

O`ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA
O`RTA MAXSUS TA`LIM VAZIRLIGI

GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI

Z.U.ABDIKULOV, L.A. BOTIROVA

BIOKIMYO

fanidan
laboratoriya mashg`ulotlari
(o`quv-uslubiy qo`llanma)

Guliston – 2017

Ushbu Biokimyo fanidan o`quv-uslubiy qo`llanma kafedra qaroriga asosan GulDU o`quv-uslubiy hay`ati tomonidan (2017-yil may oyidan) qo`llanishga tavsiya etilgan.

Tuzuvchilar: b.f.n. Z.U.Abdikulov, b.f.n. L.A. Botirova

Taqrizchilar: A.Karimqulov. GulDU, Tabiiy fanlar fakulteti “Oziq-ovqat texnologiyasi” kafedrasini mudiri. b.f.n., dosent.

M.Allamuratov. GulDU, Tabiiy fanlar fakulteti “Biologiya” kafedrasini dosenti. b.f.n., dosent

Biokimyo fanidan laboratoriya mashg`ulotlari uchun o`quv-uslubiy qo`llanma Guliston davlat universiteti “Biologiya” kafedrasining 27 02. 2017 yildagi № 5-sonli yig`ilishida muhokama etildi va ma`qullandi.

Guliston davlat universiteti Tabiiy fanlar fakulteti ilmiy kengashining 28 28. 2017 yildagi № 6-sonli yig`ilishida muhokama qilindi va ma`qullandi.

Guliston davlat universiteti o`quv-uslubiy kengashining 24 04. 2017 yildagi № 7-sonli yig`ilishida ko`rib chiqildi va nashrga tavsiya etildi.

SO`ZBOSHI.

Ushbu o`quv uslubiy qo`llanma 5140100-biologiya yo`nalishi bo`yicha bakalavr tayyorlash dasturi asosida tuzilgan. Tasdiqlangan dasturda Biokimyo fanidan laboratoriya mashg`ulotlarini bajarish bo`yicha 54 soat ajratilgan. Shuning uchun ham ushbu qo`llanma 54 soatlik laboratoriya ishlarni bajarishga mo`ljallangan bo`lib, unda 50 ta laboratoriya ishlarning tavsifi berilgan. O`quv uslubiy qo`llanmada oqsillar, fermentlar, nuklein kislotalar, uglevodlar, lipidlar, vitaminlar, gormonlarni sifat va miqdor jihatdan aniqlash, ajratib olish, tozalash va ularning fizik-kimyoviy xossalarini o`rganishga qaratilgan.

O`quv uslubiy qo`llanmada keltirilgan laboratoriya mashg`ulotlari ma`ruza kurslarida o`tilgan mavzular bilan uzviy bog`liq bo`lib, bu o`z navbatida fanni ynada chuqurroq o`ganish imkonini beradi. Kitobda har bir laboratoriya mashg`ulotidan oldin mavzu bo`yicha nazariy tushuncha berilgan. Bu talabalarga laboratoriya mashg`ulotlari yuqori saviyda o`kazishga yordam beradi.

OQSILLAR

Oqsillar yuqori molekulali moddalar bo'lib, eng muhim biologik polimerlar hisoblanadi. Oqsillar hamma tirik organizmlar tarkibida bo'ladi hamda hujayra va to'qimalarning hayot faoliyatida katta ahamiyatga ega. Oqsillar o'zining qator funksiyalari bilan tirik organizmlarda borayotgan biokimyoviy jarayonlarni chambarchas bog'laydi. Hujayraning o'sishi va rivojlanishi, ko'payishi, irsiy axborotning berilishi, hazm jarayonlari, qo'zg'aluvchanlik, muskullarning qisqarishi, antigen va antitelolarning hosil bo'lishi shular jumlasidandir. Oqsil tabiatli bo'lgan birikmalar - fermentlar esa organizmdagi hamma jarayonlarni katalizatori hisoblanadi.

Oqsillar tarkibi, strukturasi, funksiyasi va eruvchanligiga ko'ra klassifikatsiyalanadi.

Hamma oqsil moddalar, 2 guruhga bo'linadi:

1. Oddiy oqsillar (proteinlar).
2. Murakkab oqsillar (proteidlar).

Oddiy oqsillar parchalanganda faqatgina aminokislotalar hosil bo'ladi. Murakkab oqsillar tarkibida esa aminokislotalardan tashqari oqsil bo'lmagan moddalar bo'lishi mumkin.

Prostetik grupp: fosfoproteidda - fosfat kislota, glikoproteidda — uglevod, nukleoproteidda - nuklein kislota, xromoproteidda - pigment, lipoproteidda — lipid, flavoproteidda - FAD (flavinadenin dinukleotid), metal loproteidda - metall hisoblanadi.

Strukturasi ko'ra ular fibrilyar va globulyar oqsillarga ajratiladi. Fibrilyar oqsillar ipsimon ko'rinishga ega, ular suvda erimaydi. Globulyar oqsillarning ichki tomoni gidrofob, tashqi tomoni gidrofil bo'lganligi sababli suvda yaxshi eriydi va kolloid suspenziya hosil qiladi. Masalan gemoglobin, insulin.

Funksiyasiga ko'ra oqsillar quyidagicha farqlanadi:

1. Struktura oqsillari - kollagen, keratin va hakoza Soch, suyak, tirnoq, shox, pat struktura oqsillariga kiradi.

2. Katalitik oqsillar - lipaza, tripsin va boshqa oqsil tabiatiga ega bo'lgan biologik katalizatorlardir. Ular organizmda boradigan kimyoviy reaksiyalarni amalga oshirishda qatnashadilar.

3. Gormon oqsillar - insulin, glyukogenn, triotropin va boshqalar organizmda boradigan moddalar almashinuvini boshqarib turadi. Mas.: insulin qondagi glyukoza miqdorini boshqarib turadi.

4. Tashuvchi oqsillar - gemoglobin, mioglobin. Qonda, muskullarda O_2 yoki SO_2 ni tashiydi.

5. Himoya oqsillari - antitelolar. Organizmga yot moddalar (antigen) tushganda ularni zararsizlantirishda ishtirok etadi.

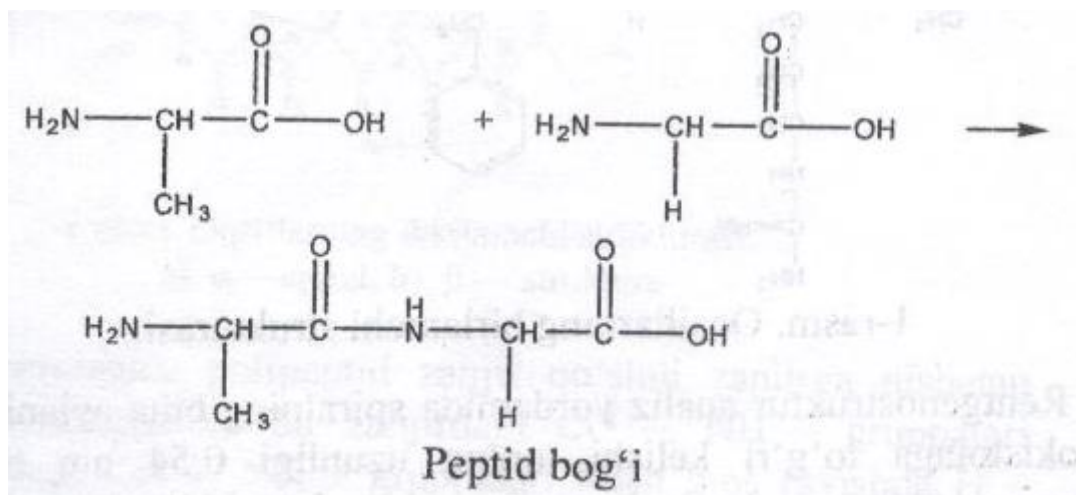
6. Qisqaruvchi oqsillar - aktin, miozinning faoliyati tufayli muskullarning qisqarishi sodir bo'ladi.

7. Zaxira oziq modda oqsillari - tuxum albumini, sut kazeini misol bo'la oladi.

Oqsil molekulasi tarkibida 20 xil aminokislotalar uchraydi. Aminokislotalar

kimyoviy tuzilishiga ko'ra assiklik va siklik aminokislotalarga bo'linadi. Aminokislotalar tarkibidagi amino- va karboksil gruppalarining soniga qarab, ular 3 ga bo'linadi: 1. Mono- aminomonokarbon kislotalar; 2. Diaminomonokarbon kislotalar; 3. Monoaminodikarbon kislotalar.

Oqsil molekulasida aminokislotalar o'zaro peptid bog'i bilan birikkan bo'ladi. Peptid bog'i hosil bo'lishi uchun 2 ta va undan ortiq aminokislotalar ishtirok etishi kerak. Peptid bog'ining hosil bo'lishida birinchi aminokislotaning karboksil gruppasi ($-COOH$) va ikkinchi aminokislotaning aminogruppasi ($-NH_2$) ishtirok etadi. Ular o'rtasidagi fermentativ reaksiya asosida bir molekula suv ajralishi hisobiga karboksil gruppasidagi uglerod bilan aminogruppadagi azot orasidagi bog' hosil bo'ladi.



Ikkita aminokislotadan hosil bo'lgan birikma dipeptid, 3 ta aminokislotadan hosil bo'lgani tripeptid, 4 ta aminokislotadan iborat bo'lgani tetrapeptid va ko'p aminokislotalardan tuzilgani esa polipeptid deb ataladi.

Aminokislotalarning polipeptid zanjirida o'zaro joylashish tartibi va soni oqsilning birlamchi strukturasi belgilaydi.

Polipeptid zanjiridagi erkin - NH_2 gruppasi tomoni uning N uchi, erkin - $COOH$ gruppasi mavjud tomoni esa C uchi deb yuritiladi.

Ikkilamchi struktura uchun oqsilning a-spiral va b - struktura ko'rinishlari xos. Bu ko'rinishlar oqsil molekulasidagi birinchi aminokislotaning NH -guruhi to'rtinchi aminokislotadagi CO -gruppasi bilan H_2 bog'i orqali boglanishi hisobiga hosil bo'ladi. Shu tariqa boglanish oqsil molekulasining spiral holda taxlanishiga sabab bo'ladi.

Uchlamchi strukturaning hosil bo'lishida gidrofob bog'lari alohida ahamiyatga egadir. Ular hisobiga oqsil taxlanib yig'ilganda gidrofob qismi molekulaning ichki tomoniga, gidrofil qismi esa tashqi tomoniga joylashadi. Uchlamchi strukturaga misol sifatida mioglobinni ko'rsatish mumkin.

Bir nechta polipeptid zanjirlarning o'zaro birikib fazoviy konfiguratsiya hosil qilishi natijasida oqsillar murakkab tuzilishga ega bo'ladi. Bunday struktura to'rtlamchi strukturani tashkil etadi. Masalan: gemoglobin 4 ta polipeptid

zanjiridan iborat bo'lib, ikkitasi a-zanjirli 141 aminokislota qoldig'idan, ikkinchisi b -zanjirii 146 aminokislota qoldig'idan tashkil topgan.

