилиб, умумий ҳажми дистилланган сув
билан 200 мл га етказилади. Колбадаги аралашма яхшилаб чай-
қатилади ва 2 соатга қолдирилади. Вақт тамом бўлгандан сўнг
фосфовольфрамат ёки метафосфат кислотанинг 5% ли эритма-
сидан 5-10 мл қўшилади, аралаштириб центрифугаланади ёки
филтрдан қуруқ ўлчовли (250 мл ли) колбага ўтказилади. Уму-
мий ҳажми дистилланган сув билан чизиққача олиб борилади.

70- иш. Цитрат кислота миқдорини аниқлаш

69-ишда тайёрланган филтрат ёки центрифугатдан 50 мл
олиб, ҳажми 200 мл ли колбага қуйилади ва 5 мл калий бромид

тузининг 30% ли эритмасидан. 10 мл сульфат кислотанинг сув билан 1:1 нисбатда аралаштирилган эритмасидан қўшилади. Аралашма яхшилаб чайқатилади ва яна унинг устига 20 мл калий перманганат тузининг 5% ли эритмасидан қўшилади. Колба мўрили шкафта 10 минут қолдирилади. Агар реакция натижасида ҳосил бўлган қўнғир рангли марганец (II)-оксид чўкмасининг ранги йўқола бошласа, тажриба такрорланиб, калий перманганат эритмасидан кўпроқ олиш тавсия қилинади. Реакциянинг охирида ортиқча оксидловчи модда темир (II) - сульфат оксиднинг тўйинган эритмасидан 20 мл қўшиш билан рангсиз ҳолгача қайтарилди. Реакция натижасида ҳосил бўлган пентабром ацетатни чўкмага тушириб олиш учун колба 12-18 соатга совитгичда қолдирилади. Сўнгра филтрдан ўтказилиб, филтлдаги чўкма муздай сув билан, сув нейтрал ҳолга келгунча (метилоранж ёрдамида) 3 - 4 марта ювилади. Яхши ювилган чўкма оппоқ ёки бир оз рангли кўринишга эга бўлади.

Пентабромацетат чўкмаси олдиндан массаси аниқланган чинни тигельга солинади ва сульфат кислота қўйилган эксикаторда қуритилади. Қуритилган чўкма тигельда тортилиб, ундан тигель оғирлиги айирилса, чўкма оғирлиги маълум бўлади. Пентабромацетатнинг 1 мг ми 0,483 мг цитрат кислотага тўғри келади.

Р е а к т и в л а р : калий бромиднинг 30% ли эритмаси, сульфат кислотанинг 48 % ли эритмаси, калий перманганатнинг 5% ли эритмаси, темир (II) -сульфатнинг тўйинган эритмаси.

71-иш. Сукцинат кислотани аниқлаш

Бу кислота дастлаб қаҳрабо таркибидан ажратиб олинганлиги учун, унга шу ном берилган сукцинат кислота кўпчилик ўсимликлар таркибида учрайди. У айниқса пишмаган меваларда кўп бўлади.

Иш тартиби. 5-10 г қуруқ ўсимлик материали чинни ҳовончада майдаланади ва 4 мл сульфат кислотанинг сув билан аралашмасидан (1:4) қўшилади. 1,5-2 соат ўтгач, ҳовончага сувсизлантирилган натрий сульфатдан 4-5 грамм қўшилади ва яхшилаб бир хил гомоген масса ҳосил бўлгунча эзилади. Аралашма, ҳажми 200 мл бўлган колбага қуйилади ва унга 100 мл эфир қўшилади. Колбани оғзи маҳкам (герметик равишда) беркитилиб 15-30 минут давомида механик тебратгич асбобида чайқатилади. Сўнгра эфирли аралашма бўлувчи воронкага қуйилади ва уни устига 100 мл сув қўшилади. Воронка вақти-вақти билан чайқатилиб турилади. 30 минут ўтгач, органик кислота-

лар ўтган сувли фаза ажратиб олинади. Сув таркибидаги эфир қолдиқлари буғлантириш йўли билан ажратилади. Сувли аралашма хона температурасигача совитилади ва ҳажми 200 мл бўлган ўлчов колбага қуйилади ҳамда дистилланган сув билан чизиққача етказилади Аралашмадан 100 мл олиб, ҳажми 200 мл ли колбага қуйилади ва 1 Н барий ишқори эритмаси билан нейтралланади. Ҳамда 1 мл барий хлориднинг 10% ли эритмасидан қўшилади. Кейин колба қайнаб турган сув ҳаммомида 10 минут давомида қиздирилади. Бунда колбага ҳаво совитгичи уланган бўлиши керак.

Сўнгра колбадаги аралашма чинни косачага қуйилади ва сув ҳаммомида қайноқ ҳолатгача буғлантирилади. Чинни косачада қолган қуюқ аралашма 20 мл сув ёрдамида эритилади ва 80 мл этил спирти қўшиб 1-2 соатга колдирилади. Вақт тугагач, Бухнер воронкаси орқали спирт ажратилади. Фильтрда қолган чўкма эса сув билан ювилиб колбага қуйилади. Аралашма қайнаб турган сув ҳаммомида қиздирилиб қолган спиртдан тозаланади, сўнгра колбани қиздиришни давом эттириб, аста-секин калий перманганат тузининг 5% ли эритмасидан турғун қизил ранг ҳосил бўлгунча қўшилади.

Аралашма сульфат кислота ёрдамида нордонлаштирилиб ортиқча перманганат водород пероксиди ёрдамида йўқотилади.

Ҳосил бўлган эритма чинни косачага қуйилади ва сув ҳаммомида 10-15 мл қолгунча буғлантирилади. Сўнгра 5 г сувсизлантирилган натрий сульфат тузидан қўшиб 1-2 соатга қолдирилади. Кейин қоғоз пакетларга солиниб сокслет аппарати ёки колбада диэтил эфир билан 1 соат давомида экстракция қилинади. Кейин эфир ҳайдалади ва 20 мл дистилланган сув қўшиб 0,1 Н ўювчи калий билан фенолфталеин ёрдамида титрланади. Бунда 1 мл сарфланган ишқор 5,9 мг сукцинат кислотага тенг бўлади. Сукцинат кислота миқдори қуйидагича аниқланади:

$$X = \frac{a \cdot 5,9 \cdot V \cdot 100}{c \cdot V}$$

X – сукцинат кислота миқдори, мг % да;

a – титрлаш учун сарфланган ўювчи калийнинг миқдори, мл;

V – текширилаётган материалдан ажратиб олинган аралашма ҳажми, мл;

V_1 – анализ учун олинган аралашма, мл;

C – текширилаётган материал массаси, г.

Р е а к т и в л а р : сульфат кислотанинг сув билан аралашмаси (1:4); сувсизлантирилган натрий сульфат тузи, диэтил эфир, барий ишқорининг 1Н эритмаси, барий хлориднинг 10% ли эритмаси, этил спиртининг 96% ли эритмаси, калий перманганат тузининг 5 % ли эритмаси, сульфат кислота (зичлиги 1,84), водород пероксиди, ўювчи калийнинг 0,1 Н эритмаси.

VII боб. ЎСИМЛИКЛАР ТАРКИБИДА УЧРАЙДИГАН БОШҚА МОДДАЛАР. АЛКАЛОИДЛАР

Алкалоидлар фақат ўсимликларда учрайдиган гетероциклик органик бирикмалар бўлиб, таркибида асос хоссасига эга бўлган азот атоми бўлади. Ўсимликларда алкалоидларнинг ҳосил бўлиши, азот моддаларининг алмашинуви билан боғлиқдир. Улар азот алмашинувидаги оралиқ модда сифатида намоён бўлиб, азотли бирикмаларни зарарсизлантиришда ва сақлашда муҳим аҳамиятга эга.

Алкалоидлар баъзи бир хил реактивлар билан рангли реакциялар беради ва эримайдиган чўкмалар ҳосил қилади.

72-иш. Ўсимлик таркибидаги алкалоидларни аниқлаш

Алкалоидлар бир қатор реактивлар ёрдамида чўкмага тушади. Буларга йод ва калий йодит эритмаси, фосфовольфрамат кислотаси, фосфомолибдат кислотаси ва бошқалар киради.

