

**OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI
TOSHKENT VILOYATI CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA INSTITUTI
TABIIY FANLAR KAFEDRASI**

P. MIRXAMIDOVA, X.S. NURMETOV

**BIOKIMYO FANIDAN LABORATORIYA
MASHG'ULOTLARI**

TOSHKENT- 2019

1 - LABORATORIYA.

LABORATORIYA XONALARI BILAN TANISHISH, LABORATORIYA JIXOZLARI VA MODDALAR BILAN ISHLAGANDA AMAL QILINADIGAN HAVFSIZLIK QOIDALARI

Klinik tashxis laboratoriyasida ishlaganda e'tibor qilmasa havfli oqibatlarga olib kelishi mumkin bo'lgan ehtiyot choralariga amal qilish zarur. Zaharli, yengil yonuvchi, portlovchi, kimyoviy kuydiruvchi xususiyatiga ega bo'lgan moddalar bilan ishlaganda, bu ehtiyoj choralariga ayniqsa amal qilish kerak.

Pipetka bilan ishlaganda qisman suyultirilgan va kontsentrlangan kislotalar (azot, sulfat, xlorid, sirka kislotalari) zaharli va zazarli moddalarni og'iz bilan tortish mumkin emas, balki rezina nok yoki silindrdan foydalanish zarur. Bunga xrom aralashmasi ishlatishda ham amal qilish kerak.

Zararli gaz yoki bug'lar hosil qiladigan (azot, xlorid, sirka kislota va boshqalar) kukun xolidagi changlanadigan moddalarni ishlatganda dokali respiratorlar va himoya ko'zoynagidan hamda mo'rili shkafdan foydalanish kerak.

Turli asboblarda 220V kuchlanishli elektr tokidan foydalanilganligi sababli laboratoriyada umumiy yerga ulanish kontur tizimi ta'minlangan bo'lishi kerak. Bu asboblarda foydalanishning nafaqat havfsizligini, balki asboblarda ko'rsatkichlarning aniqligini ham ta'minlaydi. Havfsizlik maqsadida oxirgi paytda asboblarning elektr qo'shimcha yerga ulanish –kontakt simlari bor maxsus vilka va rezetkalar bilan chiqarilmoqda. Shuning uchun ularni qo'shimcha yerga ulash shart emas.

Laborant klinik material bilan ishlaganda ehtiyotlik va e'tibor bilan ishlashi kerak. Bu materiallar bilan ishlagandan so'ng darhol materialni va ishlatilgan idishlarni ham zararsizlantirish ya'ni kimyoviy va termik ishlov berish zarur.

2-3 jadvallarda eng ko'p ishlatiladigan zaharli, yonuvchan va portlovchi kimyoviy moddalarni saqlash qoidalari, kuyish va zararlanishda ko'rsatiladigan birinchi yordam haqida ma'lumot beriladi.

Shuni esda tutib turish lozimki, kimyo laboratoriyalarida texnika xavfsizligiga rioya qilmaslik turli travmalarga olib kelishi mumkin. Zaharlanganda va kuyganda shuni qat'iyan esda tutish kerakki, teriga ayniqsa ko'zga kislota, ishqor tekkanida tanada neytrallashtirish reaksiyalarni qo'llab bo'lmaydi. Har qanday neytrallashtirish reaksiyasi (Kislota kuchsiz ishqor eritmasi, ishqorga esa kuchsiz kislota eritmasi issiqlik ajralishi bilan kechadi.) Kimyoviy kuyishga termik kuyish eng yetarli va samarali choradir.

ZAHARLI VA YONUUVCHAN

NOMI	ORGANIZMGA TA'SIRI	YONUUVCHANLIK XAVFI	SAQLASH
Kislotalar Azot kislotasi	Butun nafas yo'llari va ko'zlarni achishtiradi. Terini kuydiradi	Yonuvchan moddalarning alangalanishiga yordam beradi. Qaytaruvchilar bilan yaxshi protiva gaz taqish kerak, yonuvchan materiallar bilan kontaktda bo'lganda ularni alangalatadi uni faqat qum, kul bilan o'chirish kerak. Suv ishlatmang! Yonuvchan emas	Shisha idishlarda saqlanadi Yonuvchan materiallar, material kukunlari, pikrin va xlor kislotalar
Sulfat kislota	Terini kuchli kuydiradi Ayniqsa teri va ko'z shilliq pardasiga kuchli ta'sir qiladi	Yonuvchan emas. Suv bilan kontaktda yonuvchan moddalarni alangalatishi mumkin. O'tni qum va kul bilan o'chiriladi	Shisha idishlarda 16° c dan yuqori haroratda saqlanadi
Xlorid kislota	Terini kuchli kuydiradi ayniqsa teri va ko'z shilliq pardasiga kuchli ta'sir qiladi	Yonuvchan emas Oksidlovchi Konsentrlangan sulfat kislotasi va yonuvchan moddalar bilan aralashtirilganda portlaydi	Shisha idishlarda 16° c dan yuqori haroratda saqlanadi
Fosfat kislota	Terini kuchli kuydiradi . Ayniqsa teri va ko'z shilliq pardasiga kuchli ta'sir qiladi.	Yonuvchan moddalar bilan kontaktda bo'lganida ularni alangalatadi	Shisha idishlarda 16° c dan yuqori haroratda saqlanadi
Kalsiy ishqori (so'ndirilmagan ohak)	Terini achishtiradi va kuydiradi	Yonuvchan havo bilan aralashma hosil qiladi. Suv va CO ₂ bilan o'chiriladi	Shisha yoki plastmassa idishlarda saqlanadi

Kuyish	Yordam
Olov, bug`, qizib turgan predmet bo'lagi bilan: A) Birinchi darajali (qizaradi)	Etil spirtiga ho'llangan paxta qo'yiladi, ho'llash qaytariladi

B) Ikkinchi darajali (pufaklar)	Yuqoridagidek va 3-5% li kaliy permanganate yoki 5% li tannin eritmasi bilan artiladi
V) Uchunchi darajali (to`qimalarning shikastlanishi)	Steril bog`lam qoyib, vrachni chaqirish kerak
Zaharlanishlar	
Morfin guruhidagi alkaloidlar	Jabrlanuvchiga 0.5g kamfara yoki 30 tomchi kardiamen beriladi. Achchiq choy va kofe ham foydali, sun'iy nafas oldirish, kislorod va uning 6% li CO ₂ bilan aralashmasi beriladi. 150-200 ml 0.2 % ammiyakning suvli eritmasi, undan so'ng sut beriladi
Aldigidlar	Ko`p miqdorda sirka yoki limon sharbati qo`shilgan suv ichiriladi va qustriladi. O`simlik moyi sut yoki tuxim oqi beriladi.
Ammiyak	Qustriladi. Natriy gidro sulfatning 1% eritmasi va kraxmal kleysteri va sut ichiriladi
Yod	Og`izni suv yoki 5% li natriybi karbanat eritmasi bilan chayiladi. Sut, ohak suvi, o`simlik moyi, suyuq xamir ichiriladi.
Kislotalar	Oshqozonni natriy permanganatning(1:1000) eritmasi bilan yuviladi. Shu tuzning 1% eritmasidan har 5 min.da osh qoshiqda beriladi yoki kuydirilgan magnezi (30/0) oqsilli suv, tuzli ich surgilar beriladi
Mis va uning tuzlari	Oshqozon yuviladi. Ichirish uchun- shilimshiq qaynatmalar, tannin, ko'mir og`izni kaliy xlorat bilan chayiladi
Kaliy permanganat bilan beriladi	3 ta xom tuxumni 1 l cha sut ichiriladi va qayt qildiriladi

2. OQSILLAR

Oqsillar yoki proteinlar - yuqori molekulyar organik birikmalar bo'lib, molekulalari α - aminokislotalardan tuzilgan. Oqsil tarkibiga quyidagi elementlar kiradi (%): Ugrerod - 50.1 - 54.5, Kislorod - 21.5 - 23.5, Vodorod - 6.5 - 7.3, Azot - 16.6 - 17.6, Oltingugurt - 0.3 - 2.5, Fosfor - 0.1 - 2. Ba'zibir oqsillarning tarkibida oz miqdorda yod, temir, mis, brom, marganes, rux, kalsiy va boshqa moddalar uchraydi.

Oqsillar hujayralarning eng muhim tarkibiy qismidir. Organizmda oqsillar turli xil funksiyalarni bajaradi: hujayraning struktura materiali sifatida xizmat qiladi; to'qimadagi moddalar almashinuvining hamma reaksiyalarni katalizlaydi; oqsillar energiya manbai hisoblanadi, ularning oksidlanishi natijasida energiya ajralib chiqadi.

Oqsillar ikkita sinfga bo'linadi: oddiy oqsillar va murakkab oqsillar. Oddiy oqsillarga albuminlar globulinlar, gestonlar, protaminlar kiradi. Murakkab oqsillar tarkibiga fosfoproteinlar, glyukoproteinlar, xromoproteinlar, nukleoproteinlar, lipoproteinlarni kiritish mumkin.

Oqsil eritmalarini tayyorlash. Rangli reaksiyalar va cho'kmaga tushurish reaksiyalari uchun tuxum oqsilining eritmasi tayyorlanadi. Bitta tuxumning oqsili sarig'idan ajratilib olinib, 15-20 ml distillangan suvda eritiladi. Eritma 3-4 qavat doka orqali filtrlanadi. Eritma xolodil'nikda saqlanadi.

Dializ uchun tuxum oqsilining eritmasini tayyorlash. Uchta tovuq tuxumining oqsilini ajratib, 700 ml distillangan suvda eritiladi. Eritma 3-4 qavat doka orqali filtrlanadi va xolodil'nikda saqlanadi.

Oqsil va aminokislotalarga xos rangli reaksiyalar

Oqsil gidrolizlangandan aminokislotalargacha parchalanadi. Oqsil tarkibini aminokislotalar o'zaro peptid bo'g'lari orqali birikadi. Ayrim aminokislotalar bir-biridan tarkibidagi turli tuman funksional guruhlar bilan farqlanadi. Bu guruhlar xos rangli reaksiyalar yordamida rangli reaksiyalar yordamida oqsillar, biologik suyuqliklar va aralashmalar tarkibidagi aminokislotalar aniqlash mumkin. Oqsil va aminokislotalarning sifat va miqdor jihatidan aniqlashda qo'llaniladigan rangli reaksiyalar ikki guruhga bo'lib o'rganiladi: birinchi guruhga oqsil tarkibidagi har xil kimyoviy bog'lar bilan hosil qilinadigan rangli reaksiyalar (biuret reaksiyasi), ikkinchi guruhga esa aminokislotalarning funksional guruhlar bilan hosil qilinadigan rangli reaksiyalar kiradi.

3. OQSILLARNI DIALIZ QILISH

Oqsillar dializ usulida turli xil tuzlar va kichik molekulali birikmalardan tozalanadi. Bu usulda ular maxsus dializ qiluvchi xaltachalarga solinib, oqar suvga uzoq vaqt botirib qo'yiladi. Dializ qiluvchi xaltachalar maxsus materiallardan tayyorlanadi. Bu materiallar kichik molekulali birikmalarni va ionlarni yaxshi o'tkazadigan bo'lishi kerak. Yarim o'tkazgich membranalar sifatida sellofan va hayvonlarning siydik pufagidan foydalanish mumkin. Dializ uchun ko'pincha sellofan xaltachalar ishlatiladi. Agar oqsillar turli xil tuzlar yordamida ajratib olingan bo'lsa, ular tarkibidagi tuz dializ yo'li bilan tozalaniladi.

Reaktivlar: tuxum yoki soya uni oqsilining eritmasi, osh tuzining to'yingan eritmasi, kumush nitratning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 20% li eritmasi, mis sulfatning 2% eritmasi.

Ishning borishi. Uzunligi 10-12 sm, diametrik 0.7 sm bo'lgan shisha nayning bir tomonini sellofan bilan berkitiladi. Shisha naychaga 5-6 tomchi oqsil eritmasidan va 2-3 tomchi osh tuzi eritmasidan quyiladi. Keyin shisha naycha 2-3 ml suvi bo'lgan probirkaga tushuriladi. 10-15 minut o'tgach shisha naycha olinadi va distillangan suvda xloridlar va oqsil bor yoki yo'qligi tekshiriladi.

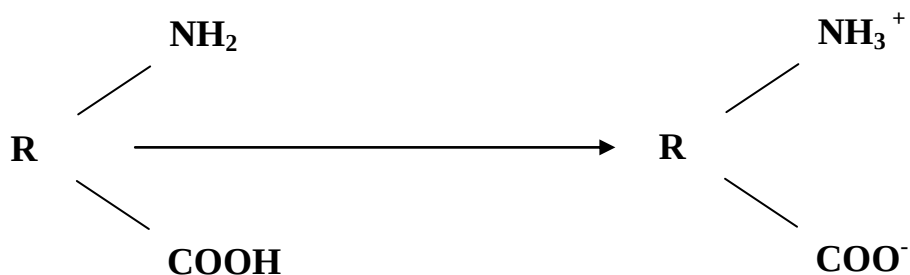
Xloridlarni aniqlash uchun distillangan suvda 0.5 ml probirkaga solib, ustiga kumush nitratning 1% li eritmasidan 0.2 ml qo'shiladi. Bunda kumush xlorid cho'kmaga tushadi.

Oqsillarni aniqlash uchun biuret reaksiyasidan foydalaniladi. Buning uchun distillangan suvdan 0.5 ml olib, uning ustiga natriy gidroksidning 20% li eritmasidan 0.5 ml va mis sul'fatning 2% li eritmasidan 5-10 tomchi qo'shiladi. Binafsha rang hosil bo'lmaganligi oqsil yo'qligidan darak beradi.