Oqsillarning xossalari. Oqsillar tarkibidagi erkin COO', NH⁺ gruppalar soniga ko'ra musbat yoki manfiy zaryadga ega bo'ladi. Ko'pchilik oqsillar aminokislotalarga o'xshash amfoter xususiyatga ega. Ularning zaryadini muhit pH belg'laydi. Masalan: kislotali muhitda oqsil musbat zaryadlanadi va elektr maydonida katodga qarab harakatlanadi. Ishqoriy muhitda esa manfiy zaryadga ega, elektr maydonida anodga qarab harakatlanadi.

Muhit pH ning ma'lum ko'rsatkichida oqsilning umumiy zaryadi 0 ga teng bo'lib qoiadi va elektr maydonida harakattanmaydi. Muhit pHining shu ko'rsatkichi oqsillarning izoelektrik nuqtasi deyiladi. Oqsil yuqori pH ko'rsatkichida esa manfiy zaryadga ega.

Oqsillarning tabiiy strukturasi yo'qotishiga denaturatsiya deb ataladi. Denaturatsiyaga uchragan oqsil o'z funksional xususiyatini yo'qotadi. Denaturatsiya qaytar va qaytmas bo'ladi.

Ikkala holda ham oqsildagi aminokislotalar ketma-ketligi saqlanib qoladi. Denaturatsiyaga uchragan oqsil muhit sharoiti yoki pH ko'rsatkichi o'zgarishi natijasida yana o'z tabiiy holiga qaytib kelishi renaturatsiya yoki qaytar denaturatsiya deyiladi. Qaytmas denaturatsiyaga uchragan oqsillar bunday xususiyatga ega bolmaydi. Quyidagi faktorlar denaturatsiyaga sabab bo'ladi:

- yuqori harorat, infraqizil va ultrabinafsha nurlar ta'sirida nurlanish. Oqsilga ta'sir etayotgan kinetik energiya uning atomlarida kuchli qo'zg'alish yuz berishiga sabab bo'ladi, natijada kuchsiz H va ion bog'lari uziladi, oqsil denaturatsiyaga uchraydi;

- kuchli kislota, kuchli ishqor va konsentrlangan tuz eritmalari ion bog'ini uzadi, yuqori haroratda uzoq ta'sir ettirilsa, peptid bog'larini ham uzishi mumkin;

- og'ir metallar, metal kationi oqsilning karboksil anioni bilan mustahkam birikishi hisobiga ion bog'i uziladi;

- organik erituvchi va detergentlar. Bu reagentlar oqsilning gidrofob qismi bilan bog'lanib H bog'larining uzilishiga sabab bo'ladi. Spirtning dezenfeksiyalovchi vosita sifatida qo'llanilishi uning shu xususiyatiga asoslangan. Spirt ta'sirida bakteriya denaturatsiyaga uchraydi va o'z faoliyatini to'xtatadi.

OQSILLARGA XOS RANGLI REAKSIYALAR

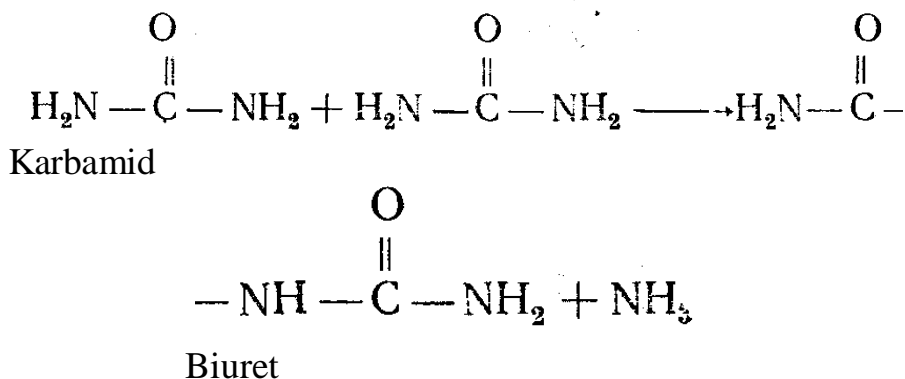
Oqsil va aminokislotalarning sifat va miqdorini aniqlashda ularda sodir bo'ladigan rangli reaksiyalardan keng foydalaniladi. Bu reaksiyalar ikki gruppaga bo'linib o'rganiladi. 1. Oqsil tarkibidagi har xil kimyoviy bog'lar borligidan yuzaga chiqadigan rangli reaksiyalar. 2. Aminokislotalarning funksional gruppalari bilan yuzaga chiqadigan rangli reaksiyalar.

1-ish Biuret reaksiyasi

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. Oqsil eritmasi. 2. Karbamidning quruk holdagisi. 3. 10% li natriy gidroksid eritmasi. 4. 1 % li mis sulfat eritmasi. 5. Probirkalar. 6. Pipetkalar. 7. Shtativ. 8. Elektr plitka yoki gaz gorelka.

Oqsil eritmasi ishqoriy muhitda mis sulfat ionlari bilan pushti-binafsha yoki ko'k-binafsha rang beradi. Rangning hosil bo'lishi, oqsil molekulasidagi peptid bog'larining mis ionlari bilan hosil qiladigan kompleksiga bog'liq.

Biuret reaksiyasini oqsilning to'la parchalanmasligi natijasida hosil bo'ladigan pepton va polipeptidlar ham beradi. Bunday rangli reaksiyani karbamid (mochevina) ni qizdirgan paytda hosil bo'ladigan biuret ham beradi. Reaksiya quyidagi tenglamaga muvofiq boradi:



Biuret reaksiyasi paytida hosil bo'ladigan kompleksning rangi peptid zanjirining uzunligiga qarab har xil bo'lishi mumkin. Masalan, to'rtta aminokislota qoldig'idan iborat polipeptid beradigan kompleks qizil, tripeptid-binafsha rang va nihoyat, dipeptid ko'k rang beradi.

Biuret reaksiyasini o'z molekulasida — CS — NH — yoki — CH — NH — guruhi bo'lgan birikmalar va shuningdek, aminokislotalardan gistidin, amidlardan asparagin ham beradi. Biuret reaksiyasining rangi eritmadagi mis ionlari miqdoriga qarab o'zgaradi, ya'ni mis sulfat eritmasi ko'proq qo'shilsa ko'k rang, kamroq qo'shilsa pushti rang hosil bo'ladi.

Ishning bajarilishi. Ishni bajarish uchun yaxshi yuvilib quritilgan probirkaga karbamid kukunidan ozroq solib, elektr yoki gaz plitkada qizdiriladi. Qizdirish natijasida karbamid suyuq holatga o'tadi. Agar qizdirishni davom ettirsak, u yana qotadi. Karbamidning qattiq holatga o'tishi bilan qizdirish to'xtatiladi. Karbamidning qizdirilish paytida biuret hosil bo'ladi, ammiak esa havoga chiqib ketadi. Ammiakning chiqishini uning hididan bilish mumkin.

Probirka sovigach, unga 1 ml natriy gidroksid eritmasi solib chayqatiladi va

1—2 tomchi mis sulfat eritmasidan tomizilib aralashtiriladi. Natijada probirkadagi eritma pushti rangga o'tadi. Mis sulfatni qo'shishda ehtiyot bo'lish kerak. Agar undan ko'proq qo'shilsa, eritma ko'k-havo rangga o'tib ketishi mumkin.

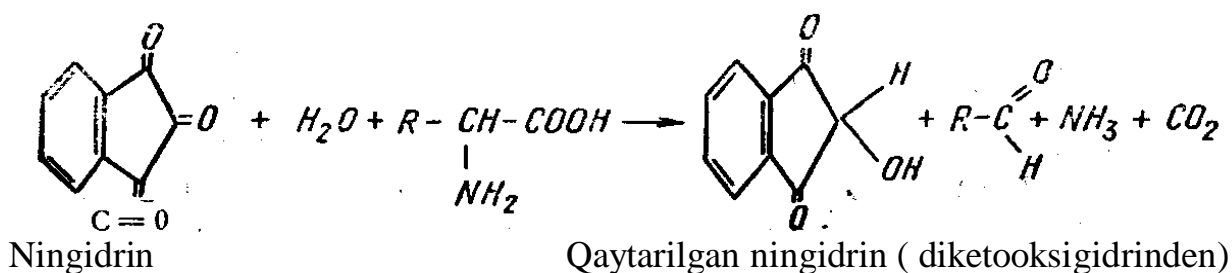
Bu ishni o'simlik oqsili bilan ham olib borish mumkin. Buning uchun probirkaga o'simlik oqsilidan solib, uning ustiga 1 ml natriy gidroksid eritmasi tomizib chayqatiladi. So'ngra 1—2 tomchi mis sulfat qo'shib, eritma asta-sekin aralashtiriladi. Probirkada binafsha rang hosil bo'ladi.

Olingan natijalar asosida zaruriy xulosa chiqariladi.

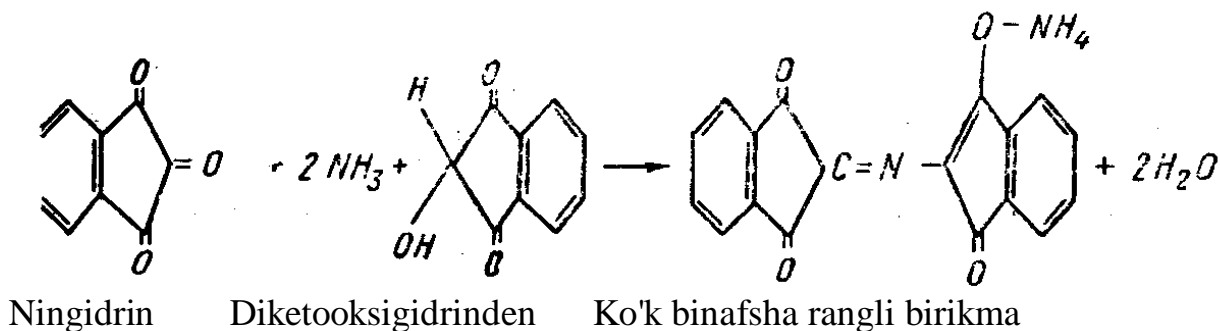
2-ish Ningdrin reaksiyasi

Kerakli reaktiv va asboblari : 1. Oqsil eritmasi. 2. 0,1% li glisin eritmasi. 3. 0,2% li ningidrin eritmasi; 4. Probirkalar; 5. Pipetkalar. 6. Shtativ. 7. Elektr plitka yoki gaz gorelka.