Иш тартиби. Ўсимлик материали (люпин ёки кўкнор уруғи, тамаки барги) дан 1-2 грамм олиб, ҳовончада бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади. Ҳосил бўлган массага 4-6 томчи йоднинг калий йодатдаги эритмасидан томизилади. Қизил-қўнғир рангнинг ҳосил бўлиши алкалоидларнинг борлигидан дарак беради.

Р е а к т и в л а р : ўсимлик материали, йоднинг калий йодатдаги эритмаси (5 г йоднинг, 10 г KIO_3 даги эритмаси 10-15 мл сувда эритилади ва умумий ҳажми 100 мл га етказилади).

73-иш. Ўсимликларда ошловчи моддаларни аниқлаш

Ўсимликлар таркибида ошловчи моддалар ёки таннинлар деб аталадиган бирикмалар кўп бўлади. Ошловчи моддалар таъсирида оқсиллар чўкмага тушади. Бу териларни ошлашда муҳим аҳамиятга эга.

Иш тартиби. 0,5 г майдаланган дарахт пўстлоғи ёки ғурра-си пробиркага солиниб, 5-10 мл сув билан 5 минут давомида қайнатилади сўнгра филтрдан ўтказилади. Филтратга 2-3 томчи темир хлориднинг 5% ли эритмасидан қўшилса қорамтир ранг ҳосил бўлади. Бу ошловчи модаллар борлигини билдиради.

Р е а к т и в л а р : тут ёки эман дарахтининг пўстлоғи, темир хлориднинг 5%ли эритмаси.

74-иш. Ўсимликлар таркибидаги фосфорни аниқлаш

Ўсимликлар таркибида турли-туман фосфор бирикмалари учраб, улар асосан анорганик ва органик фосфордан иборат бўлади. Анорганик фосфатлар ўсимлик тўқималари ва ҳужайраларида буферлик вазифасини бажариш билан бир қаторда, ўсимликлар томонидан ўзлаштириладиган ва уни танаси бўйлаб ҳаракат қиладиган асосий транспорт шакли ҳамдир. Шу билан бирга улар органик фосфатларни ҳосил қилувчи манба ҳам ҳисобланади.

Органик фосфор кислотада эрувчи ва кислотада эрмайдиган икки хил шаклда учрайди. Кислотада эрувчи фосфорли бирикмаларга нуклеотидлар, шакарларнинг фосфорли эфирлари: кислотада эрмайдиган фосфор бирикмаларга эса фосфолипидлар, нуклеин кислоталар ва бошқалар киради. Фосфорли бирикмаларнинг ҳар бирини алоҳида-алоҳида ёки уларнинг умумий миқдорини аниқлаш мумкин.

Умумий фосфорни калориметрик усулда аниқлашда бир қатор бирикмалардан; эйкеноген, амидол, аскорбат кислота ва бошқалардан фойдаланиш мумкин.

Иш тартиби. Қуруқ ўсимлик материалидан 50-200 мг тортиб олинади ва кичик ҳажмли Къельдал колбасида қуйдирилади. Бунинг учун колбага 2-3 мл концентранган сульфат кислота қуйилади ва 1-2 минут давомида яхшилаб аралаштирилади. Сўнгра 0,2-0,3 мл водород пероксиди қўшиб аста-секин қиздирилади. Агар колбадаги суюқлик тез қиздирилса фосфор қисман йўқолиши мумкин. Эритма жигар ранг тус олгандан сўнг яна 2-5 томчи водород пероксиди қўшиб, қиздириш давом эттирилади. Колбадаги суюқлик рангсизланиши билан реакция тўхтатилади. Шундан сўнг яна бир марта 15-20 минут давомида қаттиқ қиздирилади. Колбадаги суюқлик рангининг ўзгармаслиги, реакциянинг тамом бўлганидан дарак беради. Сўнгра колба совитилиб, ундаги суюқлик чекланган 100 мл ли колбага қуйилади ва дистилланган сув билан чизиққача тўлдирилади. Аралашмадаги умумий фосфор калориметрик усулда аниқланади.

Р е а к т и в л а р : ўсимлик материали, сульфат кислотанинг концентранган эритмаси, водород пероксида.

75-иш. Фосфор миқдорини эйконоген ёрдамида аниқлаш

Бу усул Фиске ва Суббароу томонидан таклиф қилинган бўлиб, фосфат кислотанинг нордон муҳитда молибдат аммоний иштирокида фосфолибдат аммоний ҳосил қилишга асосланган. Бу комплекс бирикма эйконоген билан бирга кўк ранг ҳосил қилади. Рангнинг интенсивлиги фосфор кислота миқдорига пропорционалдир.

Иш тартиби. Юқоридаги усул билан тайёрланган аралашмадан 1 мл олиб пробиркага солинади. Нейтраллаш учун 2 томчи фенолфталеин қўшиб, ўювчи натрийнинг 20% ли эритмасидан пушти ранг ҳосил бўлгунча солинади. Сўнгра ортиқча ишқор 1 Н сульфат кислота билан ранг йўқолгунча нейтралланади. Пробиркага 3,5 мл га етгунча дистилланган сув қуйилади. Иккинчи (контрол) пробиркага эса 3,5 мл дистилланган сув қуйилади. Ҳар иккала пробиркага молибдат аммонийнинг 2,5 Н сульфат кислотадаги 1,25% ли эритмасидан 1,25 мл, эйконоген эритмасидан 0,25 мл қўшилади ва яхшилаб аралаштирилади. Хона температурасида 30 минут қолдирилади. Реакция натижасида ҳосил бўлган эритманинг ранги ФЭК да ўлчанади. Фосфор миқдори калибровка чизиғи бўйича аниқланади.

Р е а к т и в л а р : фенолфталеиннинг 1% ли эритмаси, сульфат кислотанинг 1 Н эритмаси, молибдат аммонийнинг 2,5 Н сульфат кислотадаги 1,25%ли эритмаси. Эйконоген эритмаси. 15 г натрий гидросульфити ва 0,5 г натрий сульфит 70 мл дистилланган сувда эритилади ва филтрланади. Совитилгандан сўнг филтрланиб, сув билан 100 мл га етказилади. Эйконоген (1,2,4-аминонафтолсульфонат кислота).

76-иш. Фосфор миқдорини аскорбат кислота ёрдамида аниқлаш

Фосфорни аскорбат кислота ёрдамида аниқлаш Скулачев томонидан таклиф қилинган бўлиб, жуда оз миқдордаги фосфорни аниқлашга имкон беради. Бу усул айниқса анорганик фосфор билан бирга лабил органик фосфор бирикмалари бўлган материалларни текширишда муҳим аҳамиятга эга. Чунки бу усул шароитида лабил органик бирикмалар анча турғун бўлади.

Иш тартиби. Юқоридаги усулда тайёрланган аралашмадан 0,1 мл олиб, В реактивидан 1,4 мл қўшилади, аралаштириб

20 минут 45°C да термостатга қўйилади. Вақт тугагач, пробирка совитилади ва ФЭК да (қизил ёруғликдаги филтёрда) ўлчанади. Контрол пробиркага текшириладиган аралашма ўрнига 0,1 мл сув олинади. Фосфор миқдори калибровка чизиги бўйича аниқланади.

Р е а к т и в л а р : А реактиви, аскорбат кислотанинг 10% ли эритмаси. Б реактиви, молибдат аммонийнинг 1 Н сульфат кислотадаги 0,42% ли эритмаси.

В реактиви ҳар вақт янгидан тайёрланиши керак. Калий дигидрофосфат тузи.

Калибровка чизигини тузиш. Текшириладиган материалдаги фосфорни аниқлаш учун аввало калибровка чизиги тузилади. Бунинг учун фосфор концентрацияси маълум бўлган стандарт эритмалардан фойдаланилади.

