



**А.А. Абзалов, М.А. Хошимова  
А.А. Нурмухамедов, Ў.А. Ахмедов**

**МОЛЕКУЛЯР  
БИОЛОГИЯДАН  
АМАЛИЙ  
МАШҒУЛОТЛАР**

**Тошкент - 2009**

## СЎЗ БОШИ

Молекуляр биология оқсил, нуклеин кислоталар ва бошқа биополимерларни ҳамда уларга боғлиқ структураларни тадқиқ қилади. Мазкур ўқув қўлланма фармацевтика институтининг доривор ўсимликларни етиштириш технологияси мутахассислиги магистрантлари ҳамда Биотехнология ва Саноат фармацияси йўналишлари бакалаврият талабалари учун мўлжалланган.

Тирик организмларнинг таркибий қисмини ташкил этадиган бирикмаларнинг энг муҳими ва аҳамиятлиси оқсиллардир. Улар ҳаёт фаолиятининг барча процессларида ҳал қилувчи вазифани бажаради.

Оқсиллар протеинлар деб ҳам аталади (protos- грекча бирламчи, муҳим демақдир).

Оқсиллар ҳар бир организмнинг таркибий қисми ҳисобланади. Ўсимликлар таркибида улар углеводлар, ёғлар ва бошқа моддаларга нисбатан бирмунча кам бўлади. Шунга қарамасдан улар ўсимликлардаги моддалар алмашинуви жараёнларида катта аҳамиятга эга.

Ҳаётий жараёнларга хос бўлган барча асосий хусусиятлар оқсилларда учрайди. Оқсиллар ферментатив хусусиятга эга. Моддалар алмашинуви жараёнларда кечадиган барча кимёвий реакциялар фақат ферментлар таъсирида катализланади. Оқсиллар бошқа моддалар билан биргаликда ҳужайра ва унинг органоидлари структурасини ташкил этиб, ҳужайранинг танлаб ўтказиш хусусиятини бошқаришда иштирок этади. Оқсилларга хос хусусиятлардан яна бири қисқарувчанликдир. Айрим оқсиллар, масалан, хайвонлар мускули ва мимоза ўсимлиги таркибидаги актин, миозин оқсиллари маълум бирикмаларда тўпланган кимёвий энергияни механикавий энергияга айлантиради. Тирик организмларда химоя вазифасини бажарадиган ва яна бир қанча хусусиятларга эга бўлган оқсиллар ҳам бор. Оқсилларнинг ниҳоятда хилма-хил вазифаларни

базариши улар жуда мураккаб кимёвий тузилганлигидан далолат беради.

Ўсимликларнинг барча органларида оксил бўлади. У дуккакли ўсимликларнинг уруғида айниқса кўп, вегетатив органларида 5-15% гача бўлади.

Оқсиллар юқори молекулали коллоид бирикма бўлиб, аминокислоталардан ташкил топган. Улар гидролизланганда аминокислоталаргача парчаланadi. Оқсилларнинг элементар таркибида углерод, водород, кислород, азот ҳамда олтингугуртдан ташкил топган. Улар таркибида баъзан фосфор ҳам учрайди.

Оқсил таркибидаги азот миқдори доимий бўлиб, ўрта ҳисобда 16 % ни ташкил қилади. Шунинг учун кўпинча текшириладиган маҳсулотлардаги, масалан, ем- хашак ва озиқлардаги оқсил таркибидаги азот миқдорига қараб аниқланади. Бунинг учун оқсил таркибидаги азот миқдорини 6.25 га кўпайтириш кифоя 100 % оқсил таркибидаги азот 16% га тенг, демак,  $100:16=6.25$ . Баъзи оқсиллар таркибида йод, мис, марганец каби метааллар ҳам учрайди.

Табиатда учрайдиган оқсиллар турли кўринишда, кўпчилиги коллоид ҳолда бўлади. Оқсиллар тузилиши жиҳатдан икки гуруҳга бўлинади. Буларга альбумин ва глобулинлир киради. Улар бир-биридан физик-кимёвий хоссалари ва аминокислота таркибининг ўзига хослиги билан фарқланади. Мураккаб оқсиллар таркибига кирган оқсил бўлмаган – простетиклар гуруҳига кўра етти турга бўлинади. Нуклеопротеидлар - ДНК, РНК тутувчи оқсиллар, фосфопротеидлар – фосфор кислота, хромопротеидлар—бўёвчи моддалар –пигментлар, гелъ флавин тутувчи оқсиллар ; гликопротеидлар – карбон сувлар , липопротеидлар – ёғлар, металлопротеидлар - металллар ва мураккаб ферментлар - витаминларни тутувчи оқсиллар.

Аминокислоталарнинг тартиб билан бир текисда полипептид занжирда жойлашиши оқсилнинг бирламчи структураси дейилади. Бу структура мустаҳкам пептид боғ ёрдамида ушланиб туради. Бирламчи структура оқсилларнинг

хилма-хиллигини, қандай турга оид эканлигини, физик-кимёвий хоссаларини ва кейинги структураларини белгилаб беради.

Полипептид занжирнинг спиралланиши, (альфа) ёки (бетта) - ўрамни ҳосил қилиши оксилнинг иккиламчи структураси дейилади. Ушбу структура водород боғлари ёрдамида мустаҳкамланади. Глобуляр оксилларга (альфа)- ўрам, фибрилляр оксилларга (бетта)- ўрам киради.

Ўралган полипептид занжир кучсиз ион, Вандер-Ваальс боғлари ёрдамида тахланиб, шаклланади. Оксилларнинг фазовий шаклланиши учламчи структура дейилади. Оксилларнинг фаол ёки фаолсиз ҳолатга ўтишида учламчи структуранинг фазовий шаклланиши ўзгаради. Айрим оксиллар бир нечта полипептид занжирдан иборат бўлади. Хар қайси полипептид занжир ўзининг бирламчи, иккиламчи, учламчи структурасига эга. Улар протомерлар дейилади. Бу протомерларнинг бир нечтаси ягона олигомерни ҳосил қилади. Бу оксилнинг тўртламчи структурасидир. Оксиллар тўртламчи структурасининг фазовий конформацияси ўзгариши натижасида олигомерлар оксилнинг фаол ёки фаол бўлмаган ҳолатга ўтиши тامينланади. Оксиллар коллоид ҳолатда бўлиб, амфотер хоссаларни намоён қилади. Муайян рН муҳитда оксилларнинг карбоксил "COOH" ва амино "NH<sub>2</sub>" -гурухлари диссоциланиши натижасида улар "нейтрал" зарядга эга бўлиши мумкин. Зарядлари нейтрал бўлган оксил электр майдонида "-" ёки "+" заряд томонга қараб ҳаракатлана олмайди. Демак, муайян рН муҳитида оксил молекуласи зарядининг нейтрал бўлиши изоэлектрик нуқта ҳолати дейилади. Бундай оксилнинг турғунлиги йўқолади ва оксил чўкмага тушади. Чўкмага тушган оксилнинг аввалги физик-кимёвий ва биологик хоссаси йўқолиши мумкин.

Бу таъсир этувчи модданинг табиатига боғлиқ бўлади. Бундай ўзгаришлар натижасида оксил структурасининг бузилиши рўй беради. Оксил молекуласи ва структурасининг ўзгариши натижасида унинг физик -кимёвий ва биологик хоссаларининг йўқолиши оксил денатурацияси дейилади. Чуқур ўзгаришлар билан кечадиган денатурация қайтмас бўлади, бунда

оқсилнинг сувда эрувчанлиги бутунлай йўқолади. Ўзгариш юзаки бўлганда –оқсил қайта сувда эриб, аввалги физик-кимёвий ва биологик хусусиятларини тиклай олади – денатурация қайтар бўлади.

Оқсилларга ўтказиладиган барча сифат реакциялари ёки миқдорий ўлчовлар, уларнинг таркибидаги у ёки бу функционал гуруҳларни аниқлашга ёки физик-кимёвий хоссаларига асосланади.

### № 1 лаборатория машғулоти

#### Оддий ва мураккаб оқсилларнинг тузилиши, хоссалари ва уларнинг ўсимликлар биотехнологиясидаги аҳамияти

##### Машғулотнинг мақсади:

1. Шифобахш ўсимликлардан умумий оқсилларни ажратиб олиш.
2. Магистрлар билан колориметрик ва спектрофотометрик анализ асосларини муҳокама қилиш.

#### Муайян мақсадга қаратилган масалалар

##### Топшириқ 1

1. Амалий ишларни бажариш учун тегишли адабиётларни ўқиш зарур.
2. Ўсимликларда учрайдиган оқсиллар, улардаги оқсиллар ва аминокислоталарни ажратиш усулларини тушунтиринг.  
Аминокислоталарнинг классификацияси ва хоссалари, пептидларнинг тузилиши.
3. Хужайранинг умумий тузилишини, хужайра компонентларини ажратиб олишни тушунтира билиш.

## Топшириқ 2

Мақсадга эришиш учун сизга куйидаги ишларни бажариш керак бўлади:

1. Шифобахш ўсимликлардан умумий оқсилларни ажратиб олиш.

Фотоэлектроколориметрда ва спектрофотометрда ишлаш принципини билиш.

2. Шифобахш ўсимликларда оқсиллар миқдорини Лоури усулида аниқлаш.

## Топшириқ 3

Ҳосил қилган натижаларни тўғри баҳолаш учун сизга аввалги бошқа фанлардан (ўсимликлар физиологиясидан, цитологиядан, биокимёдан) олган билимларингизни билиш зарур бўлади:

1. Фотоколориметрда ва спектрофотометрда ишлаш принципини билиш.

2. Ҳужайрани тузилишини билиш.

3. Ҳужайра компонентларини ажратиб олишни билиш.

4. Оқсилларни классификациясини ва функциясини билиш.

5. Оқсилларни ажратиб олиш ва тозалаш усулларини билиш.

6. Оқсилларни умумий хоссаларини билиш.

7. Оқсил молекуласининг тузилишини билиш.

8. Оқсил молекуласининг структура даражаларини тузилишини билиш.

9. Аминокислоталарнинг тузилишини билиш.

10. Аминокислота формулаларидан фойдаланиб пептидларни ёзишни билиш.

## Олинган билим натижасини текшириш учун саволлар

1. Молекуляр биология нимани ўргатади, бошқа фанлар билан қандай боғлиқ.

2. Ҳужайранинг тузилиши ва унинг таркиби.

3. Ҳужайра компонентларини ажратиб олиш.

4. Оқсиллар классификацияси ва функцияси.
5. Оқсилларни ажратиш олиш ва тозалаш усуллари.
6. Оқсилларни умумий хоссалари.
7. Оқсилларнинг таркиби, аминокислоталар классификацияси, уларнинг хоссалари.
8. Оқсил молекуласининг тузилиши.
9. Оқсил молекуласининг структура даражалари - бирламчи, иккиламчи, учламчи, тўртламчи.
10. Протеинлар ва протеидлар.

#### Аниқлашнинг асосий босқичлари

1. Ўсимликлардан умумий оқсилларни ажратиш олиш.
2. Шифобахш ўсимликлардан оқсилларни ажратиш олиш.

#### Ўсимликлардан умумий оқсилларни ажратиш олиш

Оқсилларнинг сифатини аниқлаш учун аввало уларни тоза ҳолда ажратиш олиш керак. Оқсилларни биологик қийматини характерловчи белгилардан бири унинг таркибий қисмидир.. Буни оқсилларни ажратиш ва тозалаш усулларида кўриш мумкин.

Ўсимликлардан оқсилларни ажратиш олишда Т.Б. Плешков усулидан фойдаланамиз.

**Реактивлар:** ўсимлик материали, суюқ азот, борат буфери (рН-10), натрий бисульфатнинг 0,2 % ли эритмаси, октил спирти, сирка кислотасининг 1 % ли ва 10 % ли эритмаси, ўювчи натрий 0,2 % ли эритмаси, трихлор ацетат кислотанинг 50 % ли эритмаси, ацетон, этил спирти, диэтил эфири.

Ўсимликларнинг органларидан оқсилларни ажратиш олишнинг турли усуллари мавжуд. 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 ховончада борат буфер эритмаси (рН-10) билан 1:4 нисбатида бирхил масса ҳосил бўлгунча эзилади.

Эзиш давомида оксилларнинг эрувчанлигини ошириш мақсадида бир оз натрий бисульфатнинг 0,2% ли эритмасидан ва кўпик ҳосил бўлмаслиги учун 3-4 томчи октил спирти қуйилади. Ҳосил бўлган гомогенат совитгичда музлатилади, сўнгра эритиб, тебратувчи асбоб ёрдамида 1-2 соат давомида чайқатилади. Вақт тугагач минутига 3000 айланма тезлик билан 10-15 минут центрифугаланади. Эритма хажми 500 мл бўлгунча ўлчов колбасига қуйилади. Чўкма эса кам хажмдаги буфер эритма билан яна 5-6 марта экстракция қилинади. Хар сафар гомогенат центрифугаланиб, эритмалар ўлчов колбасига қуйилади. Экстракт умумий хажми дистилланган сув билан чизиққача тўлдирилади. Эритмага ўтган азот миқдори ўсимлик таркибидаги умумий азотнинг 90-95% ини ташкил қилиши керак. Эритмадан оксилни аниқлаш учун ундан 20 мл олиб Кьелдаль бўйича азот миқдори топилади, шу билан тўғридан-тўғри текшириладиган ўсимлик материалидаги умумий азот ҳам аниқланади. Эритмага ўтган оксилларни чўктириш учун эса эритма 1000 мл ли стаканга қуйилади ва сирка кислотанинг 10% ли эритмаси ёрдамида рН 4,4-4,5 га келтирилади. Эритма рН қоғоз индикатори ёрдамида аниқланади. Агар муҳит кислотали бўлиб кетса, ишқор ёрдамида унинг рНини 4,4-4,5 га келтириш мумкин. Эритма солинган стакан сув ҳаммомида 70°C да қиздирилади ва чўкмага тушган оксиллар центрифугаланиб ажратилади. Чўкмага тушган оксиллар сирка кислота билан ювилади. Бунинг учун центрифуга пробиркасига сирка кислотанинг 1% ли эритмасидан қуйиб чўкма аралаштирилади, центрифугаланилади ва чўкма устидаги эритма тўкиб юборилади.

Оксилларни янада тозароқ ҳолда ажратиш олиш учун улар қайта чўктирилади. Бунинг учун центрифуга пробиркалари йувчи натрийнинг 0,2 Н эритмаси билан ювилади ва улар ҳам стакандаги суюқликка қўшилади. Стакандаги суюқлик сув ҳаммомида 50% оксиллар тўлиқ эригунга қадар аралаштириб турилади. Эримаган заррачалар центрифугалаш йўли билан ажратилади. Оксилларни қайта чўктириш учун оксил эритмаси бўлган стаканга 50% ли учхлорсирка кислотасидан олиб, охирида

эритмани концентрация 5% бўлгунча қўшилади. Бунда чўкмага тушган оқсиллар центрифуга пробиркасида ацетон (5-6 марта), иссиқ этил спирти (1-2 марта) ва эфир (2-3 марта) ювилади (эфир билан центрифуга қилинганда, центрифуга қопқоғи очик бўлиши керак). Хар гал центрифугалашдан сўнг чўкма усти суюқлиги тўкиб юборилади. Шу йўл билан олинган оқсил препаратлари уй хароратида вакуум эксикаторда куритилади ва сақланади. Оқсил препаратлари таркибидаги умумий азот Кьелдаль методи бўйича аниқланади. Олинган оқсил препаратлари оқ ёки оч кулранг кукун бўлиб, таркибида 14-16% азот бўлади.

## 2-машгулотга тайёрланиш учун саволлар

1. Оддий ва мураккаб оқсиллар, уларни фарқи, аҳамияти.
2. Антителолар ва антигенлар, уларни аҳамияти.
3. Гибридомалар, уларни аҳамияти.
4. Ўсимликларнинг молекуляр азот ўзлаштириши.
5. Ўсимликларнинг нитратларни ўзлаштириши.
6. Аммиакни ўзлаштириш реакциялари.
7. Айрим аминокислоталарнинг алмашинуви, уларнинг аҳамияти.
8. Хлорофилл, унинг аҳамияти.
9. Хромопротеидлар, уларнинг аҳамияти.
10. Гликопротеидлар, уларнинг аҳамияти.

## № 2 лаборатория машғулоту

Оддий ва мураккаб оқсиллар алмашинуви,  
уларнинг ўсимликларда *in vitro* ва *in vivo*  
шароитида синтезланиши

### Машғулотнинг мақсади:

1. Ўсимликларда оқсиллар миқдорини Лоури усули бўйича аниқлашни ўргатиш.
2. Колориметрик усулда эритмадаги оқсил концентрациясини аниқлашни ва колориметрдан қандай фойдаланишни ўргатиш.

### Муайян мақсадга қаратилган масалалар

#### Топшириқ 1

1. Амалий ишларни бажариш учун тегишли адабиётларни ўқиш зарур.
2. Оқсил табиатли препаратларни тўғри сақлашни билиш.
3. Оқсиллар структураларининг эритмадаги ҳолатини тушунтира билиш.

#### Топшириқ 2

1. Мураккаб оқсилларнинг алмашинуви, уларнинг ўсимликлардаги *in vitro* ва *in vivo* шароитида синтезланишидаги аҳамиятини тушунтира билиш.
2. Қандай моддалар мураккаб оқсилларнинг оқсил эмас қисми бўлиши мумкинлигини билиш.
3. Оқсиллар миқдорини қандай усуллар билан аниқлаш мумкин, уларнинг афзаллигини тушунтира билиш.

#### Топшириқ 3

Мақсадга эришиш учун қуйидаги амалий ишларни билиш ва бажариш керак бўлади.

1. Оқсиллар миқдорини Лоури усулида аниқлаш.

2. Оқсиллар миқдорини Биурет усулида аниқлаш.
3. Калибровкакаш чизиғини чизишни билиш.

#### Топшириқ 4

Ҳосил қилган натижаларни тўғри баҳолаш учун сизга бошқа фанлардан олган билимларингиз зарур бўлади.

1. Мураккаб оқсилларни классификацияси, уларнинг вазифалари.
2. Хромопроteidлар, уларнинг вазифаси, тузилиши.
3. Хлорофилл, унинг вазифаси.
4. Антителолар ва антигенлар нима, уларнинг вазифалари.
5. Ўсимликларнинг нитратларни ўзлаштириши, унинг аҳамияти.
6. Аммиакни ўзлаштириш реакциялари.
7. Айрим аминокислоталарнинг алмашинуви ва унинг аҳамияти.
8. Оқсилларнинг ўсимликларда *in vitro* ва *in vivo* шароитида синтезланишдаги аҳамияти.

#### Олинган билим натижасини текшириш учун саволлар

1. Мураккаб оқсиллар қандай тузилган.
2. Хромопроteidлар, уларнинг тузилиши, вазифалари.
3. Гликопроteidлар, уларнинг тузилиши, аҳамияти.
4. Липопроteidлар, уларнинг аҳамияти.
5. Фосфопроteidлар, уларнинг аҳамияти.
6. Оқсиллар миқдорини аниқлаш.
7. Айрим аминокислоталар алмашинуви, уларнинг аҳамияти
8. Аммиакни ўзлаштириш реакциялари.
9. Трансаминланиш ва дезаминланиш, уларнинг аҳамияти.
10. Ўсимликларда азот алмашинуви ва унинг аҳамияти.
11. Оқсил миқдорини Лоури усули билан аниқлаш.

## 12. Оқсил миқдорини Биурет усули бўйича аниқлаш.

### Оқсил миқдорини Лоури усули билан аниқлаш

Оқсил миқдорини аниқлашда бу усул жуда кенг қўлланилади. Бу усул юқори сезгирликка эга бўлиб, намуналардаги 10-100 мкг бўлган оқсил миқдорини аниқлаш мумкин. Усул ароматик аминокислоталарнинг пептид боғлари ҳисобига Фолин реактиви билан ҳосил қиладиган рангига асосланган. Оқсил миқдорини аниқлаш учун калибрлаш график чизиғи тузилади. Буни тузиш учун альбуминнинг стандарт эритмаларидан фойдаланилади.

Керакли асбоблар: штатив, пробиркалар, 0,1, 1, 5 ва 10 мл липинеткалар, ФЭК, спектрофотометр.

#### Реактивлар:

1. Натрий ишқорининг 0,1н эритмаси.
2. А эритма: 2% ли натрий карбонатнинг 0,1н натрий ишқордаги эритмаси.
3. В эритма: 0,5% ли мис сульфатнинг 1% ли натрий тартратдаги эритмаси. Эритмани тайёрлаш учун 10 гр натрий тартрат тузи 300 мл сувда эритилади. Сўнгра эритмага 5 г мис сульфати қўшилади ва хажми 1 литрга етказилади.
4. С эритма: бу эритмани тайёрлаш учун 49 мл А эритмага 1 мл В эритмадан қўшилади. Бу эритма таҳлил қилишдан олдин тайёрланади.
5. Фолин реактиви ёки Е эритмаси. Эритмани тайёрлаш учун 2 литрли колбага 100 г  $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 25 г  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  тузидан олиб, 700 мл сувда эритилади. Сўнгра эритмага 50 мл 85% ли  $\text{H}_3\text{PO}_4$  кислота ва 100 мл концентрланган  $\text{HCl}$  кислотадан қўшилади.

Кейин эса шу аралашма солинган колбани қайтарувчи совитгичга улаб, 10-12 соат қайнатилади. Қайнатиб бўлгач, 150 г литий сульфат, 50 мл сув, бир неча томчи бромли сув қуйилади. Ортикча бромни чиқариб юбориш учун 15 минут совитгичсиз қайнатилади. Аралашма хона хароратигача совитилиб,

филтрланади ва ҳажми 1 литрга етказилади. Фолин реактивининг кислоталиги фенолфталеин иштирокида 0,1н ли натрий ишқори билан титрланиб аниқланади. Реактив қоронғи идишга солиб сақланади. Оқсилни аниқлашда кислоталиги 1 н бўлган Фолин реактиви ишлатилади.

#### Иш тартиби:

Калибраланган график тузиш учун альбуминнинг стандарт эритмаси тайёрланади. Бунинг учун 4 мл альбумин 10 мл сувда эритилади. Бу эритмаларнинг 0,1 мл 40 мкг оқсил миқдорини сақлайди. Пробиркаларга 10-120 мкг альбумин оқсили эритмаси солинади. Буни тайёрлаш қуйидаги жадвалда кўрсатилган.

Пробирка №	Оқсил миқдори, мкг	Оқсил эритмаси, мл	Дистилланган сув, мл
1	120	0,3	0,1
2	110	0,275	0,125
3	100	0,250	0,150
4	90	0,225	0,175
5	80	0,2	0,2
6	70	0,175	0,225
7	60	0,150	0,250
8	50	0,125	0,275
9	40	0,1	0,3
10	30	0,075	0,325
11	20	0,05	0,350
12	10	0,025	0,375
13	-	-	0,4

Ҳар бир пробиркага 2 мл С эритмасидан солиб, яхшилаб аралаштирилади ва хона ҳароратида 10 минут қолдирилади. Сунгра 0,2 мл Фолин реактивидан қўшилади, пробиркаларни чайқатиб, 30 минут хонада қолдирилади. Кейин спектрофотометрда 750 нм тўлқин узунлигида оқсилсиз проба каршисида ўлчанади. Олинган маълумотлардан график тузилади.