Oqsillar, α - aminokislotalar va politeptidlar ningidrin bilan o'zaro reaksiyaga kirishib, ko'k yoki binafsha rangli birikmalar hosil qiladi. Aminokislotalarning ningidrin bilan o'zaro ta'sir reaksiyasi quyidagi tenglamaga bo'yicha sodir bo'ladi:



Qaytarilgan ningidrin va ammiak yana bir molekula ningidrin bilan o'zaro birikib, zangori-binafsha rangli birikma hosil qiladi:



Ishning bajarilishi. Probirkaga 1—2 ml glisin eritmasi olinib, uning ustiga 5—6 tomchi ningidrin reaktividan tomiziladi va sekin-asta qizdiriladi. Qizdirish natijasida binafsha rang hosil bo'ladi. U keyinchalik zangori rangga o'tishi mumkin.

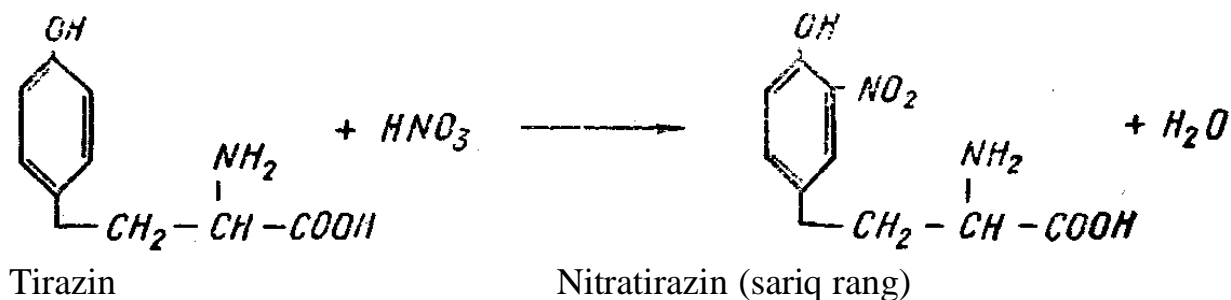
Shunday reaksiyani oqsil eritmasi bilan ham o'tkaziladi. Buning uchun probirkaga 1—2 ml oqsil eritmasidan olib, uning ustiga 5—6 tomchi ningidrin reaktividan qo'shib qizdiriladi, natijada binafsha rang hosil bo'ladi. Zangori-binafsha rangning hosil bo'lishi α - aminokislotalarning borligini ko'rsatadi. Olingan natija daftarga yozib boriladi.

3-ish Ksantoprotein reaksiyasi

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. Oqsil eritmasi; 2. 0,1% li fenol eritmasi; 3. Konsentrlangan nitrat kislota; 4. 20% li natriy gidroksid yoki ammiak eritmasi; 5. 1% li jelatina; 6. Pipetkalar; 7. Shtativ; 8. Elektr plitka yoki gaz gorelka; 9. Probirkalar.

Oqsil eritmasini konsentrlangan nitrat kislota bilan qo'shib qizdirilsa, sariq rang hosil bo'ladi. Shu sariq rang ustiga ozroq ammiak yoki natriy gidroksid eritmasidan qo'shsak, probirkada zarg'aldoq rang oqsil bo'ladi. «Ksantos» yunoncha so'z bo'lib, «sariq» degan ma'noni bildiradi. Shuning uchun bu reaksiyaga ksantoprotein nomi berilgan. Kuchli nitrat kislotaning teriga, tirnoqqa, junga va boshqa xildagi oqsil tutuvchi moddalarga tushgan paytida ham sariq rang hosil bo'ladi.

Oqsil eritmasi (tarkibida tirozin, fenilalanin yoki triptofan aminokislotalari bo'lsa) konsentrlangan nitrat kislota bilan qizdirilganda sariq rang hosil bo'ladi:



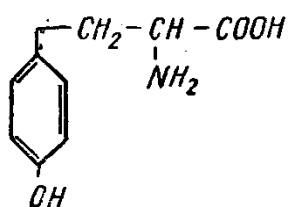
Ishniig bajarilishi. 3 ta yuvilgan toza probirka olib, ularning biriga fenol eratmasidan, ikkinchisiga oqsil eritmasidan, uchinchisiga asa jelatindan 1 ml dan solinadi. Keyinchalik har bir probirkaga 1 ml dan konsentrlangan nitrat kislota qo'shib, asta-sekin qizdiriladi. Natijada oqsil va fenolli probirkalarda rang hosil bo'ladi. Probirkalardagi aralashmalar ustiga ammiak yoki natriy gidroksid qo'shsak, birinchi va ikkinchi probirkalardagi sariq rang, zarg'aldoq ko'rinishga o'tadi. Uchinchi probirkada asa bu holat kuzatilmaydi. Bu asa jelatina tarkibida yuqorida bayon etilgan amanokislotalarning yo'qligini ko'rsatadi.

4-ish Million reaksiyasi

Kerakli reaktiv va asboblar: 1.Oqsil eritmasi; 2. 0,1% li fenol eritmasi; 3. 1% li jelatina; 4. Millon reaktivi; 5. Probirkalar; 6. Pipetkalar; 7. Shtativ; 8. Elektr plitka yoki gaz gorelka.

Fenol va uning hosilalarini, Millon reaktivi bilan qo'shib qizdirilganda, to'q qizil rangli simob birikmalari hosil bo'ladi. Bu reaksiya, o'z molekulasida fenol turkumi bo'lgan tirozinning Millon reaktivi bilan hosil qilgan nitrohosilaning simobli tuziga xosdir.

Shuning uchun ham tarkibida tirozin tutgan ko'pgina oqsillarni Millon reaktivi bilan qo'shib qizdirilganda to'q qizil rangli cho'kma hosil bo'ladi. Agar oqsil tarkibida tirozin bo'lmasa, Millon reaksiyasi kuzatilmaydi.



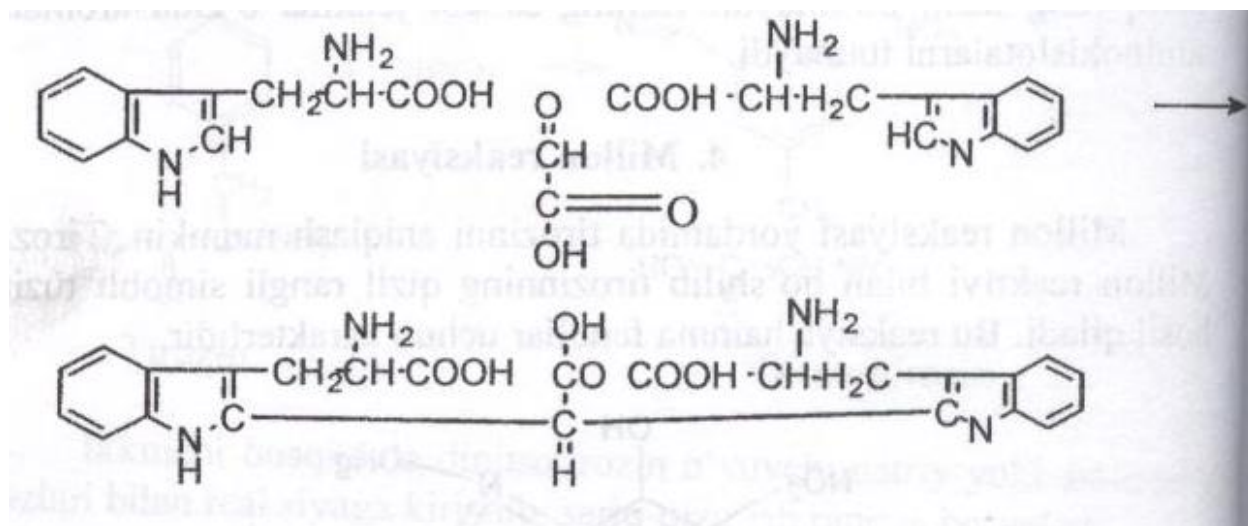
Tirozin

Ishning bajarilishi. Uchta probirka olib, ularning biriga 1 ml fenol eritmasidan, ikkinchisiga 1 ml oqsil eritmasidan va uchinchisiga esa 1 ml jelatina eritmasidan olib, ularning ustiga 4 - 5 tomchi Millon reaktividan qo'shiladi. Reaktivni solish bilan ikkinchi probirkada oqsil cho'kmaga tushadi. Probirkalar asta-sekin olovda qizdiriladi. Natijada birinchi-ikkinchi probirkalarda qizil rang hosil bo'ladi. Uchinchi probirkada rang hosil bo'lmaydi.

Uchinchi probirkada rangning hosil bo'lmasligi, jelatina tarkibida aminokislotaning yo'qligidan dalolat beradi. Olingan natijalar daftarga yozib olinadi va ulardan tegishli xulosalar chiqariladi.

5-ish Adamkevich reaksiyasi

Triptofan kislotali muhitda aldegidlar bilan reaksiyaga kirishib, kondensatsiyaga uchragan, rangli mahsulotni hosil qiladi. Masalan, glioksil kislota bilan (sirka kislota qoldig'i hisoblanadi) quyidagicha reaksiya ketadi.



Shu sxema asosida triptofanning oksimetilfurfurol yoki formaldegid bilan beradigan reaksiyasini kuzatish mumkin.

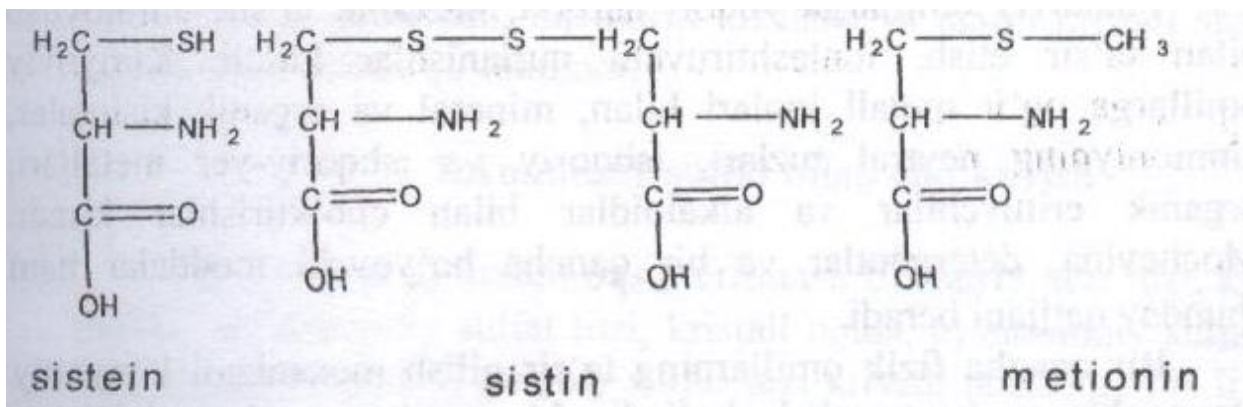
Kerakli reaktiv va asboblari: 1. Yangi tuxum oqsili eritmasi, 2. Jelatina 1% li eritma, 3. Konsentrlangan sirka kislota, 4. Konsentrlangan sulfat kislota.