Стандарт эритма қайта кристалланган калий дигидрофосфат тузидан тайёрланган. Асосий эритмани тайёрлаш учун KN_2PO_4 тузидан 0,1756 г тортиб олинади ва 1 л сувда эритилади. Асосий эритмадан 25 мл олиб яна 1 л ли ўлчов колбага қўйилади ва чизигигача дистилланган сув билан тўлдирилади. Шу йўл билан тайёрланган эритманинг 1 мл да да 0,0001 мг фосфор бўлади. 5 та пробиркага 0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8; 1 мл дан тайёрланган стандарт эритма солинади, улардаги фосфор концентрацияси 0,00002 ; 0,00006; 0,00008; 0,0001 мг га тўғри келади. Пробиркалар ўювчи натрий билан фенолфталеин бўйича нейтралланади ва юқоридаги усулларнинг қайси бири билан ишланса ўша усул реактивлари ишлатилади. Сўнгра 30 минутга хона температурасида қолдирилиб ФЭК да оптик зичлиги аниқланади. Одатда 5 мм ли ёки 10 мм ли кюветалардан фойдаланилади. Калибровка чизигини чизганда абсцисса ўқига фосфор миқдори, ординатага эса эритма рангининг интенсивлиги (экстинцияси) тушилади.

ФОСФОРЛИ БИРИКМАЛАРНИНГ АЙРИМ ФРАКЦИЯЛАРИНИ АНИҚЛАШ

Ўсимликлар таркибидаги турли-туман фосфорли бирикмаларни фракцияларга ажратиш усуллари хилма-хилдир. Лекин уларнинг ҳаммаси ҳам бир принципга, фосфорли бирикмаларнинг турли хил эритувчилар ёрдамида кетма-кет ажратиш, уларнинг айрим группаларини гидролизлаш ва фосфат миқдорини юқорида кўрсатган усулларнинг бир-бири билан аниқлашдан иборатдир.

Кислотада эрийдиган фосфорни ажратиш. Бу группага кирувчи фосфорни совуқ шаройтда 0, + 2 °С да олиб борилади. Яхшилаб майдаланган ва бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилган ўсимлик материални (2 г янги узилган барг, 0,5 - 1 г уруғ) ҳажми 50 мл бўлган центрифуга пробиркасига қуйилади ва унинг устига совитилган хлорат кислотанинг 5% ли эритмасидан 15 мл қўшилади. Пробирка пўкак билан маҳкам беркитилиб, музли идишга қуйилади ва 20 минут давомида маъсус тебратувчи асбоб ёрдамида чайқатилади. Сўнгра центрифугада минутига 4000-5000 тезлик билан 10 минут давомида центрифугаланади. Суяқлик ҳажми 50 мл ли колбага қуйилади, чўкма эса яна совитилган хлорат кислотанинг 5% ли эритмаси билан аралаштирилиб, юқоридаги процесс яна такрорланади ва суяқлик 50 мл ли колбага қуйилади. Бу процесс яна бир марта такрорланиб, колбадаги кислотали суяқликнинг умумий ҳажми дистилланган сув билан 50 мл ли чизиққа етказилади.

Шу йўл билан ажратиб олинган кислотада эрувчи фракцияда анорганик фосфорлар, осонлик билан гидролизланувчи фосфорли органик бирикмалар (карбоксилфосфатлар, лабил пирофосфатлар, аминок фосфатлар, глюкоза - 1 - фосфат) ва фосфат кислотанинг турғун эфирлари (инозитгексофосфатлар, гексоза - 6 - фосфат, триозафосфатлар ва бошқалар) киради. Олинган экстрактда кислотада эрувчи анорганик фосфор (экстракт куйдирилмасдан) ва 10 минутли кислотали гидролиздан сўнг ажраладиган ва осонлик билан гидролизланувчи кислотада эрийдиган фосфор аниқланади.

Кислотада эрувчи умумий фосфорни аниқлаш. Ҳажми 50 мл ли Кьельдал колбасига 10 мл кислотали экстракт қуйиб, 3 мл концентраланган сульфат ва 2 мл 57%ли хлорат кислотадан қўшиб куйдирилади. Экстракт тўлиқ қуйиб бўлгач, ҳажми 25 мл чизиқли колбага қуйилади ва дистилланган сув билан чизиққача тўлдирилади. Ҳажми 10 мл ли пробирка ёки цилиндрга эритмадан 2 мл олиб нейтралланади ва юқоридаги усулларнинг бири ёрдамида фосфор аниқланади.

Фосфор миқдори қуйидагича ҳисобланади. Янги узилган ўсимлик баргидан 2 г олинади. Экстрактинг умумий ҳажми 50 мл. Куйдириш учун 10 мл экстракт олинади. Экстрактниг ҳажми 25 мл га етказилади. Бундан фосфорни аниқлаш учун 2 мл намуна олинади. Калибровка чизиғи бўйича олинган намунада 0,010 мг фосфор аниқланади. Кислотада эрувчи умумий фосфор миқдори қуйидагича топилади.

$$X = \frac{0,010 \times 50 \times 25 \times 100}{2 \cdot 10^2} = 31,25 \text{ мг}$$

демак 100 г ҳўл баргда 31,25 мг кислотада эрувчи умумий фосфор мавжуд.

Кислотада эрувчи аорганик фосфорни аниқлаш. Асосий экстрактдан (анализ қилинаётган материални хлорат кислота билан ишлангандан сўнг) 5 мл олиб, ҳажми 10 мл ли ўлчов колбага қуйилади. Унинг устига фосфорни калориметрик усулда аниқлаш учун зарур бўлган реактивлардан қўшилади. Сўнгра фосфор миқдори калибровка чизигига қараб аниқланади.

Осонлик билан гидролизланувчи кислотада эрувчи фосфорни аниқлаш. Асосий экстрактдан 5 мл олиб, ҳажми 50 мл ли колбага қуйилади ва унинг устига хлорид кислотанинг 2 н эритмасидан 5 мл қўшилади. Колбани сув совитгич ўрнатилган пробка билан беркитилади ва қайнаб турган сув ҳаммомида 10 минут ушланади. Кейин колба совуқ сув ёрдамида тезда совитилади. Шу йўл билан тайёрланган гидролизатдан 5 мл олиб, ҳажми 10 мл ли ўлчов колбага қуйилади. Унинг устига фосфорни аниқлаш учун зарур бўлган реактивлардан қўшиб, калориметр ёрдамида фосфор аниқланади.

Осонлик билан гидролизланувчи фосфор билан аорганик фосфорнинг фарқи лабил фосфор миқдорига тенг бўлади. Лабил фосфорларга нуклеозид ва трифосфатлар, глюкоза 1-фосфат ва бошқа бирикмалар киради.

Умумий кислотада эрувчи фосфордан осонлик билан гидролизланувчи фосфор фарқи фосфорнинг турғун эфирлари (стабил фосфор) миқдорига тенг бўлади. Буларга триозафосфатлар, гексоза 6-фосфат, инозитгексофосфат (фитин) ва бошқалар киради.

Умумий кислотада эрувчи фосфор билан аорганик фосфор ўртасидаги фарқ кислотада эрувчи органик фосфор миқдорига тенгдир.

Фосфолипид фракциясини ажратиш. Кислотада эрувчи фосфорни ажратиб олгандан сўнг, центрифуга пробиркасида қолган чўкма 5-10 мл этил спиртининг 80% ли эритмаси билан ювилади, сўнгра кўп марта спирт эфир (3:1) аралашмаси билан 36-40 соат давомида экстракция қилинади. Сўнгра таркибида фосфолипид тутувчи экстрактлар колбага йиғилади. Унинг умумий ҳажми 35 мл га тенг бўлиши керак. Экстракт 10 минут давомида 3000 тезлик билан центрифугаланади. Эритма Къельдал колбасига қуйилади ва секинлик билан қиздирилиб эритувчи-

лардан тозаланади. Колбадаги қолдиққа 5 мл сульфат ва хлорат (3:2) кислота аралашмасидан қўшиб, куйдирилади. Куйдириш эҳтиётлик билан бажарилиши керак, чунки дастлабки минутларда колбадаги эритма кучли равишда кўпикланади. Куйдириш тамом бўлгач, колбадаги рангсиз суyoқлик ҳажми 25 мл ли ўлчов колбага қуйилади ва дистилланган сув билан чизиққа тўлдирилади. Ана шу эритмадан 2 мл олиб, керакли реактивлардан қўшилади ва фосфор миқдори аниқланади.