Бунинг учун ординат ўқиға оптик зичлик катталиғи, абсциса ўқиға-оқсил миқдори мкг қўйилади. Биологик объектда оқсил миқдорини аниқлаш учун пробиркаға 0,4 мл текширилаётган оқсил (50 ёки 100 марта суўлтирилган) солиб, юқорида ёзилган шароитда иш олиб борилади. Оптик зичлиғиға қараб графикдан оқсил миқдори аниқланади. Кейин суўлтирилмаган объектдаги оқсил миқдори мг да ҳисобланади.

Калибралаш графиги абсциса ўқида-намуналардаги оқсиллар миқдори мкг (С); ордината ўқида- оптик зичлик кўрсаткичи (Е).

### Оқсил миқдорини Биурет реакцияси бўйича аниқлаш

Оқсиллар ишқорий шароитда мис атомлари билан реакцияға киришиб кўк-бинафша ранг ҳосил қилади. Бу рангнинг қуюқлиғи эритмадаги оқсил миқдорига қараб ўзгаради. Бу усул фақат оқсил миқдори юқори бўлган материалларни текширишда қўлланилади.

#### Иш тартиби:

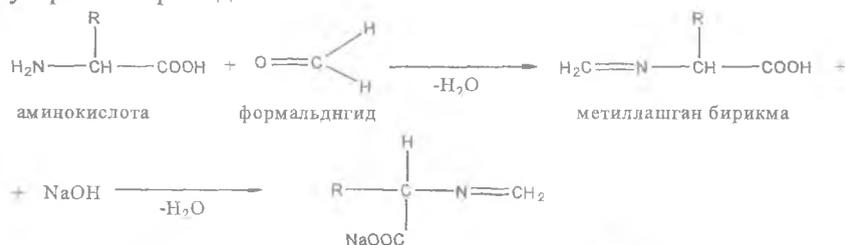
Сано унидан 1-1,5 г олиб, унга 1 мл ацетон солиб, чинни ховончада 3 мл борат буфери ёрдамида эзилади. Кейин яна 1 мл буфер қўшилади ва эзиш давом эттирилади. Шу йўл билан тайёрланган аралашма 30 минут қолдирилади. Сўнгра центрифугаланади ва эритмадаги миқдор аниқланади. Пробиркаға 1мл эритмадан солиб, устиға 1,5 мл биурет реактивидан қўшилади. Аралашма чайқатилиб, 30 минутға қолдирилади. Кейин фотоколориметрда 1 см кювета ёрдамида 540 нм тўлқин узунлиғида (яшил фильтр) кўрилади. Оқсил миқдори стандарт оқсил ёрдамида аниқланган калибрлаш чизиги бўйича топилади. Калибрлаш чизигини тузиш учун тоза кристалл оқсидан 100 мг олиб 10 мл дистилланган сувда эритилади ва ундан 1 мл эритмада 1 мг дан 10 мг гача оқсили бўлган стандарт эритмалар тайёрланади ва фотоколориметрда кўрилиб қиймати аниқланади. Шу қиймат асосида калибрлаш чизиги чизилади.

**Реактивлар:** ацетонли сано кукуни, биурет реактиви -1 л эритмада 9 г сегнет тузи, 3 г мис сульфат, 5 мг калий йодид эритилади. Сегнет тузи 400 мл 0,2 н натрий гидроксидида эритилиб, мис сульфат қўпилади. Тузлар яхши эригач, калий йодид қўпилади ва эритма хажми 1 л га етказилади.

### Эркин аминокислоталар миқдорини 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.



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

#### Иш тартиби:

5 грамм унаётган соя ўсимтасидан олиб ҳовончада майдаланган шиша ёрдамида 5-10 мл сув билан яхшилаб эзилади. Ҳовончадаги аралашма филтр орқали 50 мл ли колбага ўтказилади. Ҳовонча 5-10 мл сув ёрдамида 2-3 марта ювилиб

фильтр орқали колбага қуйилади. Эритма филтрдан тулик утгандан сунг колбага тулгунча дистилланган сув қуйилади.

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

Масалан, назорат учун ҳаммаси бўлиб 5 мл 0,2 NaOH қўшилади. Титрлаш учун эса 4,5 мл 0,2 N HCl сарфланади, демак буларнинг фарқи  $5 - 4,5 = 0,5$  мл 0,2 NaOH .

Таҷриба учун эса 9 мл 0,2 NaOH қўшилади, уни титрлаш учун 1,5 мл 0,2 N HCl сарфланади. Демак, таҷриба учун кетган 0,2 NaOH миқдори  $9 - 1,5 = 7,5$  мл 0,2 N NaOH га тенг . Таҷриба билан назорат ўртасидаги фарқ  $7,5 - 0,5 = 7$  мл 0,2 N NaOH га тенг.

Маълумки, 1 мл нормал NaOH эритмасидаги 14 мг азот миқдорига ёки 1 мл 0,2 N NaOH эритмасига 2,8 мг азот тенг бўлади.

$$7,0 * 2,8 = 19,60 \text{ мг}$$

Дастлабки олинган маълумотларнинг фоиз ҳисоби куйидагича бўлади:

$$\frac{19,60 - 50 - 10}{20 - 5} \cdot 100 = 0,98\%$$

Бунда:

50 мл- филтратнинг умумий ҳажми,

20 мл- титрлаш учун олинган

ФЛОРИН М. ФАРМА СЕВТИКА ИНСТИТУТИ

5 г- дастлабки олинган материал миқдори ,  
Реактивлар:

5 кунли унаётган соя , 0,2 N NaOH эритмаси, 0,2 N HCl эритмаси, формал аралашмаси (500 мл 40 % ли формалинга 1 мл фенолфталеин қўшилади. Аралашмага оч пушти ранг хосил бўлгунча 0,2 N HCl қўшилади.)

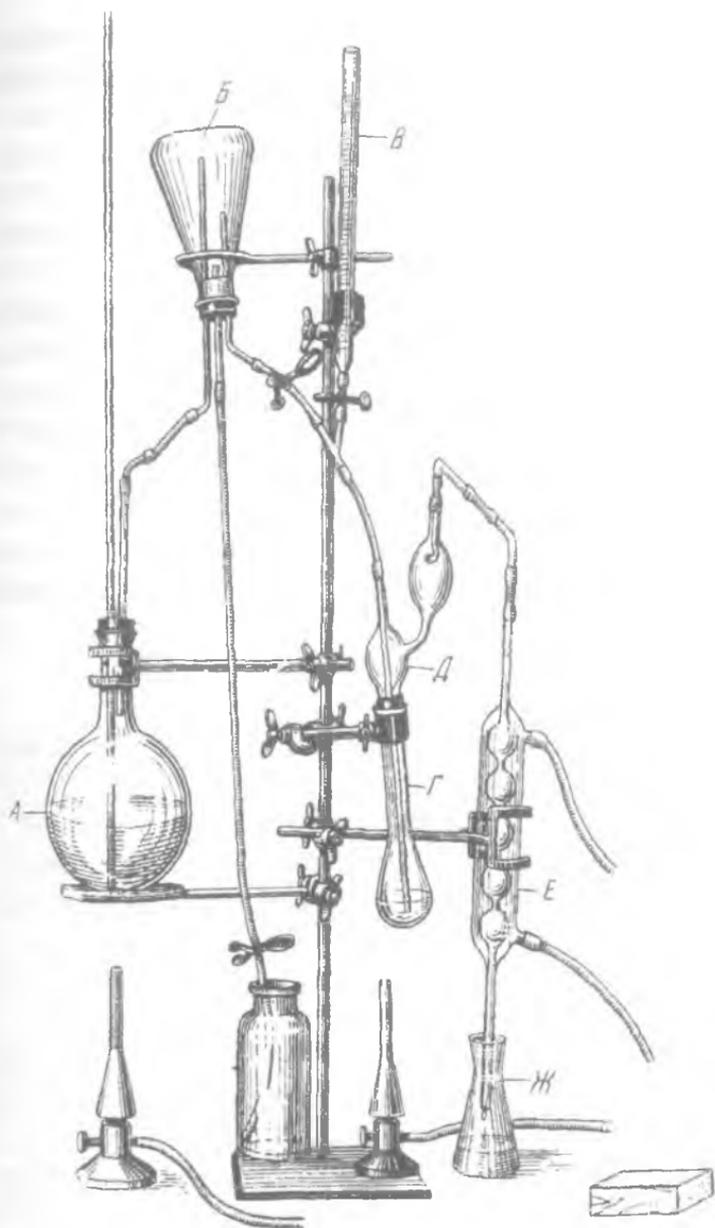
### Оқсил миқдорини таркибидаги азот бўйича аниқлаш

#### (Микрокьельдал усули)

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

Бунинг учун ўсимлик материалидаги оқсил бирор йўл билан чўкмага туширилади. Сўнгра чўкма ва эритмадаги умумий азот аниқланди. 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 холларда эса жуда кам миқдордаги азотни аниқлашга имкон берадиган микрокьельдал усулидан фойдаланилади. Кьельдал усулида текширилаётган модда кучли сульфат кислота ёрдамида куйдирилиб минерал холатга келтирилади. Бунда катализатор сифатида водород пероксид, мис сульфат ва бошқа моддалардан фойдаланилади. Минералланиш жараёнида хосил бўлган аммиак сульфат кислота билан бирикади.



Расм - 1.  
Къельдал усулида аммиакни хайдаш асбоби.

Сўнгра ишқор ёрдамида аммиак ажратилади. Аммиак миқдорига қараб азот миқдори аниқланади. Оксил моддаларнинг миқдорини аниқлашда топилган азот миқдорини тегишли коэффициентга кўпайтирилади. Кўпчилик оксиллар учун бу коэффициент 6,25 га тенг.

Микрокьельдал усулида қуйидаги 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 улинади. Совиткични бир учи Эрленмейер (10) колбасидаги суюқликка ботирилган бўлади. Азотни аниқлашдан олдин асбобни 15-20 мин давомида буғлатиб тозаланади.

#### **Иш тартиби:**

Таркибида 5-10 мг азот бўлган оксил Кьельдал колбасига солинади ва 5 мл концентранган 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 холга келгунча қайнатилади. Сўнгра Кьельдал колбаси совитилиб, асбобга уланади.

Колбадаги аралашма 10-15 мл (1-2 томчи) метилнитрат қўшилган дистилланган сув ёрдамида суюлтирилади. 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 мухит ишқорий эканлигидан дарак беради. Кейин идиш (3) орқали буғнинг чиқишини қисқич (4) билан беркитилади ва буғ Кьельдал колбасига ўтиб аралашмада қайнатилади. Бунда аммиак ажралиб совиткич орқали Эрленмейер колбасига туша бошлайди.

Аммиакни ажралиши 15-20 минутда тамом бўлади. Охирги 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, сунгра 1-2 томчи метилрот қўшилиб колбадаги ортиқча кислота 0,05 N натрий гидроксид ёрдамида ранги ўзгаргунча титрланади. Контрол учун материал ўрнига дистилланган сув олинади ва юқоридаги ҳамма жараён яна бир марта такрорланади. Ажратилган азот миқдорини аниқлашда 1 мл 0,05 натрий гидроксиди 0,7 мг азотга тенг деб қабул қилинади. Азот миқдори фоиз ҳисобида куйидагича аниқланади.

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

X- азот миқдори, фоиз ҳисобида(граммда),

a- контролни титрлаш учун сарфланган 0,05 N ўювчи натрий эритмаси миқдори,

b-тажрибани титрлаш учун сарфланган 0,05 N ўювчи натрий эритмаси миқдори,

T- 0,05 N ўювчи натрий гидроксиди титрига тузатма,

100- фоизга айлантириш коэффиценти,

H-олинган модда миқдори, мг ҳисобида.

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

#### Реактивлар:

Сано оқсили, концентрланган сульфат кислота, водород пероксид, калий сульфат, мис сульфат, 0,05 г метилнитрат, 150 мл этил спиртида эритилади ва сув билан 250 мл га етказилади, натрий гидроксидининг 30 % ли эритмаси, натрий гидроксидининг 0,05 N эритмаси.

## Ўсимлик оқсилларини амидошварц 10В реактиви ёрдамида миқдорий аниқлаш

Ўсимликларда кўп миқдорда учрайдиган феноллар ва уларнинг ҳосилалари Лоури усули ёрдамида оқсилни миқдорий жиҳатдан аниқлашга ҳалакит бериши мумкин. Шунинг учун бу усул ўсимлик оқсилларини миқдорий жиҳатдан аниқлашда кам қўлланилади. Кейинги вақтларда оқсилларни турли бўёқлар билан комплекс ҳосил қилишига асосланган миқдорий аниқлаш усуллари кенг қўлланилмоқда. Шундай усуллардан бири оқсил миқдорини амидошварц ёрдамида аниқлашдир.

Бу усул ёрдамида оқсил миқдори тўқималарда ва тозаланмаган экстрактларда ҳам аниқланиши мумкин. Амидошварц ўзининг сульфогруппаси ёрдамида оқсиллар билан боғланади. Натижада оқсиллар чўқади, бу эса реакцион аралашмадаги контрол намуна билан текширилаётган суюқлик ранглари орасидаги фарқни ўлчашга имкон беради.

Реактивлар: ўсимлик барги, амидошварц 10В нинг 7% ли сирка кислотадаги 0,1 % ли эритмаси, чўктирувчи реактив.

### Иш тартиби:

0,5 г ўсимлик барги ҳовончада 5 мл сув билан яхшилаб майдаланади. Гомогенатга 5-45 мл сув қуйиб суюлтирилади. Анализ учун тайёрланган гомогенатдан 1 мл олиб, унинг устига чўктирувчи реактивдан қуйилади ва яхшилаб аралаштирилгач, хона температурасида 10 дақиқа қолдирилади. Шундан кейин 15 дақиқа давомида минутига 5000 марта айланиш тезлигида центрифугаланади. Чўкма устидаги суюқликдан 1 мл олинади ва 25 мл сиғимли ўлчов колбасига қуйилади, унга сув қўшиб ҳажми 25 мл га етказилади. Суюлтирилган эритманинг оптик зичлиги ФЭК – 56 м да 8 светофильтр ( $600 \pm 10$  нм) ёрдамида ёки спектрофотометрда 615 нм да аниқланади.

Калибрлаш эгри чизигини чизиш учун қорамол қон зардоби альбуминидан фойдаланилади. 25 мл қон зардоби альбумини 25 мл бидистилланган сувда эритилади ва бу эритмани суюлтириш

йўли билан 0,75 мг/мл, 0,5 мг/мл, 0,25 мг/мл концентрацияли эритмалар тайёрланади. Бунинг учун тайёрланган оксил эритмасидан даражаларга бўлинган пробиркаларга 7,5; 5,0; 2,5 мл дан олиб, 10 мл гача бидистилланган сув қуйилади. Тайёрланган турли концентрацияли стандарт эритмалар билан юқоридаги операциялар бажарилиб, олинган оптик зичлик қийматлари асосида калибрлаш эгри чизиғи чизилади. Бунинг учун абцисса ўқига оксил концентрацияси, ордината ўқига оптик зичлик қўйилади.

### 3 машғулотга тайёрланиш учун саволлар

1. Ферментларнинг тузилиши ва аҳамияти.
2. Ферментларнинг физик-кимёвий хоссалари.
3. Ферментларнинг аллостерик маркази, тузилиши, аҳамияти.
4. Ферментатив реакциялар кинетикаси.
5. Ферментларнинг фаолланиши ва ингибирланиши.
6. Ферментларнинг таъсир этиш механизмлари.
7. Ферментларнинг номенклатураси ва классификацияси.

## № 3 лаборатория машғулоти

### Ферментлар, уларнинг тузилиши, вазифалари, ферментларнинг спецификлигини ва фаоллигини аниқлаш

#### Машғулотнинг мақсади:

1. Ферментларнинг тузилишини, вазифаларини аниқлаш.
2. Ферментларнинг структураси билан ферментатив кинетика орасидаги боғланишни ўрганиш.
3. Ферментларнинг спецификлигини ўрганиш.
4. Ферментларнинг фаоллигини аниқлашни ўрганиш.

Фермент ёки энзим каталитик оқсилдир. Хужайра оқсилларининг қарийб 90 % ни ферментлар ташкил қилади, лекин баъзи структура оқсиллари, масалан, миофибрилляр қисқариш хусусиятига эга бўлган актин ва миозин ҳам реакцияларда катализаторлик қилади. Тирик организмлар таркибида жуда кўп турли – туман ферментлар бўлиб, улар хужайра шираси ва хужайра органоидларида (ядро, митохондрий, хлоропласт, эндоплазматик тўрда) мужассамлашган. Ўсимликларнинг турли қисмларидаги ферментлар миқдори ҳар хил бўлади. Ферментлар унаётган уруғда ва донда айниқса кўп бўлади, шунинг учун уларни ажратиб олишда қулай манба бўлиб ҳисобланади. Масалан, соя уруғида мочевинани парчалайдиган уреаза ферменти, картошка тугунагида крахмал синтезланишида иштирок этадиган фосфоорилаза ферменти кўп учрайди ферментлар ҳам бошқа оқсиллар каби, иситилганда кимёвий омиллар ва бошқа таъсир остида денатурацияга учрайди, ферментлар ҳам оқсиллар каби, молекуласида жуда кўп мусбат ва манфий заряд ташувчи гуруҳларга, табиий ҳолда маълум изоэлектрик нуқтага эга, электр майдонида ҳаракатланади. Ферментлар таъсири максимал бўлган рН оптимуми ва температура оптимуми бор. Аммо уларнинг энг ажойиб хоссаси спецификлигидир. Ана шу хоссаси билан ферментлар бошқа катализаторлардан кескин фарқ қилади. Улар битта ёки жуда яқин бир нечта бирикмаларнинг стереизомерларига нисбатан

муток фарқли реакцияларни катализлайди. Ферментатив реакцияларнинг спецификлигини кўпдан бери кулф – калит, модели шаклида тасвирланади. Бу моделга кўра, фермент ўхшаш фақат аниқ шаклга эга калитга ( субстратга ) мос келади. Ҳозирги тушунчаларга кўра, эски кулф-калит муносабати бирмунча такомиллаштирилиб индуцирланган кулф – калит модели сифатига айланади. Унинг маъноси шуки, кулф субстрат билан боғлангандан кейин ўзининг конформациясини ўзгартириб калитга мукамал мос келадиган шаклга ўтади.

Ферментатив реакция давомида аввало фермент ( E ) субстрат ( S ) ўзаро контактга кириб энзим – субстрат комплекси ( ES ) ни ҳосил қилади. Ферментнинг субстратни боғлайдиган ва унинг кимёвий ўзгаришини таъминлайдиган чегарали қисми актив маркази деб аталади. Бу марказнинг ўзида субстратни вақтинча боғлаб турадиган бўлаги боғловчи қисм, молекуланинг кимёвий ўзгаришда иштирок этадиган группалари каталитик қисмини ташкил қилади. Актив марказ фермент молекуласидаги айрим аминокислоталарнинг ён шохларидаги радикаллар иштирокида шаклланади. Бу аминокислоталар оқсил занжирининг бир – биридан узоқ қисмларида жойлашган бўлиши мумкин, лекин молекуланинг конформациясида улар ўзаро яқинлашган. Актив марказ реакцияга қатнашадиган кофермент иштирокида ва фермент – субстрат комплекси ҳосил бўлиш жараёнида батамом шаклланади.

Оддий оқсиллардан, яъни фақат аминокислоталардан ташкил топган ферментлар бир компонентли ферментлар дейилади. Масалан, рибонуклеаза, трипсин. 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. Кофактор деб аталадиган кўшимча молекула оқсил билан анча мустахкам бириккан бўлса, анализ қилинганда у полипептид занжирдан ажралмайди, фермент молекуласининг боғланган қисми простетик группа деб аталади.

Икки компонентли ферментнинг оксил қисми апофермент, осонлик билан ундан ажраладиган диссоцияланадиган кичик молекуляр кўшимчаси кофермент деб аталади. Апофермент оксил бўлгани учун у юқори молекуляр, қизитилганда бузиладиган термолябиль, диализланмайдиган компонент, кофермент эса кичик молекуляр юқори хароратга тидамли – термо стабиль ва диализланадиган компонентдир. Апофермент кофермент билан бириккан тақдирдагина актив тула фермент – холофермент ҳосил бўлади.

Кофермент ферментнинг актив марказида субстратнинг кимёвий ўзгаришини таъминлайдиган каталитик қисмнинг асосий элементи дир. Коферментларнинг кўпчилиги витаминлар ва уларнинг бир оз ўзгарган, кўпинча фосфорланган шакллари, турли нуклеотидлардан иборат.

Фермент молекуласида актив марказдан ташқари аллостерик марказ ҳам мавжуд эканлиги аниқланган.

Бу марказ фермент молекуласининг маълум бир қисми бўлиб, у алоҳида аксари паст молекуляр эффектор ёки модификатор деб аталадиган, субстратдан бошқа, унга ўхшамаган моддаларни бириктиради.

Эффекторнинг аллостерик марказга бирикиши ферментнинг учламчи ва аксарият туртламчи структурасини, бинобарин, актив марказининг конформациясини ўзгартириб, ферментатив хусусиятининг кучайиши ёки пасайишига сабаб бўлади.

Ферментлар бир қатор ўзига хос хусусиятларга эга. Буларга ферментларнинг термоллабиллиги, спецификлиги, муҳит рН и нинг ўзгаришга нисбатан сезувчанлиги, активатор ва ингибиторларнинг таъсирига мойиллиги киради. Ферментларнинг таъсири ва уларнинг активлиги реакцияда иштирок этаётган модданинг камайишига ёки ҳосил бўлаётган модданинг ортиб боришга қараб белгиланади. Одатда ферментатив препарат сифатида ўсимлик тўқималарининг шираларидан фойданилади. Бундай шираларда ферментлар эриган ҳолда бўлади. Ҳозирга қадар маълум бўлган ферментлар 6 синфга бўлинади:

1. Оксидоредуктазалар – оксидланиш ва қайтарилиш реакцияларини катализлайди.

2. Трансферазалар – маълум кимёвий группаларни бир бирикмадан иккинчи бирикмага кўчирилишини таъминлайди.

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

4. Лиазалар – субстратдан сув иштироксиз маълум группаларнинг ажралишини катализлайди. Бу ферментлар фаоллиги туфайли ё қўшбоғ хосил бўлади ёки маълум группаларнинг қўш боғларга бирикиши таъминланади.

5. Изомеразалар – хар хил органик бирикмаларнинг изомерланиш реакцияларини катализлайди.