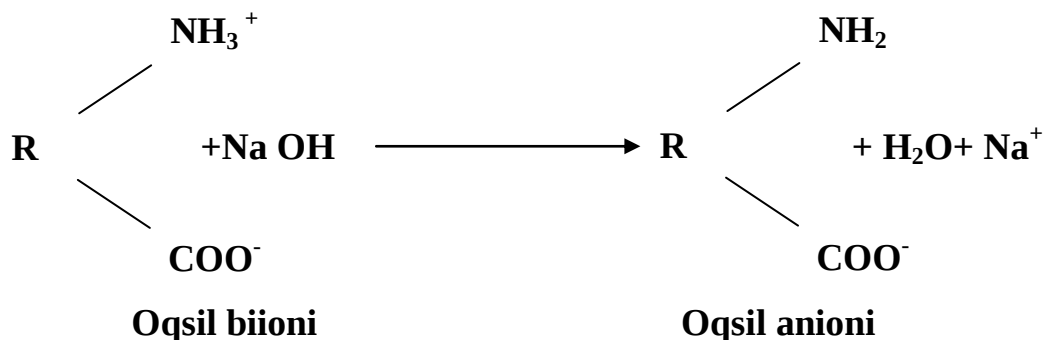
Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Oqsillar kimyoviy xossalarga ko'ra amfoter moddalar hisoblanadi, ularning molekulasida erkin korboksil va amin guruhleri bor. Oqsillarning kislotali xossalari polipeptid zanjirlari oxiridagi karboksil guruhlariga va dikarbon aminokislotalar hisobiga namoyon bo'ladi. Kislotali muhitni hosil qilishga tarkibidagi fenol gidroksilini tutuvchi tirozin va sulfigidril guruhi tutuvchi amonokislotalar ta'sir qiladi. Oqsillarning ishqoriy xossalari amin, imin, va diaminomonokarbon aminokislotalarning guruhleri hisobiga boradi.

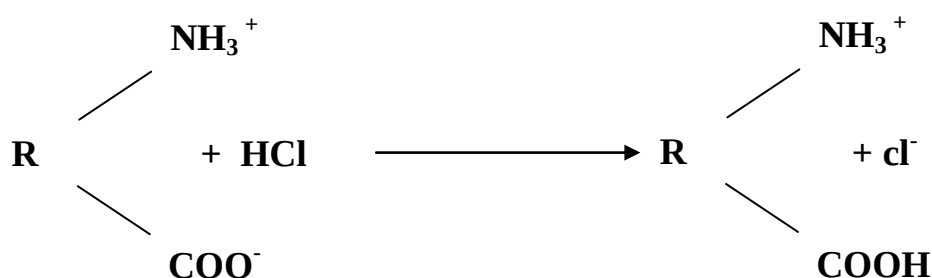
Ham manfiy, ham musbat zaryadli guruhlar mavjudligi tufayli oqsillar ham aminokislotalarga o'xshash amfoterlik xususiyatga ega. Suvli eritmada oqsillarning ishqor va kislotali guruhlar orasida protonlarning ko'chish tufayli, tarkibida ko'p – NH_3^+ va $-\text{COO}^-$ guruh tutuvchi amfion hosil bo'ladi. Agar manfiy va musbat zaryadlarning soni teng bo'lsa oqsil molekulasining zaryadi amaliy jihatdan nolga teng bo'lib, elektr maydonida hech qayoqqa siljimaydi.



Ishqoriy muhitda oqsillar ortiqcha COO^- guruhlarga ega bo'lib, anion rolini o'ynaydi. Masalan, natriy ishqori bilan oqsillarning natriyli tuzi hasil bo'ladi:



Aksincha, kislotali muhitda oqsil ortiqcha NH_3^+ guruhlariga ega bo'ladiva musbat ion sifatida katodga qarab harakat qiladi:



Amfionlar shaklida oqsil malekulasi zaryaddan mahrum bo'ladi va bunday kalloid zaracha eritmada turg'unligini yo'qotadi. Oqsillarning musbat va manfiy zaryadlari yig'indisi nolga teng bo'lib, elektor maydonida na katod va anod tomoniga siljimaydigan eritmaning pH oqsillarning **izoelektrik nuqtasi** deb ataladi. Turli oqsillarning izoelektrik nuqtasi pH ning har xil o'lchamiga to'g'ri keladi, chunki oqsil malekulalarida ishqor va kislota xarakteriga ega guruhlarining soni bir-biriga teng emas, pH ning turli ko'rsatgichlarida ularning dissotsilanish darajasi baravarlashib, molekula, umuman, elektroneytral holatiga keladi. Masalan, kazeinning pH-4.2; tuxum albuminining oqsili-4.8; jelatininniki-4.9; zein (jo'xori oqsili) niki - 6.2 ga teng. Protaminlar va gistonlarning izoelektrik nuqtasi kuchsiz ishqoriy muhitga to'g'ri keladi.

Oqsillarning izoelektrik nuqtasida cho'kmaga tushurishini tezlashtirish uchun suvni tortib oluvchi moddalar (spirt, atseton, efir) yoki tannin qo'shiladi. Organic erituvchilar oqsil makromalekulasining suv qobig'ini buzib yuboradi, masalan, tanin bilan azotli geterosiklik guruhlar suvda erimaydigan birikmalarni hasil qiladi.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ: 2 va 10 ml li pipetkalar.

Reaktivlar, 1. Jelatinaning 1 % li eritmasi. 2. Sirka kislatasining 0.1 n eritmasi. 3. Sirka kislotasi natriyli yuzining 0.1 n eritmasi. 4.96 % li etil spirit. 5. Taninning 0.1% li eritmasi.

Ishning borishi. Beshta probirkada turli pH li buffer eritmalar tayyorlanadi, ya'ni sirka kislotasining eritmasidan va sirka kislotasining natriyli tuzi eritmasidan,

jadvalda ko'rsatilgan miqdorda solinadi. So'ngra har bir prabirkaga 1 ml jelatina eritmasidan solib yaxshilab aralashtiriladi. Shundan so'ng prabirkalarga 4 ml dan spirt qo'shiladi (yoki 1 ml tanin eritmasidan) va aralashtiriladi. 15-20 minutdan keyin prabirkalarda loyqa hasil bo'ladi, loyiqalanish darajasi probirkalardagibuffer aralashmaga bog'liq. Ma'lumki pH aralashmaning eng yuqori loyiqalanishi jelatinaning izoelektrik nuqasiga to'g'ri keladi. Jelatinaning izoelektrik nuqtasi pH-4.7. jadvalda quyqum hosil bo'lgan probirkalarga qo'yilgan + ishorasi quyqum hosil bo'lish darajasini ko'rsatadi.

Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash:

Prabir- kalar nomeri	Bufer aralashmalarining miqdori, ml		Aralashmala rning pH i	Jelatinaning 15 li eritmasi, ml	Etil spirt, ml	Qoyqum hosil bo'lish darajasi (+)
	0.1 n CH ₃ COOH	0.1 n CH ₃ COONa				
1	1.8	0.2	3.8	1	4	
2	1.4	0.6	4.4	1	4	
3	1.0	1.0	4.7	1	4	
4	0.6	1.4	5.1	1	4	
5	0.2	1.8	5.7	1	4	

4. OQSILLARNING FIZIK VA KIMYOVIY XUSUSIYATLARI.

OQSILLARNICHOKTIRISH REAKSIYALARI

Turlireaktivlar oqsil moddalarning fizik-ximiyaviy xossalariga ta'sir etib, makromlekula strukturalarini o'zgarishiga olib keladi.oqsillarning cho'ktirish reaksiyalarni ikkita gruhga bo'lishmumkin: oqsillarni denaturasiyasiz cho'ktirish (neytralishqoriy metal tuzlari) va denaturatsiya yo'li bilan cho'ktirish (harorat, mineral va organik kislotalar, og'ir metal tuzlari, alkaloid reaktivlari).

Oqsilni cho'kmaga tushishi unga bog'langan suv pardasining buzilishiga bog'liq. Gidrofil moddalar, organic erituvchi-aseton, etil spirit, ishqoriy metallar-neytral tuzlarining konsentralangan eritmalar oqsilning suv pardasini buzib, uning eruvchanligini kamaytiradi. Organik erituvchilar, ammoniy sulfat, natriy xlorid, natriy sulfat, natriy fosfat va boshqa eritmalar oqsilga ta'sir ettirilganda, oqsil cho'kmaga tushadi.

Oqsil eritmalariga turli tuzlar qo'shilganda, uning cho'kmaga tushirish reaksiyalari **oqsillarni tuzlash** deyiladi. Bu jarayonda oqsilmolekulalari gidrat

pardalaridan xoli bo'lib, bir-biri bilan oson qo'shiladi. Oqsil tuzlanish natijasida ko'pincha tabiiy holatni o'zgartirmaydi. Cho'kmadan tuz ionlarini dializ yo'li bilan cheklatilganda oqsil qaytadan eritmaga o'tadi. Bunday reaksiyalar *qaytar reaksiyalar* deb ataladi.

Ammoniy sulfat va natriy sulfat bilan tuzlash usuli oqsillarni native holatini buzmay ajratib olishda qo'llaniladi. Masalan, qon zardobidagi oqsillar ammoniy sulfat bilan chala to'yintirilganda. Globulinlar ajralib chiqadi, globulinlar chokmasini filtrlab, eritmaga to'la to'yinguncha tuz kristallidan qo'shilsa, albuminlar fraksiyasi cho'kmaga tushadi.

Og'ir metal (mis, simob, rux, kumush, qo'rg'oshin va hokazo) tuzlari oqsil eritmasiga ta'sir etganda, ular oqsil molekulasidagi sulfhidrilguruh-SH bilan birikma hosil qilib, oqsil molekulasining strukturasi o'zgartiradi. Oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan cho'ktirish, qaytarilmaydigan jarayonlardir, ya'ni cho'kmaga tushgan oqsilni qaytadan eritma holida keltirib bo'lmaydi.

Oqsillarni neytral tuzlar yordamida cho'ktirish

Oqsillarni nativ (tabiiy) holda ajratib olish uchun tuzlash reaksiyalari yaxshi natija beradi. Neytral tuzlar har xil muhitda turlicha ta'sir ko'rsatish xususiyatiga ega. Masalan sulfat ammoniy tuzi ta'sirida oqsillar neytral sharoitda, natriy xlorid ta'sirida esa nordon sharoitda cho'kma yaxshi tushadi.

Oqsillarni ammoniy sulfat ta'sirida cho'ktirish

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shativ, filtr qog'oz; voronka; 2.5 ml li pipetklar.

Reaktivlar. 1. Qon zardobi yoki tuxum oqsilining eritmasi; soya uni oqsili;
2. Ammoniy sulfatning to'yingan eritmasi. 3. Ammoniy sulfatning kristall tuzi.
4. Natriy ishqorining 10% li eritmasi. 5. Mis sulfatning 1% li eritmasi

Ishning borishi. Probirkaga 2-3 ml qon zardobidan yoki suyiltirilgan tuxum oqsilidan solib, teng hajmida ammoniy sulfatning eritmasidan to'yingan eritmasidan qo'shiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Natijada globulin oqsillari cho'kmada tushadi. 8-10 minutdan keyin filtratdagi albuminlarni choktirish uchun ammoniy sulfatning kristallaridan to'yinguncha qo'shiladi, natijada albuminlar cho'kmaga tushadi, so'ng cho'kma filtrlanadi.

2-3 ml filtratdan olib, biuret reaksiyasi bajariladi. Agar oqsillar to'liq cho'kmaga tushganbo'lsa, filtrate bilan biuret reaksiyasi hosil bo'lmaydi. Globulin va albumin cho'kmalari suvda eritiladi va biuret reaksiyasi bajariladi.

Oqsillarni natriy xlorid ta'sirida cho'ktirish

Reaktivlar. 1. Natriy xlorid tuzining kristali. 2. Sirka kislotasining 2% li eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga 2-3 ml qon zardobi yoki tuxum oqsilidan solib, natriy xlorid tuzining kristallaridan to'yinguncha qo'shiladi. 3-5 minutdan keyin probirkada glabulinlar cho'kmasi hosil bo'ladi. So'ngra cho'kma filtrlanadi. Filtratda albuminlar qoladi. Albuminlar to'yinguncha neytral eritmalarda cho'kmaga tushmaydi. Filtratga 4-6 tomchi sirka kislotasining 2% li eritmasidan qo'shiladi, oradan 10min o'tgach cho'kma filtrlanadi. Cho'kmalar suvda eritilib, biuret reaksiyasi bajarib ko'riladi.

Oqsillarning mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish

Oqsillar konsentrlangan mineral kislotalar (ortofasfat kislotadan tashqari) ta'sirida cho'kmaga tushadi. Bu reaksiya qaytmas reaksiya hisoblanadi, chunki oqsilning kolloid zarachalari degidratsiyalanadi va ularning zaryadlari neytrallanadi, natijada kopleks birikmalar hosil bo'ladi. Bunday holda oqsillar qaytmas denaturatsiyaga uchraydi. Ortiqcha mineral kislotalar (natriy kislotadan tashqari) cho'kmaga tushgan oqsillarni eritib yuboradi.

Reaktivlar. 1. Konsentrlangan xlorid kislotasi. 2.konsentrlangan sulfat kislotasi. 3 tuxum oqsilining eritmasi; soya uni oqsili.

Ishning borishi. Uchta probirkaga ehtiyotkorlik bilan 1 ml kislota: birinchisiga- xlorid, ikkinchisiga- sulfat va uchinchisiga – nitrat kislotadan solinadi. So'ng hamma probirkaga 1 ml dan oqsil eritmasidan qo'shiladi. Shunday oqsil bilan kislota chegarasida oq halqahosil bo'ladi. Har bir probirka sekin-asta chayqatiladi. Ortiqcha xlorid va sulfat kislotasi bo'lganligi uchun birinchi va ikkinchi probirkalardagi nitrat kislotasi bilan hosil qilingan cho'kma erib ketmaydi, chunki hosil bo'lgan cho'kma ortiqcha nitrat kislotasida erimaydi.

Oqsillarni organik erituvchilar bilan cho'ktirish.

Organic erituvchilar (spirt, efir,aseton va boshqalar) ta'sirida oqsil makromolekulasining suvli qobig'i (gidrosferalari) buziladi, ya'ni denaturatsiyaga uchraydi, natijada eritmadagi oqsillarning eruvchanligi kamayadi va oqsil cho'kmaga tushadi. Oqsil eritmasida tuz ishtirok etsa ($NaCl$), kolloid zarachalarning zaryadini o'zgarishiga olib keladi, bu hol oqsil eritmalarining chidamligini yanada kamaytiradi. Cho'ktirish spirt (xloroform) bilan sovuq sharoitda olib borilsa, hosil bo'lgan oqsil cho'kmasi suvda eriydi, ya'ni bunda oqsil xossalari o'zgarmaydi, denaturatsiyaga uchrashga ulgurmaydi. Agar oqsil uzoq vaqt spirtida tursa, denaturatsiyaga uchraydi v hosil bo'lgancho'kma suvda, neytral tuzlar eritmasida erimaydi.

Reaktivlar. 1. Oqsil eritmasi. 2. 96% li etil spiriti. 3. Aseton. 4. Xloroform. 5. Natriy xlorid tuzining kristali.