Ishning bajarilishi: Probirkaga bir necha tomchi tuxum oqsili eritmasidan solinadi, ustiga 1-2 tomchi konsentrlangan sirka kislotasidan qo'shiladi va sekinlik bilan tushgan cho'kma erigun isitiladi. Shundan so'ng sovutiladi va ehtiyotkorlik bilan probirka devori orqali bir tomonga qiyshaytirilgan holda 1 ml konsentrlangan

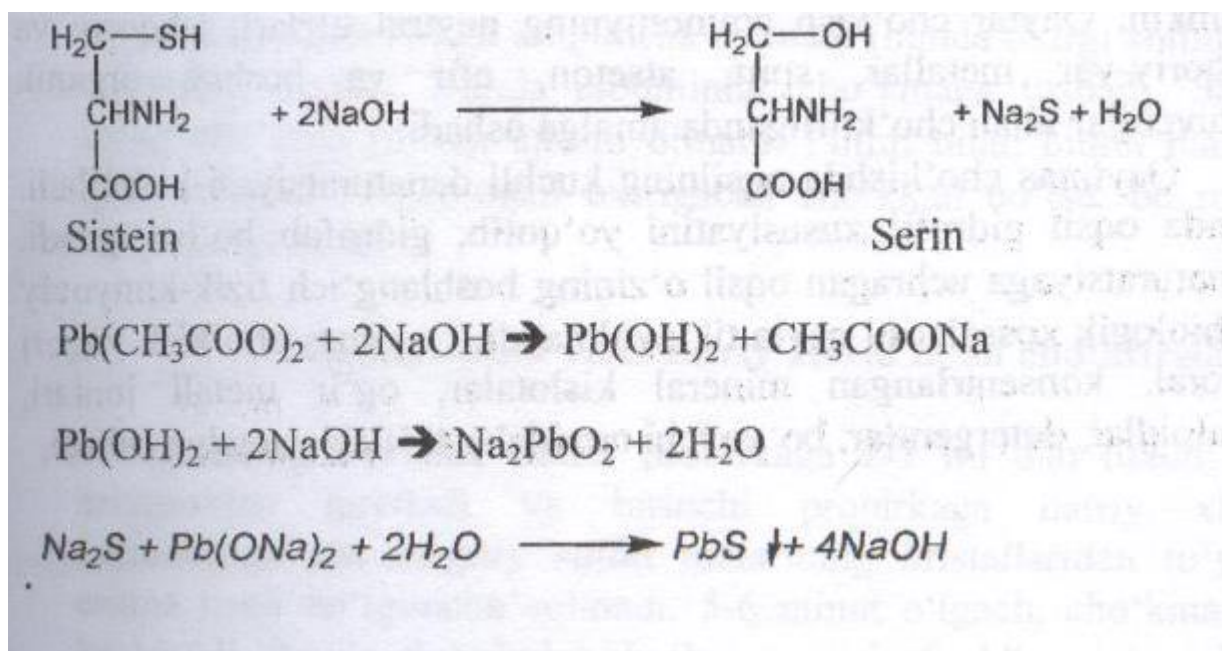
sulfat kislota quyiladi. Bunda eritmalar bir-biriga aralashib ketmasligi kerak. Ikki qatlam chegarasida bir necha minutdan keyin qizil- binafsha halqa hosil bo'ladi. Bu reaksiyani jelatina bilan ham qilib ko'rish kerak, lekin reaksiya chiqmaydi. Buning sababi, jelatinaning tarkibida triptofan uchramaydi. Olingan natija daftarga yozib boriladi.

6-ish Fol reaksiyasi

Bizga ma'lumki, oltingugurt tutuvchi aminokislotalar 3 ta: sistein, sistin, metionindir.



Sistein va sistin molekulasida oltingugurt kuchsiz boglangan bo'lib, ishqoriy muhitda gidroliz qilinganda vodorod sulfid shaklida oson ajralib, ishqor bilan natriy yoki kaliy sulfidni hosil qiladi. Sulfidlar qo'rg'oshin atsetat bilan qo'shib, qora rangli cho'kmani hosil qiladi



Kerakli reaktiv va asboblari: 1. 0.05% li sistein eritmasi, 2. 30% li natriy gidroksid eritmasi, 3. 5% li qo'rg'oshin asetat eritmasi, 4. 1% li chigit oqsili eritmasi.

Ishning bajarilishi: Uchta probirka olib, birichisiga 1 ml 0.05% li sistein

eritmasi, ikkinchisiga 1% li chigit oqsili eritmasi, uchinchisiga jelatina eritmasidan quyiladi. Barcha probirkalarga 30% li natriy gidroksid eritmasidan 1 ml dan qo'shib 2-5 minut davomida qizdiriladi. Probirkalar sovugach 0.5 ml 5% li qo'rg'oshin asetat eritmasi qo'shiladi. Shunda birinchi va ikkinchi probirkalarda qora cho'kma hosil bo'ladi. Uchinchi probirkada esa qora cho'kma hosil bo'lmaydi. Chunki jelatina tarkibida oltingugurtli aminokislotalar yo'q. Olingan natija daftarga yozib boriladi.

OQSILLARNI CHO'KTIRISH REAKSIYALARI

Eritma tarkibidagi oqsillarni cho'ktirish yo'li bilan ajratib olinadi. Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari turlicha bo'lishiga qaramasdan ular ikki guruhga bo'linadi.

Birinchi guruh reaksiyalari **q a y t a r r e a k s i y a l a r** deyiladi. Bunday deyilishiga sabab, ba'zi bir reaktivlar ta'sirida cho'kmaga tushgan oqsillar, ma'lum vaqtdan keyin qayta eritmaga o'tadi.

Ikkinchi guruh reaksiyalari **q a y t m a s r e a k s i y a l a r** deyiladi. Bunda oqsillar o'zlarining ko'pgina eruvchanlik, fermentativ xususiyatlarini yo'qotadi. Shu bilan birga oqsillarning shakli yorug'likni yutishi, elektroforetik harakatchanligi, optik aktivligi kabi fizik-ximiyaviy xususiyatlari ham o'zgaradi, ya'ni oqsil denaturasiyaga uchraydi. Bu guruh reaksiyalar qatoriga oqsillarni og'ir metall tuzlari, alkaloid moddalar, kislotalar va shuningdek, yuqori harorat ta'sirida cho'ktirish reaksiyalari kiradi.

7-ish Oqsillarni tuzlar yordamida cho'ktirish

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. O'simlik oqsili; 2. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ning to'yingan eritmasi; 3. NaCl ning to'yingan eritmasi; 4. MgSO_4 tuzi; 5. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ning yarim to'yingan eritmasi; 6. Asetat kislota; 7. NaCl tuzi; 8. Probirkalar; 9. Pipetkalar; 10. Shtativ.

Oqsillarni tuzlar yordamida cho'kmaga tushirish hodisasi oqsillarning tuzlanishi deyiladi. Oqsillarni cho'ktirishda ishqoriy yoki ishqoriy yer metall tuzlaridan foydalaniladi. Har xil oqsillar tuzlarining konsentrasiyasiga qarab turli darajada cho'kmaga tushadi. Oqsillarning shu xususiyatidan foydalanib, ularni bir-biridan ajratib olish mumkin. Masalan, globulinlar ammoniy sulfatniig yarim to'yingan eritmalarida, albuminlar esa ularning to'la to'yingan eritmalarida yaxshi cho'kma beradi.

Oqsillarning turli tuzlar ta'sirida cho'kmaga tushishida muhitdagi pH ham katta rol o'ynaydi. Masalan, albuminlar muhit kuchsiz kislotali bo'lganida natriy va magniy sulfatning past konsentrasiyaligi eritmalarida osonlik bilan cho'kmaga tushadi.

Ishning bajarilishi. I. Toza yuvib quritilgan probirkaga 2—3 ml o'simlik oqsilidan olib, uning ustiga teng hajmda ammoniy sulfatning to'yingan eritmasi - solinadi va eritma chayqatiladi. Probirkada hosil bo'lgan ammoniy sulfatning yarim to'yingan eritmasida zarrachalari albuminlarga nisbatan katta bo'lgan globulinlar cho'kmaga tushadi. Cho'kmadagi globulinlar filtrlash yo'li bilan ajratib olinadi.

Filtratda qolgan albuminlarni ajratib olish uchun probirkadagi eritmaga $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ning maydalangan kukunidan to'yingan tuz eritmasi hosil bo'lgunga qadar qo'shiladi. Natijada albuminlar cho'kmaga tushadi. Probirkadagi cho'kma filtrlash yo'li bilan ajratiladi. Eritmada oqsilning qolgan-qolmaganligini biuret reaksiyasi orqali aniqlanadi.

Ajratib olingan albuminlar 4—5 ml distillangan suvda eritiladi va u bilan biuret reaksiyasi o'tkaziladi.

II. Oqsillarni natriy xlorid va magniy sulfat tuzlari bilan cho'ktirish uchun ikkita probirka olib, ularning har biriga 3 ml dan o'simlik oqsilidan quyiladi, so'ngra birinchi probirkaga natriy xloridning maydalangan kukunidan, ikkinchi probirkaga esa magniy sulfat kukunidan to'yingan tuz eritmasi hosil bo'lguncha qo'shiladi. Natijada globulinlar cho'kmaga tushadi. Probirkalardagi cho'kma filtrlash yo'li bilan ajratib olinadi. Neytral tuz eritmalarida cho'kmaga tushmagan albuminlar filtratda qoladi. Albuminlarni cho'ktirish uchun filtratga asetat kislotasidan bir necha tomchi tomizib, keyin tuz eritmaları qo'shiladi. Kuchsiz kislotali muhitda cho'kmaga tushgan albuminlarni filtrlash yo'li bilan ajratib olinadi, eritmada oqsil bor-yo'qligini bilish uchun biuret reaksiya o'tkaziladi.

8-ish Oqsillarni spirt yordamida cho'ktirish

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. O'simlik oqsili; 2. Etil spirt; 3. Natriy xlorid tuzi; 4. Probirkalar; 5. Pipetkalar; 6. Shtativ.

Oqsillar ko'pgina organik erituvchilar (aseton, efir, spirt kabilar) ta'sirida neytral va kuchsiz kislotali muhitda cho'kmaga tushadi. Oqsillar, spirt bilan birga bir oz natriy xlorid tuzidan qo'shganda cho'kmaga tezroq va to'la tushadi. Spirt oqsil zarrachalarini degidratasiyaga olib kelsa, tuz ularni zaryadsizlantiradi. Agar oqsillarni cho'ktirish past haroratda olib borilsayu, tushgan cho'kma esa tezda spirtidan ajratib olinsa, oqsil denaturasiyaga uchramaydi.

Ishning bajarilishi. Bu ishni bajarish uchun 2 ta probirka olib, ularning har biriga 2—3 ml dan oqsil eritmasi solinadi. So'ngra oqsil ustiga ozroq NaCl kukuni va 3—4 ml dan spirt solib, aralashma chayqatiladi. Biroz vaqt o'tishi bilan oqsil cho'kmaga tushadi. Agar probirkalarning biriga darhol 4—5 ml distillangan suv, ikkinchisiga 10—15 daqiqadan so'ng suv solinsa, birinchi probirkadagi cho'kmaning eriganligini, ikkinchi probirkadagi cho'kmaning erimay qolganligini ko'rish mumkin. Bu oqsilga spirtning uzoq vaqt ta'sir etishi natijasida uning denaturasiyaga uchraganligini ko'rsatadi.