6. Лигазалар (ёки синтетазалар) – АТФ ёки шунга ўхшаш нуклеозид трифосфатлар энергиясини ҳисобига оддий молекулалардан мураккаб бирикмалар хосил бўлиш реакцияларини катализлайди.

Барча организмлар, кўп хужайрали организмларнинг айрим аъзолари ва тўқималари метаболик жараёнларнинг характери, бинобарин, метаболизмнинг айти типини таъминлайдиган ферментлар йиғиндиси билан фарқ қилади. Хужайраларнинг ҳамма типлари учун умумий бўлган асосий жараёнлар – хужайра оксидланиши ёки гликолиз, ачиш, оқсил синтези, ёғ кислоталар оксидланиши бир хил ферментлар томонидан катализланади.

Лекин яшил барглarda кечадиган фотосинтез учун махсус ферментлар йиғиндиси фақат мана шу жараён кечадиган ўсимлик хужайраларидагина мавжуд ва хайвон хужайрасида бўлмайди, мускул қисқариши ферментлари ошқозон – ичак системасининг овқат хазм қилиш ферментларидан тамомила фарқ қилади.

Хужайра ичида ҳам ферментлар хужайра аъзолари бажарадиган функцияга қараб фарқли равишда жойлашади. Масалан, гликолизни таъминлайдиган ферментлар цитоплазмада, оксидланиш йўли билан фосфорилланиш ферментлари митохондрияларнинг ички мембранасида, нуклеин кислоталар синтезини таъминлайдиган ферментлар асосан ядрода жойлашган. Жуда кўп гидролитик ферментлар лизасомаларда

жойлашган бўлиб, уларда кечадиган гидролитик жараёнларни таъминлайди.

Тоза кристаллик ферментлар яъни фермент препаратлари, ферментга бой микроб хужайралари (ачитқи) техникада биологик хомашёни ишлашда ( нон ёпиш, вино тайёрлаш, тамаки, чой, тери етказишда ), медицинада даволаш ( чандиқларни эритиб ёқотиш ) да, қишлоқ хўжалигида сомон, ғузупояни юмшатиб, силос тайёрлашда; илмий лабораторияларда аналитик мақсадлар учун тобора кенг қўлланилади.

### Муайян мақсадга қаратилган масалалар

#### Топшириқ 1

1. Амалий ишларни бажариш учун тегишли адабиётларни ўқиш зарур.
2. Ферментлар-каталитик оксилдир, уларни тузилиши, хоссаларини билиш.
3. Ферментларни физик-кимёвий хоссаларини билиш.

#### Топшириқ 2

1. Ферментларнинг спецификлиги ва уларнинг турларини билиш.
2. Ферментларни таъсир этиш механизмини билиш.
3. Ферментларнинг фаол маркази нимадан иборат, кофермент нима?

#### Топшириқ 3

Мақсадга эришиш учун сизга қуйидаги амалий ишларни билиш ва бажариш керак бўлади.

1. Ферментларнинг спецификлигини аниқлаш.
2. Ферментларнинг фаоллигини аниқлаш.

#### Топшириқ 4

Ҳосил қилган натижаларни тўғри баҳолаш учун сизга бошқа фанлардан олган билимларингиз зарур бўлади.

- 1) Ферментлар деб нимага айтилади, бошқа моддалардан фарқи қандай?
- 2) Ферментларнинг структуравий - функционал тузилишларини айтинг.
- 3) Холофермент нима?
- 4) Кофермент нима ва кофактор нима?
- 5) Ферментларнинг таъсир этиш механизми?

### Олинган билим натижаларини текшириш учун саволлар

1. Ферментларнинг фаол маркази қандай тузилган?
2. Ферментларнинг спецификлиги, уларнинг турлари.
3. Ферментларнинг спецификлиги қандай гипотезаларга асосланган?
4. Ферментларнинг фаолланиши ва ингибирланиши.
5. Ферментларнинг аллостерик маркази қандай тузилган, унинг аҳамияти?
6. Ферментларнинг таъсир этиш механизмлари нимага асосланган?
7. Ферментатив реакция кинетикаси нимага боғлиқ?
8. Ферментларнинг номенклатураси ва классификацияси.
9. Ферментларнинг жойлашиши, аҳамияти, қўлланиши.
10. Аниқлашнинг асосий босқичлари.
11. Ферментларнинг спецификлигини аниқлаш.
12. Ферментларнинг фаоллигини аниқлаш.

### Ферментларнинг спецификлигини аниқлаш

Ферментлар биологик катализатор бўлиб, ўзига хос таъсир қилиш хусусиятларига эга. Уларнинг бундай ўзига хослиги тирик организмларга хос бўлган муҳим хусусиятлардан бири ҳисобланади. Каталитик жараёнларда фермент-субстрат комплексининг ҳосил бўлиши, ферментларнинг тузилиши, оқсил молекуласи тузилишига унинг фаол қисмлари билан

субстратнинг тегишли гурухлари ўртасидаги кимёвий боғлар ҳосил бўлишига боғлиқ. Ҳар бир фермент маълум бир субстратга ёки молекуладаги кимёвий боғнинг маълум турига таъсир этади.

**Зарур асбоблар:** пробиркалар, штатив, пипеткалар, термостат.

**Реактивлар:** крахмалнинг 1 % ли эритмаси, сахарозанинг 2 % ли эритмаси, суюлтирилган сулак-амилаза, сахароза (10 г ачитқини 100 мл дистилланган сувда гомогенизация қилинади), натрий ишқорининг 20 % ли эритмаси, 1% ли йоднинг калий йоддаги эритмаси.

#### **Иш тартиби:**

Тўртта пробирка оламыз, биринчи ва иккинчи пробиркаларга 2-4 мл крахмал эритмасидан, учинчи ва тўртинчи пробиркаларга 2-4 мл суюлтирилган сулак-амилаза, иккинчи ва тўртинчи пробиркаларга 2-4 мл сахароза ферменти солинади, сўнгра пробиркаларни чайқатиб 20 минут  $37^{\circ}\text{C}$  ли термостатга инкубация қилиш учун қўйилади. Инкубациядан кейин 1 ва 2 пробиркаларга 1-2 томчи йоднинг калий йоддаги эритмасидан томзилади., 3 ва 4 пробиркаларга 2-4 мл натрий ишқорнинг 20 % ли эритмасидан, 2-4 томчи мис сульфатнинг 5 % ли эритмасидан солиб қиздирилади.

Натижада амилаза крахмални гидролизлайди ва сахароза сахарозани.

#### **Тирозиназа ферментининг фаоллигини аниқлаш**

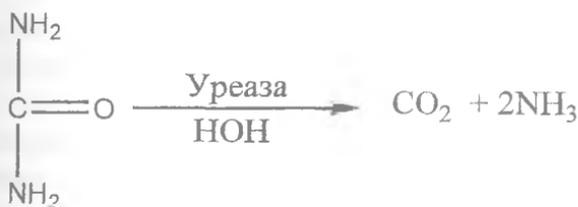
Тирозиназа ферменти оксидланиш-қайтарилиш реакцияларини катализ қилувчи ферментларга мансуб бўлиб, ўсимлик таркибида кенг тарқалган. Улар ўсимлик маҳсулотларида рангли моддалар меланинларнинг ҳосил бўлишида муҳим аҳамиятга эга.

**Реактивлар:** картошка, тирозиннинг 0,1% ли эритмаси - 0,1 г тирозин 100 мл 0,01 н  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  эритмасида кучсиз қиздирилиб эритилади.

**Ишнинг бориши.** Картошка қирғич ёрдамида майдаланиб 2-3 қават доқа 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 қўшилади. Пробиркадаги суюқлик яхшилаб аралаштирилиб 60 минут давомида 40° С инкубацияга қўйилади. Вақти-вақти билан 3-4 марта пробиркалар яхшилаб аралаштириб турилади. Вақт утгач, тирозин қўшилган пробиркада қора ранг ҳосил бўлади. Бу ранг тирозиназа ферменти таъсирида тирозиндан ҳосил бўлган меланинга хосдир.

### Тарвуз уруғи мағзидаги уреазанинги активлигини аниқлаш

Уреза ферменти дуккакли ўсимликларда кенг тарқалган. Айниқса улар соя, нухат канаваляда кўп миқдорда бўлади. У тарвуз уруғларида ҳам кўп учрайди. Уреза ферменти мочевиани карбонат ангидрид ва аммиаккача парчалайди.



**Иш тартиби:** Соя ёки тарвуз уруғи мағзидан 5 грамм олиб, чинни хавончада 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 мочевианинги 1 % ли эритмаси қўйилади. Пробиркалар 40 ° С да 15 минут давомида термостатга қўйилади.

Кейин ҳар иккала пробиркага 1 – 2 томчидан фенолфталеин томизилади.

2 – пробиркадаги мухит фермент таъсирида ҳосил бўлган аммиак ҳисобига ишқорий мухит бўлиб, пушти рангга эга бўлади.

Реактивлар: соя ва тарвуз уруғлари, мочевиначининг 1 % ли эритмаси, фенолфталеин.

#### 4 - машғулотга таёрланиш учун саволлар

1. Хужайра тузилиши, таркибий қисмлари.
2. Оқсилларнинг тузилиши, хоссалари.
3. Оқсилларнинг тузилиш даражалари.
4. Протеинлар ва протеидлар.
5. Ферментлар, тузилиши, хоссалари.
6. Ўсимликлар биотехнологиясида оқсилларнинг ва ферментларнинг аҳамияти.
7. Ферментларнинг номенклатураси ва классификацияси.
8. Ферментатив реакция кинетикаси.
9. Ферментларнинг таъсир этиш механизми.
10. Антителолар ва антигенлар.

**№ 4 лаборатория машғулоти**  
**Ферментлар, уларнинг алмашинувдаги**  
**аҳамияти, хоссалари, ўсимликлар**  
**биотехнологиясидаги аҳамияти**  
**(яқунловчи машғулот)**

**Машғулотнинг мақсади:**

Яқуний машғулот саволларини ўрганиб келиш.

1. Молекуляр биология фанининг вазифалари.
2. Хужайраларнинг умумий тузилиши.
3. Хужайра органеллалари нимадан иборат?
4. Хужайра компонентларини ажратиб олиш.
5. Оқсиллар классификацияси, функцияси.
6. Оқсилларни ажратиб олиш ва тозалаш усуллари.
7. Оқсилларнинг физик-кимёвий хоссалари.
8. Оқсилларнинг таркиби, уларнинг тузилишлари, аминокислоталар.
9. Аминокислоталарнинг хоссалари.
10. Оқсил молекуласининг структуравий тузилиши даражалари (бирламчи, иккиламчи, учламчи, тўртламчи).
11. Протеин ва протеидлар.
12. Антителолар ва антигенлар.
13. Ферментларнинг тузилиши, вазифаси, аҳамияти.
14. Ферментатив реакциялар кинетикаси.
15. Ферментларнинг хоссалари.
16. Ферментларнинг таъсир этиш механизмлари.
17. Ферментларнинг номенклатураси ва классификацияси.

**5 - машғулотга тайёрланиш учун саволлар**

1. Углеводлар қандай тузилган, уларнинг аҳамияти?
2. Углеводларнинг классификацияси ва вазифалари.
3. Доривор ўсимликларда крахмални қандай усуллар билан аниқлаш мумкин?
4. Крахмал нимадан тузилган?

## № 5 лаборатория машғулоти

### Доривор ўсимликлар таркибидаги эрувчан углеводларни аниқлаш

#### Машғулотнинг мақсади:

1. Эрувчан углеводларга кирувчи углеводлар, доривор ўсимликлар таркибидаги углеводларни аҳамиятини ўрганиш.
2. Эрувчан углеводлар миқдорини аниқлашни ўрганиш.
3. Доривор ўсимликлар таркибидаги крахмални аниқлашни ўрганиш.

Углеводлар ўсимликлар ҳаётида муҳим аҳамиятга эга бўлган органик бирикмалардир. Улар ўсимликлар таркибий қисмининг 80 – 90 % ни ташкил қилади. Углеводлар фотосинтез процесининг асосий маҳсулидир. Улар ўсимликларнинг нафас олиш жараёнида прачаланиб, кўп энергия ажратади.

Углеводлар ҳаётий процесларда муҳим рол ўйнайдиган бирикмалар нуклеин кислота ва ёғлар ҳосил бўлишда алоҳида аҳамиятга эга. Углеводларнинг кўпчилиги ўсимликларда запас модда сифатида туланади. Улар илдиз меваларда ҳам запас модда сифатида илдизда кўп туланади.

Углеводлар тузилиши ва хусусиятига қараб 2 та катта группага: оддий углеводлар – моносахаридлар ва мураккаб углеводлар полисахаридларга бўлинади. Полисахаридлар иккита кичик группани ташкил қилади. Булар молекуляр оғирлиги унча катта бўлмаган олигосахаридлардир ва ҳақиқий полисахаридлар. Моносахаридлар билан олигосахаридлар кўпинча шакарлар деб аталади.

Моносахаридлар таркибадаги карбонил группанинг жойланишига қараб икки хил изомер, яъни альдоза ва кетоза изомерини ҳосил қилади. Табиатда учрайдиган барча моносахаридлар D – каторига мансуб бўлади. Моносахаридлар ўсимликлар таркибида эркин ҳолда камдан – кам учрайди. Улар, асосан, моносахаридларнинг бошқа ҳосилалари сифатида ва полисахаридлар шаклида учрайди. Полисахаридлар юқори

молекуляр бирикмалар бўлиб, молекуляр массаси бир неча мингга, хатто миллионгача етади. Улар таъмсиз бўлиб, сувда эримайди ёки коллоид эритма ҳосил қилади, шунинг учун ҳам ўсимликлар таркибида кўп тупланади. Кислоталар ёки ферментлар билан гидролизланганда, олигосахаридлар билан моносахаридларга парчаланadi. Бир хил моносахаридлардан ташкил тошган полисахаридлар гомополисахаридлар деб аталади. Агар полисахаридлар таркибида турли моносахаридлар бўлса, улар гетерополисахаридлар дейилади.

Пектин моддалар — бу бирикмалар ҳам полисахаридлар синфига мансуб бўлиб, кўпинча меваларда, илдиз меваларда ва ўсимликлар поясида учрайди, ўсимликларда пектин моддалар протопектин шаклида бўлади. Протопектин сувда эримайди. Ўсимликлар тўқимаси хлорид кислота билан ишлангандан сўнг пектин эрувчан ҳолатга ўтади. Пектин моддалар полигалактоуронат кислоталардан ташкил тошган. Полигалактоуронат кислоталар карбоксил гуруппаларнинг бир қисми метилланган бўлса, улар пектинат кислоталар деб аталади. Эрувчан пектин таркибида метилланган гуруппалар кўп бўлади. Эримайдиган пектинни пектинат кислотанинг кальцийли тузи дейиш мумкин. Эримайдиган пектин мевалар пишишида эрувчан пектинга айланади ва серэт қисмининг етилишига сабаб бўлади. Эрувчан пектин моддалар елимшак модда ҳосил қилиш хусусиятига эга бўлганлиги учун озиқ — овқат саноатида кўп ишлатилади. Озиқ — овқат саноатида ишлатиладиган пектин моддалар манбаи олмадир. Кейинги йилларда кунгабоқар, тарвуз ва лавлагидан ҳам пектин моддалар олинмоқда.

Омиллар ва шилимшиқ моддалар булар гетерополисахаридлар туркумига киради, парчаланганда галактоза, манноза, глюкоза, рамноза, ва бошқа моносахаридлар ҳосил қилади. Булар сувда шишади ва қовушқоқ эритмалар ҳосил қилади. Бу моддаларга ўрик, олча, олхўри, бодом дарахтларининг шикастланган жойидан ажралиб чиқадиган елим мисол бўлади. Шилимшиқ моддалар эса зихир, сули беда ва себарга ўсимликлари уруғида кўп бўлади.

Ўсимликларда борадиган моддалар алмашунуви процессларида углеводлар муҳим аҳамиятга эга.

Ўсимликлар таркибида учрайдиган барча полисахаридлар ва олисахаридлар бир қатор ферментлар иштирокида аввало моносахаридларгача парчланади. Кейинчалик эркин моносахаридларни энергияга бой бўлган бирикмалар билан реакцияга киритиб, фосфорли эфирлар ҳосил қилиш туфайли эришилади.

Эркин моносахаридларнинг фосфорланиш реакциялари уларнинг парчланишидаги муҳим босқичлардан бири ҳисобланади.

Моносахаридларни фосфорли эфирлари, яъни глюкоза – 6 фосфат ҳужайра ва тўқималарда икки хил йўл билан парчланади: анаэроб- гликолиз ва аэроб – ди – трикарбон кислотали цикли деб аталади.

### Муайян мақсадга қаратилган масалалар

#### Тошпириқ 1

1. Амалий ишларни бажариш учун тегишли адабиётларни ўқиш зарур.
2. Ўсимликлар таркибидаги крахмални аниқлашни билиш.
3. Ўсимликлар таркибидаги эрувчан углеводлар миқдорини Хагедорн-Иенсен усули бўйича аниқлашни билиш.

#### Тошпириқ 2

1. Углеводларнинг ўсимликлар ҳаётида аҳамиятини билиш.
2. Углеводларнинг классификациясини билиш.

#### Тошпириқ 3

Мақсадга эришиш учун сизга қуйидаги амалий ишларни бажариш ва билиш керак бўлади.

1. Эрувчан углеводларнинг миқдорини аниқлаш.

2. Доривор ўсимликлар таркибидаги крахмални аниқлаш.

#### Тошпирик 4

Ҳосил қилинган натижаларни тўғри баҳолаш учун сизга бошқа фанлардан олган билимларингиз зарур бўлади.

1. Моносахаридлар, полисахаридлар қандай тузилган, уларнинг аҳамияти?
2. Ўсимликларда углеводлар қандай жойлашган?
3. Углеводларнинг анаэроб парчаланиши, унинг аҳамияти.
4. Ўсимликларда энг кўп тўпланадиган углевод.

#### Олган билим натижасини текшириш учун саволлар

1. Ўсимликларда углеводларнинг жойланиши, унинг аҳамияти.
2. Крахмал қандай тузилган?
3. Гликолиз, унинг аҳамияти.
4. Фотосинтез жараёнида углеводларнинг вазифаси.
5. Ўсимликларда учрайдиган углеводларнинг парчаланиши.

#### Аниқлашнинг асосий босқичлари

1. Доривор ўсимликлар таркибидаги крахмални аниқлаш.
2. Эрувчан углеводлар миқдорини аниқлаш.

#### 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 жараёнида хлоропластларда

ҳосил бўладиган углеводлар бевосита крахмалга айланади. Крахмал икки хил бирикмадан, яъни амилоза ва амилозапектиндан ташкил топган.

Амилозанектин йод таъсирида бинафша ҳамда қизғиш бинафша рангга киради. Амилоза эса йод таъсирида кукаради. Крахмални аниқлаш усуллари унинг йод билан ҳосил қилган ранги куюқлигини аниқлаш ёки кислотали ва ферментатив гидролиз натижасида ҳосил бўлган глюкоза миқдорини аниқлашга асослангандир.

### Крахмал миқдорини Починка усулида аниқлаш

Бу усул крахмалнинг йод билан комплекс ҳосил қилишига асосланган. Ҳосил бўлган комплекс калий бихромат ёрдамида нордон шароитда  $\text{CO}_2$  ва  $\text{H}_2\text{O}$  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 (1г картошка, 3г барг) чинни ховончада 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 ховонча 2-3 марта ювилади. Колбадаги суюқликнинг умумий ҳажми 30 мл дан ошмаслиги керак. Колба устини воронка билан беркитиб электр плиткасида 3 минут давомида аста-секин қайнатилади. Бунда крахмал эритмага ўтади. Колбани совутиб, воронка яхшилаб ювилади ва эритма ҳажми 100 мл ли бошқа ўлчов колбасига қуйилади. Сўнгра дистилланган сув билан ўлчов чизигача тўлдирилади ва стаканга филтрланади. Шу филтратдан 5 мл центрифуга пробиркасига солинади. Унинг устига 2 мл йод эритмаси қуйилади, яхшилаб аралаштирилиб, 30 дақиқага қолдирилади.

Натижада крахмалнинг йодли комплекси чўкмага тушади. Вакт ўтгач, чўкмали пробирка минутига 4000-5000 тезликда 5-10 дақиқа центрифугаланади. Чўкма яна 5 % ли кальций нитрат эритмаси ёрдамида 2-3 марта ювилади. Хар гал эритма куйилганида колбадаги чўкма яхшилаб аралаштирилади. Сўнгра чўкма 200 мл ли колбага 0,2-0,3 мл сув билан ўтказилади. Пробирка эса 3-4 марта дистилланган сув билан ювилади (сувнинг умумий хажми 3 мл дан ошмаслиги керак). Колбага 10 мл 0,25 н калий бихроматнинг 85% ли сульфат кислотада тайёрланган эритмасидан қўшилади, яхшилаб аралаштириб, 15 дақиқага қайнаб турган сув ҳаммомига кўйилади. Бунда крахмал калий бихромат ёрдамида карбонат ангидрид ва сувгача парчаланеди. Колба совугач, унга 5 мл 20% ли калий йодид эритмасидан ва 120 мл сув қўшилади. Бунда калий бихромат йодни ажратади. Ажралган йод 0,1н 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 0,1н гипосульфит эритмаси 0,675 мл крахмалга тўғри келади. (Реакция бошланишида крахмал томонидан адсорбция қилинган йод реакция натижасига таъсир қилмайди). Алоҳида назорат титрлаши ҳам ўтказилади. Бунинг учун ҳажми 20 мл ли колбага 10мл калий бихроматнинг 0,25 н эритмасидан, 120 мл сув, 5 мл калий йодид 20 % ли эритмасидан солинади ва 0,1н гипосульфит эритмаси билан титрланади.

Крахмал миқдори куйидагича аниқланади:

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

X-крахмал миқдори, % ҳисобида  
 а-0,1н гипосульфит эритмасининг назорат титрлаш учун сарфланган миқдори, мл

в-0,1н гипосульфит эритмасининг тажрибадаги крахмални титрлаш учун сарфланган миқдори, мл.

В-крахмални чўкмага тушириш учун олинган ҳажми (5 мл)

T-0,1н гипосульфит эритмасининг титрига тузатма.

Н-тажриба учун олинган ўсимлик материалининг вазни, грамм ҳисобида

**Реактивлар:** 0,25 н калий бихромат, кальций нитратнинг 80 % ли эритмаси, 0,5 % йод эритмаси, 0,1н гипосульфит эритмаси.

### Ўсимликларнинг яшил баргларидаги крахмални аниқлаш

Крахмал фақат яшил баргларда аниқланиши мумкин, сарғайган баргларда хлорофилл бўлмаганлиги сабабли крахмал синтезланмайди.

#### **Иш тартиби:**

2 та пробирка олиб, уларнинг бирига ўсимликнинг яшил барги, иккинчисига сарғайган барги солинади. Ҳар иккала пробиркага 1-2 мл дистилланган сув қуйиб, 2-3 дақиқа қайнатилади.