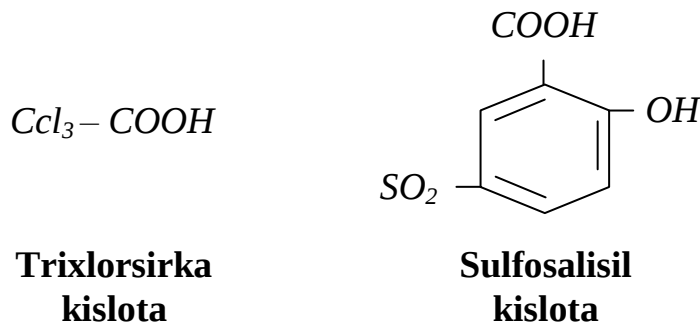
Ishning borishi. Uchta probirkaga 1-2 ml dan oqsil solinadi va 0.2, - 0.3 g natriy xlorid tuzidan qo'shib, yaxshilab aralashtiriladi.

Birinchi probirkaga tomchilab 2-3 ml spirt, ikkinchi probirkaga 2-3 ml aseton va uchinchi probirkaga 2-3 ml xloroform solinadi. Probirkalar chayqatiladi va 5-6 inutdan keyin oqsil cho'kmaga hosil bo'lganligini ko'rish mumkin.

Oqsillarni organik kislotalar bilan cho'ktirish.

Organic kislotalar oqsillarni eritadan qaytmas cho'kmaga tushiradi. Turli kislotalarning ta'sir qilish kuchli bir biridan farq qiladi.

Eng samarali va o'ziga xos ta'sir qiluvchi sulfosalisil va trixlorsirka kislotasidir.



Trixlorsirka kislota ta'sirida faqat oqsillar, sulfosalisil kislota ta'sirida esa oqsillardan tashqari, peptonlar va polipeptidlar ham cho'kmaga tushadi.

Reaktivlar. 1. Tuxum oqsilining eritmasi; soya uni oqsili. 2. Sulfosalisil kislotasining 10% li eritmasi. 3. Trixlorsirka kislotasini 10% li eritmasi.

Ishning borishi. Ikkita probirka olib 2 ml dan oqsil eritmasidan solinadi va birinchi probirkaga 5-8 tomchi sulfosalisil kislotasidan, ikkinchi probirkaga 5-8 tomchi trixlorsirka kislotasidan qo'shiladi. Probirkalar chayqatiladi va oqsillar cho'kmaga yushganligi kuzatiladi.

Oqsillarni og'ir metall tuzlari ta'sirida cho'ktirish.

Oqsillar mis, qo'rg'oshin, simob, rux, kumush va boshqa og'ir metallarning tuzlari ta'sirida cho'kmaga tushadi.

Oqsillar bilan og'ir metall ionlarning o'zaro ta'siri juda murakkab bo'ladi. Avvalo suvda erimaydigan kompleks birikmalar hosil bo'ladi, ortiqcha tuzlarning eritmasida ($AgNO_3$, $HgCl_2$) eriydi. Og'ir metall tuzlari ta'sirida oqsillar denaturasiyasiga uchraydi. Oqsil makromolekulasining ikkilamchi va uchlamchi strukturasi buziladi, peptid zanjirining holatlari o'zgaradi, ularning orasidagi bog'larda uzilish hollari ro'y beradi (disulfide bog'lari). Disulfide bog'lari oqsillarning ikkilamchi va uchlamchi struktura tuzilishida katta rol o'ynaydi. Zanjirlar orasidagi uzilish oqsil strukturasi o'zgarishiga- oqsillarni qaytmas denaturasiyasiga olib keladi.

Reaktivlar. 1. Tuxum oqsili; soya uni oqsili. 2. Mis sulfatning 5% li eritmasi. 3. Qo'rg'oshinning sirka kislotali tuzining 5% li eritmasi. 4. Kumush nitratning 3% li eritmasi.

Ishning borishi. Uchta probirkaga 1-2 ml dan oqsil eritmasi solinadi. Birinchi probirkaga tomchilab mis sulfat eritmasidan, ikkinchi probirkaga qo'rg'oshinning sirka kislotali tuzi eritmasidan, uchinchi probirkaga esa kumush nitrat eritmasidan qo'shiladi. Probirkalar chayqatilganda, hamma probirkalarda oqsil cho'kmasi hosil bo'ldi. Ortiqcha reaktivdan qo'shilsa, birinchi va ikkinchi probirkaga kumushnitrat eritmasidan ioriqcha qo'shilganda ham cho'kma erimaydi.

Oqsillarni alkaloidlar reaktivi bilan cho'ktirish.

Alkaloidlar – azot tutuvchi moddalar bo'lib, kuchli fiziologik ta'sir qilish xususiyatiga ega. Alkaloidlarga quyidagilar: morfin, papaverin, antropin, kofein, efedrin va boshqa birikmalar kirib, bular davolash praktikasiga ko'p ishlatiladi.

Ko'p alkaloid reaktivlari ta'sirida oqsillar cho'kmaga tushadi. Bularga quyidagilar kiradi: tanin, yodni kaliy yoddagi eritmasi (Bushard reaktivi), vismut yodni kaliy yoddagi eritmasi (Dragendorf reaktivi), pikrin kislotasi va boshqalar.

Oqsil moddalarini alkaloid reaktivlari bilan cho'kma hosil qilishining asosiy sababishundan iboratki, aminokislotalar va alkaloidlar tarkibiga kiradigan geterosiklik guruhlarning o'xshashligidir (indol, imidazol va boshqalar). Alkaloid reaktivlari bilan erimaydigan birikmalarni hosil qiladi. Oqsilni alkaloid reaktivlari bilan cho'ktirishga kuchsiz organik kislotalar (masalan, sirka kislotasi) yaxshi ta'sir qiladi, aksincha kuchli kislotalar bu jarayonga qarshilik ko'rsatadi. Cho'kma ishqoriy sharoitda cho'kib ketadi.

Reaktivlar. 1. Tuxum oqsili; soya uni oqsili. 2. Pikrin kislotasining 1% li eritmasi. 3. Taninning 10% li eritmasi. 4. Bushard reaktivi: 1g yod, 2g kaliy yod, 50 ml suv. Bu reaktivni tayyorlash uchun kaliy yodi bir necha ml suv eritiladi. Shu eritmada yod eritiladi, so'ngra hajmi distillangan suv bilan 50 ml ga etkaziladi. 5. Dragendorf reaktiva vismut yodining kaliy yoddagi eritmasi: 13.5g kaliy yodi 20 ml distillangan suvda eritiladi. 2.5 g vismut nitrat 10 ml nitrat kislotasida alohida eritiladi. So'ngra idishda qoldiriladi. Bunda idish tagiga kaliy nitratning kristallari cho'kadi. Tiniq eritma ehtiyotkorlik bilan boshqa idishga qo'yiladi va hajmi suv bilan 50 ml ga yetkaziladi. 6. Sirka kislotasining 1% li eritmasi.

Ishning borishi. To'rtta probirkaga 1-2 ml oqsil eritmasi, so'ngra har bir probirkaga 3-5 tomchi 1 % li sirka kislotasidan solinadi. Shundan keyin birinchi probirkaga 4-5 tomchi pikrin kislota eritmasidan, ikkinchi probirkaga 2-4 tomchi eritmasidan, uchinchi probirkaga 2-4 tomchi Bushard reaktividan, to'rtinchiga 2-4 tomchi Dragendorf reaktividan qo'shiladi. Natijada oqsil cho'kmasi hosil bo'ladi.

Oqsillarni yuqori harorat ta'sirida cho'kmaga tushirish.

Barcha oqsillar yuqori harorat ta'sirida cho'kmaga tushadi. Oqsillar kuchsiz kislotali muhitda oson cho'kadi. Kuchli ishqoriy va kislotali muhitda yuqori harorat ta'sirida oqsillar cho'kmaga tushmaydi, chunki oqsil molekulalari kuchli musbat yoki kuchli manfiy zaryadga ega bo'ladi.

Reaktivlar. 1. Tuxum oqsilining eritmasi; soya uni oqsili. 2. Sirka kislotasining 2% li eritmasi. 3. Natriy ishqorining 10% li eritmasi. 4. Natriy xloridning to'yingan eritmasi.

Ishning borishi. 1. Oltita probirka olib, 10 tomchidan oqsileritmasi solinadi. 2-3 probirkalarga 2 tomchi sirka kislotasining 2% li eritmasi tomiziladi. 4-5 probirkalarga 10 tomchi sirka kislotasining eritmasidan qo'shiladi. 6- probirkaga 2 tomchi natriy ishqorining 10% li eritmasidan solinadi. Endi 3 va 5 probirkalarga 5 tomchi natriy xloridning to'yingan eritmasi qo'shiladi. Hamma probirkalar qaynaguncha qizdiriladi. Probirkalarga cho'kma hosil bo'lish tezligi belgilab beriladi.

Tajribada olingan natijalar asosidajadval to'ldiriladi:

Probirkalarning nomeri	Probirkalarga moddalar topchilib solinadi			
	Oqsil	CH ₃ COOH	NaOH	NaCl
1	10			
2	10			
3	10			
4	10			
5	10			
6				

5. AMINOKISLOTALARNI YUPQA QAVATLI XROMATOGRAFIYA USULI BILAN ANIQLASH.

Yupqa qavatli xromatografiya usulida oqsil gilrolizatlari yoki aminokislotalar aralashmasidan barcha aminokislotalarni ajratish mumkin. Yupqa qavat sifatida ko'pincha silikagel, alyuminiy oksidi, sellyuloza hosilalari va boshqa moddalardan, tayyor maxsus plastinka (silufol)lardan foydalaniladi.

Bu metod ikkita aralashmaydigan suyuqliklar fazasida (harakat qilmaydigan suv fazasi va harakatlanuvchi organik erituvchi fazasi) aminokislotalarning turlicha bo'lish darajasiga asoslangan. Aminokislotalar suvli fazada ko'p erisa, organik erituvchilarning frontida sekin harakatlanadi. Barcha aminokislotalarning siljish tezligi turlichadir. Siljish tezligining koeffisienti quyidagicha hisoblanadi.

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

Bu yerda: α -aminokislota tomizilgan joyidan to shu aminokislota hosil qilgan dog'ning o'rtasigacha bo'lgan masofa, sm; β -eritmaning fronti, sm.

Aminokislotalar bo'lingandankeyin plastinka quritiladi va ningidrin eritmasidan purkaladi. α -aminokislotalar ningidrin bilan o'zaro ta'siretib oksidlangach, ammiak, aldegid va karbonat kislotaga parchalanadi, ningidrin qaytariladi. Qaytarilgan ningidrin hamda ningidrinning boshqa malekulasi amiak bilan reaksiyaga kirishib ko'k binafsha rangni beruvchi murakkab mureksid birikmasini hosil qiladi.

Kerakli asboblari: Xromatografiya kamerasi; thermostat; 0.1 ml li pipetka.

Reaktivlar. 1. 0.1 M sitrat buferi, pH-5,3.2.0,1% li ningidrinningasetondagi eritmasi. Xromatografiya plastinkalardagi rangning turg'un bo'lishi uchun ningidrinli reaktivga kadmiy qo'shiladi. Bu eritma 5:1 nisbatda tayyorlanadi:

1.1% li ningidrinning asetondagi eritmasidan -5 qism. 2. Kadmiy asetoning aralashmasi; bu aralashmani tayyorlash uchun 50 ml sirka kislota va 100 ml suv olib aralashtiriladi hamda bu aralashmada 1 g kadmiy asetat eritiladi. So'ng ushbu eritmadan -1qism olinadi. 3. Oqsil gidrolizati. 4. "Silufol UV-254" plastinkasi.

Ishning borishi. "UV-254" plastinkasini pastki talrafidan 2-2.5 sm o'lchab olib, oddiy qalam bilan strat chizig'i chiziladi. Tekshirilayotgan oqsil gidrolizatlari bir-biridan 1.5-2 sm oraliq masofada tomiziladi. So'ng bu oqsil gidrolizatlaridan 10-20 ml olib, tomchilab tomiziladi va dog' issiq havo bilan quritiladi- xromatografiya kamerasiga virtual holatga qo'yiladi. Xromatografiyalanish maxsus kameralarda olib boriladi, erituvchi sifatida 0.1 M sitrat buferi pH-5.3 ishlatiladi. Erituvchi kameraga 1-1.5 sm qalinlikda qo'yiladi.

Erituvchi plastinka balandligi 4/5 qismigiga ko'tarilganda, plastinka kameradan olinadi va issiq havoga quritiladi. Shundan so'ngplastinkada ehtiyodkorlik bilan 1% li ningidrinni asetondagi eritmasidan purkaladi. Plastinkani 105⁰C da thermostatda 10 minut davomida qizdiriladi. Natijada aminokislotalar ko'k binafsha dog'lar holida ko'rinadi. So'ngra har bir aminokislotani yuqori ko'rsatilgan formula yordamida siljish tezligi koeffisienti (Rf) hisoblanadi.

Tekshirilayotgan oqsil gilrolizati bilan birga kontrol (standart) eritmalar ham xromatogirafiya qilinadi. Bu tekshirilayotga na'munadagi aminokislotalarni tezda aniqlashga imkon beradi. Shuni takidlab o'tish kerakgi yupqa qavatli xromotografiya usulida aminokislotalar sifat jihatdan baholanadi va ularning miqdorini aniqlashga imkon bo'lmaydi.

7. MURAKKAB OQSILLAR.

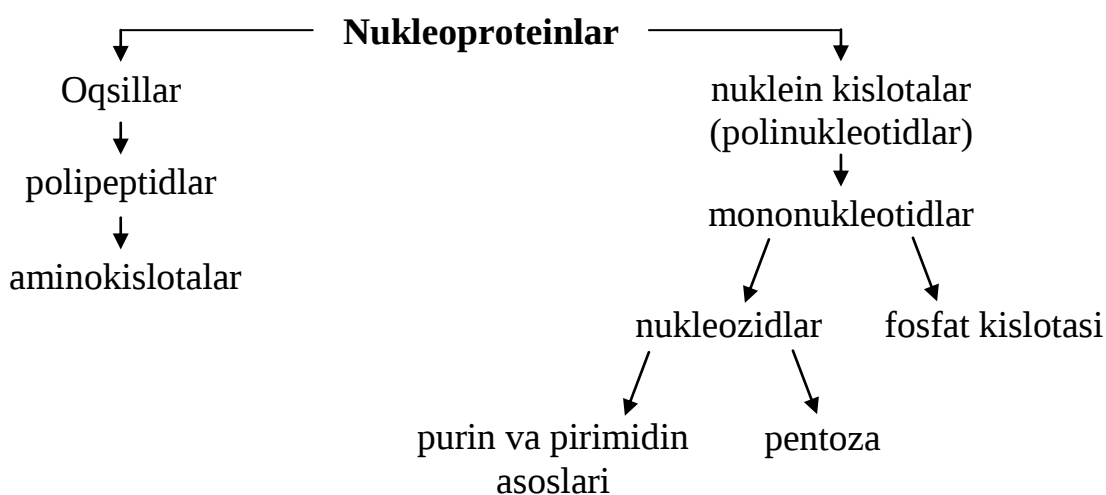
Murakkab oqsillar makromolekulasi tarkibiga aminokislotalardan tashqari oqsil bo'lmagan boshqa komponentlar (prostitik guruh) ham kiradi. Murakkab oqsillar

prostetik guruhlarining (nuklein kislotalar, uglevod, lipid, vitamin metall va boshqalar) ximiyaviy tabiatiga ko'ra quyidagi guruhlariga bo'linadi: nukleoproteinlar, xromoproteinlar, glikoproteinlar, lipoproteinlar metalloproteinlar va fosfoproteinlar.