Нуклеин кислота таркибидаги фосфорни аниқлаш. Кислотада эрувчи фосфор ва фосфолипидларни ажратиб олгандан сўнгра, пробиркада қолган чўкма 20 мл ўювчи натрийнинг 1 н эритмаси билан яхшилаб аралаштирилади ва 18 соат давомида 37° С да термостатда сақланади. Сўнгра 20 минут давомида 4000 тезлик билан центрифугаланади. Ишқорий эритмадан умумий фосфор аниқланади. Кейинги ишлар совуқ шароитда бажарилиши керак.

ДНК ни чўктириш учун центрифуга пробиркасига эритмадан 5мл қуйилади ва совитилади. Совитилган эритмага хлорид кислотанинг 6 н эритмасидан томчилатиб рН 6,6 - 6,8 га етгунча қўшилади. Сўнгра ДНК ни чўктириш учун 5 мл хлорат кислотанинг 1 н эритмасидан (совитилган) қўшилади ва 3 соат давомида ДНК тўлиқ чўкмага тушгунча совуқхонада сақланади. Чўкмани 20 минут давомида 4000 тезлик билан центрифугалаб ДНК ажратилади. Эритмада РНК компонентлари қолади. Шу эритмадан умумий ва аорганик фосфор аниқланади.

Нуклеин кислоталарни экстракция қилиш. ДНК чўкмаси 10 мл хлорат кислотанинг 0,5 н эритмаси билан 100° С да 20 мин давомида икки марта экстракция қилинади. Ҳар сафар эритма 10 мин давомида 3000 тезлик билан центрифугаланиб ажратилади. Эритмалар қўшилиб ундаги умумий ва аорганик фосфор аниқланади. Ишқорий эритмадаги умумий фосфор (P_1) ва ДНК ни чўктиргандан кейин эритмадаги умумий фосфор (P_2) ни аниқлаш билан нуклеин кислота таркибидаги умумий фосфор (P_1-P_2) топилади.

Нуклеин кислоталарнинг ишқорий эритмасида ДНК ўзгармайди, бироқ, РНК қисман мононуклеотидларгача парчаланади. ДНКни чўктиргандан кейинги эритмадаги умумий фосфор (P_2) ва шу эритмадаги аорганик фосфор (P_3) ни аниқлаш билан РНК таркибидаги фосфор (P_2-P_3) топилади.

ДНК таркибидаги фосфор эса ДНК компонентлари экстракция қилингандан кейин қолган эритмадаги умумий фосфор (P_4)

билан шу эритмадаги анорганик фосфорнинг айирмасига (P_4 - P_3) га тенг бўлади.

Р е а к т и в л а р : $KClO_4$ нинг 5% ли ва 57% ли эритмаси, сульфат кислотанинг концентрланган эритмаси, хлорид кислотанинг 2 н ва 6 н эритмаси, хлорат кислотанинг 0,5 н ва 1 н эритмаси, натрий гидроксидининг 1 н эритмаси, этил спиртнинг 80% ли ва 96% ли эритмаси, эфир.

VIII боб. ЎСИМЛИКЛАРНИНГ **ҲОСИЛДОРЛИГИ ВА МАҲСУЛОТ СИФАТИ**

Юқорида кўрсатилганидек, ўсимликлар турли-туман органик ва аорганик моддалардан ташкил топган бўлиб, улар ўзаро маълум нисбатда ва миқдорда бўлади. Аммо ўсимлик нави, иқлим ва тупроқ шароити, қўлланиладиган агротехник усуллар ва факторлар таъсирида уларнинг таркибидаги кимёвий моддалар нисбати ва миқдори ўзгариб туради.

Кейинги йилларда қишлоқ хўжалигини янада интенсив ривожлантириш учун қўлланилаётган муҳим чоралардан бири - минерал ва органик ўғитлардан ҳамда пестицидлардан кенг миқёсда фойдаланишдир. Чунки бу экинлар ҳосилдорлигини оширишга қаратилган жуда тез ва самарали тадбирлардан биридир. Ҳақиқатда ҳам минерал ўғитлар ва бошқа химикатларни қўллаш ҳисобига ҳосилдорликни 30-50% гача ошириш мумкин. Масалан ҳар бир тонна азот ҳисобига буғдой экинидан камида 1 тонна оқсил, қанд лавлагидан эса 1 т шакар олиш мумкин.

Бироқ минерал ўғитлар ва бошқа химикатларнинг самарадорлигини баҳолашда фақат ўсимликнинг ҳосилдорлигига қараб эмас, балки маҳсулот сифатига таъсирини ҳам ҳисобга олиш керак. Чунки химикатлар маҳсулот сифатига ҳар доим ижобий таъсир қилавермайди. Бу, айниқса, полиз ва сабзавот экинлари, картошка ва бошқа озиқ-овқат маҳсулотлари олинадиган экинларга тааллуқлидир. Масалан азотли ўғитлардан нотўғри фойдаланиш ўсимликларда нитрат ва нитритларни кўп миқдорда тўпланишига сабаб бўлади. Бу ўз навбатида маҳсулот сифатининг бузилишига олиб келади. Озуқа ва ем-хашакларда нитратлар миқдорининг ортиқча бўлиши инсон ва ҳайвон организми учун хавфли. Минерал ўғитларни системали қўлланиши тупроқда айрим элементларнинг тўпланишига сабаб бўлади. Масалан кўрғошин, кадмий, симоб, стронций каби оғир металлар тузларнинг тупроқда тўпланиши ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишига салбий таъсир кўрсатиши мумкин.

Ҳозирги пайтда қишлоқ хўжалигида қўлланилаётган пестицидлар миқдори ҳам йилдан-йилга ортиб бормоқда. Пестицид-

лар физиологик актив моддалар бўлганлиги сабабли улар ҳам қишлоқ хўжалик маҳсулотлари билан бирга инсон ҳамда ҳайвон организмга зарар етказиши мумкин.

Юқорида баён қилинган фикрлар ўсимликлар таркибидаги асосий химиявий бирикмаларни аниқлаш билан бир қаторда, маҳсулот сифатининг бузилишига сабаб бўлувчи нитрат, нитрит, оғир металллар ва турли-туман пестицидларни ўсимликларда аниқлаш ҳам муҳим аҳамиятга эга эканлигидан дарак беради.

77-иш. Ўсимликларда нитратларни аниқлаш

Ўсимликлар ўзлаштирган нитратлар уларнинг илдиз, барг, мева ва бошқа органларида аммиаккача қайтарилиб моддалар алмашинуви процессида иштирок этиш мумкин.

Ўсимликларда нитратларнинг миқдори, уларни қайтариш процеслари секинлашганда ёки улар нитрат ўғитлар билан кўп озиклантирилганда ортади. Ўсимлик таркибидаги нитратлар тўлиқ равишда сув ёрдамида ажратиб олинади. Нитратлар метаболик нуқтаи назардан ўта ўзгарувчан бўлганлиги учун уларнинг миқдорини янги узилган ўсимлик материалларида аниқлаш керак. Ўсимликлар таркибидаги нитратларни бир қатор усуллар ёрдамида аниқлаш мумкин. Кўпчилик ҳолларда нитратлар нордон шароитда турли хил нитробирикмалар ҳосил қилиш ва ранг интенсивлигини калорометрик усулда ўлчашга асосланган.

78-иш. Нитратларни салицилат кислота ёрдамида аниқлаш

Бу усул нитратларни нейтрал ёки кучсиз ишқорий шароитда салицилат кислота билан реакцияга киришиб сариқ ёки сариқ-кўкимтир нитрофеноллар ҳосил қилишига асосланган. Ранг интенсивлиги текшириляётган материал таркибидаги нитратлар миқдорига пропорционалдир.