Сўнгра иссиқ сув тўкиб ташланади ва унинг ўрнига 1 мл этил спирти қуйилади. Пробиркалар қайнаб турган сув ҳаммомига 3-5 дақиқа қуйилади ва ҳар дақиқада чайқатиб турилади. Яшил баргдаги хлорофилл ва сариқ баргдаги ксантофилл спиртга ўтади, барг эса рангсизланади. Спиртли экстракт алоҳида идишга қуйилади. Рангсизланган баргли пробиркага эса яна 1 мл дан спирт қуйиб, 3-5 дақиқа сув ҳаммомида қиздирилади. Спирт юқоридаги идишга тўкилиб, рангсиз барг бир неча марта дистилланган сув билан ювилади.

Шундан кейин ҳар бир пробиркага 3-4 мл дан дистилланган сув қуйиб, барг тўқимасани юмшатиш учун қайнаб турган сув ҳаммомига қуйилади.

5-10 дақиқадан кейин сув тўкиб ташланади ва барглар алоҳида номерланган фильтр қоғозга қуйилади, сўнгра 3-4 томчи

1% ли йод эритмасидан томизилади. Агар баргда крахмал бўлса, сскин-аста кук нукталар пайдо бўлиб, баргнинг юзаси кўкаради.

**Реактивлар:** этил спирти, йоднинг 1% ли эритмаси, ўсимлик барги.

### **Пиёз экстрактидаги глюкоза ва бошқа қайтарувчи шакарларни аниқлаш**

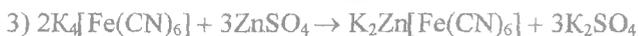
Бош пиёзнинг сувли экстракти фелинг реактиви билан киздирилганда аввал сариқ рангли мис (I) гидроксид, сўнгра қизил рангли мис (I) оксиди ҳосил бўлади. Бу реакция экстрактда глюкоза ва бошқа қайтарувчилик хусусиятига эга бўлган моддалар борлигига асосланган.

**Иш тартиби:** Бош пиёз қирғичда ёки бошқа усулда яхшилаб майдаланади. Тайёрланган массадаан пробиркага 0,5 г солиб, унинг устига 2 мл дистилланган сув қуйилади ва 3-4 дақиқа қайнатилади. Сўнгра қоғоз филтр орқали филтрланади. Филтратдан 10 томчи олиб, фелинг реакцияси ёрдамида қайтарувчи шакарлар борлиги аниқланади. Пиёз ўрнига сабзидан ҳам фойдаланиш мумкин.

**Реактивлар:** фелинг суюқлиги, пиёз.

### **Эрувчан углеводлар миқдорини Хагедорн-Иенсен усулида Аниқлаш**

Бу усул ёрдамида турли хил биологик объектлар таркибидаги глюкоза ва бошқа қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлган углеводларни аниқлаш мумкин. Реакция натижасида углеводлар ишқорий шароитда оксидланиб қизил қон тузигача қайтарилади.



**Реактивлар:** натрий гидроксиднинг 0,2 н ли эритмаси, рух сульфатнинг 5% ли эритмаси, натрий карбонатнинг 0,1 н эритмаси, калий ферроцианиднинг 0,005 н эритмаси, гипосульфит 0,0005 н эритмаси.

#### **Иш тартиби:**

Алоэ ўсимлик материалидан 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 дақиқа қайнатилади, 3 мл натрий гидроксиднинг 0,2 н эритмасидан ва 2 мл рух сульфатнинг 5% ли эритмасидан қўшиб, 3 дақиқа давомида қайнатилади. Натижада аралашмадаги оксиллар чуқмага тушади. Аралашма ҳажми 50мл ли ўлчов колбасига филтрланади. Филтрат совигач, унинг умумий миқдори дистилланган сув билан ўлчов чизигигача етказилади. Иккита колба олиб, ҳар бирига 2-5 мл филтратдан текшириляётган материал таркибидаги углевод миқдорига қараб қуйилади. Унинг устига 8-11 мл сув қуйиб, умумий ҳажми 13 мл га етказилади. Унинг устига 2 мл калий ферроцианид эритмаси қўшилади. Худди шу йўл билан 2 та назорат колбаси тайёрланади. Бунда 13 мл дистилланган сув устига 2 мл калий ферроцианид эритмаси қўшилади. Сўнгра колбалар қайнаб турган сув ҳаммомига 15 дақиқага туширилади. Текшириляётган

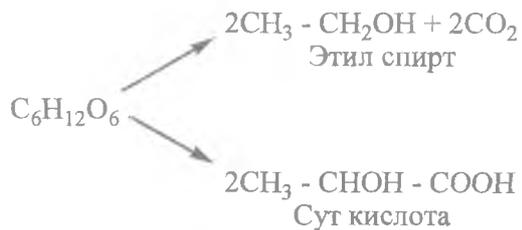
Ўсимлик материали таркибидаги углеводларнинг қайтариш хусусиятларига асосланган бошқа усуллар каби бу усулда ҳам кайнаш учун кўрсатилган вақтга қатъий риоя қилиш керак. Вақт тугагач, колбалар дарҳол олинади ва совуқ сув ёрдамида совутилади. Совиган эритма устига 3 мл мураккаб аралашмадан ( $KJ$ ,  $Zn\ SO_4$ ,  $NaCl$ ) ва 2 мл сирка кислотанинг 3% ли аралашмасидан қўшилади. Бунда ажралиб чиққан йод гипосульфит эритмаси ёрдамида сариқ ранг ҳосил бўлгунча титрланади. Сўнгга аралашмаларга 2-3 томчидан крахмалнинг 1% ли эритмасидан қўшиб рангсиз ҳолатга келгунча титрлаш давом эттирилади. Титрлаш учун сарфланган гипосульфит миқдорига қараб жадвал бўйича глюкоза миқдори аниқланади. Тажриба бўйича топилган сондан назорат эритма таркибида топилган соннинг айирмаси текшириш учун олинган эритма таркибидаги қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлган углеводлар миқдорини беради. Кейин текшириш учун олинган ҳажмдаги углеводлар миқдори ҳисобланади. Текшириляётган ўсимлик материалидаги углеводларнинг процент миқдори куйидагича топилади х-текшириляётган материал таркибидаги углевод миқдори, а-олинган намуна массаси.

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

**Глюкозани мушак тўқимасида  
кислородсиз шароитда оксидланиши  
(гликолиз)**

Глюкозанинг тўқималарда кислородсиз шароитда оксидланиши гликолиз дейилади. Оксидланиш субстрати гликоген бўлса, глюкоgenoлиз дейилади. Одам ва хайвонлар организмда моносахаридларнинг анаэроб парчаланиш сур

кислота хосил бўлиши билан тугайди. Ўсимликлар  
микроорганизмларда бу процесда этил спирти хосил бўлади:



Гликолиз процессида иштирок этадиган барча ферментлар  
ўсимликлардан топилган ва қўпчилиги соф холда ажратиб  
олинган.

**Хагедорн – Иенсен бўйича глюкоза  
микдорини ҳисоблаш учун жадвал**

Гипосуль- фил, мл да	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	0,385	0,382	0,379	0,376	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	0,163	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

**Иш тартиби.**

1. Ачитиш учун эритма тайёрлаш текширув ва назорат тажриба пробиркаларга  $\text{pH}_{48,0}$  бўлган фосфат буфер эритмасидан 3 мл ва глюкозанинг 1 % ли эритмасидан 1 мл дан солиб аралаштирилади. Иккинчи пробиркага ферментатив реакцияни тўхтатиш учун 1 мл 10 % ли УХСК эритмаси солинади. Эритмалар устига мушак қиймасидан 1 г солинади. Эритмалар аралаштирилади ва унинг кислород билан

таъсирланишни чеклаш учун 10 томчи вазелин ёғи билан қопланади. 37 °С ли термостатга роса 1,5 соатга қўйилади.

2. Оқсилларни чўктириш. Пробиркалар термостатдан олинади ва реакцияни тўхтатиш учун биринчи назорат эритмасига 1 мл 10 % ли УХСК эритмаси солинади. Натижада оқсиллар чўкмага тушади. Эритмалар бошқа тоза пробиркага филтрланади.

3. Углеводларни чўктириш. Оқсилдан холи қилинган углевод филтратига мис сульфатнинг ярим тўйинтирилган эритмасидан 1 мл ва кальций гидроксид тузидан 0,5 г солинади. Пробиркалар қопқоқ билан зич қилиб беркитилади ва 15 дақиқа чайқатилади. Сўнгра эритмалар хўлланган филтр қоғоздан ўтказилади. Бу йўл билан глюкозанинг ортиқча миқдори олиб ташланади.

4. Сут кислотани аниқлаш филтрат солинган пробиркалар муз хаммомида совитилади ва унга аста – секин концентрланган сульфат кислота томизилади. Томизиш вақтида пробиркалар чайқатиб турилади. Аралашманинг исисига йўл қўймаслик керак. Сут кислотанинг оксидланиши тезлатиш учун пробиркалар қайнаб турган сув хаммомига 4 дақиқага қўйилади. Вақт ўтгач пробиркалар муз хаммомида совитилади. Совитилган аралашмага вератролнинг 0,1 % ли спиртли эритмасидан 1 – 2 томчи солиб бир неча дақиқа аста чайқатилади. Биринчи пробиркада мушак ферментлари таъсирида гликолиз реакцияст ўтганлигидан сут кислота тўқ пушти ранг хосил қилади. Назорат пробиркада эса тажриба бошлангунча бўлган сут кислота оч пушти рангга киради.

Реактивлар: рН<sub>4</sub>8, О бўлган фосфат буфер эритмаси, глюкоза эритмаси сирка кислотанинг 10 % ли эритмаси, мис сульфатнинг ярим тўйинтирилган эритмаси, кальций гидроксид тузи, концентрланган сульфат кислота, вератролнинг 0,1 % ли эритмаси.

## Бижғиш жараёнида аорганик фосфатнинг ишлатилишини аниқлаш

Глюкоза оксидланиш жараёнида оралиқ махсулотлар – гексоза ва триозаларнинг фосфорланган бирикмалари ҳамда АТФ хосил бўлади. Фосфорланиш аорганик фосфатнинг боғланиши билан боғлиқ бўлгани туфайли унинг эритмадаги миқдори камаяди. Аорганик фосфор миқдорини фосфор молибдат комплекси хосил бўлиши ва уни молибден тузигача қайтариш йўли билан аниқлаш мумкин.

Иш тартиби.

1 г ювилган ва қуритилган хамир туриш 1 г сахароза ёки глюкоза 5 мл сув билан аралаштирилиб, майдаланади. Майдаланган аралашма пробиркага олинади ва унга 5 мл фосфат эритмасидан солиб яна аралаштирилади. Аралашмадан 1 мл олиб 1 мл УХСК эритмаси солинган пробиркага ўтказилади (бу текширув пробирка хисобланади). Қолган аралашма  $37^{\circ}\text{C}$  ли термостатга қўйилади. Алохида учта пробиркага 1 мл дан УХСК эритмаси солиб, унга термостатдаги ачитқи аралашмадан вақти – вақти билан солинади.

Биринчи пробиркага 30, иккинчи 60, учинчисига эса 90 дақиқадан сўнг 1 мл ачитқи солинади. Тўртинчи пробиркага ҳам 1 мл ачитқи солинади. Ачитқи оқсиллари чўкмага тушгач хар қайси пробиркадаги эритма фильтр қоғоздан ўтказилади. Оқсилсиз фильтрат таркибидаги аорганик фосфат аниқланади.

## Аорганик фосфатни аниқлаш

Юқоридаги оқсилсиз фильтратнинг хар қайсисидан 0,5 мл дан тоза пробиркаларга олинади ва унга 1 мл аммоний молибдат эритмасидан 1 мл солинади. Эритмалар устига 8 мл дистилланган сув солиб, яхшилаб аралаштирилади ва хона хароратида ранг хосил бўлгунча 15 дақиқа сақланади. Пробиркадаги эритмаларнинг ранги бир-бири билан солиштирилади.

## 6 - машғулотга тайёрланиш учун саволлар

1. Ўсимликларда аэроб нафас олиш нимага асосланган?
2. Крахмал нимадан тузилган?
3. Пектин моддалар нима?
4. Моносахаридлар ва дисахаридларнинг ўсимликлар ривожланишидаги аҳамияти.
5. Полисахаридлар нима, қандай сахаридларни биласиз?
6. Қандай ўсимликларда углеводлар куп бўлади?
7. Инулин ва целлюлоза нима, қайси ўсимликларда бўлади?
8. Углеводларнинг ўсимликлар учун аҳамияти ва вазифаси.

## № 6 лаборатория машғулоту

### Доривор ўсимликлар таркибидаги пектин моддасини аниқлаш

#### Машғулотнинг мақсади:

1. Полисахаридларнинг аҳамияти, уларни таркибий қисмларини ўрганиш.
2. Пектин моддаларининг қандай углеводлар синфига киришини ўрганиш.
3. Пектин моддаларнинг доривор ўсимликлар таркибида аниқлашни ўрганиш.

#### Муайян мақсадга қаратилган масалалар

##### Топшириқ 1

1. Амалий ишларни бажариш учун тегишли адабиётларни ўқиш зарур.
2. Ўсимликлар таркибидаги пектин моддаларни аниқлашни билиш.
3. Пектин моддаларининг таркибий қисмларини билиш.

##### Топшириқ 2

1. Ўсимликлар таркибида пектин моддалар қандай шаклда бўлишини ўрганиш.
2. Эрувчан пектин моддалар қандай шаклда бўлиши, озиқ-овқат саноатида қўлланилишини билиш.

##### Топшириқ 3

Мақсадга эришиш учун сизга қуйидаги амалий ишларни бажариш ва билиш керак бўлади.

1. Доривор ўсимликлардаги пектин моддаларни ажратиб олишни аниқлаш.
2. Пектин моддаларнинг миқдорини аниқлаш.

#### Топшириқ 4

Ҳосил қилган натижаларни тўғри баҳолаш учун сизга бошқа фанлардан олган билимларингиз зарур бўлади.

1. Углеводларнинг ўсимликлар танасидаги аҳамияти.
2. Углеводларнинг таснифи.
3. Углеводларнинг парчаланиши.
4. Фотосинтез жараёнида қайси углеводлар кўп учрайди ва иштирок этади.

#### Олинган билим натижаларини текшириш учун саволлар

1. Целлюлоза ва инулиннинг фарқи.
2. Ўсимликларда пектин моддалар қандай шаклда бўлади?
3. Протопектин нимада эрийди, эрувчан пектин қандай ҳолатга ўтади?
4. Пектин моддалари таркибига қандай кислоталар киради?
5. Озиқ-овқат саноатида пектин моддаларининг манбаи.
6. Мевалар етилаётганда эримайдиган пектин эрувчан пектинга айланиши нимага боғлиқ?
7. Пектин моддаларнинг аҳамияти ва ишлатилиши.

#### Аниқлашнинг асосий босқичлари

1. Доривор ўсимликлардаги пектин моддаларни ажратиб олиш.
2. Доривор ўсимликлардаги пектин моддалар миқдорини аниқлаш.

## Пектин моддаларни ажратиб олиш

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

### Иш тартиби:

25 г янги узилган ўсимлик материалдан (картошка, олма, лимон, қандлавлаги) олиб, бир ҳил масса бўлгунча кум ёки шиша кукунлари ёрдамида майдаланади. Масса ҳажми 500 мл конуссимон колбага солинади ва унинг устига 45°C гача иситилган сувдан 100 мл қуйилади. Колба 45°C иссиқликдаги сув ҳаммомида 30 минутча қолдирилади ва вақти-вақти билан аралаштирилиб турилади. Вақт тугагач, колбанинг оғзи каучук пўкак билан беркитилади ва 15-20 минут давомида қаттиқ чайқатилади. Кейин колбадаги суюқлик минутига 3000 тезликда 10-15 дақиқа давомида центрифугаланади ва пектинли тиник эритма ажратиб олинади. Пектин моддаларни тулиқ 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 пектин модда миқдори чўкмага тушириш усули билан аниқланади.

## Пектин моддалар миқдорини аниқлаш

Пектин моддалар миқдорини аниқлаш кўпинча уларни 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 дақиқа қолдирилади. Шу вақт ичида эрувчан пектин совутилади

ва пектин кислотанинг натрийли тузига айланади. Сўнгра 50 мл сирка кислотанинг 1н 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 тупади. Чўкма олдиндан фильтр қоғоздан ўтказилади. Чўкма хлор ионлари йўқолгунча сув билан ювилади. Хлор ионларини йўқотиш кумуш нитратнинг 1% ли эритмаси билан салбий реакция беришга қараб аниқланади. Сўнгра фильтр қоғоз чўкма билан бюксга солинади ва термостатда 100° С да масса доимий оғирликка эга бўлгунча қурилади. Пектат кислота қуйидагича аниқланади.

$$X = a \cdot v \cdot 92 / CV$$

Бунда:

X-пектат кислота миқдори (% ҳисобида).

a-топилган пектат кальций миқдори.

C-текширилаётган ўсимлик материалининг миқдори.

V-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% гача тенглигидан олинган.

### Ҳисоблаш учун мисол

Каноп поясидан 100 гр олиб, ҳажми 500 мл (v) колбага майдалаб солинади ва дистилланган сув билан ўлчов чизигигача тўлдирилади. Пектин моддасини аниқлаш учун 25 мл (V) филтрат олинади. Кальций пектатнинг доимий массаси 0,0370 г (a) тенг бўлади. Бунда:

$$X = 0,0370 \cdot 500 \cdot 92 \cdot 0,68\% \cdot 100 \cdot 25$$

Реактивлар: уювчи натрийнинг 0,1 н эритмаси, кальций хлорнинг 2 н эритмаси, кумуш нитратнинг 1% ли эритмаси.

### 7 - машғулотга тайёрланиш учун саволлар

1. Ўсимликларнинг барча қисмларида липидлар қандай тарқалган?
2. Липидларнинг классификацияси ва аҳамияти.
3. Ўсимликлар танасида липидларнинг парчаланиши.
4. Глицериннинг оксидланиши.
5. Ёғ кислоталарининг оксидланиши.

## № 7 лаборатория машгулоти

### Доривор ўсимликлар таркибидаги умумий мой (триглицерид-ларнинг) миқдорини аниқлаш

#### Машгулотнинг мақсади:

1. Липидлар ўсимликларда қандай тарқалганлигини ўрганиш.

2. Хом мой деб нимага айтилишини ўрганиш.

3. Умумий мой миқдорини аниқлашни ўрганиш.

Ўсимликларнинг барча қисмларида кўп тарқалган, сувда эримайдиган аммо органик эритувчиларда – эфир, ацетон, бензол, хлороформ ва бошқаларда яхши эрийдиган табиий органик бирикмалар липидлар деб аталади. Липидлар юқори молекулали ёғ кислоталар ҳосиласи бўлиб, иккита асосий гурупадан ташкил топган. Биринчи гурупага ёғ кислоталар, глицерин ва бошқа моддалардан иборат ҳақиқий липидлар, иккинчи гурупага эрувчанлигига кўра ёғларга ўхшаш бошқа бирикмалар – липоидлар киради.

Ўсимликлар таркибидаги ёғ ва ёғсимон моддалар запас ҳолда тўпланиши ёки хужайранинг структура компонентларини ташкил қилиниши мумкин. Запас ҳолдаги ва протоплазматик ёғлар турли хил биокимёвий вазифаларни бажаради.

Липидлар кимёвий таркиби, тузилиши ва организмдаги функциясига қараб куйидаги гурупаларга: ёғлар, мумлар, фосфатидлар, гликолипидларга бўлинади.

Ёғлар ўсимликлар таркибида жуда кўп бўлиб, аксарият запас модда, сифатида учрайди. Ўсимлик ёғлари мойлар деб аталади. Мойлар ўсимликларнинг деярли ҳамма қисмида учрайди. Одатда, улар ўсимликларнинг вегетатив органларида мева ва уруғидагига нисбатан бир мунча бўлади. Масалан, мойлар ўсимликлар баргида илдизида улар курук моддасининг 2 % га яқинини ташкил этса мева ва уруғлар 50 % дан ҳам кўп бўлади.

Ёғлар юкори молекулали ёғ кислоталарнинг уч атомли спиртлар билан хосил қилган мураккаб эфирларидир. Шу сабабли бундай тузилган ёғлар триглицеридлар деб хам аталади.

Мойлар таркибида учрайдиган барча ёғ кислоталар тўйинган ва тўйинмаган ёғ кислоталардан иборат. Ўсимлик мойларида энг кўп учрайдиган ва жуда кўп тарқалган тўйинмаган ёғ кислоталарга олеинат, линолат, ва линоленат кислоталар киради. Ўсимлик мойларининг дунё бўйича запасининг 60 % дан кўпроғини олеинат, линолат кислоталар ташкил этиши аниқланган. Ўсимлик мойларида кўп учрайдиган тўйинган ёғ кислоталарга пальмитат ва лауринат кислоталар киради. Шу билан бирга ўсимликлар таркибида қисман бўлсада, эркин ҳолда учрайдиган ацетат, пропионат, мой кислота, валерианат ва бошқа кислоталар хам бўлади.

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 хом ёғ деб юритилади. Чунки хом ёғ таркибида ҳақиқий липидлао билан бирга фосфатидлар, стероллар, мумлар ва бошқалар учрайди.

### Муайян мақсадга қаратилган масалалар

#### Топшириқ 1

1. Амалий ишларни бажариш учун тегишли адабиётларни билиш зарур.
2. Хом мойларни аниқлашни билиш.
3. Умумий мой миқдорини аниқлашни билиш.

#### Топшириқ 2

Мақсадга эришиш учун сизга қуйидаги амалий ишларни бажариш ва билиш керак бўлади.

1. Ўсимликлар танасидаги умумий мойларни аниқлаш.
2. Ўсимлик органларида хом мойларни аниқлаш.

### Топширик 3

Ҳосил қилган натижаларни тўғри баҳолаш учун сизга бошқа  
фанлардан олган билимларингиз зарур бўлади.

1. Липидларнинг ўсимликлар танасидаги аҳамияти.
2. Липидларнинг таснифи.
3. Липидларнинг парчаланиши, қайси ўсимликларда  
липидларнинг учраши.

### Олинган билим натижасини текшириш учун саволлар

1. Липидлар қандай моддалар?
2. Липидлар қандай гуруҳларга бўлинади?
3. Липидларнинг биологик вазифалари.
4. Ўсимлик мойларининг сифати нимага боғлиқ бўлади,  
қандай аниқланади?
5. Тўйинган ва тўйинмаган ёғ кислоталар. Уларнинг  
фарқи ва аҳамияти.
6. Мойларнинг умумий миқдори қандай аниқланади?
7. Мойларнинг ўсимликлар танасидаги роли.

### Аниқлашнинг асосий босқичлари

1. Доривор ўсимликлар таркибидаги умумий мой  
миқдорини аниқлаш.
2. Доривор ўсимликлар таркибидаги мой миқдорини  
Сокслет усулида аниқлаш.