9-ish Oqsillarni og'ir metal tuzlari yordamida cho'ktirish

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. Oqsillarning suvdagi eritmasi; 2. 0,5% li qo'rg'oshin asetat eritmasi; 3. 5% li mis sulfat eritmasi; 4. 3% li kumush nitrat eritmasi; 5. 0,5% li simob (II) xlorid-sulema eritmasi; 6. Natriy xloridning to'yingan eritmasi; 7. Probirkalar; 8. Pipetkalar; 9. Shisha tayoqcha; 10. Shtativ.

Oqsillar, og'ir metall (Pb, Cu, Ag va Hg) tuzlari bilan ham cho'kma hosil qiladi. Bu tuzlar ta'sirida eritmada oqsillarning cho'kmaga tushishi, ishqoriy yer

metall tuzlari yordamida tushadigan cho'kmalardan farq qiladi, ya'ni oqsillar og'ir metall tuzlarining faqat past konsentrasiyalı eritmaları ta'sirida cho'kmaga tushadi. Agar bu tuzlar ta'sirida hosil bo'lgan cho'kma ustiga qo'rg'oshin asetat va mis sulfat eritmalaridan qayta qo'shilsa, ilgari hosil bo'lgan cho'kma erib ketadi. Oqsil cho'kmasining erishi eritmaga qo'shilgan ortiqcha og'ir metallarning oqsil zarrachalarini adsorblab, ularni qayta zaryadlanishi natijasida yuz beradi.

Ishning bajarilishi. To'rtta probirka olib, ularning har biriga 2—3 ml dan oqsil eritmasi solinadi. So'ngra, birinchi probirkaga qo'rg'oshin asetat, ikkinchisiga mis sulfat, uchinchisiga kumush nitrat va, nihoyat, to'rtinchi probirkadagi oqsil ustiga sulema eritmalaridan 4 - 5 tomchidan tomiziladi. Bu reaktivlarni tomizish bilan probirkalarda cho'kma hosil bo'ladi. Agar birinchi va ikkinchi probirkalardagi cho'kma ustiga qaytadan shu reaktivlardan ko'proq tomizilsa, cho'kma erib ketadi. Sulema solingan probirkadagi cho'kma esa ozroq natriy xlorid eritmasi qo'shilgandan keyingina eriydi.

10-ish Oqsillarni mineral kislotalar bilan cho'ktirish

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. O'simlik oqsili; 2. Sulfat, xlorid va nitrat kislotalari; 3. Probirkalar; 4. Shtativ; 5. Pipetkalar.

Konsentrlangan mineral kislotalar (H_2SO_4 , HNO_3 va boshqalar) ta'sirida oqsillar cho'kmaga tushadi, chunki mineral kislotalar ta'sirida oqsillarning zarrachalari degidratlanadi. Oqsil cho'kmasi, ortiqcha reaktiv (HCl , H_2SO_4) ta'sirida eriydi. Bunga sabab, oqsil zarrachalarining qayta zaryadlanishidir.

Ishning bajarilishi. Dastlab uchta probirka olib, ularning biriga 2 ml sulfat kislota, ikkinchisiga 2 ml xlorid kislota, uchinchisiga esa 2 ml nitrat kislota solinadi. Keyin probirkalarni qiya tutgan holda kislotaga teng miqdorda oqsil eritmasidan sekin-asta quyilsa, ikkala suyuqlik chegarasida halqa holdagi oq cho'kma hosil bo'ladi. Agar xalqa holdagi cho'kma (1 - 2 probirkalar) chayqatilsa, halqa erib ketadi. Mabodo cho'kma erimasa, shu reaktivlardan yana bir oz qo'shiladi. Eritgan oqsil eritmasi ustiga 5 n li natriy gidroksiddan tomizilsa, qayta cho'kma hosil bo'lishini kuzatish mumkin. Uchinchi probirkada ham cho'kma hosil bo'ladi. Ammo hosil bo'lgan cho'kma, probirka chayqatilganda ham, ortiqcha kislota qo'shilganda ham erimaydi. Olingan natijalar daftarga yozib olinadi va tegishli xulosa chiqariladi.

11-ish Oqsillarni organik kislotalar bilan cho'ktirish

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. O'simlik oqsili; 2. Uchxlorasetat kislota 3% li eritmasi; 3. 20% li sulfosalisilat kislota; 4. Probirkalar; 5. Pipetkalar; 6. Shtativ.

Organik kislotalar ta'sirida ham oqsillar cho'kmaga tushadi. Ammo har xil organik kislotalar ta'sir qilish xususiyati bilan bir-biridan farq qiladi. Oqsillarni cho'ktirishda ko'proq uchxlorasetat kislota ishlatiladi, chunki bu kislota ta'sirida faqat oqsillargina cho'kmaga tushib, ularning parchalanishidan hosil bo'lgan yuqori

molekulalar moddalarga ta'sir qilmaydi va ular eritmada qoladi. Bu usul oqsil azotini va eritmada qolgan boshqa azotli birikmalarni aniqlashda keng qo'llaniladi.

Ishning bajarilishi. Ikkita probirka olib, ularning har biriga 2—3 ml dan oqsil eritmasi quyiladi. Birinchi probirkadagi oqsil ustiga 4—5 tomchi uchxlorasetat kislota dan, ikkinchi probirkaga esa sulfosalisilat kislota dan 4—5 tomchi tomiziladi. Har ikkala probirkada cho'kma hosil bo'ladi. Olingan natijalar daftarga yozib olinadi.

12-ish Oqsillarni alkaloidlar bilan cho'ktirish

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. O'simlik oqsili; 2. Pikrat kislota; 3. To'yingan tannin eritmasi; 4. 1% va 10% li asetat kislota eritmasi; 5. 5% li kaliy ferrosianid eritmasi; 6. Probirkalar; 7. Pipetkalar; 8. Shtativ.

Oqsillar ham xuddi alkaloid moddalari kabi simob (II) yodid, vismut (III) yodid, kaliy ferrosianid va, shuningdek, tannin, pikrat kislota ta'siridan cho'kmaga tushadi. Oqsil molekulasidagi azot gruppasi alkaloidlar tarkibidagi gruppaga o'xshash bo'lganidan, bu reaktivlar oqsil tarkibidagi azot asoslari bilan birikib, kompleks birikmalar hosil qiladi. Bunday holda oqsillar musbat (+) zaryadlanib kation, alkaloid moddalar esa manfiy (—) zaryadlanib, anion ko'rinishida bo'ladi. Shuning uchun ham oqsillarni bu reaktivlar bilan cho'ktirishda muhit kislotali bo'lishi kerak. Mabodo, muhit ishqoriy bo'lsa, bu reaktivlar ta'sirida cho'kma hosil bo'lmaydi.

Ishning bajarilishi. Uchta probirka olib, ularning har biriga 2—3 ml dan oqsil eritmasi solinadi. So'ngra birinchi va ikkinchi probirkalarga 2—3 tomchidan 1% li asetat kislota tomiziladi. Birinchi probirkaga 2—3 tomchi tannin, ikkinchi probirkaga 2—3 tomchi pikrat kislota qo'shiladi. Uchinchi probirkaga esa 2—3 tomchi asetat kislota ning 10% li eritmasidan va 2—3 tomchi kaliy ferrosianid eritmasidan tomiziladi. Hamma probirkalarda cho'kma hosil bo'ladi. Agar tajrtda asetat kislota o'rniga, 2—3 tomchi ishqor eritmasi tomizilsa, cho'kma hosil bo'lmaydi.

13-ish Oqsillarni yuqori harorat ta'sirida cho'ktirish

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. O'simlik oqsili; 2. 1% va 10% li asetat kislota eritmasi; 3. Natriy xloridning to'yingan eritmasi; 4. 10% li natriy gidroksid eritmasi; 5. Probirkalar; 6. Pipetkalar; 7. Shtativ; 8. Elektr plitka yoki gaz gorelka.

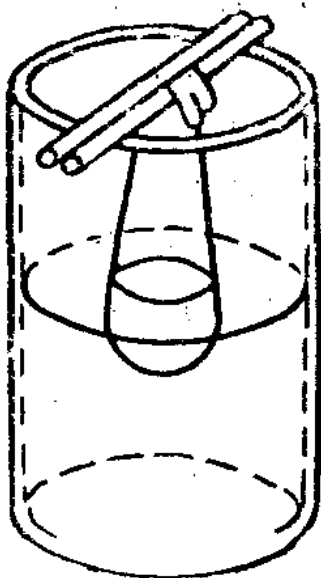
Hamma oqsillar ham yuqori harorat ta'sirida iviydi, ya'ni cho'kmaga tushadi. Ammo turli oqsillarning yuqori harorat ta'siridan cho'kmaga tushishi bir xilda bo'lmaydi. Masalan, bir xil oqsillar 50—55°C da koagulyasiyaga uchrasa, bir xillari qisqa muddatli qaynatishda ham o'zlarining nativ (boshlang'ich) xususiyatini saqlab qoladi. Shunga qaramasdan, ko'pchilik oqsillar yuqori harorat ta'sirida o'zining aktiv xususiyatini yo'qotadi, ya'ni denaturasiyaga uchraydi. Denaturasiyaga uchragan oqsil o'zining biologik aktivligini yo'qotibgina qolmay, balki u eruvchanligini ham yo'qotadi. Demak, oqsillar yuqori haroratda qizdirilganda iviydi, cho'kmaga tushadi, ya'ni denaturasiyalanadi.

Oqsillarning cho'kmaga tushishi muhitdagi pH ga qarab o'zgaradi. Masalan, kuchli ishqoriy yoki kislotali muhitda yuqori harorat ta'sirida oqsillarning cho'kmaga tushishi kuzatilmaydi. Chunki bunday sharoitda oqsil molekulalari kuchli manfiy yoki kuchli musbat zaryadga ega bo'ladi.

Ishniig bajarilishi. Beshta probirka olib, ularning har biriga 2—3 ml dan oqsil eritmasi solinadi. Agar birinchi probirkadagi oqsil eritmasi qizdirilsa, cho'kma tushadi. Ikkinchi probirkadagi oqsil eritmasi ustiga 2—3 tomchi 1 % li asetat kislotadan tomizib qizdirilsa, cho'kma hosil bo'ladi. Bunga sabab, oqsil o'zining izoelektrik nuqtasiga yaqin sharoitda bo'lganligidir. Uchinchi probirkaga 10% li asetat kislotadan 0,5 ml solab qizdirilsa, cho'kma tushmaydi. Agar to'rtinchi probirkadaga 2—3 ml oqsil eritmasi ustiga 10% li asetat kislotadan 0,5 ml solib, undan keyin aralashma ustiga 4—5 tomchi natriy xloridning to'yingan eritmasidan tomizib qizdirilsa, cho'kma tushadi. Beshinchi probirkadagi oqsil eritmasiga 0,5 ml natriy gidroksid qo'shib qizdirilsa, cho'kma tushmaydi. Hatto qaynatilsa ham cho'kma hosil bo'lmaydi. Bu natijalar daftarga yozib olinadi va ulardan tegishli xulosalar chiqariladi.