Иш тартиби. Янги узилган ўсимлик материалдан 0,5г олиб, 10-15мл дистилланган сув билан чинни ҳовончада бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади. Нитратредуктаза ферментининг таъсирини йўқотиш учун ҳовончага 3-5мл сульфат кислотанинг 10% ли эритмасидан қўшилади. Ҳосил бўлган масса ҳажми 100 мл ли колбага қуйилади. Ҳовонча сув билан ювилиб, уни ҳам колбага қуйилади. Колбадаги экстрактнинг умумий ҳажми 30-40мл дан ошмаслиги керак. Колбадаги экстракт 30 мин. давомида механик аппаратда чайқатилади. Сўнгра қоғоз филтер

орқали ҳажми 50мл ли ўлчов колбага ўтказилади ва дистилланган сув билан чизиққача тўлдирилади. Ҳажми 50-100 мл ли колбага 0,2 мл филтратдан олинади ва 0,8 мл салицилат реактивидан қўшилади. Аралашма 20 мин қолдирилади сўнгра унинг устига аста-секин колба девори бўйлаб 19,0 мл 2 М NaOH қўшилади ва аралаштирилади. Колба совигач, ФЭК да бинафша ёруғлик филтри билан ранг интенсивлиги ўлчанади. Нитратларнинг миқдори калибровка чизиғи бўйича топилади. Бунинг учун калий нитрат тузидан стандарт эритма тайёрланади. KNO_3 дан 0,1631г олиб ҳажми 1 л ли колбада дистилланган сув билан эритилади ва чизиққача тўлдирилади. Бу эритманинг 1 мл да 10 мкг нитрат бўлади. Текширилаётган ўсимлик таркибидаги нитратларнинг миқдори қуйидаги формула билан аниқланади.

$$X = \frac{a \times V \times 1000}{H \times b}$$

X – текширилаётган материалдаги нитратлар миқдори, мкг;
 a – текшириш учун олинган эритмалардаги нитратлар миқдори, калибровка чизиғига қараб топилади, мкг;

V – тортиб олинган намуна эритмасининг ҳажми, мл;

H – намуна массаси, г;

b – нитратларни аниқлаш учун олинган намуна эритмасининг миқдори, мл.

Р е а к т и в л а р : салицилат реактиви, Салицилат кислотанинг концентрланган сульфат кислотодаги 5% ли эритмаси. Ҳар бир тажриба учун янги эритма тайёрланиши керак. Натрий ишқорининг 2 М эритмаси, сульфат кислотанинг 10% ли эритмаси, стандарт эритма.

79-ш. Нитратларни Починко-Гресс усулида аниқлаш

Бу усул кучсиз кислотали муҳитда нитратларни нитритларгача рух ёрдамида қайтарилишига асосланган.

Ҳосил бўлган нитритларни эса эритма (пушти-қизил) рангининг интенсивлигига қараб ФЭК да ўлчанади.

Иш тартиби. Ўсимлик материалдан 0,5 г тортиб олинади ва 10-15 мл сирка кислотанинг 0,5% ли эритмаси ёрдамида чинни ҳовончада эзилади. Ҳовончадаги экстракт ҳажми 50 мл ли колбага қуйилади. Ҳовончани ювиб колбадаги аралашмага қўшилади ва сирка кислотанинг 0,5% ли эритмаси билан чизиққача тўлдирилади. Аралашма филтрланади ва филтратдан 4

мл олиб қуруқ пробиркага қўйилади. Пробиркага яна 4 мл нитрит сирканинг 0,4 мл эритмасидан ва 10 мг рух кукунидан қўшилади. Аралашма 10 минут давомида ҳар замонда бир чайқатилиб турилади ёки чайқатувчи асбобга қўйилади. Вақт тугагач, аралашма центрифугаланади ёки филтрланади. Центрифугат ёки филтратдан 4 мл олинадиди ва 1 мл Грисс реактиви қўшилади, 10 минутдан кейин калориметрда эритма рангининг интенсивлиги ўлчанади (540нм). Тўқ рангли эритмаларни фотокалориметрда кўриш учун улар суюлтирилиши керак. Масалан, эритмадан 2 мл олиб, 5 мл гача суюлтирилади. Нитратлар миқдори қўйидаги формула ёрдамида аниқланади.

$$X = \frac{0.1 \times V_a}{V_1 \times V_2 \times H}$$

X – ўсимлик материалидаги нитратлар миқдори, мг;

0,1 — қайта ҳисоблаш коэффициенти;

a – калибровка бўйича топилган нитрат миқдори;

V – тажрибага олинган материалнинг умумий ҳажми мл;

V₁ – нитратларни қайтариш учун олинган суюқлик ҳажми мл;

V₂ – фотокалориметрда аниқлаш учун олинган суюқлик ҳажми мл;

H – материал массаси г.

Р е а к т и в л а р : Грисс реактиви, 0,10 г нафтоламин 60 мл сувда қиздириб эритилади. Унинг устига 0,25 мл сульфанилат кислота қўшилади. Реактивлар тўлиқ эригандан сўнг ҳажми 100 мл ли колбага қўйилади ва 40 мл сирка кислота қўшиб сув билан чизиққача тўлдирилади. Эритма рангли идишда сақланади.

Натрий ацетатнинг 0,4 М эритмаси. Рух кукуни 20 г. Кукун 30 мин давомида 100 мл 2% ли иссиқ сирка кислотага солиб қўйилади. Кейин дистилланган сув билан ювилади ва ҳавода қуритилади.

ЎСИМЛИК ТАРКИБИДАГИ ХЛОРОРГАНИК ПЕСТИЦИДЛАРНИ АНИҚЛАШ

Мева, сабзавот, дон, илдизмева ва ўсимликларнинг бошқа қисмларидаги ДДТ гексахлоран, алдрин, метоксихлор, дактал, тедион ва бошқа хлорорганик пестицидларни аниқлаш учун таркибида хлор тутувчи пестицидларни экстракция қилинади. Сўнг юпқа қаватли хроматография ёрдамида, ҳаракатчан эритувчи-

ларнинг турли хил системалари бир-биридан ажратилади. Ҳаракатчан эритувчи сифатида НП гексан ва ацетон аралашмаларидан фойдаланилади. Пестицидларнинг хроматограммадаги ўрни пластинкаларга кумуш аммиаки эритмаси пуркаб, ультрабинафша нурлари билан нурлаш орқали аниқланади.

Иш тартиби. Пестицидлар ишлатилган 20г ўсимлик материалидан олиб чинни ҳовончада майдаланади ва ҳажми 150-200мл ли колбага қўйилади. Унинг устига 30 мл Н-гексан қўшилади ва колба оғзи герметик беркитилади. Сўнгра колбани 30 минут механик тебратувчи аппаратга қўйилади. Бу процесс уч марта такрорланади ва барча Н-гексан бир идишга тўпланади. Гексанли экстракт сульфат кислота ёрдамида тозаланади. Бунинг учун гексанли экстрактга 2-3 марта 5-10 мл концентрланган сульфат кислота қўшилади (кислота рангсиз ҳолга келгунча). Ҳар сафар бўлувчи воронка ёрдамида гексан сульфат кислотадан тозаланади. Тозаланган гексан сувсиз натрий сульфат (Na_2SO_4) ёрдамида қуритилади. Кейин гексан махсус аппаратда (Ротацион буғлантирувчи) ёки сув ҳаммомида 40 - 50° С да буғлантириб ҳайдалади. Қолдиқ эса 0,2-0,3 мл гексан билан эритилиб, хроматография қилинади.

Хроматография. Бунинг учун <силуфол> пластинкасининг бир томонидан 1,5 см қолдириб қалам билан туғри чизиқ чизилади. Чизиқда ҳар 2 см да нуқта чизилади. Ҳар бир нуқтага Н-гексан эритмасидан ингичка капилляр ёрдамида томизилади. Ҳосил бўлган доғнинг диаметри 1 см дан ошмаслиги (доғни тўғри чизиқ сифатида ҳам чизиш мумкин, унда чизиқ узунлиги 1 см дан ошмаслиги) керак. Текширилаётган эритманинг ўнг ва чап томонидан нуқталарга стандарт эритмаларнинг доғлари томизилади. Сўнгра пластинкалар махсус камераларга туширилади. Камера атрофи фильтр қоғоз билан ўралган бўлиб, у камерадаги ҳаракатчан эритувчининг буғлари билан тўйинтирилган бўлиши керак. Пластинкалар эритувчига 0,5 см гача ботириб қўйилиши керак. Эритувчи fronti 10-12 см кўтарилганда пластинкалар камерадан олиниб қуритилади. Сўнгра доғларни очувчи махсус эритмалар (кумуш аммиаки, дифениламин) билан пуркалади ва 10-15 см узоқда жойланиши керак. Хлорорганик бирикмалар кул ранг қора доғ (кумуш аммиаки) ёки ҳаво ранг доғ (дифениламин).