Nukleoproteinlar

Nukleoproteinlar prostetik guruhlarini nuklein kislotalari-DNK yoki RNK dan iborat. Nukleoproteinlar ishqoriy sharoitda yaxshi eriydi va kislotalar ta'sirida cho'kmaga tushadi. Dezoksiribonukleoproteinlar kichik konsentratsiyali tuz eritmasida cho'kadi, yuqori konsentratsiyali tuzlar eritmasida esa eriydi.

Nukleoproteinlar suyultirilgan kislotalar bilan chala gidroliz qilinganda ulardan oqsil va nuklein kislota ajralib chiqadi. Nukleinkislotalarining o'zi gidrolizlanganda birin ketin quyidagi parchalanish maxsulotlari hosil bo'ladi.



Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; pipetkalar; suv hammomi.

Reaktivlar. 1. Nukleoproteinlarning cho'kmasi. 2. Sulfat kislotasining 5% li eritmasi. 3. Konsentrlangan sulfat kislotasi. 4. Natriy ishqorining 10% li eritmasi. 5. Ammiyakning konsentrlangan eritmasi. 6. Natriy ishqorining 10% li eritmasi. 7. Mis sulfatning 1% li eritmasi. 8. Kumush nitratning ammiyakli eritmasi: kumush nitratning 1-2% li eritmasi ammiyak eritmasidan qo'shiladi, natijada cho'kma hosil bo'ladi, so'ngra molibden reaktivi: 3.75 g ammoniy molibdat 50 ml suvda eritiladi va 50 ml 32% li nitrat kislota qoshiladi.

Nukleoproteinlarni achiqidan ajratib olish va ularni gidrolizlash.

Nukleoproteinlarni o'rganish uchun ko'pincha achitqi zamburug'laridan foydalaniladi. Qisqa muddat davomida achitqi zamburug'lari kislotali gidroliz qilinsa, ular polipeptidlar, purin va pirimidin asoslari hamda riboza, dezoksiriboza va fosfor kislotasida parchalanadi. Natijada hosil bo'lgan mahsulotlar maxsus reaksiyalar yordamida aniqlanadi.

Ishning borishi. 2g achitqi zamburug'ining chinni havonchaga solib, 3-4 tomchi efir va 2-4 ml distillangan suv qoshib eziladi. Yaxshi ezilishi uchun bir oz shisha kukunlaridan qoshish mumkin. Achitqi bir xil massa hosil bo'lguncha 1-2 minut davomida eziladi. Yaxshi ezilishi uchun bir oz shisha kukunlaridan qo'shish mumkin. Achitqi bir xil massa hosil bo'lguncha 1-2 minut davomida eziladi. Natriy gidroksidining 0.4% li eritmasidan 8 ml qo'shib, 10-15 minut davomida eziladi. So'ngra havonchadagi aralashma filtrdan o'tkazilib, filtratga 2-3 ml 5% li asetat qoshiladi. Bunda nukleoproteinlar cho'kmaga tushadi. Cho'kmani sentrifugalash yoki filtrlash usuli bilan ajratib olinadi va gidroliz qilinadi. Cho'kmani keng probirkaga solib, ustiga 5-10 ml sulfat kislotaning 10%li eritmasidan qo'shiladi. Sovitkich sifatida uzunligi 25-30 sm shisha naycha o'rnatilgan probka bilan berkitilib, qaynab turgan suvda 1 soat davomida gidrolizlanadi. Gidrolizatdan quyidagi ishlarni bajarishda foydalaniladi.

Eslatma: nukleoproteinlarni achitqilardan ajratib olmasdan, ularni gidrolitik parchalash mumkin. Buning uchun 1g presslangan achitqi kolbaga solinib, unga 30-40ml 5% li sulfat kislota eritmasidan qo'shiladi va kolba shisha trubka o'rnatilgan tiqin bilan berkitilib, 1-1.5 soat qaynatiladi. Shundan so'ng kolba sovutilib filtirlanadi. Filtrat bilan ko'rsatilgan reaksiyalar bajariladi.

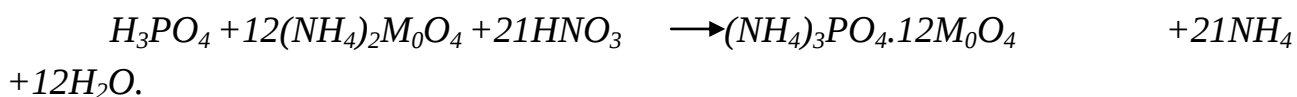
1. Polipeptidlar uchun filtrat bilan biuret reaksiyasi bajarilib ko'riladi. Probirkaga 1-2 ml filtrat, 1-2 ml natriy ishqorining 10% li eritmasi solinadi va 3-4 tomchi 1% CuSO_4 qo'shib aralashtiriladi, natijada oqsillar tarkibidagi peptid bog'i uchun xos binafsha rang hosil bo'ladi.

2. Purin asoslarini bilash uchun probirkaga 2ml filtratdan solinadi, 5-6 tomchi konsentranlangan ammiyak tomiziladi so'ngra 0.5ml kumush nitratning ammiyakli eritmasidan qo'shiladi. Bir necha minutdan so'ng purin asoslari kumushli tuzning cho'kmasi hosil bo'ladi.

3. Pentozalar uchun Trommer reaksiyasi bajariladi. Riboza ishqoriy sharoitda mis sulfatni mis gidroksidgacha (CuOH) qaytaradi. Probirkaga 1-2 ml filtratdan va shunga teng hajmga natriy ishqoridan solib aralashtiriladi, 2-3 tomchi mis sulfatdan qo'shib qizdiriladi.

Reaksiya natijasida mis gidroksidining (CuOH) qizil cho'kmasi hosil bo'ladi.

4. Fosfat kislotasi uchun reaksiya. Fosfat kislota molibdat reaktivi bilan sariq kristall fosmolibdat kislotasining ammoniyli tuzini hosil qiladi:



Probirkaga 1-2 ml filtratdan solib, teng hajmda molibdat reaktividan qo'shiladi va 2-3 minut qaynatiladi. Natijada fosmolibdan kislotasining ammoniy tuzi sariq cho'kma hosil bo'ladi.

8. UGLEVODLAR

Uglevodlar o'simlik va hayvon organizmining muhim tarkibiy qismlaridan biri hisoblanadi. Odam va hayvonlar organizimida uglevodlar miqdori 2% bo'lib, ular juda ko'p funksiyalarni bajaradi.

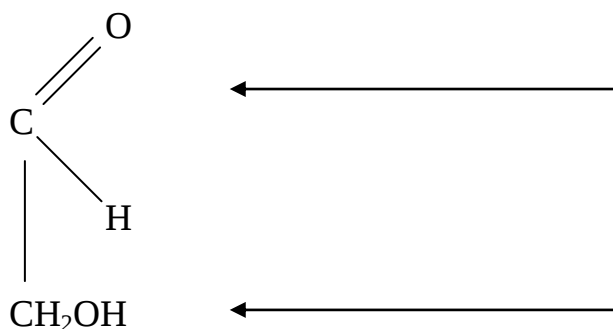
1. Uglevodlar oragnizm uchun asosiy energiyadir 1g uglevodning parchalanishida 4.1 kkal energiya ajralib chiqadi.

2. Uglevodlar plastic funksiyani bajaradi. Ular hujayralar membranasi, hujayra struktura komponentlari va nukleoproteinlar, gilikoproteinlar, glikolipidlar, bir qator vitaminlar hamda kofermentlar tarkibiga kiradi. Uglevodlar o'simliklarda asosan tayanch vazifasini o'taydi.

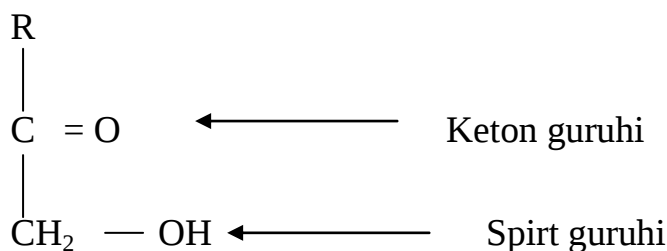
3. Uglevodlar zapasi oziq moddalar sifatida katta ahamiyatga ega. O'simliklar kraxmal, hayvonlarda glikogen uglevodlarning zaxira shakli hisoblanadi, zarur bo'lganda sarf qilib turiladi. Jigar va muskullar asosan glikogen deposidir.

4. Himoya funksiyasi bu funksiyani mukopolisaxaridlarning asosiy vakillari: gialuronat kislota, geparin bajaradi. Gialuronat kislota to'qimalar va hajayralar aro biriktiruvchi to'qima tarkibiga kirib, ularni yopishtirib turadi. U to'qimlarga turli xil shkast yetkazuvchi moddalarning kirishiga to'sqinlik qiladi. Geparin hayvon to'qimalarida (jigar, taloq va boshqalar) qon ivishining kuchli ingibitoridir.

Uglevodlar ximiyaviy tuzilishiga ko'ra ko'p atomli spirtlarning aldigidi yoki ketoni hisoblanadi.



Ketonspirt tuzilishida keton va spirt guruhi bo'ladi:



Uglevodlar tuzilishi va xususiyatiga qarab 2 ta katta guruhga: oddiy uglevodlar- monosaxaritlar va murakkab uglevodlar- polisaxaridlarga bo'linadi. Polisaxaritlar ikkita kichik guruhni tashkil qiladi. Bular molekulyar og'irligi uchun katta bo'lmagan oligosaxaridlar va haqiqiy polisaxaridlardir.

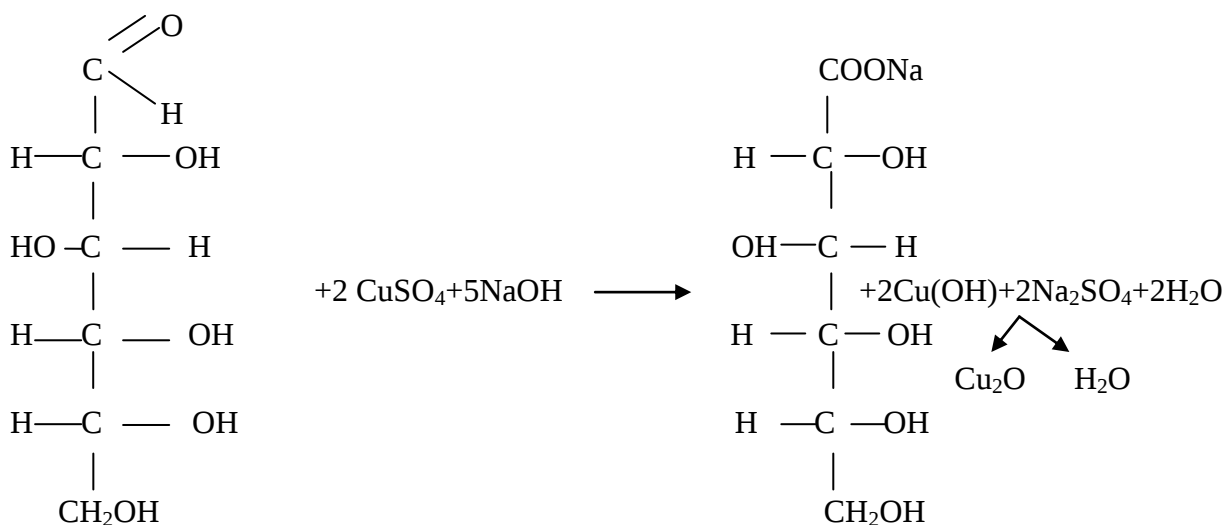
Monosaxaridalar

Monosaxaridalar tarkibidagi uglerod atomi soniga qarab trioza, tetroza, pentoza, geksoza, geptoza va boshqalarga bo'linadi. Bularning umumiy formulasi- $C_nH_{2p}O_p$. Monosaxaridalar qaytaruvchanlik xususiyatini namoyon qiladi, chunki ularning tarkibida karbonil guruhi bor.

Monosaxaridlarning qaytaruvchanlik xossalari

Hamma monosaxaridlar ishqoriy sharoitda mis, kumush va boshqa metall tuzlari ionlarini qaytarish xossalarini namoyon qiladi. Bu reaksiya monosaxaridalar molekulasidagi aldegit guruhi hisobiga namoyon bo'lib, bu guruh oson oksidlanib, karboksil guruhini hosil qiladi, metall ionlari esa qaytariladi.

1. Trommer reaksiyasi. Glyukoza ishqoriy sharoitda mis sulfat tuzi bilan reaksiyaga kirishib, mis okridigacha qaytaradi va o'zi glyukonat kislotasini hosil qiladi.