OQSILLARNI DIALIZ QILISH VA IZOELEKTRIK NUQTASINI ANIQLASH

14-ish Oqsillarni dializ qilish



Kerakli reaktiv va asboblari: 1. O'simlik oqsili; 2. 1 % li kumush nitrat eritmasi; 3. 10% li nitrit kislota; 4. 1% li mis sulfat eritmasi; 5 10% li natrin gidroksid; 6. Dializator. 7. Pipetkalar; 8. Kimyoviy stakan.

Oqsillarning kolloid zarrachalari yirik bo'lganligi uchun ular yarim o'tkazgich pardalardan (membranalardan) o'tmaydi.

Oqsilning suvdagi eritmasi tarkibida bo'ladigan kichik molekulali organik va mineral tuzlar esa bu yarim o'tkazgich pardadan osongina o'tib ketadi. Buning uchun oqsil yarim o'tkazgich xususiyatli membranadan tayyorlangan xaltachaga solinib, uzoq vaqt oqar suvda yuviladi. Dializni yanada tezlashtirish uchun yarim o'tkazgich xaltacha yaqiniga elektr qutblarini ham joylashtirish mumkin. Bu esa zaryadlangan nonlarning yarim o'tkazgich pardalardan o'tishiga yordam beradi.

Kristallga oid birikmalarning yarim o'tkazuvchi pardadan o'tib, kolloid moddalarning o'ta olmasdan qolipsh hodisasiga dializ deb ataladi. Shu jarayonni bajaruvchi moslama dializator deb ata-ladi.

Ishning bajarilishi. Yarim o'tkazgich xususiyatiga ega bo'lgan kollodiydan tayyorlangan xaltachaga 10 - 15 ml o'simlik oqsili eritmasi solinadi va xaltacha og'zi ikkita shisha tayoqcha bilan qisib bog'lanadi So'ngra xaltacha 200—250 ml hajmli ximiyaviy stakanga solingan distillangan suvga botib turgan holda osib

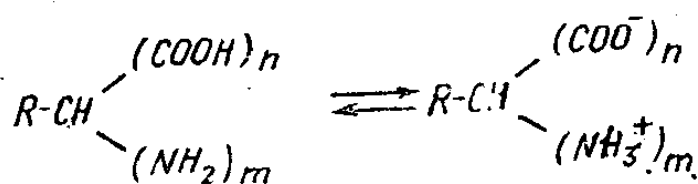
qo'yiladi (1-rasmga qarang).

Dializning tez va yaxshi ketishi uchun stakanga solingan distillangan suv har 15 - 20 daqiqa davomida almashtirib turiladi. Ish davomida dializning qanday tezlikda ketayotganligini bilish uchun vaqt-vaqti bilan stakandagi distillangan suvdan 1—2 ml dan olib, oqsil va xloridlarga sifat reaksiyalari o'tkazib turiladi. Xloridlarga oid sifat reaksiya o'tkazish uchun stakandagi suvdan 1—2 ml olib, uning ustiga 1—2 ml kumush nitrat eritmasi solinadi. Agar kumush nitrat eritmasini qo'shish bilan oq rangdagi cho'kma (AgCl) hosil bo'lsa, u holda oqsil tarkibidagi xloridlarning tashqi eritmaga (suvga) chiqqanligidan dalolat beradi. Oqsillarning tashqi eritmaga chiqqan-chiqmaganligini bilish uchun dializga berilgan vaqt (1,5 - 2 soat) tamom bo'lishi bilan stakandagi eritmadan 1 ml olib, biuret reaksiyasi o'tkaziladi. Ma'lumki, kolloid xususiyatli yuqori dispers zarrachaga ega bo'lgan oqsil molekulalari yarim o'tkazgich pardadan o'ta olmasdan tutilib qoladi. Shu sababli ham tashqi eritmada biuret reaksiyasi kuzatilmaydi. Tajribadan olingan natijalar daftarga yozib olinadi va undan tegishli xulosalar chiqariladi.

15- ish Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash

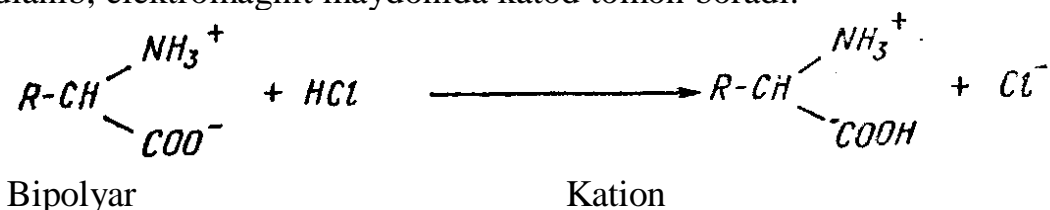
Kerakli reaktiv va asboblari: 1. O'simlik oqsili yoki jelatinaning 1% li eritmasi; 2. 0,1 va 1 n li asetat kislota eritmasi; 3. 0,2 n li asetat kislotaning natriyli tuzi; 4. 96% li etanol; 5. Pipetkalar; 6. Probirkalar; 7. Shtativ.

Ma'lumki, polipeptid zanjirida aminokislotalar bir-biri bilan amino- va karboksil gruppallari orqali birikkan bo'ladi. Ammo, uning tarkibida ma'lum miqdorda ishqor xususiyatli erkin amino- va kislota xususiyatiga ega bo'lgan erkin karboksil gruppalar mavjud. Oqsil molekulasida shu gruppalarining bo'lganligidan, ular amfoter xossaga ega bo'ladi, ya'ni oqsil eritmasi ikki xil zaryad (+) va (-) li bo'ladi.



Agar $n > m$ bo'lsa, oqsil zarrachasining yig'indi zaryadi manfiy, agar $n < m$ holatda bo'lsa, musbat, $n = m$ holatda esa oqsil molekulasi eritmada elektroneytral bo'ladi. Bir vaqtda ham manfiy, ham musbat tutgan ionni amfion deb ataladi. Eritmadagi vodorod ionlar konsentrasiyasini, ya'ni muhit pH ni o'zgartirish tufayli oqsil tarkibidagi amin va karboksil gruppalarining dissosilanishini kuchaytirish yoki kamaytirish mumkin.

Agar oqsil eritmasiga suyultirilgan kislota qo'shilsa, oqsil musbat zaryadlanib, elektromagnit maydonida katod tomon boradi.



Oqsil ioni

Agar oqsil eritmasiga ozroq miqdorda ishqor qo'shsak, oqsil tarkibidagi asosli gruppalarining dissosiyalanishi kamayib, u manfiy zaryadga ega bo'ladi va elektromagnit maydonida anod tomonga harakat qiladi.



Bipolyar

Aanion

Oqsil ioni

Demak, muhit pH ni o'zgartirish bilan oqsil molekulasini zaryadlarini ham o'zgartirish mumkin. Ammo, eritma pH ko'rsatkichining ma'lum chegarasida muayyan oqsil molekulasining umumiy zaryadi neytral bo'lib qolishi ham mumkin. Bunday paytda, oqsil na anod, na katod tomonga harakatlanmasdan qoladi. Bu holatni izoelektrik holat yoki bu pH ko'rsatkichni izoelektrik nuqta deb ataladi. Oqsillar izoelektrik nuqtada beqaror bo'ladi va osonlikcha cho'kmaga tushadi. Shunga asoslanib, turli biologik aralashmalardan oqsillarni ajratib olishda ularni izoelektrik nuqtasida cho'ktirish eng qulay usul hisoblanadi.

Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlashni jelatina misolida ko'rish mumkin.

Ishning bajarilishi. Buning uchun 6 ta toza yuvilib quritilgan probirka olib, ularning har biriga jadvalda ko'rsatilgandek eritmalar aralashmasidan quyiladi.

1-jadval

Jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Probir kalar	0.2n Natriy asetatni ng miqdori	0.2n Sirka asetatni ning miqdori	1n Sirka asetatni ng	Qo'shil gan jelatina miqdori	Distill angan suv	Aralash maning hisobi	Loyi qa hosi l bo'li shi
1	2	0.25	-	2	3.75	5.6	
2	2	0.50	-	2	3.50	5.3	
3	2	1.00	-	2	3.00	5.0	
4	2	2.00	-	2	2.00	4.7	
5	2	4.00	-	2	-	4.4	
6	2	-	0.8	2	3.2	4.1	

Probirkalardagi eritmalar aralashmasining umumiy hajmi bir xilda, ya'ni 8 ml ga teng. So'ngra 4-probirkadagi aralashma ustiga chayqatganda ham sezilar - sezalmas loyqa hosil bo'lguncha 96% li spirtidan sekin-asta tomiziladi. Qolgan probirkalarga ham xuddi 4-probirkaga solingan miqdorda spirt quyiladi va 20—30 daqiqa tinch saqlanadi. So'ngra probirkalarda hosil bo'lgan loyqa darajasi aniqlanadi. Qaysi bir probirkada kuchli loyqa hosil bo'lgan bo'lsa, o'sha probirkadagi muhitning pH i jelatinaning izoelektrik nuqtasiga tegishli bo'ladi va jadvalning oxirgi katagiga plyus (+) yoki minus (-) belgilari qo'yiladi. Qaysa bir

probirkada quyuq loyqa kuchli hosil bo'lgan bo'lsa, 2 ta yoki 3 ta plyus belgisini ham qo'yish mumkin. Olingan natijalar daftarga yozib qo'yiladi va tegishli xulosa chiqariladi.

OQSILLARNI GIDROLIZ QILISH

16- Oddiy oqsillarni gidroliz qilish

Kerakli asbob va reaktivlar: 100 ml li yumaloq tubli kolba, menzurka, shisha nay o'rnatilgan probirka yoki qaytar sovutgich, shtativ (qisqichlari bilan), gaz gorelka yoki spirt lampa, pipetkalar, 1% li tuxum oqsili eritmasi, konsentrlangan xlorid kislota, ishqorning 10% li eritmasi, mis (II)-sulfatning 1%li eritmasi.

Murakkab polimer moddalarning suv biriktirib olish yo'li bilan parchalanishi gidroliz deb ataladi. Qo'llaniladigan katalizatorga qarab gidroliz kislotali, ishqoriy va fermentativ bo'lishi mumkin. Oddiy oqsillar gidrolizlanganda faqat aminokislotalar hosil bo'ladi.