Р е а к т и в л а р : силуфол пластинка, Н- гексан, сульфат кислотанинг концентрланган эритмаси, натрий сульфат, пестицидларнинг стандарт эритмалари.

Иш тартиби. 10 мг тегишли пестицид ҳажми 100 мл ли колбага солинади ва Н-гексан билан чизиқча тўлдирилади. Стан-

дарт эритмалар оғзи герметик равишда беркитиладиган идишларда сақланиши керак. Гербицидларни очувчи реактив 0,5 г кумуш нитрати 5 мл дистилланган сувда эритилади. Унга 1 мл аммиак қўшилади ва дистилланган сув билан умумий ҳажми 100 мл га етказилади. Тайёр эритмага 0,2 мл водород пероксиди қўшилади. Эритмани қоронғи жойда 3 кунгача сақлаш мумкин.

ИЛОВА

Буфер эритмалар тайёрлаш

Фосфат-цитрат буфери, рН 2,2 - 8,0

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{H}_2\text{O}$, нисбий молекуляр массаси 178, 05, 0,2 М эритма тайёрлаш учун 35,61 г туз 1 л сувда эритилади. Цитрат кислота H_2O , нисбий молекуляр массаси 210, 14, 0,1 М эритма тайёрлаш учун 21,018 г кислота 1 л сувда эритилади.

10 - жадвал

рН	0,2 М Na_2HPO_4 мл	0,1 М цитрат кислота, мл	рН	0,2 М Na_2HPO_4 мл	0,1 М цитрат кислота, мл
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	8,82	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

Борат буфери (0,2 М), рН 7,4-9,0

Натрий тетраборат ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)-Мол массаси= 381,43 19,072 г натрий тетраборат тузи 1 л сувда эритилади. Борат кислота, молекуляр массаси=61,84⁰ 12,37 г борат кислота 1 л сувда эритилади.

11 - жадвал

pH	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0,05 М, мл	Борат кислота 0,2 М, мл	pH	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 0,05 М, мл	Борат кислота 0,2 М, мл
7,4	1,0	9,0	8,2	3,5	0,5
7,6	1,5	8,5	8,4	4,5	5,5
7,8	2,0	8,0	8,7	6,0	4,0
8,0	3,0	7,0	9,0	8,0	2,0

Ацетат буфери (0,2 М), pH 3,6-5,8

Натрий ацетат, нисбий молекуляр массаси =136,09

12 - жадвал

pH	Натрий ацетат 0,2 М, мл	Ацетат кислота 0,2 м, мл	pH	Натрий ацетат 0,2 М, мл	Ацетат кис- лота 0,2 М, мл
3,6	0,75	7,25	4,8	5,90	4,10
3,8	1,20	8,80	5,0	7,00	3,00
4,0	1,80	8,20	5,2	7,90	2,10
4,2	2,65	7,35	5,4	8,60	1,40
4,4	3,70	6,30	5,6	9,10	0,90
4,6	4,90	5,10	5,8	9,40	0,60

Трис-буфери (0,05М), pH 7,2-9,1

13 - жадвал

pH		Трис 0.2 М, мл	Хлорид кислота 0,1 М, мл	H_2O , мл
23°C	37° С			
7,20	7,05	25	45,0	100мл гача
7,36	7,22	25	42,5	—
7,54	7,40	25	40,0	—
7,66	7,52	25	37,5	—
7,77	7,63	25	35,0	—
7,87	7,73	25	32,5	—
7,96	7,82	25	30,0	—
8,05	7,90	25	27,5	—
8,14	8,00	25	25,0	—
8,23	8,10	25	22,5	—
8,32	8,18	25	20,0	—
8,40	8,27	25	17,5	—
8,50	8,37	25	15,0	—
8,62	8,48	25	12,5	—
8,74	8,60	25	10,0	—
8,92	8,78	25	7,5	—
9,10	8,95	25	5,0	—

1 л ҳар хил нормалликка эга бўлган титрланган эритмаларни тайёрлаш учун сарфланадиган моддаларнинг миқдори

Асосий бирикма	Мол мас-саси	Экви-валент масса-си	1Н	0,5Н	0,2Н	0,1Н	0,05Н	0,02Н	0,01Н
H ₂ SO ₄ (зичлиги1,84)	98,08	49,04	28 мл	14мл	5,6ыл	2,8мл	1,4мл	0,56мл	0,28мл
HCl(зичлиги1,19)	36,48	35,48	82 мл	41мл	16,4мл	8,2мл	4,1мл	1,64мл	0,82мл
HNO ₃ (зичлиги1,40)	63,02	63,02	67 мл	33,5мл	13,4ыл	6,7мл	3,4мл	1,34мл	0,67мл
H ₂ CO ₃ •2H ₂ O	126,07	63,04	-	-	-	6,3г	3,15г	1,26г	0,63г
NaOH	40,00	40,00	40,02	20,0г	8,0г	4,0г	2,0г	0,80г	0,40г
KOH	56,11	56,11	56,11	28,06г	11,2г	5,6г	2,8г	1,12г	0,56г
Ba(OH) ₂ •8H ₂ O	3145	157,75	78,88г	31,54	15677г	7,88г	3,15г	1,58г	

Аминокислоталарнинг юпқа қаватли ва қоғоз хроматографияси ёрдамида ажратиш коэффициенти

Аминокислоталар	Турли хил эритмалардаги қиймати			
	1	2	3	4
Глицин	0,40	0,26	0,17	0,08
Аланин	0,59	0,38	0,24	0,13
Серин	0,31	0,27	0,16	0,08
Цестеин	-	0,07	0,08	0,02
Цестин	0,22	0,08	0,05	-
Метионин	0,79	0,55	0,44	0,25
Треонин	0,49	0,35	0,17	,13
Валин	0,79	0,60	0,45	0,24
Лейцин	0,82	0,73	0,61	0,41
Изолейцин	0,83	0,72	0,59	0,37
Аргинин	0,54	0,20	0,10	0,05
Лизин	0,46	0,14	0,08	0,03
Глутамат кислота	0,29	0,30	0,17	0,03

1	2	3	4	5
Аспаргат кислота	0,13	0,24	0,16	0,02
Фенилаланин	0,84	0,68	0,53	0,34
Тирозин	0,58	0,45	0,24	0,24
Гистидин	0,66	0,20	0,10	0,13
Триптофан	0,75	0,50	0,43	0,17
Пролин	0,88	0,43	0,30	0,13

1 — Фенол сув (4 г:1)

2 — Н. Бутанол - ацетат кислота - сув (4:1:1).

3 — Н. Бутанол - ацетат кислота - сув (4:5:5).

4 — Н. Бутанол - этанол - сув (4:1:4).

16 - жадвал

Ўсимлик тўқималаридаги оқсил миқдори

Уруғларда (журуқ моддага нисбатан, %).

Шоли	6,2 - 12,0	Қўқонжўхори	9,5 - 15,5
Ғўза	154 - 19,3	Кунжут	19,0 - 27,0
Бугдой	8,6 - 24,4	Ерёнғоқ	19,3 - 37,2
Маккажўхори	9,0 - 13,2	Нўхат	22,0 - 34,0

Баргларда (ҳўл моддага нисбатан, %).

Маккажўхори	2,7 - 4,0	Лавлаги	1,7 - 2,7
Беда	3 - 3,8	Карам	1,2 - 2,6
Картошка	2,7	Пиёз	1,9 - 2,8

Илдиз мевада (ҳўл моддага нисбатан, %).