### Доривор ўсимликлар таркибидаги умумий мой миқдорини аниқлаш

Ажратиб олинган мойларнинг физик-кимёвий  
хусусиятларини ўрганиш талаб қилинмаса ва фақат мойнинг  
умумий миқдорини аниқлаш зарурияти бўлганда, материалнинг

экстракциягача ва экстракция қилингандан кейинги массаси фарқига қараб мой миқдори аниқланади.

### Иш тартиби:

1,0-1,5 г доривор ўсимликлар материали (шафтоли данаги, мағзи, бодом, ёнғоқ мағзи) тарозида тортиб олинади ва чинни ҳовончада яхшилаб эзилади. Сўнгра тарозида тортиб массаси аниқ бўлган пакетларга солинади. Пакетлар рақамланган бўлиши керак. Ўсимлик материали пакет билан бирга тортилади, ундан курук пакет массасини айириб, намуна массаси аниқланади. Олинган ўсимлик 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 3,0-3,6 г олинади. Материал солинган пакет янада каттароқ пакетга солинади ва у ҳажми 250 мл ли қолбага туширилади. Қолбага 50-60 мл хлороформ ва 50-60 мл метанол қуйилади. Қолба герметик беркитилади ва кейинги дарсда мойсизлантирилган материалли пакет қолбадан олинади ва хлороформ билан 2-3 марта ювилади, сўнгра мўрили шкафда қуритилади. Кейин пакетлар 1-1,5 соат давомида термостатда 100-105°C да қуритилади. Қуритилган пакетлар бюксга солинади, эксикаторда 30-45 дақиқа 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 курук моддага нисбатан аниқлаш учун текшириლაётган материалдаги сув миқдорини ҳам аниқлаш керак. Тажриба натижаси қуйидаги жадвалга ёзилади.

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

$$X = (a-b) 100 / B$$

X-теширилаётган материал таркибидаги мой миқдори, % хисобида.

a-материалнинг экстракциясигача бўлган массаси, г.

b-материалнинг экстракциядан кейинги массаси, г.

B-олинган намуна массаси, г.

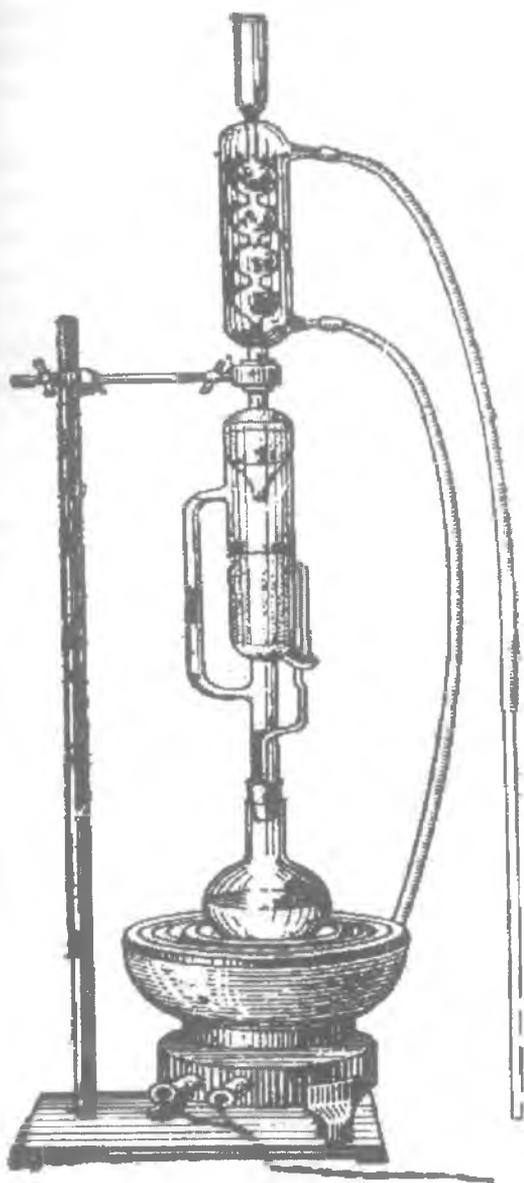
**Реактивлар:** доривор ўсимлик материали, шафтоли данаги мағзи, хлороформ, метанол.

### Доривор ўсимликлар таркибидаги мой миқдорини Сокслет усулида аниқлаш

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

#### Иш тартиби:

Ўсимлик уруғлари, масалан кунгабокар, канакунжут қобиғидан тозаланиб, мағзи бир хил оғирликкача қуритилади ва ҳовончада майдаланиб 5-10 г ли қоғоз пакетчаларга солинади. Пакет осонлик билан Сокслет аппаратида сиғадиган бўлиши керак. Сўнгра пакет 2 соат давомида 90-100°C да қуритилади, совитилгач эксикаторга (г) солинади. Сокслет аппарати эритувчи қуйилган колба (3), эксикатор (г) ва сув совитгич (1) дан иборат.



Расм – 2. Сокслет апарати.

Олдиндан тортилган ва массаси маълум бўлган колбага ҳажмининг  $\frac{2}{3}$ - $\frac{3}{4}$  қисмига тенг эфир қуйилади ва эксикатор билан уланади. Совитгич улангач сув ҳаммоми ишга туширилади.

Сув ҳаммоми ҳарорати шундай бўлиши керакки, бунда ҳар бир соатда эфир ўсимлик материални 8-10 марта тулик равишда юиб бўлиши керак. Одатда сув ҳаммомининг ҳарорати 40-45°C атропофида бўлади. Мойнинг тулик ажралиши материалдаги мой миқдорига боғлиқ бўлиб, 6-10 соат давом этади. Мой тулик ажралгандан сўнг колба аппаратдан ажратиб олинади, эфир хайдалади ва колба куритилгач, шкафта 90-100°C да куритилади. Кейин яна колба тортилиб, мой миқдори аниқланади.

$$X = (A-B) \cdot 100 B$$

X-хом мой миқдори, % ҳисобида.

A-мойли колба массаси, г.

B-қурук колба массаси, г.

B-ўсимлик материалнинг массаси, г.

**Реактивлар:** доривор ўсимлик материали ва эфир.

### **Зигир ёғнинг кислота сонини аниқлаш**

1 г таркибидаги эркин ёғ кислоталарни нейтраллаш учун сарфланган калий гидроксиднинг миллиграмм миқдори билан ифодаланган сон ёғларнинг кислота сони деб аталади. Бу сон ёғларнинг сифатини белгиловчи муҳим кўрсаткичлардан бири ҳисобланади.

#### **Иш тартиби:**

2 та колба олиб, биринчисига 3 – 5 г зигир ёғ ва 15 – 20 мл спирт – эфир аралашмаси иккинчисига эса фақат 15 – 20 мл спирт – эфир аралашмаси солинади. Колбалар яхшилаб чайқитилиб, 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:

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

X – кислота сони;

T – тузатма;

a – тажриба учун сарфланган ишқор миқдори;

b – контрол учун сарфланган калий гипосульфит;

N – олинган ёғ миқдори.

Реактивлар: тозаланган зиғир ёғи, спиртли – эритма, фенолфталеин эритмаси.

### Доривор зиғир ёғнинг йод сонини аниқлаш

100 г ёғни бириктириб олган ёғнинг грамм миқдори билан ифодаланадиган сони ёғларнинг йодли сони деб аталади. Бу сон ёғлар таркибига кирадиган ёғ кислоталарнинг тўйинмаслик даражасини ифодалайди. Йодли сон қанча катта бўлса, ёғ шунча суяқ бўлади, одатда суяқ ёғларни озиқ сифатида истеъмол қилиб бўлмайди.

#### Иш тартиби

Яхшилаб куритилган тоза колбага (250 мл) 0,1 – 0,2 г (2 – 5 томчи) тозаланган зиғир ёғидан солинади. Ёғ колба деворларига тегмаслиги керак. Колбага 25 мл спирт қўйилади. Агар ёғ спиртда яхши эримаса бир оз қиздирилади. Иккинчи колбага фақат 25 мл спирт эритмаси солинади. Ҳар иккала колбага 12, 5 мл дан 0,2 N йоднинг спиртли эритмаси солиниб яхшилаб аралаштирилади ва 100 мл сув қўшилиб яна бир марта аралаштирилади. 5 – 10 минут ўтгандан сўнг 0,1 N гипосульфит ёрдамида оч сариқ ранг ҳосил

булгунча титрланади. Тажриба ва контрол учун сарфланган 0,1 N калий гипосульфит миқдорининг фарқи олинган мойнинг йодли сонининг кўрсаткичи ҳисобланади. Йодли сон қуйидаги формула ёрдамида аниқланади:

$$\text{Йод сони} = \frac{(a - b) T \cdot 0,01269 \cdot 100}{H}$$

a – тажриба учун сарфланган калий гипосульфит;

b – контрол учун сарфланган калий гипосульфит;

T – тузатма;

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

H – ёғ миқдори, г ҳисобида.

Реактивлар: зиғир ёғи, этил спиртининг 96 % ли эритмаси. Йоднинг спиртли эритмаси, гипосульфитнинг 0,1N эритмаси, крахмалнинг 2 % ли эритмаси.

### 8 - машғулотга тайёрланиш учун саволлар

1. Нуклеин кислоталар, тузилиши, хоссалари ва уларнинг ген инженериясидаги аҳамияти.
2. Генетик ахборотни кўчириш турлари, аҳамияти.
3. Прокариотларда ва эукариотларда оксид синтезини бошқариш.

## № 8 лаборатория машғулоти

### Нуклеин кислоталар, тузилиши, хоссалари Генетик ахборотларни кўчириш турлари

1. Нуклеин кислоталар, тузилиши, хоссаларини ўрганиш.
2. Геномнинг ташкил этилишини ўрганиш.
3. Хромосомалардаги ўзгаришлар, мутация, рекомбинацияни ўрганиш.
4. Ген инженериясини ўрганиш.
5. Нуклеопротеидларни ажратиб олиш ва уларни гидролизлашни ўрганиш.

Нуклеин кислоталар юқори молекулали бирикмалар бўлиб, жуда катта молекуляр оғирликка эга. Тирик организмлардаги ирсий белгиларнинг наслдан – наслга ўтиши, оқсиллар биосинтези каби ҳаётини муҳим процесслар нуклеин кислоталарнинг фаолияти билан боғлиқ. Шунинг учун ҳам кейинги йилларда нуклеин кислоталарни ўрганишга алоҳида эътибор берилмоқда.

Нуклеин кислоталарнинг 1869 йили швейцариялик олим Фридрих Мишер аниқлаган. Бу кислоталар биринчи марта хужайра ядросидан ажратиб олинганлиги сабабли нуклеин (нуклео – ядро) деб аталади.

Нуклеин кислоталар гидролиз қилинганда пурин ва пиримидин азотли асосларга, пентоза ва фосфор кислотагача парчаланади. Нуклеин кислоталар таркибидаги углеводлар хусусиятига кўра дезоксирибонуклеин (ДНК) ва рибонуклеин (РНК) кислоталарга бўлинади.

Нуклеин кислоталар тез ўсаётган ва ривожланаётган органларда кўп бўлади. Масалан, ёш ўсимликлар баргида ва поясининг ўсиш нуқтасида нуклеин кислоталар кўп учрайди. Шунингдек доннинг муртагида, гулнинг чангдониди илдиз учларида ҳам нуклеин кислоталар кўп бўлади.

Нуклеин кислоталар ўта кислоталилик хусусиятга эга, кўп қисми оқсиллар билан бириккан ҳолда бўлади. Бу кислоталарни

ажратиб олишда аввало, улар билан оксил орасидаги боғларни узиш керак. Бунинг учун бир қанча усуллардан фойдаланилади. Ҳозир нуклеин кислоталарни фенол ёрдамида ажратиб олиш усули кенг қўлланилмоқда. Бу усул оксилларни денатурацияга учратувчи моддалар иштирокида ( масалан, додецилсульфат натрий юқори температура таъсирида ) олиб борилади. Бунда денатурацияга учраган оксил фенол қисмга, нуклеин кислота эса сувли қисмга ўтади. Кейин нуклеин кислота этил спирт ёрдамида чўкмага туширилади.



Нуклеин кислоталар ўзига хос ферментлар, кислоталар, ишқорлар ва бошқа кимёвий бирикмалар таъсирида оддий структура бирликларига парчаланadi. Бу структура бирликларига азот асосларидан пурин ва пиримидин асослар, углевод

компонентларидан рибоза ва дезоксирибоза, ҳамда фосфат кислота киради.

Ҳар бир тирик организмда нуклеин кислоталарнинг ҳар икки тури – рибонуклеин кислота (РНК) ва дезоксирибонуклеин кислота (ДНК) мавжуд. Фақат вируслар буларнинг бир турини, ё ДНК, ёки РНК ни тутади. Нуклеин кислоталар оқсиллар билан бирга ҳаётнинг моддий асосини ташкил қилади. Улар бир – бири билан ҳар томонлама узвий боғлиқ, аммо уларнинг хужайрадаги ўрни ва функцияси тубдан фарқ қилади: оқсиллар асосан қурилиш ва хужайранинг ички органлари материали, нуклеин кислота эса информацион материал, у организмнинг тузилиши, ўсиши, ривожланишга тегишли ахборотнинг сақланиши, такрорланиши, алмашинуви ва наслдан – наслга ўтишини таъминлайди.

Узоқ аждодлардан миллиард йиллар давомида узилмай келган ахборот биополимерлар бу икки турининг ўзаро келишиб ишлаши жараёнида амалга ошади. Ҳаётнинг маъноси ҳам наслни сақлаш, ўз – ўзини такрорлаш бўлса, бу жараён нуклеин кислотада нуклеотидларнинг бирин – кетин келиши тартиби шаклида кимёвий тилда ёзилган ахборотни оқсил молекуласида аминокислоталар тартибида ўтказишда амалга оширилади. Демак, нуклеин кислотадаги рамзий буйруқ организмнинг реал оқсилларида ифодаланади. Оқсил эса ҳар қандай хужайранинг морфологиясини ҳам, функциясини ҳам белгилайди.

Демак, нуклеин кислоталарнинг биологик роли чексиз буюқдир. Барча нуклеин кислоталар юксак молекуляр бирикмадир. Улар энг кичик вакилларининг молекуляр массаси 25 минг атрофида бўлса, энг катталариники 1 млрд га етади. ДНК молекулалари хужайрадаги энг катта молекуляр қаторига киради.

РНК ва ДНК нинг биохимиясини ўрганишда кейинги йилларда ажойиб муваффақиятларга эришилган, бу маълумотлар асосида организмлар генини ўзгартириш, тузатиш, янги генлар комплекси, яъни сунъий йўл билан янги организмлар яратиш даври ҳам келади.

## Муайян мақсадга қаратилган масалалар

### Топшириқ 1

1. Амалий ишларни бажариш учун тегишли адабиётларни ўқиш зарур.
2. Нуклеопроteidларни ажратиб олишни билиш.
3. Оқсилларни аниқлашни билиш.
4. Пурин асосларини аниқлашни билиш
5. Рибоза ва дезоксирибозани аниқлашни билиш.
6. Фосфат кислотасини аниқлашни билиш.

### Топшириқ 2

Мақсадга эришиш учун сизга қуйидаги амалий ишларни бажариш ва билиш керак бўлади.

1. Нуклеопроteidларни ажратиб олишни билиш.
2. Нуклеопроteidларнинг таркибий қисмларини аниқлаш.

### Топшириқ 3

1. Ҳосил қилган натижаларни тўғри баҳолаш учун сизга бошқа фанлардан олган билимларингиз зарур бўлади.

2. Нуклеин кислоталарнинг тузилиши, хоссалари, таркибий қисмлари.
3. ДНК ва РНК нинг тузилиш даражалари.
4. Репликация механизми.
5. Генетик ахборотни кўчириш турлари.
6. Транскрипция механизми.
7. Трансляция механизми.
8. Хромосома ва хроматинларнинг тузилиши, вазибалари.
9. Генетик код, уларнинг хоссалари.
10. Ген активлигининг регуляцияси.

## Олинган билим натижасини текшириш учун саволлар

1. Нуклеин кислоталарнинг тузилиши ва физик-кимёвий хоссалари.
2. Нуклеотидлар ва нуклеозидлар, уларнинг тузилиши ва хоссалари.
3. Аденозинтрифосфатнинг хужайра энергетикасидаги роли.
4. ДНК репликацияси ва транскрипцияси.
5. ДНК биосинтези.
6. Полирибосомалар ва РНК.
7. Генотип. Хромосомалар. Вируслар. Фаглар.
8. Эукариот хужайра геномининг тузилиши.
9. Ген фаоллигининг бошқарилуви.
10. Геном касалликлари.
11. Ген инженерлиги.

## Аниқлашнинг асосий босқичлари

1. Нуклеопроteidларни ажратиб олиш.
2. Нуклеопроteidларни гидролизлаш.
3. Нуклеопроteidларнинг таркибий қисмларини аниқлаш.
4. ДНК ва РНК нинг миқдорини аниқлаш.
5. Нуклеопроteidларни ажратиб олиш ва уларни гидролизлаш.

Нуклеопроteidларни ажратиб олиш уларнинг ишкорларда эришига ва кучсиз кислоталар таъсирида чуқишига асосланган. Нуклеопроteidларни ўрганиш учун кўпинча ачитки замбуруғларидан фойдаланилади, уларни кислотали гидролиз қилинса, улар полипептидлар, пурин ва пиримидин асослари, рибоза, дезоксирибоза ва фосфат кислотасига парчаланadi. Натижада ҳосил бўлган маҳсулотлар махсус реакциялар ёрдамида аниқланади.

### **Иш тартиби:**

2 г ачитки замбуруғини чинни ҳовончага солиб, 3-4 томчи эфир ва 2-4 мл дистилланган сув қўшиб эзилади. Яхши эзилиши учун озроқ шиша қуқунларидан қўшиш мумкин. Ачитки бир хил масса ҳосил бўлгунча 1-2 дақиқа давомида эзилади, натрий гидроксиднинг 0,4 % ли эритмасидан 8 мл қўшиб, 10-15 дақиқа давомида эзилади.

Сўнгра ҳовончадаги аралашма филтрдан ўтказилиб, филтратга 2-3 мл сирка кислотаси қўшилади. Бунда нуклеопротеидлар чўкмага тушади. Чўкмани кенг пробиркага солиб, устига 6-10 мл сульфат кислотанинг 10% ли эритмасидан қўшилади. Совитгич 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 гидролизатдан 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 дақиқадан сўнг чўкма ҳосил бўлади.

### **Рибоза ва дезоксирибозани аниқлаш**

Пробиркага 1 мл гидролизат, 1 мл 20% ли натрий гидроксид ва 5-6 томчи мис сульфатнинг 2% ли эритмасидан қўшамиз, қизил чўкма ҳосил бўлади.

### **Фосфор кислотасини аниқлаш**

Пробиркага гидролизатдан 1 мл олиб, тенг ҳажмда молибден реактивидан қўшиб қиздирамиз. Сарик рангнинг ҳосил бўлиши фосфат кислота борлигини кўрсатади.

**Реактивлар:** Ачитқи забуруғлари, эфир, натрий гидроксиднинг 0,4 % ли эритмаси, сирка кислотасининг 5% ли эритмаси, сульфат кислотанинг 5% ли эритмаси, натрий гидроксиднинг 20 % ли эритмаси, мис сульфатнинг 2% ли эритмаси, аммоний молибдат тузининг нитрат кислотадаги эритмаси.

### **ДНК миқдорини колориметрик усул билан аниқлаш**

ДНК таркибидаги дезоксирибоза дифениламин билан кўк ранг ҳосил қилади. Рангнинг зичлиги ДНК миқдорига тўғри пропорционал бўлгани сабабли фотозлектроколориметрда ўлчанади.

### **Иш тартиби:**

Бир текширув ва бир назорат пробиркаси тайёрланади. Биринчисига ДНК нинг сувли эритмасидан 1 мл, иккинчисига дистилланган сув солинади. Ҳар иккала пробиркага 2 мл дан дифениламин реактиви солиб, 10 дақиқа сув ҳаммомида ушлаб турилади. Бир оздан сўнг пробиркалардаги суюқликлар совитилади ва ФЭК нинг қизил нур фильтрида назорат суюқликлиги қаршисида кўрилади. Текширилувчи ДНК нинг

оптик зичлигини топгач, калибрлаш чизиғидан унинг миқдори аниқланади.

### **Ўлчов эгри чизиғини тайёрлаш**

3 та пробиркага концентрацияси турлича бўлган 50-100-200 мкг/мл ДНК эритмасидан 1 мл ва дифениламин реактивидан 2 мл солиб, 10 дақиқа қайнаб турган сув ҳаммомида қиздирилади. Эритма совитилгач, юқоридагидек фотоэлектроколориметрланади. Топилган оптик зичлик ва ДНК миқдоридан калибрлаш чизиғи тузилади. Абсцисса ўқиға ДНК миқдори, ордината ўқиға оптик зичликлар келтирилади.

### **Колориметрик усул билан РНК миқдорини аниқлаш**

РНК таркибидаги пентоза ордин реактиви билан рангли бирикма ҳосил қилади. Рангнинг оптик зичлиги колориметрда ўлчанади ва калибрлаш чизиғидан РНК миқдори топилади.

#### **Иш тартиби:**

Текширув тажриба пробиркасиға 1 мл РНК эритмаси ва 2 мл ордин реактиви солинади. Назорат пробиркасиға эса 1 мл дистилланган сув ва 2 мл ордин реактиви солинади. Иккала пробирка сув ҳаммомида 20 дақиқа тутиб турилади. Бир оздан сўнг эритмалар совитилиб, ФЭК нинг қизил нур фильтрида оптик зичлик топилади. Назорат пробиркаси қаршисида РНК нинг миқдори калибрлаш чизиғидан аниқланади.

Калибрлаш чизиғини тайёрлаш: 3 та пробиркаға 1 мл дан 50-100-200 мкг/мл РНК эритмаси ва 2 мл дан ордин реактиви солиниб, юқоридагидек сув ҳаммомида қиздирилади, 20 дақиқа ўтгач эритмалар совитилиб, ФЭК да уларнинг оптик зичлиги аниқланади. Абсцисса ўқиға РНК нинг миқдори, ордината ўқиға оптик зичлик келтирилиб, ўлчов эгри чизиғи тузилади.

**Реактивлар:** Орцин реактиви, РНКнинг сувли эритмаси, дифенил-амин реактиви, ДНК сувли эритмаси.

### 9 - машғулотга тайёрланиш учун саволлар

1. Углеводларнинг биологик аҳамияти.
2. **У**симликлар биотехнологиясида углеводларнинг вазифаси.
3. Углеводларнинг таснифи, аҳамияти.
4. Липидларнинг биологик аҳамияти.
5. Липидларнинг классификацияси, **у**симликларда жойланиши.
6. Нуклеин кислоталарнинг тузилиши, аҳамияти, хоссаси.
7. Генетик ахборотни кучириш турлари, механизми.
8. Хромосома, хроматин, полирибосомалар.
9. Геном касалликлари.
10. Ген инженерлиги.