Laboratoriya sharoitida ko'pincha oqsillarni kislotali gidroliz qilish usuli keng qo'llaniladi. Lekin bu vaqtda triptofan to'la, serin, treonin, sistein, tirozin va fenilalanin qisman parchalanadi. Shunga qaramasdan, parchalangan aminokislotalarning prosent miqdori kam bo'lganligi uchun asosan kislotali gidroliz usulidan foydalaniladi. Ishqoriy gidroliz vaqtida ko'pchilik aminokislotalar parchalanadi, faqat triptofan deyarli o'zgarishsiz qoladi. Shuning uchun, ishqoriy gidroliz oqsil molekulasiidagi triptofan miqdorini aniqlash uchun qo'llaniladi.

Kislotali gidroliz vaqtida oqsillar avvalo yuqori molekulyar peptidlarga, so'ngra kichik molekulali peptidlarga va, nihoyat, erkin aminokislotalargacha parchalanadi.

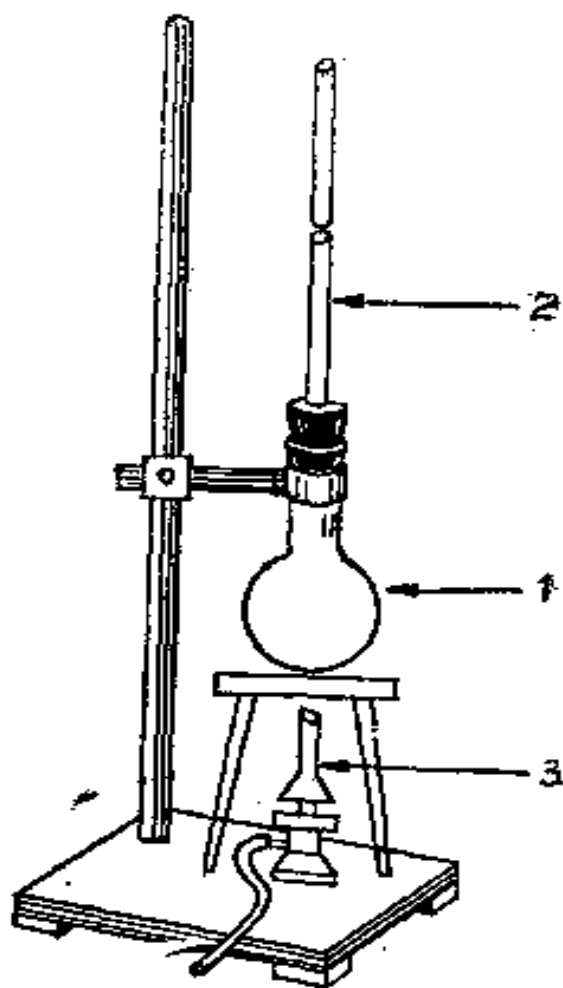
Oqsilni to'la gidroliz qilish uchun havo sovutgichi bilan jihozlangan kolbachada yoki og'zi zich berkitilgan ampulalarda xlorid, sulfat kislota ishtirokida olib boriladi.

1- t a j r i b a. Oddiy oqsilni kislota ta'sirida gidrolizlash.

Ishning bajarilishi. Gidroliz uchun 2 ta yumaloq tubli kolbaga 20 ml dan 1% li tuxum oqsili va 5 ml dan konsentrlangan, zichligi $1,18 \text{ sm}^3$ ga teng bo'lgan xlorid kislota quyiladi. Kolba og'zi uzun shisha nay o'tkazilgan probka bilan berkitiladi va uni asbestli, sim to'rli shtativga o'rnatiladi, mo'rili shkaf ichida 45—90 minut (o'qituvchining ko'rsatmasiga binoan) davomida qaynatiladi (6-rasm).

2- t a j r i b a. Gidrolizatdagi oqsil parchalanishining oraliq mahsulotlarini aniqlash.

Gidroliz prosessi davomida bir necha marta biuret reaksiyasi qilib ko'riladi. Buning uchun har safar oz miqdorda (5—10 tomchi) gidrolizat olinib, neytrallanadi va biuret reaksiyasi o'tkaziladi. Biuret reaksiyasi vaqtida oqsil parchalanishining oraliq mahsulotlari peptonlar pushti yoki qizil, oqsillar esa ko'kish-binafsha rang beradi. Gidroliz tugagandan keyin gidrolizat keyingi ish uchun olib qo'yiladi.



1-rasm. Oqsilni gidrolizlash uchun qurilma:
1—yumaloq tubli kolba; 2—havo sovitgichi; 3- gorelka.

OQSIL GIDROLIZATI — AMINOKISLOTALAR ARALASHMASINI XROMATOGRAFIYA USULI BILAN AJRATISH

Gidrolizat tarkibidagi aminokislotalar aralashmasini ajratish va ayrim aminokislotalarning sifat va miqdorini aniqlashda qog'ozda o'tkaziladigan: taqsimlovchi xromatografiya usuli keng qo'llaniladi. Bu usul M. S. Svetning 1903 yilda taklif qilgan xromatografiya analizining o'zgartirilgan ko'rinishidir.

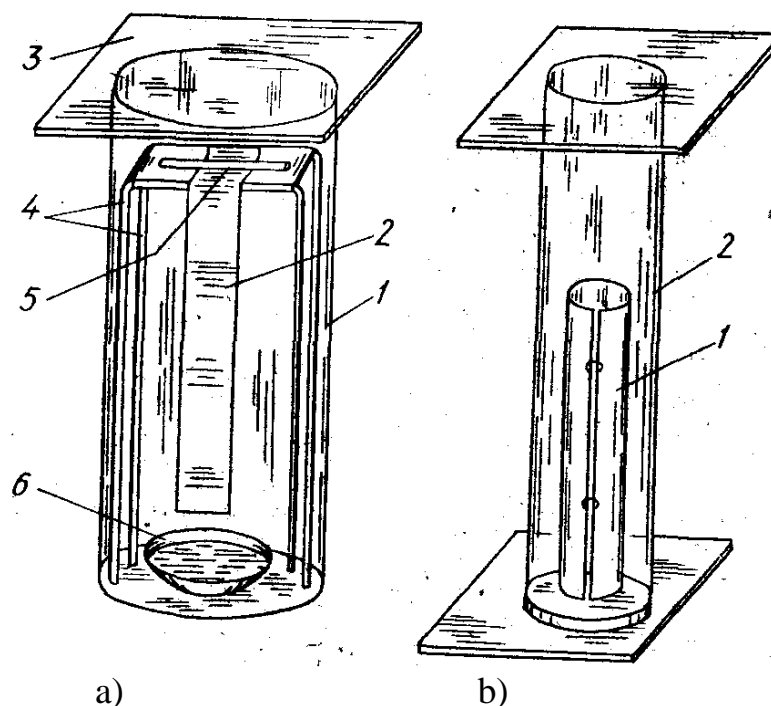
Aminokislotalarni ajratish ularni ikkita aralashmaydigan eritmada (biri suv, ikkinchisi suv bilan to'yintirilgan organik eritma) erish xususiyatini aniqlash orqali amalga oshiriladi. Hozirgi vaqtda xromatografiya usulining quyidagi xillari mavjud: adsorbsion usul aminokislotalarning turli adsorbentlarda adsorbsiyalanishiga bog'liq: ion almashtiruvchi xromatografiya usuli aminokislotalarning zaryadiga qarab kationit yoki anionitlardan foydalaniladi. Afin xromatografiya — xususiy bog'lanish holatiga ega bo'lgan fermentlar, immunoglobulinlar, reseptor va gormonlardan foydalanib tegishli birikmalar ajratiladi.

17-ish Aminokislotalarni qog'oz xromatografiya usuli bilan ajratish

Ushbu usul maxsus tayyorlangan xromatografiya — filtr qog'ozida o'tkaziladi. Namlangan kameraga joylashtirilgan xromatografiya qog'ozi 20 — 22 % suvni ushlab qolish xususiyatiga ega. Demak, suv harakatlanmaydigan faza, chunki u qog'ozga shimilgan, harakatlanuvchi faza sifatida organik erituvchilardan foydalaniladi. Ularga suv bilan to'yintirilgan izopropil, izobutil, butil spirtlari, fenol va boshqalar kiradi. Xromatografiya qog'oziga bir tomchi aminokislota aralashmasidan tomiziladi, qog'ozning ikkinchi uchi tegishli organik erituvchiga tushiriladi. Erituvchi qog'oz bo'lakchasi bo'ylab shimila boshlaydi va erigan aminokislota o'zi bilan birga yo'naltiradi. Aminokislotalarning qog'oz bo'lakchasidagi harakatlanish tezligi uning eruvchanligiga bog'liq. Aminokislota suvda qancha yaxshi erisa, organik erituvchida shuncha yomon eriydi va organik erituvchiga nisbatan harakatlanish tezligi sust bo'ladi. Shu yo'l bilan aminokislotalar turli masofada taqsimlanadi.

Aminokislotalarni xromatografiya qog'ozida harakatlanishiga qarab; yuqoriga, pastga va doira bo'ylab harakatlanuvchi xromatografiya turlari tafovut qilinadi.

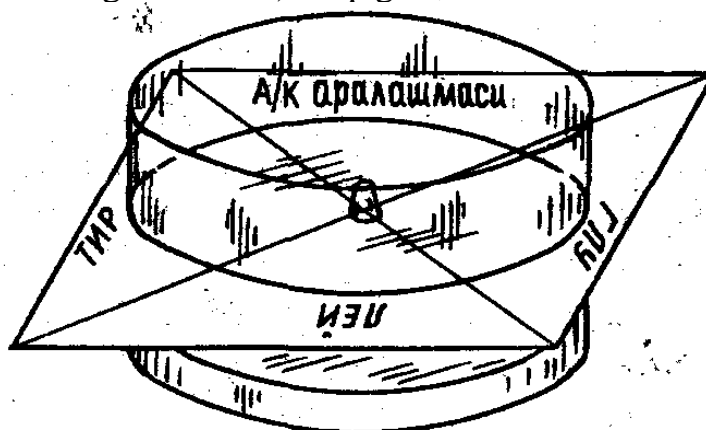
Aminokislotalarning xromatografiya qog'ozida taqsimlanish masofalari α -aminokislotalar uchun o'tkaziladigan ningidrin reaksiyasi yordamida aniqlanadi. Aralashmadagi muayyan aminokislota aniqlash uchun xromatografiya qog'oziga guvoh aminokislotalar tomiziladi va shu aminokislotalarning masofasiga ko'ra tegishli aminokislota aniqlanadi. Shuningdek, tegishli aminokislota taqsimlanish koeffitsiyentiga ko'ra aniqlanishi mumkin.



2-rasm.

Pastga (a) va yuqoriga (b) yo'naltirilgan xromatografiya kameralari.

a) 1-kamera; 2-qog'oz; 3-kameraning qopqog'i; 4-kemacha uchun moslama; 5-kemacha; 6-eritma solingan idish. b) 1 -qog'oz; 2-kamera.



3-rasm. Aylana xromatogramma uchun kamera.

Rfab.

Bunda a—aminokislotalarning tomizilgan joydan o'tgan masofasi, b - eritmaning o'tgan masofasi. Masofalar mm da o'lchanadi.

Koeffitsiyent R_f har qanday aminokislota uchun tajriba o'tkazilayotgan sharoitda xususiy kattalikdir.