Қанд лавлаги	0,7 - 1,4	Сабзи	0,6 - 1,9
Картошка	0,7 - 2,7	Шолғом	0,6 - 1,2

17 жадвал

Ўсимлик уруғларида мой миқдори

(журуқ моддага нисбатан, %)

Ер ёнғоқ	40, 2-60,7	Кунгабоқар	23,5-45,0
Кунжут	46,2-61,0	Ғўза	17,2-28,3
Кўкнор	42,5-57,0	Соя	10,0-25,0
Ёнғоқ	60,0-74,0	Маккажўхори	3,0-9,0

Ўсимлик таркибдаги углеводлар миқдори
(ҳўл моддага нисбатан, %)

Ўсимлик гури	Умумий шакарлар	Сахароза	Энг кўп учрайдиган шакарлар
Узум	15,0-5,0	0-5	Моносахаридлар
Ўрик	6,0-23,0	3,7-15,8	Сахароза
Олма	6,5-145	0,2-0,3	Фруктоза
Тарвуз	6-11	1,2-3,2	Фруктоза
Қовун	6-18	1,5-11,0	Сахароза
Помидор	1,6-4,1	0,2-0,8	Моносахаридлар
Бодринг	1,2-3,1	0-0,3	Моносахаридлар
Ошқовоқ	2,7-8,3	0,6-6,0	Моносахаридлар

Паст температура ҳосил қилувчи аралашмалар

Тузлар	Тузларнинг миқдори г.	Қор ёки муз миқдори г.	Максимал паст температура
MgSO ₄	23,4	100	- 3,9
NH ₄ CI	30,0	100	- 15,8
NH ₄ NO ₃	45,0	100	-17,3
Na C	30,4	100	- 21,2
Na CI	27,5	100	- 33,6
Ca Cl ₂	42,6	100	- 55,0
Na CI	41,6		
MH ₄ NO ₃	41,6		
Na CI	41,40,0	100	- 30
NH ₄ NO ₃	20,0		

Айрим элементларнинг атом оғирликлари

Элемент номи	Атом оғирлиги	Элемент номи	Атом оғирлиги
Азот	14,008	Мис	63,57
Алюминий	16,971	Молибден	95,95
Барий	37,36	Натрий	22,997
Бор	10,82	Олтингурут	32,06
Бром	79,916	Платина	195,23
Висмут	209,0	Симоб	200,61
Водород	1,008	Стронций	87,63
Вольфрам	183,92	Темир	197,2

1	2	3	4
Йод	126,92	Фосфор	30,98
Кадмий	112,41	Хлор	35,457
		Хром	52,01
Калий	39,096	Цинк	65,38
Кальций	40,08	Қўрғошин	207,21
Кислород	16,00		
Кремний	28,06		
Кумуш	107,88		
Магний	24,32		
Марганец	54,93		

21 - жадвал

Углеводлар миқдорини Хагедорн-Иенсен усули бўйича аниқлаш жадвали

Гипо- суль- фит мл	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,009
0,0	0,385	0,382	0,379	0,076	0,373	0,370	0,367	0,364	0,361	0,358
0,1	0,355	0,352	0,350	0,348	0,345	0,343	0,341	0,338	0,336	0,333
0,2	0,331	0,329	0,327	0,325	0,323	0,321	0,318	0,316	0,314	0,312
0,3	0,310	0,308	0,306	0,304	0,302	0,300	0,298	0,296	0,294	0,292
0,4	0,290	0,288	0,286	0,284	0,282	0,280	0,278	0,276	0,274	0,272
0,5	0,270	0,268	0,266	0,264	0,262	0,260	0,259	0,257	0,255	0,253
0,6	0,251	0,249	0,247	0,245	0,243	0,241	0,240	0,238	0,236	0,234
0,7	0,232	0,230	0,228	0,226	0,224	0,222	0,221	0,219	0,217	0,215
0,8	0,213	0,211	0,209	0,208	0,206	0,204	0,202	0,200	0,199	0,197
0,9	0,195	0,193	0,191	0,190	0,188	0,186	0,184	0,182	0,181	0,179
1,0	0,177	0,175	0,173	0,172	0,170	0,168	0,166	0,164	0,136	0,161
1,1	0,159	0,157	0,155	0,154	0,152	0,150	0,148	0,146	0,145	0,143
1,2	0,141	0,139	0,138	0,136	0,134	0,132	0,131	0,129	0,127	0,125
1,3	0,124	0,122	0,120	0,119	0,117	0,115	0,113	0,111	0,110	0,108
1,4	0,106	0,104	0,102	0,101	0,099	0,097	0,095	0,093	0,092	0,090
1,5	0,088	0,086	0,084	0,083	0,081	0,079	0,077	0,075	0,074	0,072
1,6	0,070	0,068	0,066	0,065	0,063	0,061	0,059	0,057	0,056	0,054
1,7	0,052	0,050	0,048	0,047	0,045	0,043	0,041	0,039	0,038	0,036
1,8	0,034	0,032	0,031	0,029	0,027	0,025	0,024	0,022	0,020	0,019
1,9	0,017	0,015	0,014	0,012	0,010	0,008	0,007	0,005	0,003	0,002

АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАРДА ИШЛАТИЛАДИГАН ИДИШ ВА АСБОБЛАР РЎЙХАТИ

1. Оддий пробиркалар.
2. Ҳар хил ҳажмдаги пробиркалар (1, 2, 5, 10 мл).
3. Воронкалар (диаметри 3, 5, 8, 11 см).
4. Шиша таёқчалар.

5. Ҳар хил ҳажмдаги стаканлар ((50, 100, 150, 200, 300, 500 мл).
6. Ҳар хил ҳажмдаги цилиндрлар (25, 50, 100 мл).
7. Центрифуга, пробиркалар.
8. Шиша найчалар.
9. Ҳар хил ҳажмдаги оддий колбалар (50, 100, 150, 200, 300, 500 мл).
10. Ҳар хил ҳажмдаги ўлчов колбалари (50, 100, 200, 250, 500).
11. Микропипеткалар.
12. Ажратувчи воронкалар.
13. Кьельдал колбаси (50, 100 мл).

АДАБИЁТЛАР

1. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. М.: "Колос", 1985.
2. Землянухин А.А. Практикум по биохимии. Воронеж, 1975
3. Шапиро Д.К. Практикум по биологической химии. Минск, 1976.
4. Филиппович Ю.Б. Практикум по общей биохимии. М.: "Просвещение", 1982.
5. Методы биохимического исследования растений (под ред. Ермакова А. И.) Л.: "Колос", 1972.
6. Петров К. П. Практикум по биохимии пищевого растительного сырья. М.: 1965.
7. Добрынина В. И., Свешникова Е. Я. Руководство практическим занятиям по биологической химии. М.: 1967.
8. Практикум по биохимии. Под ред. С.В.Северина М.: Изд. МГУ 1989.
9. Новые методы практической биохимии. Под ред. Б.Л.Крегович. - М.: "Наука" 1989.
10. Султанов Р ва бошқалар. Биохимиядан амалий машғулот. Т.: Абу Али Ибн Сино" - 1995.