Gulyukoza

Natriy glyukonat

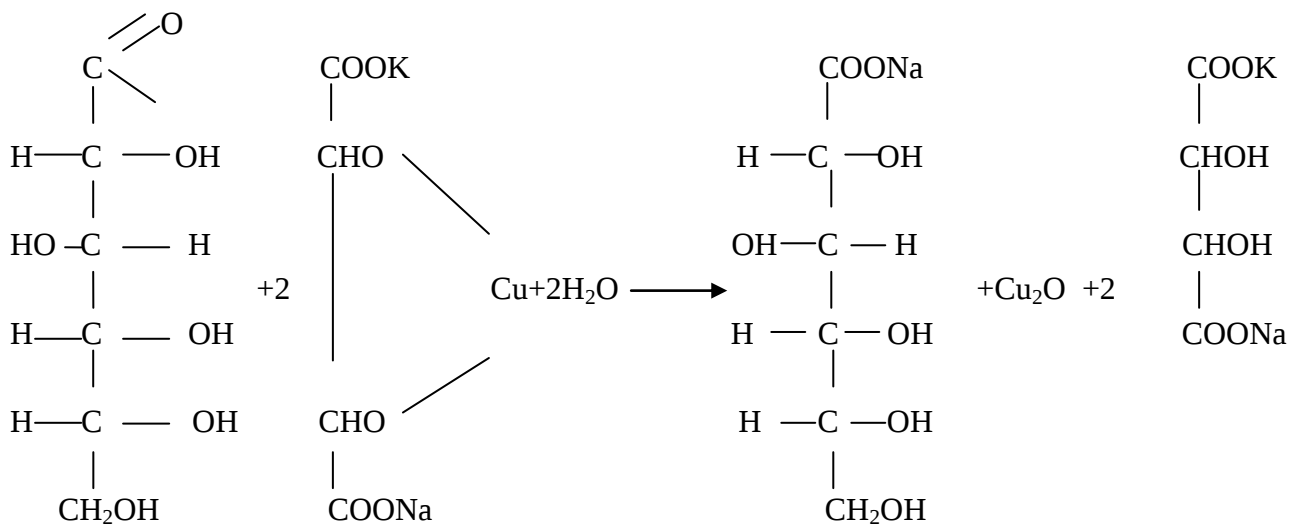
Kerakli asboblari: probirkalari bilan shitativ; 1 va 2ml li pipetklar, spirt lampasi.

Reaktivlar. 1. Glyukoza 1% li eritmasi. 2. Natriy ishqorining 20% li eritmasi. 3. Mis sulfatning 5% li eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga glyukoza eritmasidan 3-4 ml solinadi va 1-2 ml 20% li natriy ishqorining eritmasidan va 2-3 tomchi 5% li mis sulfat eritmasidan

qo'shiladi. Probirka ehtiyotlik bilan chayqatiladi. Dastlab boshlanishida mis gidroksidining CuOH cho'kmasi, so'ngra Cu₂O oksidining qizil cho'kmasi hosil bo'ladi.

2. Feling reaktivi bilan reaksiyasi. Monosaxaritlar feling reaktivi bilan qaynatilganda bu reaktiv mis oksidigacha qaytariladi va monosaxaritlar glyukonat kislotasiga oksidlanadi.



Reaktivlar. 1. Glyukozaning 1% li eritmasi. 2. Feling reaktivi: Bu reaktiv ikkita ertitmadan tayyorlanadi. 1. 500 ml kolbada 34,64 g mis sulfat (CuSO₄·5H₂O) eritiladi va belgisigacha suv qo'shiladi. 2. 500 ml kolbaga 173 g signet tuzini solib, 200-250 ml suvda eritiladi va 100 ml 50% li natriy ishqori qo'shiladi, so'ngra kolbaning belgisigacha suv qo'shiladi. Reaktiv ishlatishdan oldin teng hajmda olib aralashtiriladi.

Ishning borishi. Probirkaga 3-4 ml 1% li glyukoza eritmasidan solinadi va teng hajmda Feling reaktividan qo'shib qaynatiladi, natijada mis oksidining qizil cho'kmasi hosil bo'ladi.

Monosaxaridlarni aniqlashda qo'llaniladigan rangli reaksiyalar.

Podobedov- Molish reaksiyasi.

Shakarlar a- naftol va timol bilan reaksiyaga kirishib rangli birikmalar hosil qiladi.

Reaktivlar. Glyukozaning 1% li eritmasi, a- naftolning 0.2% li spirtidagi eritmasi, (0,5g a-naftol 50 ml etil spirtida eritiladi. Ishlatishdan oldin 5 marta syultiriladi). Timolning 1% li spirtli eritmasi, konsentrlangan sulfat kislota.

Ishning borishi .2 probirka olib, ularning har biriga 2 ml glyukozaning 1% li eritmasidan solinadi. 1- probirkaga 5 tomchi 0,2 % li a- naftol eritmasidan, 2- probirkaga 5 tomchi 1% li timol eritmasidan qo'shiladi. Ikkala probirkaga ehtiyotkorlik bilan probirka devoir bo'ylab 2ml konsentrlangan sulfat kislota qo'shiladi. Sulfat kislota

va shakar eritmasi o'rtasida birinchi probirkada binafsha rang, ikkinchi probirkada qizil rang hosil bo'ladi.

Selevanov reaksiyasi. Ketogeksozlar, jumladan fruktoza xlorid kislotasi va rezorsion bilan to'q- qizil rang beradi. Bu rang reaksiya maxsuloti bo'lgan oksimetilfurfurloga xosdir.

Reaktivlar. Selevanov reaktivi (100 ml 20% li xlorid kislotada 0,05 g rezorsion eritiladi), glyukozaning 1% li eritmasi, fruktozaning 1% li eritmasi.

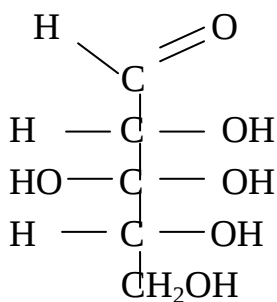
Ishning borishi. 2 ta probirka olib, 2 ml Selevanov reaktividan solinadi. Birinchi probirkaga 2 tomchi fruktoza eritmasidan, ikkinchi probirkaga 2 tomchi glyukoza eritmasidan qo'shiladi. Ikkala probirkani qaynab turgan suv hammomiga 1-2 minut qoldiriladi. Fruktoza bor probirkada qizil rang hosil bo'ladi, glyukoza solingan probirkada esa rang hosil bo'lmaydi.

Difenilamin reaksiyasi. Ketozlar, jumladan fruktoza ham kislotali muhitda difenilamin bilan ko'k rang beradi. Bu reaksiya fruktozani miqdoriy jihatdan aniqlashda (Kolorimetrik usul) ham qo'llaniladi.

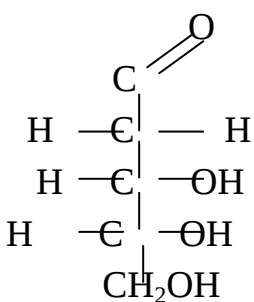
Reaktivlar. Difenilaminning 20% li eritmasi, (96% li spirtida tayyorlanadi). Xlorid kislotaning 20% li eritmasi, fruktozaning 1% li eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga 1ml fruktozaning 1% li eritmasidan olib, unga 0,5 ml difenilamin va 1ml xlorid kislotasi qo'shiladi. Aralashma qaynab turgan suv hammomida 5 minut davomida ushlanadi. Reaksiya natijasida ko'k rang hosil bo'ladi.

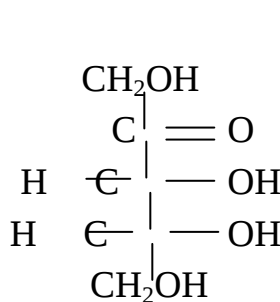
Pentozalarga reaksiya. Pentozalar o'simlik va hayvon to'qimasida uchraydi. Ular DNK va RNK, ko'pgina kofermentlar (NAD, NADF, FAD) tarkibiga kiradi. Bu guruh uglevodlarga riboza va dezoksiriboza, ksiloza, arabinoza, ribuloza kiradi.



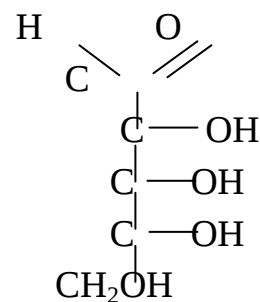
D= riboza



D=dezoksiriboza



D=ribuloza



D=arabinoza

Pentozalar uchun xarakterli reaksiya shundan iboratki, ular konsentrlangan kislotalar bilan qizdirilganda suvni yo'qotadi va furfurologa aylanadi, u orsion bilan reaksiyaga kirishib, yashil rang, anilin bilan reaksiyaga kirishib, qizil rang beradi.

Pentozalarning anilin bilan reaksiyasi. Reaktivlar. 1. Riboza, arabinozaning 1-2% li eritmasi. 2. Anilin. ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$). 3. Sirka kislotasi. 4. Konsentrlangan xlorid kislotasi.

Ishning borishi. Probirkaga 2ml pentoza eritmasi va shuncha hajmda konsentrlangan xlorid kislotasidan solinadi, so'ngra extiyotkorlik bilan qaynaguncha qizdiriladi. Sovugandan keyin unga 1ml anilin va 1ml sirka kislotasi qo'shiladi. Eritma qizil rangga kiradi.

Pentozalarni orsion bilan reaksiyasi. Reaktivlar. 1. Pentozalarning 1-2% li eritmasi. Orsion reaktivi: 0,25g orsion 125ml 30% li xlorid kislotasida eritiladi va shu eritmaga 1ml 10% li temir xlorid eritmasidan qo'shiladi. Eritma qorong'i oynali idishda saqlanadi.

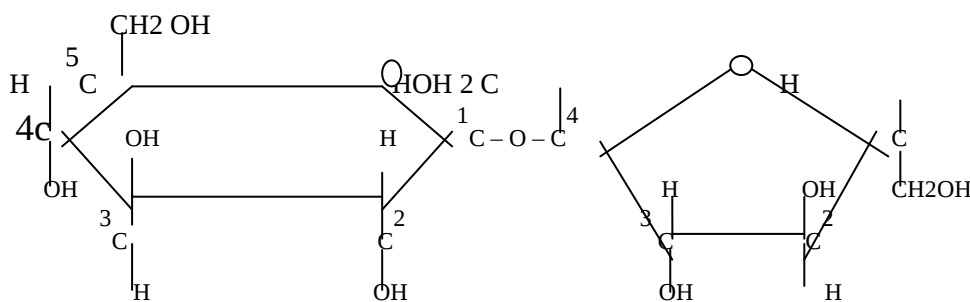
Ishning borishi. Probirkaga 1-2 ml orsion reaktivi solib, qaynaguncha qizdiriladi va 4-5 tomchi pentoza eritmasi qo'shiladi, natijada ko'k rang paydo bo'ladi.

Disaxaridlar

Disaxaridlar ikkita monosaxarid molekulasidan bir molekula suv ajralib chiqishi natijasida hosil bo'ladi. Disaxaridlarning umumiy formulasi- $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$. Disaxaridlarga: saxaroza, laktoza, maltoza, sellobioza kiradi.

Saxaroza molekulasining tashkil qilgan monosaxaridlar o'zaro 1, 2 bog' orqali birikkan. Unda erkin glyukozid gidroksil guruh yo'q. shuning uchun u Trommer reaksiyasini hosil qilmaydi.

Feling suyuqliligini qaytarmaydi. Saxaraza kislota bilan qizdirilsa yoki unga saxaraza fermenti ta'sir ettirilsa, glyukoza va fruktozagacha parchalanadi.

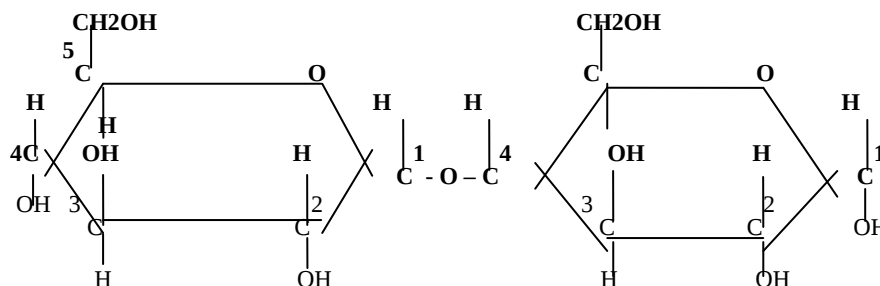


Saxaroza

Maltoza. Parchalanganda ikki molekula α -D- glyukopiranoza hosil bo'ladi. Ular 1:4 bog' bilan brikkan bitta glyukoza qoldig'ida glyukozid gidroksil saqlagan bo'lgani uchun, maltoza qaytarish xususiyatiga ega. Maltoza tabiatda erkin holda bo'lmaydi, u

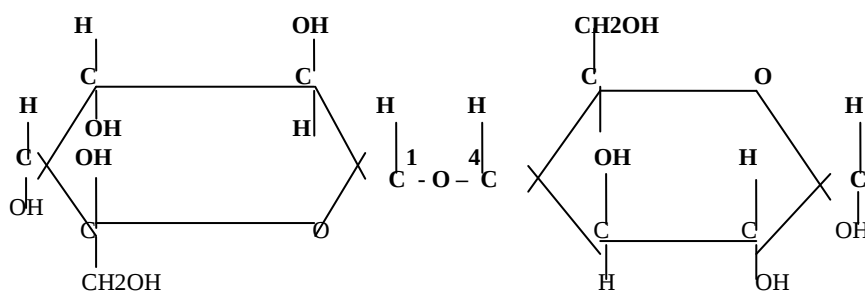
kraxmal va glyukogen tuzilishidagi asosiy element bo'lib, ularning gidrolitik parchalanish natijasida oshqozon- ichak yo'lida hosil bo'ladi.

Maltoza ferment ishtirokida gidrolizlanib, ikki molekula glyukoza hosil qiladi. Glyukozaning gidroksil guruhi ochiq bo'lganligi sababli maltoza qaytaruvchanlik xususiyatiga ega.



Maltoza

Laktoza, sut shakari- disaxarid bir molekula D- glyukoza va bir molekula D- galaktozadan tuzilgan bo'lib, galaktozaning birinchi uglerod atomi bilan glyukozaning to'rtinchi uglerod atomi orqali birikkan. Laktoza tarkibidagi glyukozada erkin glyukozid gidroksil bo'lganligidan qaytaruvchanlik xususiyatiga ega.



Laktoza

Disaxaridlarning qaytaruvchanlik xususiyatini tekshirish

Reaktivlar. 1. Maltozaning 2% li eritmasi. 2. Laktozaning 2% li eritmasi. 3. Saxarozaning 2%li eritmasi. 4. Natriy ishqorining 30% li eritmasi. 5. Mis sulfatning 5% li eritmasi.

Ishning borishi. Uchta probirka olib, 3-4 ml maltoza, laktoza, saxaroza eritmasidan solinadi va Trommer reaksiyasi bajariladi. Maltoza va laktoza qaytaruvchanlik xususiyatini namoyon qiladi, bu probirkalarda qizil cho'kma hosil bo'ladi. Saxaroza yuqorida aytib o'tilgandek, bu xususiyatni namoyon qila olmaydi, shuning uchun Trommer reaksiyasini hosil qilmaydi.