## № 9 лаборатория машғулот

**Якуний машғулот, генетик ахборотни кўчириш турлари, нуклеин кислоталарнинг тузилиши, уларнинг алмашинуви  
Липидларнинг тузилиши, уларнинг алмашинуви**

### **Машғулотнинг мақсади:**

Берилган машғулот якуний бўлгани учун кўзланган мақсадларни назарда тутган ҳолда талабаларнинг мустақил ўрганиш жараёнида олган билимларини умумлаштириш зарур.

### **Билим даражасини текшириш учун саволлар**

1. Нуклеин кислоталарнинг тузилиши ва физик-кимёвий хоссалари.
2. Нуклеотидлар ва нуклеозидлар.
3. АТФ - ҳужайра энергетикасидаги роли.
4. ДНК ва РНК ларнинг структуравий тузилиш даражалари.
5. ДНК ларнинг репликацияси ва транскрипцияси.
6. ДНК биосинтези.
7. Генетик код, уларнинг хоссалари.
8. Генотип. Ген. Хромосомалар. Вируслар, Фаглар.
9. Геном касалликлари, ген инженерлиги.
10. Углеводларнинг алмашинуви, уларнинг парчаланиши.
11. Углеводларнинг тузилиши, аҳамияти.
12. Углеводларнинг биологик вазифалари.
13. Липидларнинг алмашинуви, уларнинг парчаланиши.
14. Липидларнинг классификацияси, тузилиши, вазифалари.
15. Липидларнинг биологик аҳамияти.

10 - машғулотга тайёрланиш  
учун саволлар

1. Витаминлар, уларнинг ўсимлик организмидаги вазибалари.
2. Доривор ўсимликлардаги аскорбин кислота миқдорини аниқлаш.
3. Ўсимликларда нитратларни аниқлаш.
4. Ўсимликларнинг ҳосилдорлиги ва маҳсулот сифатини оширишда нитратларнинг аҳамияти.

**Витаминлар ва бошқа моддаларни аниқлаш  
Уларнинг ўсимлик организмидаги вазифалари**

**Машғулотнинг мақсади**

1. Витаминларнинг тузилиши, хоссасини ўрганиш.
2. Доривор ўсимликлардаги аскорбин кислота миқдорини ўрганиш.
3. Ўсимликларнинг ҳосилдорлиги ва маҳсулот сифатини ўрганиш.
4. Ўсимликлардаги нитратларни аниқлашни ўрганиш.
5. Биологик объектларда фосфорни аниқлашни ўрганиш.

Тирик организмларнинг ҳаёт фаолияти учун зарур бўлган ва одатда, ўсимликларда ҳосил бўладиган турли хил кимёвий тузилган кичик молекулали органик бирикмалар витаминлар деб аталади. Витаминлар озик – овқат маҳсулотларининг таркибий қисми ҳисобланади, лекин асосий озик моддаларга – оксиллар, углеводлар, ёғларга нисбатан ҳаддан ташқари кам миқдорда талаб килинади. Озик моддалар таркибида витаминлар бўлмаслиги моддалар алмашинуви процессининг бузилишга сабаб бўлади, бу эса ўз навбатида, организмни оғир касалликларга дучор қилади ва ҳатто ўлимга олиб келади.

Проф. К.Е. Овчаров аниқлашича, витаминлар ўсимликлар ҳаётида иккинчи даражали маҳсулотлар эмас, балки уларнинг ўсиши ва ривожланишда актив иштирок 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 гурупага: сувда эрийдиган ва ёғда эрийдиган витаминларга бўлинади.

## Муайян мақсадларга қаратилган масалалар

### Топшириқ 1

1. Амалий ишларни бажариш учун тегишли адабиётларни ўқиш зарур.

2. Витаминлар қандай тузилганлигини билиш.

3. Ўсимликлар танасида витаминларнинг аҳамиятини билиш.

### Топшириқ 2

1. Ўсимликларнинг ҳосилдорлиги ва маҳсулот сифатини аниқлашни ўрганиш.

2. Ўсимликларда нитратларнинг аҳамиятини, вазифаларини билиш.

### Топшириқ 3

Мақсадга эришиш учун сизга қуйидаги амалий ишларни бажариш ва билиш керак бўлади.

1. Витаминларнинг миқдорини аниқлаш.

2. Ўсимликларда нитратларни аниқлаш.

3. Ўсимликларда фосфорни аниқлаш.

### Топшириқ 4

Ҳосил қилган натижаларни тўғри баҳолаш учун сизга бошқа фанлардан олган билимларингиз зарур бўлади.

1. Сувда эрийдиган витаминлар, уларнинг биологик вазифалари.

2. Ёғда эрийдиган витаминлар, уларнинг биологик вазифалари.

3. Ўсимликларнинг молекуляр азотни ўзлаштириши.

4. Ўсимликларнинг нитратларни ўзлаштириши.

5. Аммиакни ўзлаштириш реакциялари.

### Олинган билим натижасини текшириш учун саволлар

1. Витаминларнинг биологик роли.
2. Аскорбин кислотанинг тузилиши, ўсимликлар таркибидаги вазифаси.
3. Қайси ўсимликларда аскорбин кислота кўпроқ учрайди?
4. Ўсимликлар учун нитратларнинг роли.
5. Ўсимликлар учун фосфорнинг роли.

### Аниқлашнинг асосий босқичлари

1. Витамин С миқдорини аниқлаш.
2. Доривор ўсимликларда нитратларнинг миқдорини аниқлаш.
3. Ўсимликларда нитратлар миқдорини аниқлаш.

### Витамин С миқдорини аниқлаш

Витамин С (аскорбин кислота) доривор ўсимликлар таркибида кўп миқдорда учрайди. Айниқса ҳўл меваларда (смородина, апельсин, лимон, наъматак) ва сабзавотларда (булғор қалампери, гулқарам, укроп) кўп бўлади. Аскорбин кислотани аниқлаш унинг қайтарувчанлик хусусиятига асосланган.

#### 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 қолбага қуйилади. Чинни ҳовонча оксалат кислотаси ёрдамида ювилади ва у ҳам қолбага қуйилади. Кейин оксалат кислота ёрдамида қолбадаги суюқлик чекланган ҳажмгача чайқатилиб, филтрдан ўтказилади.

Филтрдан ўтказилган суюқликда аскорбин кислота миқдори аниқланади. Иккита колба олиб, биринчисига 5-10 мл филтрат, иккинчисига 5-10 мл хлорид кислота ва оксалат кислота (1:5) аралашмасидан солинади ва 0,001 н 2,6-дихлорфенолиндофенол эритмаси билан титрланади. Аскорбин кислота миқдори куйидагича аниқланади.:

$$X = (a-b) T 0,088 * 100 / C$$

Бу ерда:

X - ўсимлик материалидаги аскорбин кислота миқдори, % ҳисобида.

a - тажриба учун сарфланган индикатор миқдори.

T - тузатма, 0,088 - 1 мл 0,001н индикатор эритмасига тенг бўлган аскорбин кислота миқдори

C - текширишга олинган ўсимлик миқдори, г ҳисобида.

b - назорат намуна учун сарфланган индикатор миқдори.

**Реактивлар:** ўсимлик материали, хлорид кислотанинг 1 % ли эритмаси, оксалат кислотанинг 1 % ли эритмаси 2,6-дихлорфенолиндофенолнинг 0,001 н эритмаси.

### Нитратларни салицилат кислота ёрдамида аниқлаш

Ушбу реакция нитратларнинг нейтрал ёки кучсиз ишқорий шароитда салицилат кислотаси билан реакцияга киришиб сариқ ёки сариқ - кўкимтир нитрофеноллар ҳосил қилишига асосланган. Ранг интенсивлиги текшириладиган материал таркибидаги нитратлар миқдорига пропорционалдир.

**Иш тартиби:**

Янги узилган ўсимлик материалдан 0,5 г олиб 10-15 мл дистилланган сув билан чинни ҳовончада бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади. Нитратредуктаза ферментининг таъсирини

Йўқотиш учун ҳовончага 3-5 мл 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 30-40 мл дан ошмаслиги керак. Колбадаги экстракт 30 минут давомда механик аппаратда чайқатилади. Сўнгра қоғоз фильтр орқали ҳажми 50 мл ли ўлчов колбага ўтказилади ва дистилланган сув билан ўлчов чизигигача тўлдирилади. Ҳажми 50-100 мл ли колбага 0,2 мл филтратдан олинади ва 0,8 мл салицилат реактивидан қўшилади. Аралашма 20 минут қолдирилади. Сўнгра унинг устига аста-секин колба девори бўйлаб 19,0 мл 2 моль NaOH қўшилади ва аралаштирилади. Колба совигач, ФЭК да ранг интенсивлиги ўлчанади. Нитратларнинг миқдори калибрлаш чизиғи бўйича топилади. Бунинг учун калий нитрат тузидан стандарт эритма тайёрланади.  $KNO_3$  дан 0,1631 г олиб ҳажми 1 литрли колбада дистилланган сув билан эритилади ва ўлчов чизигигача тўлдирилади. Бу эритманинг 1 мл да 10 мкг нитрат бўлади. Текшириладиган ўсимлик таркибидаги нитратларнинг миқдори қуйидаги формула билан аниқланади:

$$X = V 1000 / H b$$

X - текшириладиган материалдаги нитратлар миқдори, мкг.

a - текшириш учун олинган эритмалардаги нитратлар миқдори, калибрлаш

чизигига қараб топилади, мкг.

V - тартиб олинган намуна эритманинг ҳажми, мл.

H - намуна массаси, г.

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

**Реактивлар:** 5 % ли салицилат кислотаси, натрий ишқорининг 2 моль эритмаси, сульфат кислотанинг 10 % ли эритмаси, стандарт эритма.

## Фосфорнинг миқдорини аниқлаш

Ўсимликлар таркибида турли-туман фосфорли бирикмалар 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 унинг танаси бўйлаб ҳаракат қиладиган асосий транспорт шакли ҳамдир. Шу билан бирга улар органик фосфатларни ҳосил қилувчи манба ҳам ҳисобланади.

Умумий фосфорни колориметрик усулда аниқлашда бир қатор бирикмалардан - эйкеноген, амидал, аскорбин кислота ва бошқалардан фойдаланиш мумкин.

### Иш тартиби:

Куруқ ўсимлик материалдан 50-200 мг тортиб олинади ва кичик ҳажмли Кьелдаль колбасида қуйдирилади. Бунинг учун колбага 2-3 мл концентрланган 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 100 мл ли ўлчов колбасига қуйилади ва дистилланган сув билан ўлчов чизигигача тўлдирилади. Аралашмадаги умумий фосфор колориметрик усулда аниқланади.

**Реактивлар:** ўсимлик материали, сульфат кислотасининг концентрланган эритмаси, водород пероксиди.

### Доривор ўсимликларда каротинни аниқлаш

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

#### Иш тартиби.

5 г ўсимлик материали (сабзи ёки тирноқгул ўсимлик барглари) майдаланиб чинни ҳавончада солинади ва ацетон ёрдамида бироз шиша кукуни билан эзилади, аралашма цилиндрга қўйилади ва унинг ҳажми ацетон ёрдамида 50 ёки 100 мл га етказилади.

Сўнг экстрактдан 1 мл олиб хроматографик қоғознинг пастки учидан 4 см қолдириб чўзинчоқ доғ сифатида шимдирилади ва қуритилади. Қоғоз юмалоқ қилиб ўралади ва юқори томонидан қисқич билан сиқиб қўйилади. Хроматографик қоғоз 2 – 3 см қалинликда эфир солинган цилиндр идишга туширилади. 20 – 30 минутда қоғоз олинади ва сариқ доғ бор жойи қайчи билан қирқиб бюксга солинади.

Каротин 1 мл дан эфир ёрдамида 3 – 4 марта (сарик ранг йўқотилгунча) ювилади. Кейин эфир эритмалари қўшилиб калориметр ёрдамида аниқланади.

Каротин миқдори қуйидаги формула ёрдамида аниқланади.

$$X = \frac{0,0235a \cdot v \cdot c \cdot V \cdot 100 \cdot M}{H \cdot v \cdot V_1} = 100 \text{ г}$$

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

V<sub>1</sub> – текширилаётган эритманинг калориметрдаги сони;

a – олинган ацетон шира ҳажми;

v – каротинни аниқлаш учун олинган ҳажми;

с – тайёр эфирли каротиннинг ҳажми  
Н – олинган ўсимлик материали ( г ҳисобида )  
Реактивлар: Ўсимлик материали, ацетон, эфир.

### Цистеин ( Р витамини ) ни аниқлаш

Р 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 қуқунлари ёрдамида спирт билан бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади. Масса рангсиз бўлгунча қадар спиртнинг оз – оз порцияси билан ювилади. Филтрат спирт ёрдамида 50 ёки 100 мл ҳажмга етказилади. Кейин аралашмадаги спирт Вюрц қолбасида ажратилади. Қолба тагидаги қолдиқ ( 3 – 5 мл ) чинни косагача қўйилади ва спирт сув ҳаммомида тўлиқ ҳайдалади. Кейин косагача 3 – 5 мл сув қуйиб 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 эҳтиёжлик билан пробирка девори бўйлаб 1 мл концентрланган сульфат кислота қўйилади. Икки суюқлик ўртасида сариқ рангли айлана ҳосил бўлади.

Реактивлар: лимон меваси, этил спиртнинг 80 % ли эритмаси, темир хлориднинг 1 % ли эритмаси, сульфат кислотанинг концентрланган эритмаси.

**Баъзи элементларнинг  
нисбий атом массалари**

Элемент	Химиявий белгиси	Нисбий атом массаси	Элемент	Химиявий белгиси	Нисбий атом массаси
Азот	N	14,0087	Молибден	Mo	95,94
Алюминий	Al	26,98154	Мишьяк	As	74,92
Барий	Ba	137,33	Натрий	Na	22,989
Бор	B	10,81	Никель	Ni	58,70
Бром	Br	79,904	Қалай	Sn	118,69
Висмут	Bi	208,9804	Платина	Pt	195,09
Водород	H	1,00794	Симоб	Hg	200,59
Вольфрам	W	183,85	Рубидий	Rb	85,4678
Темир	Fe	55,847	Кўрғошин	Pb	207,0
Олтин	Au	196,9695	Олтингугурт	S	32,064
Йод	I	126,9045	Кумуш	Ag	107,8682
Кадмий	Cd	112,41	Стронций	Sr	87,62
Калий	K	39,0983	Сурьма	Sb	121,75
Кальций	Ca	40,08	Углерод	C	12,011
Кислород	O	15,9994	Уран	U	238,03
Кобальт	Co	58,933	Фосфор	P	30,9737
Кремний	Si	28,0855	Фтор	F	18,998
Литий	Li	6,941	Хлор	Cl	35,453
Магний	Mg	24,305	Хром	Cr	51,996
Марганец	Mn	54,938	Цезий	Cs	132,905
Мис	Cu	63,546	Рух	Zn	65,38

Сирка кислота эритмаларининг зичлиги, фоизи ва  
моляр концентрациялари

20°C даги зичлиги, г/см <sup>3</sup>	CH <sub>3</sub> COOH концентра-цияси		20°C даги зичлиги, г/см <sup>3</sup>	CH <sub>3</sub> COOH концентра- цияси	
	фоиз	моль/л		фоиз	моль/л
1,000	1,20	0,200	1,050	40,2	7,03
1,005	4,64	0,777	1,055	46,09	8,24
1,010	8,14	1,37	1,060	53,4	9,43
1,015	11,7	1,98	1,065	61,4	10,9
1,020	15,4	2,61	1,070	77 – 79	13,7 –
1,025	19,2	3,27	1,065	91,2	14,1
1,030	23,1	3,96	1,060	95,4	16,2
1,035	27,2	4,68	1,055	98,0	16,8
1,040	31,6	5,46	1,050	99,9	17,2
1,045	36,2	6,30			17,5

**Перхлорат кислота эритмаларининг зичлиги  
ва концентрацияси**

20°С даги зичлиги, г/см <sup>3</sup>	НСlO <sub>4</sub> концентрацияси		20°С даги зичлиги, г/см <sup>3</sup>	НСlO <sub>4</sub> концентрацияси	
	фоиз	моль/л		фоиз	моль/л
1,005	1,00	0,1004	1,350	44,81	6,021
1,025	4,43	0,4520	1,375	47,05	6,439
1,050	8,48	0,8863	1,400	49,23	6,860
1,075	12,33	1,319	1,425	51,31	7,278
1,100	16,0	1,752	1,450	53,27	7,689
1,125	19,57	2,19	1,475	55,17	8,100
1,150	22,99	2,632	1,500	57,06	8,519
1,175	26,20	3,064	1,525	58,91	8,942
1,200	29,26	3,495	1,550	60,78	9,377
1,225	32,18	3,924	1,575	62,63	9,819
1,250	34,95	4,349	1,600	64,50	10,27
1,275	37,60	4,772	1,625	66,39	10,74
1,300	40,10	5,189	1,650	68,26	11,21
1,325	42,49	5,604	1,675	70,15	11,70

## Буфер аралашмалар

1. Фосфат – цитрат буфер аралашмасы куйидаги иккита эритмадан тайёрланади: 21.018 г лимон кислотанинг моногидратидан тайёрланган 0,1 М эритмасы ва 35.598 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  дан тайёрланган 0,2 М натрий гидрофосфат эритмасы.

Иккала эритма турли нисбатларда аралаштирилиб, pH катталиги турлича булган эритмалар олинади.

Лимон кислота, (мл)	Натрий гидрофосфат, (мл)	pH	Лимон кислота, (мл)	Натрий гидрофосфат, (мл)	pH	Лимон кислота, (мл)	Натрий гидрофосфат, (мл)	pH
19,60	0,40	2,2	11,72	8,28	4,2	6,78	13,22	6,2
18,76	1,24	2,4	11,18	8,82	4,4	6,15	13,85	6,4
17,82	2,18	2,6	10,65	9,35	4,6	5,45	14,55	6,6
16,83	3,17	2,8	10,14	9,86	4,8	4,55	15,45	6,8
15,89	4,11	3,0	9,70	10,30	5,0	3,63	16,47	7,0
15,06	4,94	3,2	9,28	10,72	5,2	2,61	17,39	7,2
14,30	5,70	3,4	8,85	11,15	5,4	1,83	18,17	7,4
13,56	6,44	3,6	8,40	11,60	5,6	1,27	18,73	7,6
12,90	7,10	3,8	7,91	12,09	5,8	0,85	19,15	7,8
12,26	7,71	4,0	7,37	12,63	6,0	0,55	19,45	8,0

2. Фосфат буфер аралашмаси куйидаги икки эритмадан тайёрланади: 1/15 М натрий гидрофосфат (11.876 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ва 1/15 М калий дигидрофосфат (9.078 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). Иккала эритмаларнинг куйидаги ҳажмий нисбатларда аралаштириб, рН катталиги турлича бўлган эритмалар олинади.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (мл ҳисобида)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (мл ҳисобида)	рН	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (мл ҳисобида)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (мл ҳисобида)	рН
0,00	10,00	4,49	6,00	4,00	6,98
0,10	9,90	4,94	7,00	3,00	7,17
0,25	9,75	5,29	8,00	2,00	7,38
0,50	9,50	5,59	9,00	1,00	7,73
1,00	9,00	5,91	9,50	0,50	8,04
2,00	8,00	6,24	9,75	0,25	8,34
3,00	7,00	6,47	9,90	0,10	8,67
4,00	6,00	6,64	10,00	0,00	9,18
5,00	5,00	6,81			

### 3. Ацетат буфери (0,2 М рН=3,6 – 5,8)

0,2 М натрий ацетат эритмаси, мл ҳисобида	0,2 М сирка кислота эритмаси, мл ҳисобида	18° даги рН
0,75	9,25	3,6
1,20	8,80	3,8
1,80	8,20	4,0
2,65	7,35	4,2
3,70	6,30	4,4
4,90	5,10	4,6
5,90	4,10	4,8
7,00	3,00	5,0
7,90	2,10	5,2
8,60	1,40	5,4
9,10	0,90	5,6
9,40	0,60	5,8

4. Фосфат буфери (0,1 М, рН 5,8 – 8,0)

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> нинг 0,2 М эритмаси, мл ҳисобида	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> нинг 0.2 М эритмаси, мл ҳисобида	Сув, мл ҳисобида	рН
8,00	92,0	20 мл гача	5,8
12,3	87,7	- « -	6,0
18,5	81,5	- « -	6,2
26,5	73,5	- « -	6,4
37,5	62,5	200 мл гача	6,6
49,0	51,0	- « -	6,8
61,0	39,0	- « -	7,0
72,0	28,0	- « -	7,2
81,0	19,0	- « -	7,4
87,0	13,0	- « -	7,6
91,5	8,5	- « -	7,8
94,7	5,3	- « -	8,0

5 . 0,05 М глицин буфери (рН=8,6 – 10,6) тайёрлаш учун 15,014 г глицин 1 литр сувда эритилиб, 0,2 М глицин тайёрланади.

рН	0,2 М глицин, мл ҳисобида	0,2 М натрий ишқори мл ҳисобида	Сув, мл ҳисобида
8,6	50,0	4,0	146,0
8,8	50,0	6,0	144,0
9,0	50,0	8,8	141,0
9,2	50,0	12,0	138,0
9,4	50,0	16,8	133,2
9,6	50,0	22,4	127,6
9,8	50,0	27,2	122,8
10,0	50,0	32,0	118,0
10,4	50,0	38,6	111,4
10,6	50,0	45,5	104,5

6. 0,05 М Трис НСІ буфери (рН=7,2 – 9,1) тайёрлаш учун 24,228 г Трис 1 литр сувда эритилиб, 0,2 М трис эритмаси тайёрланади.

рН		0,2 М Трис, мл ҳисобида	0,1 М НСІ, мл ҳисобида	Сув, мл ҳисобида
23°C	37°C			
9,1	8,95	25	5,0	70
8,92	8,78	25	7,5	67,5
8,74	8,60	25	10,0	65,0
8,62	8,48	25	12,5	62,5
8,5	8,37	25	15,0	60,0
8,4	8,27	25	17,5	57,5
8,32	8,18	25	20,0	55,0
8,23	8,10	25	22,5	52,5
8,14	8,00	25	25,0	50,0
8,05	7,9	25	27,5	47,5
7,96	7,82	25	30	45,0
7,87	7,73	25	32,5	42,5
7,77	7,63	25	35,0	40,0
7,66	7,52	25	37,5	37,5
7,54	7,40	25	40,0	35,0
7,36	7,22	25	42,5	32,5
7,20	7,05	25	45	30

7. 0,1 М Цитратли буфер (рН=3,0 – 6,2) тайёрлаш учун  
 21,018 г лимон кислотанинг моногидрати 1 литр сувда эритилади.  
 29,412 г натрий цитрат, 1 литр сувда эритилади.