МУҲДАРИЖА

КИРИШ	3
<i>1 боб.</i> ОҚСИЛЛАР	4
Оқсил ва аминокислоталарга хос рангли реакциялар	4
<i>1-ш.</i> Биурет реакцияси	4
<i>2-ш.</i> Ксантопротеин реакцияси	5
<i>3-ш.</i> Фоль реакцияси	6
<i>4-ш.</i> Миллон реакцияси	7
<i>5-ш.</i> Сакагучи реакцияси	8
<i>6-ш.</i> Адамкевич реакцияси	8
<i>7-ш.</i> Нингидрин реакцияси	8
Оқсилларнинг физик ва кимёвий хусусиятлари	10
Оқсилларни чўктириш реакциялари	
<i>8-ш.</i> Оқсилларни нейтрал тузлар ёрдамида чўктириш ...	10
<i>9-ш.</i> Оқсилларни органик эритувчилар ёрдамида чўктириш	11
<i>10-ш.</i> Оқсилларни юқори температура ёрдамида чўктириш	12
<i>11-ш.</i> Оқсилларни минерал кислоталар ёрдамида чўктириш	12
<i>12-ш.</i> Оқсилларни оғир металл тузлари ёрдамида чўктириш	13
<i>13-ш.</i> Оқсилларни органик кислоталар ёрдамида чўктириш	13
<i>14-ш.</i> Оқсилларни алкалоидлар ёрдамида чўктириш	14
<i>15-ш.</i> Оқсилларни диализ қилиш	14
<i>16-ш.</i> Оқсилларнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш ..	15
<i>17-ш.</i> Аминокислоталарнинг нитрат кислота билан ўзаро таъсири	17

18-ш. Эркин аминокислоталар миқдорини формальдегид ёрдамида аниқлаш (Сёрнсен усули)	17
19-ш. Аминокислоталарни қоғоз хроматографияси ёрдамида ажратиш	19
Доривор ўсимликлардан оқсилларни ажратиб олиш	20
(Плешков П.Б. бўйича)	
20-ш. Шифобахш ўсимликлардан умумий оқсилларни ажратиб олиш	21
21-ш. Оқсилларни айрим фракцияларга ажратиш	22
22-ш. Сано таркибидаги умумий оқсилларни ажратиб олиш	25
23-ш. Оқсил миқдорини таркибидаги азот бўйича аниқлаш (Микрокельдал усули)	26
24-ш. Оқсил миқдорини биурет реакцияси бўйича аниқлаш	28
25-ш. Оқсил миқдорини Лоури усулида аниқлаш	28
26-ш. Оқсилларни гидролизлаш ва уларнинг амина- кислотали таркибини аниқлаш	30
27-ш. Аминокислоталарни юпқа қаватли хромато- графия усулида аниқлаш	31
Нуклеопротеинлар	32
28-ш. Нуклеопротеинларни ажратиб олиш ва уларни гидролизлаш	33
II боб. ФЕРМЕНТЛАР	35
29-ш. Амилазанинг крахмалга таъсири	36
30-ш. Сахараза ферментининг активлигини аниқлаш ..	37
31-ш. Ферментларнинг термобиллиги	38
32-ш. Ферментларнинг активлигига рН нинг таъсири ..	38
33-ш. Ферментларнинг спецификлиги	39
34-ш. Ферментларнинг активлигига таъсир қилувчи моддалар	40

35-иш.	Канакунжутдаги липаза ферментининг активлигини аниқлаш	41
36-иш.	Тарвуз уруғи мағзидаги уреаза ферментининг активлигини аниқлаш	42
37-иш.	Картошкада тирозиназа ферментининг активлигини аниқлаш	43
38-иш.	Пероксидаза ферментининг активлигини аниқлаш	43
39-иш.	Қалампир ялпиз таркибидаги фосфотаза ферментининг активлигини аниқлаш	44
III боб. УГЛЕВОДЛАР		46
Доривор ўсимликларда углеводларни аниқлаш		
40-иш.	Моносахаридларнинг қайтарувчанлик хусусиятлари	46
Моносахаридларни аниқлашда қўлланиладиган рангли реакциялар		47
41-иш.	Гексозаларга доир реакциялар Подобедов-Молиш реакцияси	47
42-иш.	Пентозаларга реакциялар	48
43-иш.	Дисахаридларнинг қайтарувчанлик хусусиятлари	49
44-иш.	Қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлган шакарларни Бертран усулида аниқлаш	49
45-иш.	Эрувчан углеводлар миқдорини Хагедорн-Иенсен усулида аниқлаш	52
46-иш.	Қайтарувчан шакарларни Бьерр усулида аниқлаш	54
47-иш.	Андиз доривор ўсимлигида фруктозани аниқлаш	55
48-иш.	Қанд лавлагиди сахароза миқдорини аниқлаш ...	56
Доривор ўсимликлар таркибидаги крахмални аниқлаш ..		57
49-иш.	Крахмал миқдорини Починка усулида аниқлаш .	58
50-иш.	Клетчатка миқдорини аниқлаш	60

Доривор ўсимликлардаги пектин моддалар	60
51-иш. Пектин моддаларни ажратиб олиш	61
52-иш. Пектин моддаларнинг миқдорини аниқлаш	61
IV боб. ЛИПИДЛАР	63
53-иш. Мойларнинг эриши ва эмульсия ҳосил қилиши ..	63
54-иш. Мойларни аниқлашда қўлланиладиган сифат реакциялари.	64
55-иш. Мой таркибидаги глицеринни аниқлаш (акролеин реакцияси)	64
Мойларнинг сифат кўрсаткичларини аниқлаш	65
56-иш. Зиғир мойининг кислота сонини аниқлаш	65
57-иш. Доривор зиғир мойининг йод сонини аниқлаш	66
58-иш. Мойларнинг совунланиш сони	67
59-иш. Доривор ўсимликлар таркибидаги умумий мой миқдорини аниқлаш	68
60-иш. Доривор ўсимликлар таркибидаги мой миқдорини Сокслет усулида аниқлаш	69
61-иш. Доривор ўсимлик липидларининг фракцион таркибини аниқлаш	70
V боб. ВИТАМИНЛАР	72
62-иш. Аскорбат кислота (С витамини) ни аниқлаш	72
63-иш. Доривор ўсимликлардаги аскорбат кислота миқдорини аниқлаш	74
64-иш. Тиамин (В ₁ витамини) ни аниқлаш	75
65-иш. Ретинол (А витамини) ни аниқлаш	75
66-иш. Доривор ўсимликларда каротинни аниқлаш	75
67-иш. Цистрин (Р витамини) ни аниқлаш	76

VI боб. ОРГАНИК КИСЛОТАЛАР 78

- 68-иш. Ўсимликларнинг умумий кислоталилигини
аниқлаш 78
- 69-иш. Цитрат кислотани аниқлаш 80
- 70-иш. Цитрат кислота миқдорини аниқлаш 80
- 71-иш. Сукцинат кислотани аниқлаш 81

**VII боб. Ўсимликлар таркибида учрайдиган бошқа моддалар
Алкалоидлар 84**

- 72-иш. Ўсимлик таркибидаги алкалоидларни аниқлаш .. 84
- 73-иш. Ўсимликларда ошловчи моддаларни
аниқлаш 84
- 74-иш. Ўсимликлар таркибидаги фосфорни аниқлаш 85
- 75-иш. Фосфор миқдорини эйконоген ёрдамида
аниқлаш 86
- 76-иш. Фосфор миқдорини аскорбат кислота
ёрдамида аниқлаш 86

**Фосфорли бирикмаларнинг айрим фракцияларини
аниқлаш 87**

**VIII боб. ЎСИМЛИКЛАРНИНГ ҲОСИЛДОРЛИГИ
ВА МАҲСУЛОТ СИФАТИ 92**

- 77-иш. Ўсимликларда нитратларни аниқлаш. 93
- 78-иш. Нитратларни салицилат кислота ёрдамида
аниқлаш 93
- 79-иш. Нитратларни Починко-Гресс усулида аниқлаш ..94
- Ўсимлик таркибидаги хлорорганик пестицидларни
аниқлаш 95

ИЛОВА 97

- Амалий машғулотларда ишлатиладиган идиш ва
асбоблар рўйхати 103

АДАБИЁТЛАР 105

А.Зикиряев, П.Мирҳамидова

**ЎСИМЛИКЛАР БИОКИМЁСИДАН
АМАЛИЙ МАШҒУЛОТЛАР**

Тошкент — «Меҳнат» нашриёти — 2001

Нашр учун масъул *Ф.Исмоилова*
Бадий муҳаррир *Ҳ.Қутлуқов*
Тех. муҳаррир *Ж.Бекиева*
Мусаҳҳиҳа *Ш.Юлдашева*

Босишга рухсат этилди 09.02.2001. Бичими 84x108 $\frac{1}{32}$ №1 қоғозга
«Таймс» ҳарфида офсет усулида босилди. Шартли босма табоғи 7,0.
Нашр табоғи 7,0. 500 нуска. Буюртма № 42
Баҳоси шартнома асосида.

«Меҳнат» нашриёти, 700129, Тошкент, Навоий кўчаси, 30.
Шартнома № 66-2000.

123
«MERIYUS» ХМНК Тошкент шаҳар,
Усмон Носир кўчаси, 158-уй.