Boshqa bir probirkaga 1ml saxarozaning 1% li eritmasidan olib, uning ustiga 3-4 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasidan qo'shiladi. Probirkani qaynab turgan suv hammomiga 10-15 minut ushlanadi, so'ngra uning ustiga 1 ml 30% li natriy gidroksid eritmasidan va 3-4 tomchi 5% li mis sulfat eritmasidan qo'shib qizdiriladi. Probirkaga sariq yoki qizil rang hosil bo'ladi. Chunki gidroliz natijasida hosil bo'lgan monosaxaridlar qaytaruvchanlik xususiyatiga ega bo'ladi.

9. LIPIDLAR

Lipidlar ikkita katta sinfga bo'linadi: yog'lar (neytral yog'lar) va lipoidlar (yog'simon moddalar).

Lipidlar bir qator organik erituvchilarda, masalan-etanol, efir, xloroform, benzol yoki petroley efirida yaxshi eriydi, suvda esa erimaydi. Lipidlar ximiyaviy tabiatiga ko'ra bir necha guruhlarga bo'linadi:

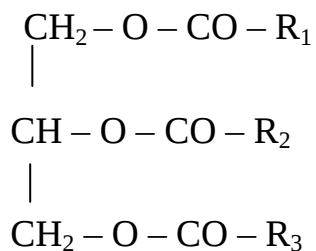
I. Yog' kislotalari.

II. Gliserinli lipidlar: a) neytral yog'lar; b) fosforgliseridlar.

III. Gliserinsiz lipidlar: a) sfingolipidlar; b) alifatik spirtlar va mumlar; v) streoidlar.

Lipidlar to'qima va hujayralarda muhim funksiyalarni bajaradi. Yog'lar organizmda oksidlanganda energiya ajralib chiqadi (1g yog' oksidlanganda 9.3 kkal). Lipidlar biologik membranalarning struktura elementi hisoblanadi. Organizmda lipidlar oqsillar bilan kimpleks birikmalar – lipoproteinlar hosil qiladi.

Sterinlar qator biologik aktiv moddalar – vitaminlar, gormonlar, o't kislotalarning hosil bo'lishida ishtirok etadi. Yog'lar – uch atomli spirt gliserin va yuqori yog' kislotalarning murakkab efiridir. Yog'lar quyidagi umumiy tuzilishga ega:



Bunda: $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ – yog' kislotalarning radikallari.

Tabiiy yog'lar tarkibiga to'yingan va to'yinmagan yog' kislotalarning qoldiqlari kiradi (palmitin, sterin, olein, linolen va boshqalar). Tartibdagi birdan ortiq qo'sh bog' bo'lgan to'yinmagan yog' kislotalar ko'pincha o'simlik moylarida, oz miqdorda hayvonlar yog'ida ham uchraydi. Yog'lar tarkibidagi to'yinmagan yog' kislotalar –

linolenat, araxidonat – hujayradagi oksidlanish – qaytarilish jarayonlarining borishi uchun va shuningdek, prostaglandinlarning biosentezi uchun muhim rol o'ynaydi.

Yog'larning erishi va emulsiya hosil qilishi

1) 5ta probirkaga 10 tomchidan o'simlik moyi tomiziladi. Birinchi probirkaga 2ml benzol, ikkinchi probirkaga 2 ml aseton, uchinchi probirkaga 2 ml benzin, to'rtinchidan probirkaga 2 ml etil spirit va beshinchi probirkaga 2 ml suv qo'yiladi. Moylarni turli xil erituvchilarda erish darajasi aniqlanadi. 2) 4 ta probirka olib, birinchi probirkaga 1 ml suv, ikkinchi probirkaga 1ml 1% li oqsil eritmasidan, uchinchi probirkaga 1ml syultirilgan sovun, to'rtinchi probirkaga 1ml natriy karbonatning 10% li eritmasidan solinadi. Har bir probirkaga 5 tomchidan o'simlik moyidan qo'shiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Birinchi probirkadan boshqa hamma probirkalarda turg'un emulsiya hosil bo'ladi.

Reaktivlar : Tozalangan o'simlik moyi, benzol, benzin, sirka kislota, etil spirit, oqsil eritmasining 1%li eritmasi, suyultirilgan sovun, natriy karbonatning 10% li eritmasi.

Yog'larni aniqlashda qo'llaniladigan sifat reaksiyalari

Yog'larni sifat analiz qilishda bir qator reaksiyalardan foydalaniladi. Bularga osmiy yordamidagi rangli reaksiya, moy dog'ini hosil qilish, sovunlanish reaksiyasi va galloidlar reaksiyasini misol qilib ko'rsatish mumkin.

Rangli reaksiya. Mikroskop oynasi ustiga 1 tomchi moy tomiziladi, uning ustiga osmiy yordamidagi kislotasining 1% li eritmasidan 1 tomchi qo'shiladi. Moy qora rang beradi.

Moy dog'i. Kungaboqarning mag'zini olib qog'ozda ezilsa, moy dog'i hosil bo'ladi. Qog'oz qizdirilganda ham dog' yo'qolmaydi. Bu haqiqatda ham moy borligidan darak beradi.

Galloidlar. Bu reaksiya ayniqsa to'yinmagan moy kislotalari ko'p bo'lgan moylarga xarakterlidir. Probirkaga 1-2 tomchi moy va 1-2 ml efir solinadi. Uning ustiga 1-2 tomchi bromli suv qo'shiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Bromli suvning sariq rangining tez yo'qolishi to'yinmagan yo' kislotalari borligini ko'rsatadi.

Reaktivlar: Tozalangan paxta moyi, osmiy kilotasining 1% li eritmasi, efir, bromli suv.

10. FERMENTLAR

Fermentlar tirik organizmlarning hamma hujayralari va to'qimalarning tarkibiga kirib, biologic katalizatorlik vazifasini bajaradigan spesifik oqsillardir. Tirik

organizmlarning faoliyati fermentlarga bog'liqdir. Organizm bilan tashqi muhit o'rtasidagi moddalar almashinuvi jarayonida fermentlarning g'oyat katta ahamiyati bor.

Oddiy oqsillardan ya'ni faqat aminokislotalardan tashkil topgan fermentlar bir komponentli fermentlar deyiladi. Masalan, ribonukleaza, tripsin, papain va boshqalar. Agar fermentlar murakkab oqsillardan tashkil topgan bo'lsa, ya'ni ularning tarkibida aminokislotalardan tashqari boshqa birikmalar ham uchrasa, ular ikki komponentli fermentlar deb ataladi. Oqsidlanish-qaytarilish reaksiyalarida ishtirok etuvchi fermentlar ikki komponentli fermentlardir.

Fermentlar bir qator o'ziga xos xususiyatlarga ega. Bularga fermentlarning termolabiligi, spesifikligi, muhit pHining o'zgarishiga nisbatan sezuvchanligi, aktivator va ingibitorlarning ta'siriga sezuvchanligi, aktivator va ingibitorlarning ta'siriga moyilligi kiradi. Fermentlarning ta'siri va ularning aktivligi reaksiyada ishtirok etayotgan moddaning kamayishiga (modda substrat deb ataladi) yoki hosil bo'layotgan moddaning ortib borishiga qarab belgilanadi. Hozirga qadar ma'lum bo'lgan fermentlar 6 sinfga bo'linadi.

1. Oksidoreduktazalar- oksidlanish va qaytarilish reaksiyalarini katalizlaydi.
2. Transferazalar- ma'lum kimyoviy guruhlarni bir birikmadan ikkinchi birikmaga ko'chirilishini ta'minlaydi.
3. Hidrolazalar- murakkab organik birikmalarning suv yordamida parchalanish reaksiyalarini katalizlaydi.
4. Li azalar- substratdan suv ishtirokisiz ma'lum guruhlarning ajralishini katalizlaydi. Bu fermentlar faoliyati tufayli yo qo'shbog' hosil bo'ladi yoki ma'lum guruhlarning qo'sh bog'larga birikishi ta'minlanadi.
5. Izomerazalar- har xil organik birikmalarning izomerlanish reaksiyalarini katalizlaydi.
6. Ligazalar- ATF yoki shunga o'xshash nukleozid trifosfatlar energiyasini hisobiga oddiy molekulalardan murakkab birikmalar hosil bo'lishi reaksiyalarni katalizlaydi.

Fermentlarning aktivligini aniqlashda kimyoviy usullar bilan bir qatorda spektrofotometrik, monometrik, xromatografik va boshqa usullardan keng foydalanilmoqda.

Amilazaning kraxmalga ta'siri

Amilaza fermenti kraxmalni qandgacha parchalaydi. Amilaza fermenti so'lakda, oshqazon osti bezining sherasida, qonda, jgarda uchraydi. Don o'simliklar amilaza fermentining eng muhim manbalaridan biri hisoblanadi.

Amilaza fermenti kraxmalni qandgacha parchalaydi. Amilaza fermentining muhim manbalaridan biri don o'simliklari hisoblanadi. Ular quruq donda va ayniqsa unayotgan donlarning tarkibida ko'p miqdorda to'planadi.

Unayotgan donlar tarkibidagi fermentlar eng yuqori aktivlikka ega bo'ladi.

Kraxmal yod bilan ko'k rang beradi, uning parchalanishi natijasida hosil bo'lgan dekstrin zarrachalar katta kichikligiga qarab yod bilan binafsha, qo'ng'ir-qizil, sarg'ish va sariq ranggacha (yodning sucdagi rangi) o'zgaradi. Shuning uchun agar kraxmal eritmasiga amilaza fermentidan qo'shilsa, ma'lum vaqt ichida yod ta'sirida aralashma avval ko'k keyin esa binafsha, qizil-sarg'ish va sariq ranggacha o'zgaradi.

Ishning borishi. 9 ta probirka olib har biriga 2-3 ml distillangan suv va 1 tomchi 1% li yod eritmasidan quyiladi. Alohida 10-probirkaga 2-3 ml kraxmalning 0.5%li eritmasidan olib uning ustiga 1 ml ferment qo'yiladi. Vaqtni belgilab, probirkadagi aralashmani yaxshilab chayqatiladi. So'ngra pipetka yordamida 1 tomchi aralashma 1 chi probirkaga solinadi. Probirkadagi suyuqlik ko'k rangni beradi. Shunday qilib, har 30 sekuntidan keyin 2-,3-,4-... va hokazo. 9- probirkalarga 1 tomchidan 10-probirkadagi aralashmadan solib chiqiladi. Probirkalardagi suyuqliklar yaxshilab aralashtiriladi va tegishli ranglar hosil bo'ladi. Agar ikkinchi probirkadagi suyuqlik ko'k rang bersa, undab keying probirkalarga bir buncha uzoqroq vaqtdan keyin, masalan, har bir minutdan so'ng solish kerak bordiyu ikkinchi probirkada binafsha yoki qizg'ish rang hosil bo'lsa, unda vaqtni tezlatish kerak, ya'ni har 15 sekunda solish kerak bo'ladi. Probirkalardan biridagi sariq rang o'zgarmay qolsa bu kraxmal gidrolizining tugaganligini bildiradi. Tajriba natijasi quyidagi jadvalga yozilgan.

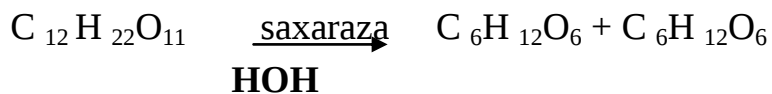
Reaktivlar:so'lak(so'lakning distillangan suv bilan 10 marta suyultirilgani); ferment shirasi 5-10 g ungan yoki 5 kunlik don maysalari yaxshilab maydalanadi va kolbaga solinib ustiga 100 ml distillangan suv quyiladi. Yaxshilab aralashtirilib 30 min davomida qoldiriladi, so'ngra filtirlanadi. Filtirdan o'tgan syuqlik ferment shirasi hisoblanadi. Yodning 1% li eritmasi, kraxmalning 0.5% li eritmasi.

Anilaza fermentining kraxmalga ta'siri

Probirkalar	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Suyuqlik rangi hosil bo'lgan mahsulot nomi									

Saxaraza fermentining aktivligini aniqlash

Saxaraza (invertaza) fermenti saxarozani gidrolizlab glyukoza va fruktozagacha parchalaydi.



Saxaroza

glyukoza fruktoza

Saxaraza fermenti ko'pchilik o'simliklar tarkibida uchraydi. Ayniqsa u achitqi zamburug'larida ko'p bo'ladi. Ferment aktivligining aniqlashda bir qator usullardan foydalaniladi. Bulardan biri yuqoridagi reaksiya mahsulotlarining qaytaruvchanlik xususiyatlariga asoslangan bo'lib, glyukoza va fruktoza tegishli kislotalariga oksidlanadi, mis ionlari esa qaytariladi.

Ishning borishi. 2ta probirkaga 1 ml dan 0,5% li saxaroza eritmasidan solinadi. 1 probirkaga 1 ml suv, ikinchisiga esa 1 ml saxaroza fermenti shirasidan qo'shiladi va 15 minut 35°C inkubasiyaga qo'yiladi. Belgilangan vaqt tugagach, har ikkala probirkaga 2 ml natriy gidroksidning 20% li eritmasidan va 5-6 tomchi mis sulfatining 2% li eritmasidan qo'shib qizdiriladi. Ferment ta'sir qilgan probirkada qizil cho'kma hosil bo'ladi.

Reaktivlar: Saxaroza ferment shirasi, shira achitqi zamburug'larida olinadi. Buning uchun 5 gramm achitqi chinni hovonchada eziladi, so'ngra unga 5 ml disitillangan suv qo'shib ezish davom ettiriladi. Hovonchaga yana 10 ml issiq (60°)suv qo'shiladi va 10 minut davomida eziladi. Bundan saxaroza fermenti eritmaga o'tadi. Aralashma filtdan o'tkaziladi, filtdan ferment shirasi sifatida foydalaniladi. Saxarozaning 0,5% li eritmasi natriy gidroksidning 20% li eritmasi, mis sulfatning 2% li eritmasi.

Fermentlarning termolabiligi

Fermentlar oqsil tabiatiga ega bo'lgani uchun, ularning muhim harakterli xossasi termolabiligi, ya'ni yuqori haroratga sezgirligidir. Fermentativ jarayonlar 70°C dan yuqori haroratda davom eta olmaydi. 80-100°C da fermentlar o'zining katalitik xossalarini butunlay yo'qotib qo'yadi, oqsil qismi denaturasiyaga uchraydi. Hamma fermentlar uchun muayyan bir harorat bo'lib, bunda ferment yuqori aktivlikka ega bo'ladi. Issiq qonli hayvonlarning hujayra va to'qimalaridan ajratib olingan ko'pchilik fermentlar uchun eng qulay harorat 37-40°C dir.