рН	0,1 М лимон кислота, мл	0,1 М натрий цитрат, мл	рН	0,1 М лимон кислота, мл	0,1 М натрий цитрат, мл
3,0	16,4	3,6	4,8	8,0	12,0
3,2	15,5	4,5	5,0	7,0	13,0
3,4	14,6	5,4	5,2	6,1	13,9
3,6	13,7	6,3	4,4	5,1	14,9
3,8	12,7	7,3	5,6	4,2	15,8
4,0	11,8	8,2	5,8	3,2	16,8
4,2	10,8	9,2	6,0	2,3	17,7
4,4	9,9	10,1	6,2	1,6	18,4
4,6	8,9	11,1			

8. 0,2 М Сукцинатли буфер тайёрлаш учун 23,6 г қахрабо кислота 1 литр сувда эритилади.

рН	0,2 М қахрабо кислота, мл	0,2 М натрий ишқори, мл	Сув, мл	рН	0,2 М қахрабо кислота, мл	0,2 М натрий ишқори, мл	Сув, мл
3,8	25	7,5	100	5,0	25	26,7	100
4,0	25	10,0	100	5,2	25	30,7	100
4,2	25	13,3	100	5,4	25	34,2	100
4,4	25	16,7	100	5,6	25	37,5	100
4,6	25	20,0	100	5,8	25	40,7	100
4,8	25	23,5	100	6,0	25	43,5	100

9. Веронал – HCl ли буфер (рН=6,8 – 9,6)(натрий диэтилбарбитурати – вероналнинг нисбий молекуляр массаси 206,2)

рН	Веронал 0,04 М,мл	HCl 0,2 М, мл	рН	Веронал 0,04 М,мл	HCl 0,2 М, мл
6,8	100	18,4	8,4	100	5,21
7,0	100	17,8	8,6	100	3,82
7,2	100	16,7	8,8	100	2,52
7,4	100	15,3	9,0	100	1,65
7,6	100	13,4	9,2	100	1,13
7,8	100	11,47	9,4	100	0,70
8,0	100	9,39	9,6	100	0,35
8,2	100	7,21			

### Аралаш индикаторлар

Индикатор эритманинг таркиби	А - Б <sup>1</sup>	Ранги		pT <sup>2</sup>	Эслатма
		Асосли кўринишда	Кислотали кўринишда		
1. Метилоранж (сувдаги эритмаси, 0,1 % ли)	1:1	Сапсар	Яшил	4,1	Сунъий ёритилишда титрлаш учун жуда қулай
2. Индигокармин, сувдаги эритмаси 0,2 %		- « -	- « -	5,1	
1. Бромкрезол кўки, (спиртдаги эритма-си 0,2 % ли)	3:1	Қизил	Яшил	7,0	Жуда кескин ўзгариш
2. Метил-кизғиш, спиртдаги эритма-си (0,2 % ли)		Сапсар – кўкиш	Яшил		

<sup>1</sup>Графада А ва Б эритмаларнинг ҳажм нисбатлари кўрсатилган.

<sup>2</sup>Берилган индикатор билан титрлаш тугайдиган нуқтадаги рН нинг катталиги, титрлаш кўрсаткичи деб номланади ва pT билан белгиланади.

Аммиак эритмасининг зичлиги, нормал ва  
фоиз концентрациялари

Зичлиги, (15 ° да)	Нормаллиги	100 г эритма- даги гр. мик- дори	Зичлиги, (15 ° да)	Нормаллиги	
0,960	5,58	9,91	0,910	13,95	24,99
0,950	7,10	12,74	0,900	14,97	28,3
0,940	8,63	15,63	0,890	16,59	31,75
0,930	10,18	18,64	0,882	18,10	34,95
0,920	11,75	21,75			

**Индикаторларнинг номлари ва уларнинг баъзи хоссаларининг  
характеристикаси**

Номи	Рангнинг ўзгариш зоначи (рН)	Ранги	
		Нордон муҳитда	Ишқорли муҳитда
Диметиламиноазобензол	2,9 – 4,0	Қизил	Тўқ сариқ
Метилоранж	3,1 – 4,4	- « -	- « -
Конго	3,1 – 5,2	Кўк –	Қизил
Метилрот	4,2 – 6,3	сапсар	Сариқ
Альфа – динитрофенол	2,8 – 4,5	Қизил	- « -
Гамма – динитрофенол	4,0 – 5,5	Рангсиз	- « -
Пара – нитрофенол	5,2 – 7,0	- « -	- « -
Мета – нитрофенол	6,7 – 8,4	- « -	- « -
Лакмус	5,0 – 8,0	- « -	Кўк
Таширо индикатори	4,4 – 6,2	Қизил	Яшил
Фенолфталеин	8,2 – 10,00	Сапсар	Қизил
Тимолфталеин	9,3 – 10,5	Рангсиз	Кўк
Ализарин сариғи	10,1 – 12,0	- « -	Сапсар
Крезол пурпури	7,4 – 9,0	сариқ	Қирмизи
Фенол – қизғиш	6,4 – 8,0	- « -	қизил
Бромтимол – кўки	6,0 – 7,6	- « -	Қизил
Бромфенол – кўки	3,0 – 4,6	- « -	Кўк
Тропеолин	1,4 – 3,2	- « -	- « -
Кристаллфиолет	0,0 – 2,0	Қизил	Сариқ
		Яшил	Сапсар

Ўювчи калий эритмасининг зичлиги,  
нормал ва фоизконцентрацияси

Зичлиги, (15 ° да)	Нормаллиги	Фоиз	Зичлиги, (15 ° да)	Нормаллиги	Фоиз
1,100	2,13	10,85	1,340	8,26	34,60
1,120	2,59	12,96	1,360	8,84	36,47
1,140	3,05	14,99	1,380	9,42	38,25
1,160	3,53	17,08	1,400	10,00	40,09
1,180	4,02	19,13	1,420	10,60	41,88
1,200	4,52	21,15	1,440	11,20	43,64
1,220	5,03	23,13	1,460	11,81	45,38
1,240	5,55	25,11	1,480	12,42	47,09
1,260	6,08	27,05	1,500	13,04	48,79
1,280	6,61	28,97	1,520	13,68	50,48
1,300	7,15	30,87	1,540	14,31	52,15
1,320	7,70	32,74			

Ўювчи натрий эритмасининг зичлиги, нормал ва фоиз  
концентрацияси

Зичлиги, (15 ° да)	Нормаллиги	Фоиз	Зичлиги, (15 ° да)	Нормаллиги	Фоиз
1,100	2,47	8,99	1,320	9,54	28,92
1,120	3,02	10,79	1,340	10,31	30,78
1,140	3,59	12,59	1,360	11,13	32,74
1,160	4,17	14,39	1,380	11,96	34,66
1,180	4,78	16,19	1,400	12,81	36,60
1,200	5,40	17,99	1,420	13,70	38,58
1,220	6,04	19,80	1,440	14,61	40,58
1,240	6,70	21,60	1,460	15,56	42,62
1,260	7,37	23,42	1,480	16,54	44,70
1,280	8,08	25,25	1,500	17,55	46,80
1,300	8,79	27,07	1,520	18,58	48,90

## АЙРИМ РЕАКТИВЛАР ВА ПРЕПАРАТЛАРНИ ТАЙЁРЛАШ

(Барча рангли реактивлар дистилланган сувда тайёрланади)

### 1. Рангли реактивлар учун оксил эритмасини тайёрлаш.

1) 10 г тухум оксили 100 мл сувда эритилиб 1 % ли оксил эритмаси тайёрланади (10 г тухум оксили 1 г оксил тутади). Бир дона тухум оксили 259 мл сувда эритилиб, дока филтрдан ўтказилади

2) Оқ қон зардоби 5 марта 0,85 % ли натрий хлорид эритмасида суюлтирилади. Оксил эритмалар музлатгичда сақланади.

2. Гидролиз учун оксил эритмасини тайёрлаш. 2 дона тухум оксили 1 л сувда эритилиб, дока филтрдан ўтказилади, эритма музлатгичда сақланади. Тухум оксили гидролизатини тайёрлаш учун 8 дона тухум оксили 4 л сувда эритилиб, докадан ўтказилади ва эритма ҳаволи совутгич билан бирлаштирилган думалоқ тубли колбага солинади. Унга бир литр концентранган хлорид кислота қўшилади. Аралашма асбест тўр устида қайнагандан сўнг 45 дақиқа қайнатилади, сўнг филтрланади. Фаолланган кўмир ишлатилмайди.

### 3. Чўктириш реакцияси учун оксил эритмасини тайёрлаш.

Сариғидан ажратилган тухум оксили 10 – 20 баробар ҳажмдаги сув билан аралаштирилади ва бир неча қаватли дока ёки қаватланган филтр қоғоздан ўтказилади. Тузлаш учун оксил эритма: 3 та тухум оксили 700 мл сув билан ва 300 мл тўйинган натрий хлорид эритмаси билан аралаштирилади.

4. Соғлом меъда ширасини тайёрлаш. 37 г натрий хлорид 7 мл концентранган хлорид кислота, 2 мл концентранган сут кислота (40 %), 12 г пептон 11:1 1700 мл сувда эритилади ҳамда 2 қаватли докадан ўтказилади. Эритма музлатгичда сақланади.

Кислоталиги камайган меъда шираси. 1700 мл сувга 37 г натрий хлорид, 3,5 мл концентранган хлорид кислота, 2 мл концентранган сут кислота ва 12 г пептон солинади.

**Кислоталилиги ошган меъда шираси.** Юқоридагидек, фақат 20 мл хлорид кислота солиб тайёрланади.

**5. Патологик меъда ширасини тайёрлаш.** Хлорид кислотасиз 1 мл меъда ширасига 10 мл сут кислота (40 %) ва 13,5 мл лимон кислота солинган қон (ҳар гал аниқлашдан олдин 10 томчидан) солинади. Ушбу эритма қора идишда, музлатгичда сақланади.

**6. Сут – ацетат аралашмасини ивйтиш учун пепсин.** 100 мл пепсин 0,1 н хлорид кислота эритмасида эритилади ва 10 – 20 томчи 2 н хлорид кислота (рН и 2,5) қўшилади. Эритма 3 – 4 соат тургандан сўнг унинг ҳажми 0,1 н хлорид кислота билан 100 мл га етказилади. Шунда 0,1 % ли пепсин эритмаси олинади.

**7. Меъда ости бези эритмаси (панкреатин).** 5 г қуруқ панкреатин 40 – 50 мл сувдан рН и 8,0 гача Ц – қўшилади. Фенолфталеин билан ўтказилган реакция кучсиз ишқорий бўлиши керак. Панкреатин эритмаси ҳар 2 кунда тайёрланиб, музлатгичда сақланади.

**8. Меъда ости бези препаратини тайёрлаш.** Қорамол ёки чўчка меъда ости бези ёғлардан тозаланади ва майдаланади, сўнгра 3 баробар ҳажмда ацетон солиб, 10 – 12 соат давомида ёғсизлантрилади. Ацетон тўкиб ташланади ва ацетон билан ёғсизлантриш яна 1 – 2 марта қайтарилади. Ацетон филтрланади, чўкма аввал спирт билан, сўнгра эфир билан ювилади ва филтр қоғозлари орасида ҳавода қуритилади. Олинган маҳсулот ҳовончада майдаланади.

**9. Қуруқ тухум сариғини тайёрлаш.** Тухум сариғи ойна пластинкасига суртилиб, хона ҳароратида, ҳавода қуритилади. Қуритилган сариқлик ойна пластинкасидан кириб олинади ва ҳовончада кукун ҳолатигача майдаланади.

**10. Сут – ацетат аралашмасини тайёрлаш.** Янги соғилган сут (нисбий зичлиги 1,030) рН и 4,9 ацетат буфер эритмаси билан 1:1 нисбатда аралаштрилади. Бу аралашма ёпиқ ҳолатда музлатгичда 2 ҳафта сақланиши мумкин. Бу аралашма кегаювчи воронкада қолдирилиб, тинган ёғ осон олиб ташланган тақдирда аралашманинг ишлатилиши янада қулай бўлади. Қуритилган сут кукунидан фойдаланилса, унинг 2,5 ош қошиғи бир стакан илик

сувда эритилиб, қайнатилади ва юқоридагидек 1:1 нисбатда рН и 4,9 бўлган ацетат буфери билан аралаштирилади.

**11. Кумушнинг аммиакли эритмаси.** 1 – 3 % ли кумуш нитрат эритмасига концентранланган аммиак эритмасидан чуқма эригунча қўшилади. Шунда кумуш гидроксиднинг аммиакли эритмаси ҳосил бўлади.

**12. Кумуш нитратнинг 2 % ли эритмаси.** 2 г кумуш нитратга 100 мл сув солиб кумушнинг аммиакли эритмаси тайёрланади.

**13. Кумуш нитратнинг 0,1 н эритмаси.** 16,988 г кумуш нитрат 1 л ли ўлчов колбасига солиниб, сув билан аралаштирилади – да, ҳажми 1 л га етказилади. 0,01 н эритма эса шу 0,1 н эритмадан ишлатиш олдидан тайёрланади. Унинг титри 0,01 н натрий хлорид (0,585 г – 1 л сув) эритмаси ёрдамида аниқланади.

**14. рН и 5 бўлган ацетат буфер эритмаси.** 45 г (ким. тоза) натрий гидроксид аввал 400 – 500 мл сувда эритилади. Ушбу эритма совитилгач, 1 л ли колбага ўтказилиб, 115 мл музли сирка қўшилади ва эритманинг умумий ҳажми 1 л га етказилади.

**15. рН и 4,8 бўлган ацетат эритмасини тайёрлаш.**

1) 0,2 н натрий ацетат эритмасини тайёрлаш учун ушбу туздан 27,22 г олиб, 1 л ҳажмгача ўлчов колбада эритилади.

2) 0,2 н сирка кислота эритмаси (фиксанолдан) тайёрланади. Биринчи эритмадан 480 мл ва иккинчисидан 520 мл олиб аралаштирилади ва унинг рН и текширилади.

**16. Абсолют спирт.** Бунинг учун сувсиз мис (II) сульфатдан фойдаланилади. 220°C да қуритувчи шкафта сувсизлантирилади. Туз рангсизлангунча аралаштириб турилади. Сувсиз мис (II) сульфатга 95 % ли этил спирт солинади ва яхшилаб аралаштирилади. Мис (II) сульфат кўкаради, демак, спиртдаги сувни тортиб олади, ушбу жараён мис (II) сульфат рангсиз ҳолга келгунча бир неча бор янги туз қўшиш билан қайтарилади.

17. **Бензидиннинг 1 % ли эритмаси.** 1 г бензидин музли сирка кислотада эритилиб, ҳажми 100 мл га етказилади, қора идишда, совитгичда сақланади (асосли бензидин ишлатилади).

18. **Билирубиннинг асосий эритмаси.** 8 мг билирубин 7 мл 0,1 М сувсиз натрий карбонат (1,06 г сувсиз натрий карбонат 100 мл ҳажмгача эритилади)да эритилиб ҳажми шу эритма билан 10 мл га етказилади. Билирубиннинг ишчи эритмаси 8 марта суюлтирилган асосий эритмадан тайёрланади. Бунинг учун 7 мл янги гемолизланмаган зардобга 1 мл янги тайёрланган билирубиннинг 80 % ли эритмаси ва 0,05 мл (1 томчи) 4 н сирка кислота эритмаси (22,6 мл музли сирка кислота 100 мл ҳажмга сув билан етказилади) қўшилади. Эритма яхшилаб аралаштирилади. Ишчи эритма совитгичда сақланганда бир суткагача тургун бўлади.

19. **Молибден реактиви.** 7,5 г аммоний молибдат тузи 50 мл концентранган азот кислотада суюлтирилади.

20. **Биурет реактиви.** 1,5 г мис мульфат ва 60 г калий тартарат 300 мл 10 % ли натрий гидроксид эритмасида суюлтирилади ва реактивнинг умумий ҳажми 1 л га дистилланган сув билан етказилади.

21. **Фоли реактиви.** 1,5 – 2 л лидумалоқ тубли колбага 100 г натрий молибдат тузи солиб 700 мл дистилланган сувда эритилади. Эритмага 50 мл 80 % ли фосфат кислота эритмаси ва 100 мл концентранган хлорид кислота солинади. Колба қайтар совитгич билан бириктирилади ва 10 соат давомида қайнатилади, сунгра 150 г литий сульфат, 50 мл сув ва 3 – 4 томчи бром қўшилади. Эритма хона ҳароратигача совитилади ва унинг ҳажми 1 л гача сув билан етказилади – да филтрланади. Эритма тиниқ – сариқ рангли бўлади. Ушбу эритма қора идишда сақланади ва ишлатишдан олдин 1:1 нисбатда суюлтирилади.

22. **Полиакриламид гель электрофорез усули учун реактивлар:**

1 – реактив. 1 моль/л хлорид кислота эритмаси – 48 мл; ТРИС (трирксиметиленаминометанхлоргидрат) – 3,6 г. ТМЕД – 0,23 мл 100 мл ҳажмга дистилланган сув билан етказилади.

2 – реактив. Акриламид – 30; метилен – бис – акрила – мид – 0,8 г; дистилланган сув иблан 100 мл га етказилади.

3 – реактив. 14 г аммоний пероксидисульфат 100 мл сувда эритилади. Тажриба олдидан тайёрланади.

### **23. Аргиназа фаоллигини аниқлаш учун реактив.**

1) Каламуш жигаридан фермент препаратини тайёрлаш: муз устида турган тўқима қайчи билан обдон майдаланади – да гомогенизацияланади. Олдин совитилган ацетоннинг 10 баробар ҳажми билан, сўнгра оз миқдордаги эфир билан ишлов берилиб, ацетон ва эфир филтрдан ўтказилади. Чўкма Бюхнер воронкасида қуритилади ва майда кукун ҳолигача эзилади. Курук эфир – ацетонли кукун музлатгичда сақланади. Тажриба олдидан бу кукун 10 баробар ҳажмдаги глицин буфери (рН и 9,5) билан 20 дақиқа экстракция қилинади;

2) Глицин буфери (рН и 9,5). 80 мл 0,1 моль/л глицин эритмаси 20 мл 0,01 моль/л натрий гидроксид эритмаси билан аралаштирилади. 0,1 моль/л пирофосфат (рН и 9,5) эритмасидан фойдаланиш мумкин;

3) Темир (III) хлориднинг асосий эритмаси. 5 г темир (III) хлорид сувда эритилиб ҳажми 100 мл га етказилади, унга 8 мл концентрланган сульфат кислота қўшилади.

**24. Фосфат буферини тайёрлаш.** 11,9 г динатрий гидрофосфат (моль. мас. 178,01) ва 9,1 калий дигидрофосфат (мол. мас. 136,09) тузлари яхшилаб қайнатилган дистилланган сувда алоҳида эритилади. Ҳар бир эритилган тузнинг ҳажми 1 л га сув билан етказилади. Керакли рН да буфер эритма тайёрлаш учун I ва II эритмалар жадвалга биноан аралаштирилади.

Буфер рН и	Натрий гидрофосфат, мл	Калий дигидрофосфат, мл	Буфер рН и	Натрий гидрофосфат, мл	Калий дигидрофосфат, мл
5,59	0,5	9,5	6,995	6,0	4,0
5,91	1,0	9,0	7,17	7,0	3,0
6,24	2,0	8,0	7,38	8,0	2,0
6,47	3,0	7,0	7,42	9,0	1,0
6,64	4,0	6,6	8,04	9,5	0,5
6,31	5,0	5,0			

25. рН и 8,6, 0,05 ион кучланишли веронал – барбитал буфери. 10,32 натрий барбитал 300 мл сувда эритилади, унга 1,84 г барбитал қўшилади ва сув ҳаммомида барбитал эригунча қиздирилади, сўнгра ҳажми 1 л га етказилади.

26. рН и 8,6 веронал ацетат, барбитал – ацетат буферлар. 300 мл сувда 4,3 г барбитал, 0,95 г натрий ишқори ва 3,24 г натрий ацетат эритилади. Сўнгра эритмага 30 мл 0,1 М хлорид кислота солиб умумий ҳажми 1 л га етказилади.

27. рН и 9,0 глицерофосфат буфери. 2,15 г натрий бетта – глицерофосфат ва 2,15 г барбитал – натрий сувда эритилиб, умумий ҳажми 500 мл га етказилади. Унинг рН и текширилади. Эритма толуол қатлами тагида музлатгичда сақланади.

28. Гипосульфат (тиосульфат)нинг 0,005 н эритмаси. Ишлатишдан олдин 0,1 фиксонал тайёрланади. 5 мл 0,1 н эритма 100 мл сигимли ўлчов колбасига солиниб, ҳажми 100 мл га сув билан етказилади. Фиксанол бўлмаса 25 г натрий тиосульфат 1 л яхшилаб қайнатилган ва совитилган сувда эритилади. Эритма тайёрлангандан 10 кун ўтгач унинг титри бир неча марта титрланган  $\text{KJO}_3$  эритмаси ёрдамида аниқланади. 0,005 н калий йод эритмаси 0,1782 г  $\text{KJO}_3$  ни дистилланган сувда эритиш ва

ҳажмини 1 л га етказиш билан тайёрланади. Натрий тиосульфат эритмасининг титрини аниқлаш учун 2 мл  $KJ_2O_3$  эритмасига 2 мл 3 % ли учламчи хлор – рух – йодли эритма, 2 томчи крахмал эритмаси қўшилади ва ажралган йод ( $I_2$ ) тиосульфат эритмаси билан рангсизлангунча титрланади.

#### **29. Билирубин миқдорини аниқлаш учун diaзореактив.**

1 – diaзореактив 5 г (сувсиз тоза) сульфанил кислота 300 – 400 мл сувда енгил қиздириш билан (водопровод тагидаги иссиқ сувда) эритилади ва 15 мл концентрланган хлорид кислота қўшилади. Тўлиқ эригандан ва совитилгандан сўнг ҳажми 1 л га етказилади.

2 – diaзореактив 0,5 % ли натрий нитрат ишлатишдан олдин тайёрланади.

Диазоаралашма. Билирубинни аниқлашдан олдин 10 мл 1 – diaзореактив ва 0,30 мл 2 – diaзореактив аралаштирилади.

**30. 2,4 – динитрофенилгидрозиннинг (2,4 - ДНФГ) 0.1 % ли эритмаси** ва 20 мл концентрланган хлорид кислота 100 мл ҳажмга сув билан етказилади (тахминан 2 н HCl). 100 мг 2,4 – ДНФГ га секин – аста тўлиқ эригунча 100 мл тайёрланган 2 н хлорид кислота эритмаси қўшилади. Сўнгра эритма филтрланиб, музлатгичда сақланади: агар 2,4 – ДНФГ эритмаси ёмон эриса, эритма яна бир суткага қолдирилади, сўнгра у чайқатилиб иссиқ сув оқимида қиздирилади.

**31. Дифениламин реактиви.** 1 г дифенил (70 % ли спирт ва петролей эфирида 2 марта қайта кристалланган) 2,75 М концентрланган сульфат кислота ва 100 мл сирка кислота аралашмасида эритилади.

**32. 2,6 – дихлорфенолиндофенол (2,6 - ДХФИФ) натрийли тузининг 0,001 н эритмаси.** Бу эритманитайёрлаш учун буфер фосфат аралашмаси (1/15 М Серенсен бўйича) ишлатилади, чунки сувли эритмада индикатор тез парчаланади. Бунинг учун 9,078 г калий дигидрофосфат ва 11,867 г натрий гидрофосфат 1 л сувда эритилади. Эритмалар алоҳида сақланади. Сўнгра улар 2:3 нисбатда рН и 6,9 – 7,0 бўлгунча аралаштирилади. 0,25 г бўёқ тортиб олинади ва унга 700 мл сув қўшилиб чайқатилади. Унга

300 мл буфер аралашма қўшилади. Кейинги куни эритма филтрланиб яхшилаб аралаштирилади. Унинг титри Мор тузи эритмаси ёрдамида аниқланади. Бунинг учун кичик колбага 10 мл индикатор ўлчаб олинади, унга 5 мл тўйинган аммоний оксалат эритмаси солинади ва 0,01 г сариқ Мор тузи эритмаси билан титрланади. 0,01 г Мор тузи эритмасини тайёрлаш учун 3,92 г туз 1 л 0,02 н сульфат кислота эритмасида эритилади. Мор тузи эритмасининг титри эса калий перманганатнинг 0,01 н эритмаси ёрдамида аниқланади.

**32. Глюкозани Хагедерн – Йенсен усули билан аниқлаш учун калий ферроцианиднинг (қизил қон тузи) 0,005 н ишқорий эритмаси.** Тортиб олинган (кимёвий тоза) 1,65 г қизил қон тузи 1 л ли колбадаги сувда эритилади, унга 10,6 сувсиз натрий карбонат солиб, ҳажми 1 л га сув билан етказилади. Эритма қора идишда, музлатгичда сақланади. Ушбу препарат уч валентли темир ( $\text{Fe}^{3+}$ ) ва ферроцианид бирикмалари йўқлигига текширилган бўлиши керак. Иккала бирикмага ўтказилган сифат реакциялар манфий бўлиши лозим.

а) 1 мл 5 % ли қизил қон тузи эритмасига 1 томчи 1 % ли сульфат кислота ва 1 томчи 10 % ли калий ферроцианид эритмаси солинади. Темирнинг уч валентли бўлиши эритмани кўк рангга киритади.

б) 1 мл 5 % ли қизил қон тузи эритмасига 2 томчи 2 % ли темир (III) хлорид ва 2 томчи хлорид кислота эритмаси солиб аралаштирилади. Калий ферроцианиднинг эритмада бўлиши кўк ранг ҳосил бўлганидан билинади.

**34. Сийдик кислотани аниқлаш учун калий ферроцианиднинг 0,01 н эритмаси.** 3,292 г қизил қон тузи ва 2 г натрий ишқори 1 л сувда эритилади. Реактивнинг титри сийдик кислотага нисбатан аниқланади. Бунинг учун 1,5 мл сийдик кислотанинг доимий эритмасига 1 мл 20 % ли натрий карбонат ва 1 мл фосфор – вольфрам реактиви қўшилади. Ҳосил бўлган кўк ранг рангсизлангунча титрланади ва 1 мл қизил қон тузига қанча сийдик кислота тўғри келиши тонилади.

35. **Индигокармин эритмаси.** 1 г индигокармин чинни ховончада эзилади, 50 мл концентрланган сульфат кислотада эритилиб, аста – секин ҳажми 1 л сув билан етказилади, сўнгра филтрланади. Реактив қора идишда сақланади. Унинг ярққилиги 7 – 10 кун.

36. **Таширо индикатори (асосий эритма).** 40 мл 0,1 % ли метил – қизилнинг спиртли эритмаси ва 10 % ли метил – кўкининг спиртли эритмаси.

**Ишчи эритма.** 1 ҳажм асосий эритма, 1 ҳажм спирт, 2 ҳажм сувю Кислотали муҳит (рН и 4,4) да бинафша – қизил, ишқориц муҳит (рН и 6,2) да яшил ранг кузатилади.

37. **Йоднинг асосий эритмаси.** Қон зардоби амилазасини микроэкспресс усули аниқлаш учун 0,25 г йод кристаллари ва 0,86 калий йодид 20 мл сувда эритилади.

38. **Йоднинг ишчи эритмаси.** Йоднинг асосий эритмаси 50 марта 0,2 н хлорид кислотада суюлтирилади. Эритма 1 соат давомида турғун; ишлатишдан олдин тайёрланади.

39. **Кразмалнинг 0,1 % ли эритмаси (ишчи эритма).** Қон зардоби амилазасини аниқлаш учун иссиқ сувга ўтказилади. Хона ҳароратида совитилгач, ҳажми 100 мл га сув билан етказилади. Музлагичда 5 кунгача сақланади.

40. **Хагедорн – Йенсен усули билан қандни аниқлаш учун крахмалнинг 1 % ли эритмаси.** 1 г эрийдиган крахмалга 100 мл хлориднинг тўйинган эритмаси солинади ва кимёвий стаканда доим аралаштириб турган ҳолда қиздирилади.

41. **Кофеин реактиви.** 5 г тоза кофеин 7,5 г натрий бензоат ва 12,5 г натрий ацетат, 70 мл сувда паст ҳароратда қиздириш йўли билан (80°С гача) эритилади. Сўнгра ҳажми 100 мл га сув билан етказилади. 2 ҳафта сақлаш мумкин.

42. **Фосфорни аниқлаш учун Молибден реактиви.** Натрий бензоат ва 12,5 г натрий ацетат 70 мл сувда эритилиб, 500 мл концентрланган азот кислота қўшилади.

43. **Аммоний молибдатнинг 2,5 % ли эритмаси.** Блюр усули бўйича «Р» ни аниқлаш учун 2,5 аммоний молибдат 50 мл 10 н

сульфат кислотада эритилиб, ҳажми сув билан 100 мл га етказилади.

**44. Мис реактиви.** 6,45 % ли мис нитрат уч гидрат эритмасидан 10 ҳажм, 1 М триэтаноамин (нисбий массаси 149) эритмасидан 9 ҳажм ва 1 н сирка кислотадан 1 ҳажм олиб тайёрланади.

**45. Ортотолуидан реактиви.** 0,15 г тиомочевина 94 мл кимёвий тоза муз сирка кислотада эритилиб, 6 мл рангсиз О – толуидин эритмаси билан аралаштирилади. Реактив деярли тургун ҳолда музлатгичда сақланади.

**46. Пироузум кислота.** 50 мг пироузум кислота ёки 62,5 мг пироузум кислотанинг натрийли тузи 100 мл сувда эритилади. Эритманинг 1 мл га 0,5 мг пироузум кислота тўғри келади. Ишлатишдан олдин эритма 10 марта суюлтирилади (1 мл эритма 50 мг ПУК тутади).

**47. Глюкозани аниқлаш учун ишчи реактив.** 80 мл рН и 4,8 бўлган 0,25 н ацетат буферга 2 мг глюкооксидаза ва 1 мг курук кристаллик пироксидаза қўшилади. Сўнгра 1 мл 1 % ли О – толуидиннинг абсолют спиртдаги эритмасидан солиб ҳажми 100 мл га ацетат буфери билан етказилади. Эритма музлатгичда қора идишда сақланади. Барча ферментлар қўшилади. Ишлатишдан олдин эритма хона ҳароратига келтирилади.

**48. Сахарозанинг 0,25 М эритмаси.** Тажрибада 0,02 М (рН 7,4) трис – буфер тутувчи эритма. 0,2 М трис – буфер эритмаси (нисбий массаси 121,14) бўлган оксиметил – аминотанхлоргидрат тайёрланади. 24,33 г трис 1 л сувда эритилади. 0,2 М эритмадан 0,02 М эритма тайёрланади. Бунинг учун 10 мл 0,2 М трисга 0,1 н натрий гидроксид эритмаси “Рифан” индикатори иштирокида рН и 7,4 бўлгунча томизилади. Сўнгра умумий ҳажми сув билан 100 мл га етказилади. Сахарозанинг (нисб. молек. массаси 339), 0,25 М эритмаси: 84,75 г сахароза 0,02 М трис буферда эритилади.

**49. Хроматография усули учун аминокислота эритмалари.** Аминокислоталар (0,04) 1/25 М миқдорда эритилади.

10 мл суда эритилади:

60 мг

глутамин кислота 40 мг

аланин 50 мг

ёки куйидаги аминокислоталарнинг аралашмасидан  
фойдаланиш мумкин (10 мл сувда эритилади).

1. Глутамин кислота 60 мг

глицин 40 мг

аланин 40 мг

2. Глутамин кислота 60 мг

лейцин 50 мг

3. Аспарагин кислота 60 мг

серин 40 мг

лейцин 60 мг

4. Аспарагин кислота 60 мг

глицин 40 мг

лейцин 60 мг

Аминокислоталарнинг эрувчанлигини ошириш учун уни сув  
хаммомида қиздириш мумкин.

**50. Хлорид кислота билан ишланган алюминий оксид.** 500 г (кимёвий тоза) алюминий оксид чинни ҳовончага солиниб, устига 2 л 2 н хлорид кислота куйилади ва 30 – 40 дақиқа давомида шиша таёқча билан доимо аралаштириб турган ҳолда қиздирилади. Қиздириш тугатилгач ва хлорид кислота эритмаси чўкмага тушгач суюқлик олиб ташланади. Юқоридаги ювиш реакцияси яна бир бор такрорланади. Сўнгра чўкма устидаги суюқлик олиб ташланади, унинг устига 1 л бидистилланган сув куйилади. Алюминий аралашмаси Бюхнер воронкасига ўтказилади – да, алюминий оксиди ювинди сувнинг рН и 6 бўлгунча бир неча марта ювилади. Алюминий оксид қуритувчи шкафта 200 – 500°С да 4 соат давомида қуритилади. Хлорид кислота билан ишлов берилган алюминий оксид хроматографиянинг иккинчи босқичи учун ишлатилиши мумкин.

**51. Калий йодиддаги йоднинг 10 % ли эритмаси.** 20 г калий йодид ва 10 г йод 50 мл сувда эритилиб, ҳажми 100 мл га келтирилади. Крахмалга реакция ўтказиш учун олинган эритма 10 марта суултирилади.

**52. Гипобромид эритмаси.** 5 мл бром 30 % ли натрий гидроксиднинг 100 млида, совуқда, ҳаво тортич шкафда эритилади. Эритма ишлатилиши олдидан 6 марта (1:5) 10 % ли натрий гидроксид эритмаси билан суюлтирилади.

**53. Милон реактиви.** 40 г симоб хона ҳароратида 60 мл концентранган азот кислотада (нисбий зичлиги 1,40) эритилади сўнгра эритма азотнинг оксидланишидан ажралган қўнғир бўғлар тутагунча илиқ сув ҳаммомига жойлаштирилади ва эритма аралаштирилади.

**54. Фелинг реактиви.** Кимёвий тоза мис купороси иссиқ эритмада кристалланиб, филтёр қоғозда қуритилади. Алоҳида 2 хил эритма тайёрланади:

а) 200 г сегнет тузи ва 150 г ўювчи натрий ишқори ўлчов колбасида эритилади ва унинг ҳажми белгиланган чегарагача етказилади.

б) 40 г мис купороси 1 л ли колбада эритилади. Ишлатишдан олдин иккала эритма тенг ҳажмда аралаштирилади.

**55. 0,1 н натрий гидроксид эритмаси.** 50 г кимёвий тоза ўювчи натрий 40 мг карбонат ангидридсиз сувда эритилади ва шу заҳоти каучук пробка билан зич беркитилади ва шиша идишга солинади. Кучли ишқорда эрмаган натрий бикарбонатнинг (сода) кристаллари ҳосил бўлгунча бир неча кун сақланади. 6 мл ишқор 1 л ҳажмга етгунча сув билан суюлтирилади. Эритманинг нормаллиги фиксоналдан тайёрланган 0,1 н хлорид кислота билан текширилади. 0,05 н натрий гидроксид эритмаси 20 мл гача суюлтирилади.

**56. 0,1 н сульфат кислота эритмаси.** 2,8 мл сульфат кислота (нисб. зичлиги 1,84) сув билан 1 л ҳажмга етказилади. Унинг титри натрий гидроксиднинг титрланган эритмаси билан аниқланади. 0,01 н сульфат кислота эритмаси 0,1 н эритмадан тайёрланади. 100 мл 0,01 н сульфат кислота билан 1 л ҳажмгача суюлтирилади.

**57. «НАДИ» реактиви (ишлатилишидан 1 соат олдин тайёрланади).** Диметилларафенилендиаминнинг сувдаги 1 % ли эритмаси б – нафтолнинг спиртдаги 1 % ли эритмаси ва натрий

карбонатнинг 1,5 % ли эритмаси билан тенг ҳажмда аралаштирилади. «НАДИ» реактиви тўқ жигар ранга бўялади, у пушти тус олмаслиги керак. НАДИ нинг Янги тайёрланган эритмасидан фойдаланилади, сақланганда у тез ўзгаради.

**58. Калий перманганатнинг 1 н эритмаси.** 32 г калий перманганат эритмаси 50 мл иссиқ сувда (70 – 80°C) эритилиб, ҳажми 1 л га етказилади. Унинг титри фиксоналдан тайёрланган 1 н шовул кислота билан аниқланади. 0,05 н эритмадан 200 марта суялтириб тайёрланади.

**59. Шиша кранлар учун суртма.** 1) 3 қисм вазелин ва 1 қисм парафиндан (парафиннинг эриш ҳарорати 55°C), 2) 500 г вазелин ва 10 г табиий каучук (майда бўлакчалари) 100°C ли сув ҳаммомида каучук эригунча қиздирилади (тахминан 6 кун). Иссиқ қотишма қуйилиши учун унга бир чимдим мум солинади. Агар суртма суяқ бўлиб қолса, унга яна бир чимдим мум солинади.

**60. Азотни аниқлаш учун стандарт эритмалар.** Аммоний сульфат эксикаторда доимий оғирликкача қурилади. Аналитик тарозиларда тортиб олинган 0,9432 г аммоний сульфат 1 л сувда эритилади (1 мл эритма 0,2 мг азот тутади (ёки 0,4716 г си 1 л сувда эритилади) 1 мл эритма 0,1 азот тутади).

**61. Креатининни аниқлаш учун стандарт эритма.** 100 мг креатинин 100 мл сувда эритилади (1 мл эритмада 1 мг креатинин бўлади).

**62. Сийдик кислотанинг стандарт эритмаси.** 0,5 г тоза эксикаторда яхшилаб қурилган сийдик кислотага: 0,5 г литий карбонат, 25 мл сув қўшиб; 50 – 60° да эригунча қиздирилади. Эритма совитилгач, ҳажми сув билан 1 л га етказилади (1 мл эритмада 0,5 мг сийдик кислотага бўлади).

**63. Сув билан тўйинган толуол.** 250 мл толуол 250 мл сув билан воронкада 10 – 15 дақиқа чайқатилиб, тиндирилади, толуол қавати эҳтиётлик билан ажратиб олинади.

**64. Учламчи хлор – йод – рух эритмаси.** 50 г рух сульфат ва 250 г натрий хлорид 1 л ли колбага солиб эритилади. Ҳажми сув билан белгигача етказилади ва филтрланади. Фақат ишлатиш

олдидан эритманинг бир қисмига 2,5 г калий йодид қўшилади ва ҳажми юқоридаги аралашма билан 100 мл га етказилади.

**65. Сув билан тўйинган фенол.** 100 мл фенол айирув воронкасига солинади (олдиндан сув ҳаммомида 45°C гача қиздирилган) ва унга 25 мл сув қўшиб чайқатилади ва етти қисмга ажралгунча қолдирилади (фенолнинг пастки қавати рангсиз бўлиши керак). Пастки қаватдаги фенол аминокислоталар қоғоз хроматография усули билан ажратиш учун ишлатилади. Фенол билан эҳтиёт бўлиб ишлаш керак.

**66. Фолликулинни аниқлаш учун Фолий реактиви.** Қайтар музлатгич ўрнатилган колбага 100 г натрий вольфрамат, 20 г фосфор молибдат кислота, 50 мл фосфат кислотанинг 85 % ли эритмаси ва 750 мл сув солинади. Қайтар музлатгич ўрнатилган колба пробка билан беркитилиб, 10 соат давомида қайнатилади, Эритма совитилгач унинг ҳажми сув билан 1 л га етказилади.

**67. Фенолфталейннинг спиртдаги 0,5 % ли эритмаси.** 1 г фенолфталейн 100 мл спиртда эритилиб, унга сув қўшилади.

**68. рН и 6,9 бўлган фосфат буфернинг 0,03 М эритмаси.** 0,1 М натрий гидрофосфат эритмаси ва 0,1 м натрий дигидрофосфат эритмаси 1:1 нисбатда аралаштирилади ва 0,1 М натрий хлорид эритмаси билан 3 марта суюлтирилади. Эритма совуқда сақланганда 5 – 7 кун турғун бўлади.

**69. Калий дигидрофосфат эритмаси.** калий фосфат 120°C да доимий массагача қурилади. 1 л сувда 4,9 г калий фосфат эритилади (1 мл эритмада 1 мг фосфор бор).

**70. Натрий гидрофосфатнинг икки уратли тузи эритмаси.** 12 молекула сувли натрий фосфат шишага юпқа қават қилиб сепилади ва чанг тушмайдиган қурук жойда 12 – 14 кун сепилади. Туз маълум сувни йўқотиб, натрий гидрофосфатга айланади. Натрий фосфат массасининг доимий бўлиши, буғланиш тўхтаганлигини билдиради.

**71. Сийдик кислотани аниқлаш учун Фолин – фосфовольфрам реактиви.** 100 г натрий вольфраматнинг нордон тузи 80 мл 85 % ли фосфат кислота 900 мл сув билан

аралаштирилади ва 2 соат давомида қайнатилиб, совитилиб. Шундан кейин ҳажми 1 л га етказилади.

**72. Фракцияловчи эритма.** Гель фильтрация учун эритма учта модда аралашмасидан иборат: рибофлавин (Вит В<sub>2</sub> нинг тўйинган эритмаси), гемоглабиннинг 20 % ли эритмаси, кўк декстриннинг (100 мл сувга - 50 мг декстрин тўғри келади) тўйинган эритмаси, Акрилекс Р - 200 билан тўлдирилган колонкага 2 томчи аралашма киргизилади.

**73. Эйконогеннинг ишқорий эритмаси (Б - 1, А 4 - аминафтолсульфоат кислота).** 100 мл сувда 30 г натрий гидросульфит эритилади ва унга 0,5 г эйконоген қўшилади, 6 г сувсиз натрий сульфит озгина сувда алоҳида эритилади. Иккала эритма аралаштирилиб, ҳажми сув билан 250 мл га етказилади. 2 - 3 соатдан сўнг эритма филтрланади. Ишқорий эритма (10 мл) дистилланган сув билан 2,5 марта суюлтирилади.

#### **Орцин реактиви.**

1. Концентрланган хлорид кислота темир (III) хлорид (FeCl<sub>3</sub>) нинг 0,1 % ли эритмаси.

2. Тайёрланган 0,1 % ли темир (III) хлориднинг 10 мл да 100 мг орцин эритилади.

**74. Акридекс Р - 200 ёки Р - 100.** Натрий хлориднинг изотоник эритмаси билан гидратланади. Бунинг учун 25 г акрилекс 800 мл 0,85 % ли натрий хлорид эритмаси билан тўлдирилади ва кейинги кунгача қолдирилади. Бўрттирилган гомоген маҳсулот ҳосил бўлади. Унинг юқорисида изотоник натрий хлорид эритмасининг қавати бўлиши керак. Бўрттирилган акрилекс ёпиқ идишда, хона ҳароратида бир неча кун, музлатгичда эса кўпроқ сақланади.

### Адабиётлар

3. Методы биохимических исследований. Под. ред. проф. М.И.Прохоровой. Л., изд-во ЛДУ, 1982 г.
4. Шапиро Д.К. Практикум по биологической химии. М., изд-во "Высшая школа", 1976 г., с. 256.
5. Мирхамидова П. ва бошқалар. Ҳайвонлар биохимияси. Т., "Меҳнат" нашриёти, 1990 й.
6. Плешков Б. П. Практикум по биохимии растений. М., изд-во "Колос", 1985г.
7. Зиқиряев А. Ўсимликлар биохимияси. Т., "Меҳнат" нашриёти, 1987 й.
8. Практикум по биохимии. Под ред. С. В. Северина: М., изд-во МГУ, 1989 г.
9. Новые методы практической биохимии. Под. ред. Б.Л. Кретович, М., изд-во "Наука", 1989 г.
10. Зиқиряев А., Мирхамидова П. Ўсимликлар биохимиясидан амалий машғулотлар. Т., "Меҳнат" нашриёти, 2001 й.

## Мундарижа

Сўз боши.....	3
№ 1 лаборатория машғулоти Оддий ва мураккаб оксилларнинг тузилиши, хоссалари ва уларнинг ўсимликлар биотехнологиясидаги аҳамияти.....	6
№ 2 лаборатория машғулоти Оддий ва мураккаб оксилларни алмашинуви, уларнинг ўсимликларда <i>in vitro</i> ва <i>in vivo</i> шароитида синтезланиши.....	11
№ 3 лаборатория машғулоти Ферментлар, уларнинг тузилиши, вазифалари, ферментлар-нинг спецификлигини ва фаоллигини аниқлаш.....	24
№ 4 лаборатория машғулоти Ферментлар, уларнинг алмашинувдаги аҳамияти, хоссалари, ўсимликлар биотехнологиясидаги аҳамияти (яқунловчи машғулот).....	33
№ 5 лаборатория машғулоти Доривор ўсимликлар таркибидаги эрувчан углеводларни аниқлаш.....	34
№ 6 лаборатория машғулоти Доривор ўсимликлар таркибидаги пектин моддасини аниқлаш.....	49
№ 7 лаборатория машғулоти Доривор ўсимликлар таркибидаги умумий мой (триглицеридларнинг) миқдорини аниқлаш.....	54
№ 8 лаборатория машғулоти Нуклеин кислоталар, тузилиши, хоссаси. Генетик ахборотларни кўчириш турлари.....	63
№ 9 лаборатория машғулоти Яқуний машғулот, генетик ахборотни кўчириш турлари, нуклеин кислоталарнинг тузилиши, уларнинг алмашинуви. Липидларнинг тузилиши, уларнинг алмашинуви.....	72
№ 10 лаборатория машғулоти Витаминлар ва бошқа моддаларни аниқлаш. Уларнинг ўсимлик организмдаги вазифалари.....	74
Айрим реактивлар ва препаратларни тайёрлаш.....	98
Адабиётлар.....	113