O'simlik tarkibidagi fermentlarning harorat optimum 40° - 60° ga teng bo'ladi. Past (0° dan past) haroratlarda fermentlarning aktivligi pasayadi yoki butunlay to'xtaydi. Biroq bunda ular denaturasiyaga uchramaydi.

Metodning prinsipi. Amilaza fermentining aktivligiga turli sharoitdagi haroratning ta'siri tekshiriladi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar; 50 ml li stakan; spirtovka; thermostat; muz hammomi.

Reaktivlar: 1. Suyultirilgan so'lak (og'iz distillangan suv bilan chayib tashlanadi, keyin og'izga 10-15 ml suv solib 2-3 minut ushlab turiladi va stakanga solinadi). Amilaza fermenti shirasi. 2. 1%li kraxmalning 0,3% li natriy xloriddagi eritmasi. 3. Yodning kaliy yoddagi eritmasi (1 ml distillangan suvda 1 g kaliy yod eritiladi, eritma hajmini 300 ml ga suv bilan olib boriladi). 4. Mis sulfatning ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 5% li eritmasi.

Ishning borishi: Uchta probirkaga 1-2 ml dan suyultirilgan so'lak (amilaza) solinadi. Birinchi probirkadagi so'lak 2-3 minut qaynatiladi. So'ngra hamma probirkalarga 3-4 ml dan kraxmal solinadi. Birinchi va ikkinchi probirka 15-20 minut 37°C li thermostatga inkubasiyaga qo'yiladi. Uchinchi probirka 15-20 minut muz hammomiga qo'yiladi.

Inkubasiyadan keyin har bir probirkadagi suyuqlik ikkiga bo'linib, probirkalarga solinadi va A hamda B qatoridagi probirkalar deb belgilanadi. A qatordagi probirkalarda bir necha tomchi yodning kaliy yoddagi eritmasidan solinadi, B qatordagi probirkalarga esa 20% li natriy ishqoridan 2-3 ml va 3-4 tomchi 5% li mis sulfat eritmasidan solib qizdiriladi, ya'ni Trommer reaksiyasi bajariladi. Tajribadan olingan natijalar jadvalga yoziladi va fermentlarning termobilligi haqida hulosalar qilinadi.

Probirkalarning nomeri	Ferment	Tajriba sharoiti	Substrat	Inkubatsiya	A qator	B qator
					Probirkalari	
1	Amilaza	Denaturasiyaga uchragan fermentlar	Kraxmal	15-20 minut 37°C		
2	Amilaza	Nativ holatdagi ferment	Kraxmal	15-20 minut 37°C		
3	Amilaza	Nativ holatdagi ferment	Kraxmal	15-20 minut 37°C		

Fermentlar aktivligiga muhit pH ning ta'siri

Fermentlarning harakterli xususiyatlariga ularning muhit pH ning o'zgarishiga sezgirligi kiradi. Fermentlarning aktivligi pH qiymatiga qarab keskin o'zgarib turadi. pH ning optimal qiymati turli fermentlar uchun bir xil emas. Masalan: pH ning optimal qiymati pepsin uchun 1,5-2,0; so'lak amilazasi 6,8-7,0; tripsin 7,8 ga teng. Ko'pchilik fermentlar neytral yoki kuchsiz ishqorli yoki kuchsiz kislotali reaksiyada hammadan ko'p aktivlikka ega bo'ladi. Fermentlar izoelektrik holatda hammadan katta aktivlikka ega bo'ladi. Optimal aktivlik zonasi doiralarda fermentlar zarrachalari elektr maydonida odatda katodga ham, anodga ham qarab harakatlanmaydi. pH ning o'zgarishi ferment faoliyatini pasayishiga yoki butunlay to'xtashiga olib keladi. Natijada fermentning aktiv markaz strukturasi buziladi.

Reaktivlar: 1. 1% li yodning kaliy yoddagi eritmasi. 2. Kraxmalning 1% li eritmasi. 3. Xlorid kislotasining 0,2 H eritmasi.

Ishning borishi: 8ta probirkaga 1 ml dan distillangan suv solinadi, so'ngra birinchi probirkaga 1 ml 0,2 H li xlorid kislotasi eritmasidan qo'shiladi va aralashtiriladi. So'ngra shu probirkadagi suyuqlikdan 1 ml olinadi-da 3-probirkaga qo'yiladi va hokazo. 8-probirkadan 1 ml olinib to'kib tashlanadi. Shunday qilib, xlorid kislotaning har xil konsentrasiyasi hosil qilinadi, ular muhitning har xil pH qiymatiga to'g'ri keladi. Shundan keyin har bir probirkaga 2 ml dan 1% li kraxmal eritmasidan va 1 ml dan suyultirilgan so'lak eritmasidan qo'shiladi, probirkalar chayqatiladi va 20 minut 37°C da termostatga qo'yiladi. Sovutilgandan keyin hamma probirkalarga 1-2 tomchidan 1% li yodning kaliy yoddagi eritmasidan qo'shiladi. 5 va 6 probirkalarda kraxmalning to'la gidrolizi ro'y bergani belgilanadi, bu probirkalarda eritma muhitining pH 6,8-7,2 atrofida, shuning uchun amilaza optimal aktivlikka ega bo'ladi.

Fermentlarning o'ziga xosligi

Fermentlar biologik katalizator bo'lib, ular o'ziga xos ta'sir qilish xususiyatiga ega. Ularning bunday o'ziga xosligi tirik organizmlarga xos bo'lgan muhim xususiyatlardan biri hisoblanadi. Katalitik jarayonlarda ferment-substrat kompleksining hosil bo'lishi, fermentlarning oqsil molekulasini tuzilishiga, uning aktiv qismlari bilan substratning tegishli guruhlari o'rtasidagi kimyoviy bog'lar hosil bo'lishiga bog'liq. Har bir ferment ma'lum bir substratga yoki molekuladagi kimyoviy bog'ning ma'lum tipigagina ta'sir etadi. Shunday qilib fermentlarning o'ziga xos mohiyati, ferment substratga kalit qulfga tushganday mos kelishi zarur.

Metodning prinsipi. Amilaza va saxaroza fermentlarini turli substratga, ya'ni kraxmal va saxaroza ta'siri tekshiriladi.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shativ; pipetkalar; termostat; spirit lampasi.

Reaktivlar: 1. Kraxmalning 1% li eritmasi. 2. Saxarozaning 2%li eritmasi. 3. Suyultirilgan so'lak, Amilaza fermenti shirasi. 4. Saxaroza (10 g achitqini 100 ml distillangan suvda gomogeneziya qilinadi). 5. Natriy ishqorining 20% li eritmasi. 6. Mis sulfatning 5% li eritmasi.

Ishning borishi: Birinchi va ikkinchi probirkalarga 2-4 ml kraxmal eritmasidan; uchinchi va to'rtinchi probirkalarga 2-4 ml suyultirilgan so'lak (amilaza), ikkinchi va to'rtinchi probirkalarga 2-4 ml saxaroza fermenti solinadi, so'ngra probirkalarni chayqatib, 20 minut 37°C da termostatga inkubasiya qilish uchun qo'yiladi. Inkubasiyadan keyin 1 va 2-probirkalarga 1-2 tomchi yodning kaliy yoddagi eritmasidan tomiziladi. 3 va 4-probirkalarga 2-4 ml natriy ishqorining 20% li eritmasidan, 2-4 tomchi mis sulfatining 5% li eritmasidan solib qizdiriladi. Reaksiya natijalari jadvalga yozib, xulosa qilinadi.

Probirkalar nomeri	Substrat	Ferment	Inkubasiya	Yod bilan hosil bo'lgan rang	Trommer reaksiyasi natijasi
1	Kraxmal	Amilaza	20 min.37°C		
2	Kraxmal	Saxaroza	20 min.37°C		
3	Saxaroza	Amilaza	20 min.37°C		
4	Saxaroza	Saxaroza	20 min.37°C		

Fermentlarning aktivligiga ta'sir qiluvchi moddalar (ingibitorlar va aktivatorlar)

Fermentlarning aktivligiga reaksiya muhitda ishtirok etayotgan bir qator kimyoviy moddalar ham ta'sir ko'rsatadi. Reaksiya muhitda ba'zi bir ionlarning ishtirok etishi fermentativ reaksiya tezligini orttiradi. Bunday moddalar aktivatorlar deb ataladi. Aktivatorlik vazifasini ko'pincha Na^+ , K^+ , Mg^{++} , Ca^{2+} kabi metall kationlari bajaradi. Fermentativ reaksiya aktivligini pasaytiruvchi moddalar ingibitorlar deyiladi. Ingibitorlarga sianidlar, og'ir metall tuzlari misol bo'la oladi.

Reaktivlar: so'lak yoki amilaza fermentining shirasi (solod) natriy xloridning 0,04% li eritmasi, mis sulfatning 0,1% li eritmasi.

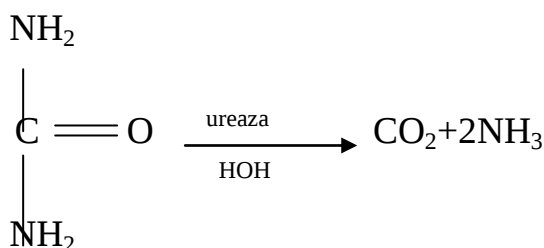
Ishning borishi: Uch qator (har bir qatorda 6 tadan) probirka tayyorlab, hammasiga 1 ml dan suv quyiladi. Keyin har bir qatorning birinchi probirkasiga 1 ml dan amilaza fermenti shirasidan quyiladi. Pipetka yordamida 1-probirkadagi suyuqlik aralashtirilib, arashlama 2-probirkaga olinadi va yana bir marta aralashtirib 2-

probirkadan 3-probirkaga solinadi va hokazo. Oxirgi 6-probirkadan 1 ml ortiqcha aralashma olib tashlanadi. Qolgan qatorlarda ham xuddi shunday qilinadi.

Birinchi qator probirkalariga 1 ml suv, ikkinchi qator probirkalariga natriy xlorid tuzining 0,04% li eritmasidan, 1 ml uchinchi qator probirkalariga mis sulfat tuzining 0,1% li eritmasidan 1 ml quyiladi. Keyin hamma probirkalarga 2 ml dan kraxmal solinadi va 10 minutga 40°C inkubasiyaga quyiladi. Vaqt tamom bo'lgach hamma probirkalarga 2-3 tomchidan yod tomiziladi va aktivator hamda ingibitorlar ta'siri aniqlanadi.

Ureazani aktivligini aniqlash

Ureaza fermenti mochevinani karbonat anhidrid va ammiyakgacha parchalaydi.



Mochevina

Ishning borishi. Soya yoki tarvuz urug'ining mag'zidan 5 gramm olib, chiini hovonchada yaxshilab un hosil bo'lguncha eziladi. So'ngra 2 ta probirka olib, har biriga 1g soya yoki tarvuz urug'ining unidan solinadi. 1- probirka 1ml suv, 2- probirkaga 1 ml mochevinaning 15 li eritmasi quyiladi. Probirkalar 40°C da 15 minut davomida inkubatsiyaga qo'yiladi. Keyin har ikkala probirkaga 1-2 tomchidan fenolfetalein tomiziladi. 2- probirkadagi muhit ferment ta'sirida hosil bo'lgan ammiyak hisobiga ishqoriy muhit bo'lib, pushti rangga ega bo'ladi.

Reaktivlar: soya va tarvuz urug'lari, mochevinaning 1% li eritmasi, fenolfetalein.

11. VITAMINLAR

Vitaminlar – kichik molekulyar og'irligidagi moddalar bo'lib, organik birikmalarning turli sinflariga kiradi. Vitaminlar – hayvonlar, mikroorganizmlar, o'simliklarning eng muhim fiziologik va bioximiyaviy jarayonlarida ishtirok etadi. Ularning ko'pchiligi ikki komponentli fermentlarning prostetik guruhlariga – kofermentlar tarkibiga kiradi.

Organizmda qandaydir vitaminlarning butunlay bo'lmasligi avitaminozga, yani butun organizmning ma'lum vitaminning yo'qligiga xarakterli belgilar bilan kasalligiga sabab bo'ladi. Ko'pincha vitaminlarning qisman yetishmovchiligi xollari-

gipovitaminozlar uchraydi, ular birlamchi va ikkilamchi bo'lishi mumkin. Vitaminlar haddan tashqari ko'p istemol qilinganda organizmning intoksikatsiya ro'y beradi, bu **gipervitaminozlar** deb ataladi.

Hozirgi vaqtda ayrim vitaminlar va ularning xillari vitaminlar va ularning xillari 30 ga yaqin. Vitaminlar ovqatning turli komponentlariga bog'liq bo'lishiga qarab, faqat eruvchanligi asosida ikkita katta guruhga; suvda erimaydigan va yog'da eriydigan vitaminlarga bo'linadi.

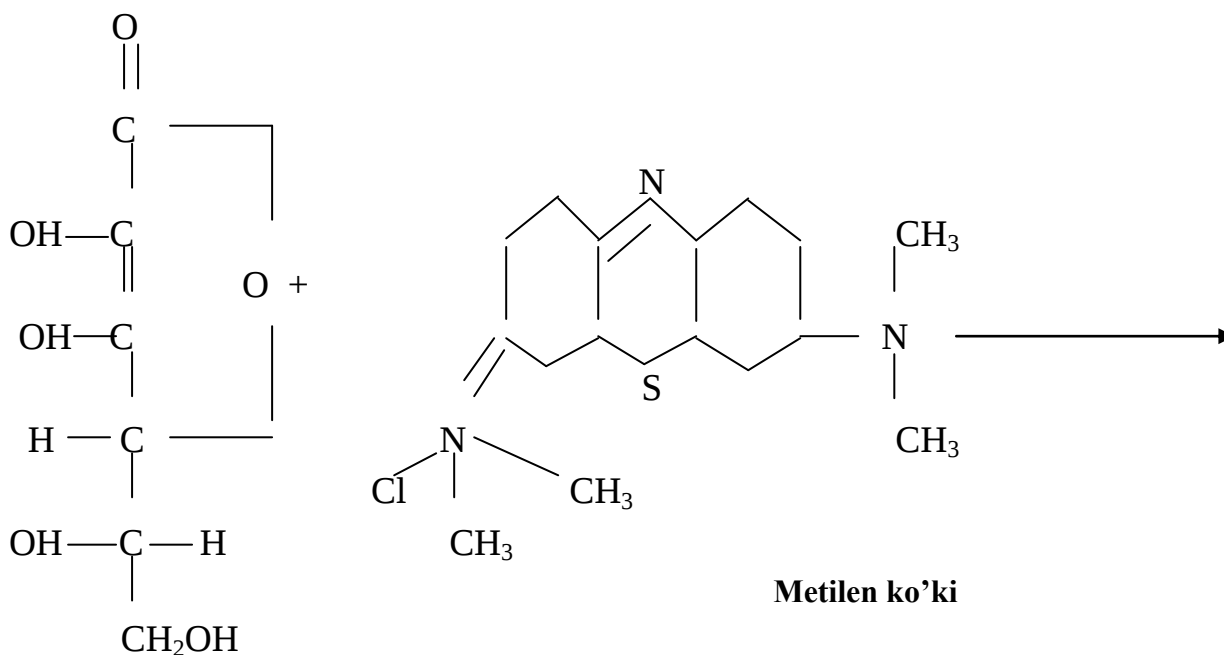
Yog'da eriydigan vitaminlar guruhiga A, D, B va K vitaminlar kiradi. Suvda eriydigan vitaminlar guruhiga B-vitaminlar guruhi: B₁-tiamin, B₂-riboflavin, PP-nikotinamid, B₆-pidoksin, H-biotin, pantotinat va paraminobenzoat kislota, xolin, inozit, folat kislota B₁₂-siankobalamin, B₁₅-pangamat kislota; C vitamin (askorbat kislota); P vitaminlar kiradi.

Yog'da eriydigan vitaminlar. A, D, B, K guruhidagi vitaminlar va boshqalar kiradi vitaminlar, har bir guruhga ximiyaviy tuzulishi yaqin bo'lgan o'xshash biologik ta'sir ko'rsatuvchi qator birikmalar kiradi. Masalan, A vitamin guruhida A₁, A₂ vitaminlar va boshqalar; E vitamin guruhida 4 ta vitamin bo'ladi; D vitamin guruhida ularning soni 10 ga yaqin.

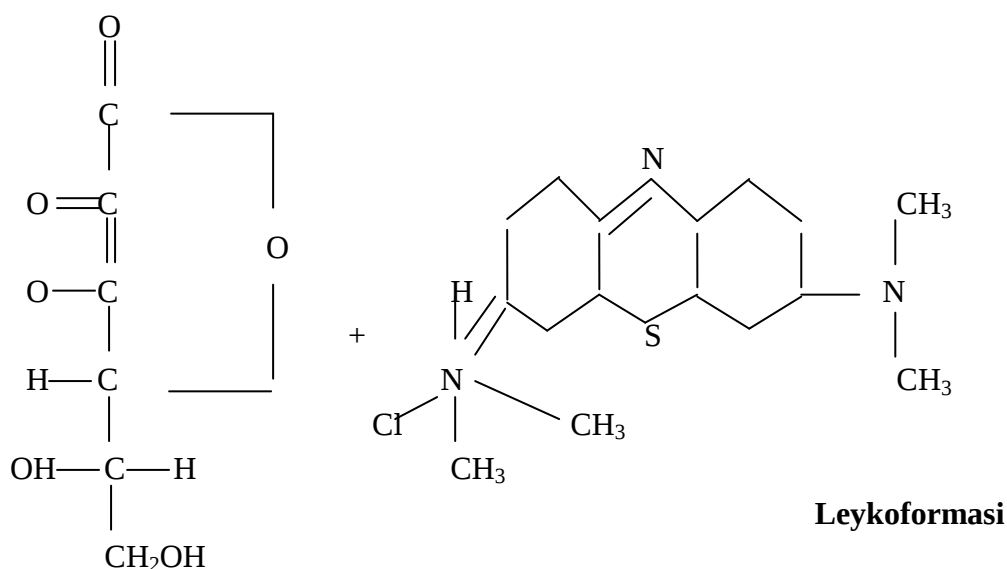
C vitaminining sifat reaksiyalari

Metilen ko'ki bilan reaksiyasi. Askorbat kislota metilen ko'kini rangsiz birikmagacha qaytaradi (leykoformasiga), o'zi oksidlanib degidroaskorbat kislota hosil qiladi.

Reaktivlar. 1. Metilen ko'king 0.01% li eritmasi. 2. Natriy karbonatning 5% li eritmasi. 3. Kartoshka yoki karam sharbati.



Askorbat kislota

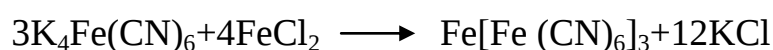
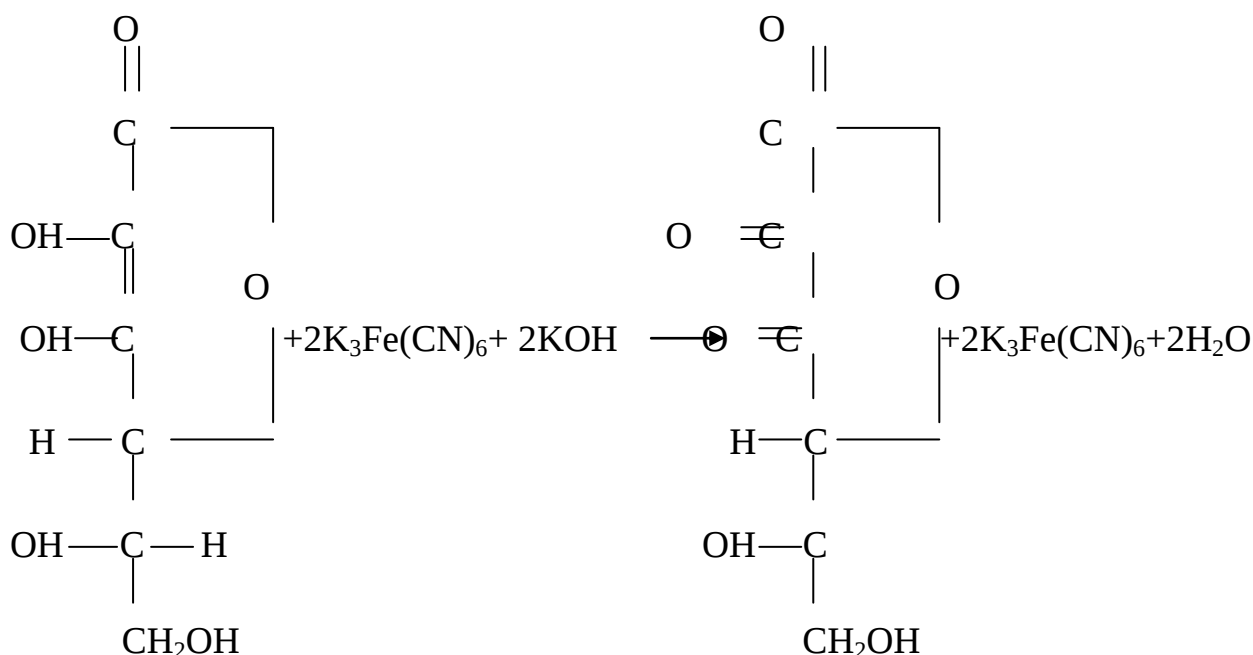


Degidroaskorbat kislota

Ishning borishi. Probirkaga yangi tayyorlangan kartoshka yoki karam sharbatidan 1-2 ml solib, 1-2 tomchi metilen ko'ki eritmasi hamda 2-3 tomchi natriy karbonat eritmasidan qo'shib qizdiriladi. Natijada ko'k rang intensivligi kamayadi.

Kaliy ferrisianid $K_3Fe(CN)_6$ bilan reaksiyasi. Askorbat kislotasi oksidlanib, kaliy ferrisianid $K_3Fe(CN)_6$ ni to kaliy ferrosianid $K_4Fe(CN)_6$ gacha qaytaradi va uch valentli temir ioni bilan kislotali sharoitda temir-(III)-geksosianoferroat $Fe[Fe(CN)_6]_3$ ni, ya'ni, berlin zangorisini hosil qiladi.

Reaktivlar. 1. Kartoshka yoki karam sharbat. 2. Kaliy feratsinidning 5% li eritmasi. 3. Kaliy ishqorining 5% li eritmasi. 4. Temir (III) xloridning 1%li eritmasi.



Berlin zangorisi

Ishning borishi. Probirkaga 1ml kartoshka yoki karam sharbatida, 2 tomchi kaliy ishqori va shuncha miqdorda kaliy ferrisianid eritmasidan solib chayqatiladi. So'ngra 6-8 tomchi 10% li xlorid kislotasi va 1-2tomchi-(III)- xloridning eritmasidan qo'shiladi natijada ko'k yoki ko'k-yashil cho'kma Berlin zangorisini hosil qiladi.

Oziqa mahsulotlarida C vitaminining miqdorini aniqlash.

C – vitamin hayvon va odam ratsionining eng muhim tarkibiy qismi hisoblanadi.

Quyida o'simlik mahsulotlarida C-vitaminining miqdori ko'rsatilgan (mg,%).

Ukrop	135	Limon	40
Karam	30	Yangi kartoshka	35
Ko'k piyoz	60	Sabzi	5
Qora smrodina	300	Namatak(mevasida)	3000

Oziqa mahsulotlarida askorbat kislotasining miqdorini aniqlash uchun suyultirilgan kislotalarda C vitamini ekstraksiya qilinadi(kislotali sharoitga chidamlidir). So'ngra 2.6-dixlorfenolindofenolning eritmasidan olib titirlanadi. Ekstrakt tarkibida askorbat kislotasi bo'lsa 2.6- dixlorfenolindofenolni qaytaradi.

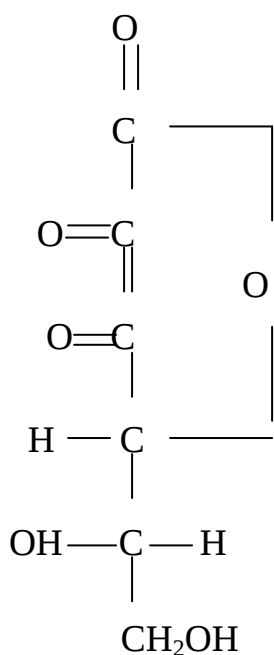
Ekstraktidagi hamma askorbat kislotalar oksidlanib bo'lgandan keyin 2.6-dixlorfenolindofenol qaytarila olmaydi va eritma qizil rangga bo'yaladi (ya'ni, natriy neytral sharoitda 2.6- dixlorfenolindofenol ko'k rangga, kislotali sharoitda esa qizil rangga ega). Titirlash uchun ketgan 2.6- dixlorfenolindofenolning miqdorini va uning normalligini aniqlab, mahsulotdagi askorbat kislotasining miqdori hisoblanadi.

Kerakli asboblari: mikrobyuretki; 25 va 100 mlli kolbalar; 1 va 10 ml li pipetkalar; xovoncha; tarozi; voronka; filtr qog'ozi.

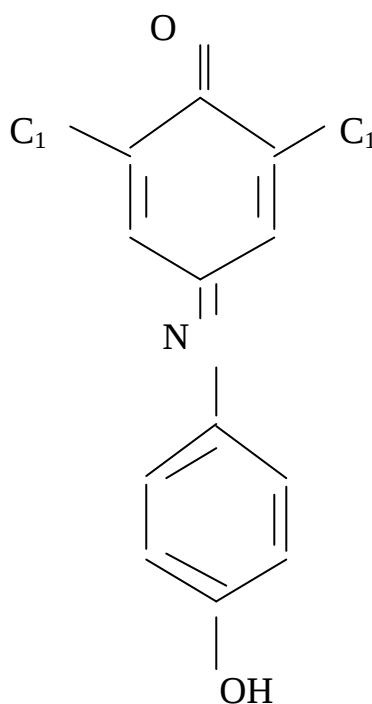
Kartoshka tarkibida C vitaminini aniqlash. 5g kartoshka xovonchada 16 mlxlorid kislotasidan qo'shib eziladi. Xovonchada hosil bo'lgan syuqlik kolbaga solinadi va filtrlanadi. Filtrat 2.6- dixlorfenolindofenol eritmasi bilan pushti rang hosil bo'lguncha titirlanadi. 100 g kartoshk tarkibida C vitamin miqdorini quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$x = \frac{0.088 \cdot \alpha \cdot 100}{5}$$

Bu yerda: X-100 g mahsulotdagi c- vitamin miqdori, mg: 0.088-askorbat kislotasiningmiqdori bo'lib, bu 1 ml 2.6- dixlorfenolindofenol eritmasiga to'g'ri keladi, mg; α - titirlash uchun sarf bo'lgan dixlorfenolindofenol eritmasining hajmi; 5-tekshiruvdagi mahsulotning og'irligi, g.



Askorbat kislota



**2.6- dixlorindofenil
(oksidlangan formula)**

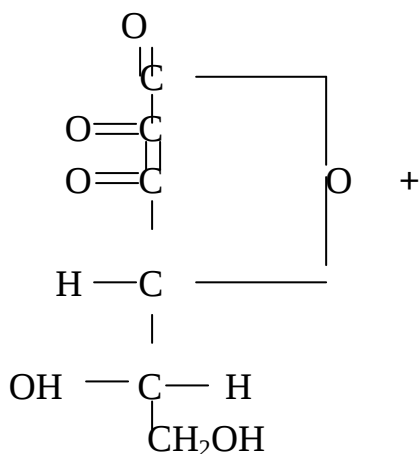
Kraxmaldagi C vitaminining miqdorini aniqlash. 2g karam havonchada 10 ml sirka kislotali bilan eziladi, hosil bo'lgan ekstrakt filtrlanadi. Filtratdan 3 ml olib kolbaga solinadi va 2.6 dixlorfenolindofenol eritmasi bilan pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi. 100 g karam tarkibidagi C vitaminining miqdori (X) quyidagi formulabilan aniqlanadi:

$$x = \frac{0.088 \cdot \alpha \cdot 10 \cdot 100}{3}$$

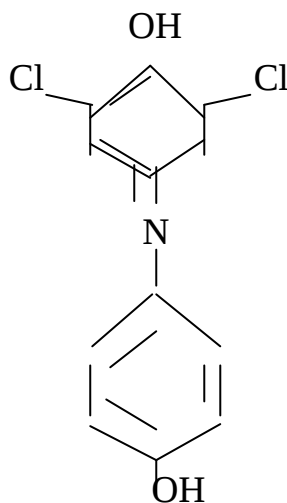
Bu yerda: 10- sirka kislotali ekstraktning hajmi;

α – titrlash uchun sarf bo'lgan, 2.6 dixlorfenolindofenol eritmasining hajmi;

3- titrlash uchun olingan ekstrakt miqdori.



Degidroaskorbat kislota



2.6 dixlorfenolindofenol

ADABIYOTLAR

1. Mirxamidova P., A. Zikiryayev, Dolimova S, Biokimyo amaliy mashg'ulotlar
2003 TOSHKENT