Tekshiriluvchi material: gidrolizlangan aminokislota aralashmasi.

Reaktivlar: tirozinning 0,4% li eritmasi, glutamin kislotalarining 0,6% li eritmasi, leysinning 0,5 % li eritmasi, ningidrinning asetonidagi 0,2 % li eritmasi va yuqoridagi aminokislotalar aralashmasi, erituvchi sistemalari 15:15:10 nisbatda olingan butil spirti, sirkasimon kislota va suv aralashmasi.

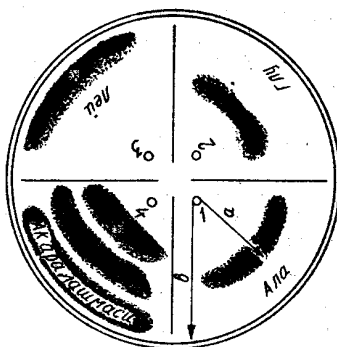
Kerakli anjomlar: xromatografiya filtr qog'ozi, Petri kosachasi,

xromatogrammalarni ilish uchun moslama, purkagich, 105°C li quritgich shkaf, qaychi, skalpellar, shisha tomizgichlar, qalin nina.

Bajariladigan ish tartibi. Xromatografiya usuli bilan aminokislotalarni ajratish uchun ishlatiladigan kameralar 2-rasmda keltirilgan (yuqoriga, pastga va aylana harakatlanadigan aminokislotalar xromatografiyasi).

1. Xromatografiya filtr qog'ozidan 11x11 sm li to'rtburchaklar yasaladi. To'rtburchak oddiy qora qalam bilan to'rt qismga bo'linadi. Chiziqlar kesishgan nuqtadan radiusi 10 mm bo'lgan aylana chiziladi. To'rtburchakning tomonlari tartib raqamlari bilan belgilanadi. Shundan so'ng xromatografiya qog'ozi Petri kosachasiga (3-rasmdagi kabi) o'rnatiladi. Uning chetlari Petri kosachasining ustida bo'lishi kerak.

2. Har qaysi bo'linmaga ingichka tomizgich yordamida aniq aminokislota va ularning aralashmasi ehtiyotlik bilan tomiziladi (4-rasm). Erituvchilarning shimilishi uchun xromatografiya qog'ozining o'rtasidagi teshikchaga filtr ustunchasi o'rnatiladi. Xromatografiya kamerasiga shu teshikcha orqali qalin nina bilan 10—15 ml erituvchi solinadi. Idishning tubi erituvchi bilan to'ldirilgan bo'lishi kerak. Kamera qopqoq bilan berkitiladi. Filtr ustuncha orqali erituvchi sekin-asta xromatografiya qog'ozining yuqorisiga qarab yo'naladi. Erituvchi xromatogramma chegarasiga yaqinlashganda jarayon tugatiladi, erituvchi yetgan chegara qalam bilan belgilanadi. Shundan keyin xromatogramma maxsus moslamaga joylashtirilib, 100—120°C li quritgich shkafda quritiladi, shunda ajralgan aminokislotalar qog'ozga o'rnamshadi. Quritish jarayoni 5—10 daqiqa, ya'ni erituvchining hidi atrofga tarqalguncha davom ettiriladi. Quritilgan xromatogramma aminokislotalarni aniqlash uchun ningidrin eritmasi purkaladi va yana quritiladi. Natijada aminokislotalar o'rnamshgan joyda dog' hosil bo'ladi (4-rasm).



4-rasm.

Aminokislotalarning aylana (doira) xromatogrammasi.

3. Har qaysi aminokislota ning «Rf» si topiladi va aniq aminokislota bilan aralashmadagi aminokislota solishtiriladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Xromatografiya usulining asoslanishini, turini hamda olingan natijalarni daftarga yozib, tegishli xulosa chikaring. Aminokislotalarni aniqlashning ahamiyatini eslab qoling.

OQSILLARNI MIQDORIY JIHATDAN ANIQLASH USULLARI

18- ish Oqsil miqdorini Biuret reaksiyasi yordamida aniqlash

Usulning mohiyati: Ishqoriy muhitda mis ionlari oqsil molekulasi bilan bogiari bilan reaksiyaga kirishib, ko'k- binafsha rang beruvchi kompleks hosil qiliadi. Rangning intensivligi oqsil miqdoriga to'g'ri proporsional bo'ladi.

Ishning bajarilishi: Eritma tayyorlash.

1.Oqsil (albumin, pepsin, kazein)ning 1% li NaCl dagi standart eritmasi 10 mg/ml.

2.Biuret eritmasi; 0,15 g Cu SO₄ 5H₂O va 0,6 g NaKQ H₄O₄ 4H₂O (segnet tuzi) 50 ml 1% li NaOH qo'shib distillangan suv bilan 100 ml ga keltiriladi. Eritma polietilen idishda saqlanadi.

3.1% liNaCl.

Kalibrlash egri chizig'ini tuzish. Buning uchun 10 ta probirkaga standart eritmadan 1-10 mg miqdorida qilib solinadi. Hamma probirkadagi eritma 1% li NaCl bilan 1ml gacha keltirib, unga 8 ml dan Biuret eritmasi qo'shiladi. Kontrol sifatida oqsil eritmasi o'rniga 1 ml 1% li NaCl olinadi, aralashmalar chayqatib xona haroratida o'lchanadi. Olingan natijalar asosida grafik tuziladi. Bunda ordinata o'qiga 540 nm dagi SF ko'rsatkichi, abssissa o'qiga esa oqsilning mg/ml miqdori qo'yiladi.

Oqsil miqdorini aniqlash. Tekshirilayotgan eritmada oqsilning miqdorini aniqlash uchun 1 ml oqsil eritmasiga 8 ml biuret reaktivi qo'shiladi va 30 minut xona sharoratida saqlangach optik zichligi aniqlanadi. Oqsil miqdori kalibrlash egri chizig'iga ko'ra topiladi.

Uslubning kamchiligi unchalik sezgir va aniq emasligi bo'lib, shunga qaramay etirmada oqsil miqdori ko'p bo'lganda foydalanish mumkin.

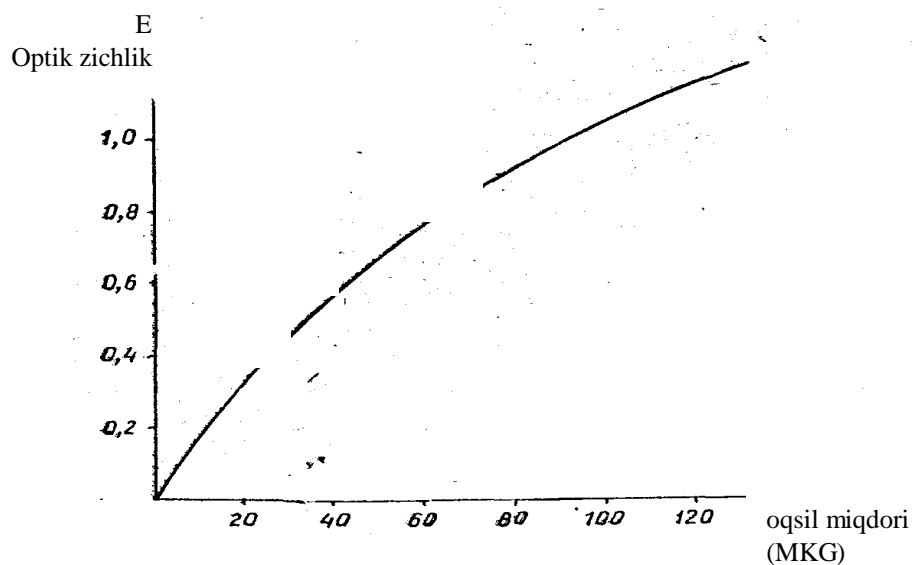
19-ish Oqsil miqdorini Louri usuli bilan aniqlash

Kerakli asbob va reaktivlar: fotoelektrokolorimetr, 50 va 10 ml li o'lchov silindrlari, 2 va 10 ml li darajalangan pipetkalar, A — reaktivi, V — reaktivi, Foling reaktivi, kristall holidagi albumin.

Oqsilni miqdor jihatdan aniqlash usullari ichida eng keng tarqalgani va yuqori sezgirlikka ega bo'lgani Louri usulidir. Louri usuli bir vaqtning o'zida ikki xil, ya'ni biuret reaksiyasi hamda tirozin va sisteinlarga xos Foling reaktivi bilan beradigan rangli reaksiyaga asoslangan. Fosfovolframat va fosfomolibden kislotalari aralashmasi (Foling reaktivi) qaytarilganda yuqoridagi aminokislotalarning radikallari bilan birikib, ko'k rangli kompleks hosil qiladi. Bu qaytarish reaksiyasida mis sulfatning ishqordagi eritmasi oqsil bilan hosil qilgan misli kompleksi ishtirok etsa kerak. Louri usuli suyultirilgan eritmalarida, ion almashinuv xromatografiyasi va molekulyar elaklarda oqsillarni fraksiyalashda oqsil miqdorini aniqlash imkonini beradi.

Tajriba. Kalibrlash egri chizig'ini chizish.

Ishning bajarilishi. Ishni boshlashdan oldin 49 ml A eritmaga 1 ml V eritma aralashtiriladi. 1 ml eritmada 20 dan 400 mkg gacha oqsil (kristall holatdagi tuxum yoki qon zardobi albumini, kazein yoki boshqa) bo'lgan standart eritmalar seriyasi tayyorlanadi. Agar kristall holatdagi oqsil bo'lmasa, qon zardobi yoki hasharotlar gemolimfasidan (avval oqsil miqdori refraktometrik usulda aniqlab olinadi) foydalanish mumkin. 5 ta seriyadagi standart eritmalar tayyorlangach, har biridan 1 ml dan olib, A va V eritmalar aralashmasidan 4 ml dan quyiladi. Suyuqliklar yaxshilab aralashtirilgach, 10 minutga xona temperaturasida qoldiriladi. So'ngra aralashmaga tezlikda pipetka yordamida 0,4 ml Foling reaktividan qo'shib, bir soatga (30—90 minutgacha) rang rivojlanishi uchun qoldiriladi. Shundan keyin fotoelektrikolorimetr yoki spektr fotometrda 750 nm da optik zichlik aniqlaniladi. 5 seriya standart oqsil eritmaları bilan Louri reaksiyasi bajarilgandan so'ng grafik tuziladi. Ordinata o'qiga optik zichlik, absissa o'qiga oqsil miqdori qo'yilib, Fotokalorimetr ko'rsatkichi bo'yicha nuqtalar belgilanadi va ularni tutashtirib egri chiziqqa aylantiriladi. Etalon sifatida 4 marta qayta kristallangan tuxum albumini olingan (A. E. Gurvich bo'yicha) (5- rasm).



5-rasm. Louri usulida oqsil miqdorini aniqlash usuli kalibrlovchi egri chiziq.

OQSILLARNING FIZIK-KIMIYOVIIY XOSSALARI

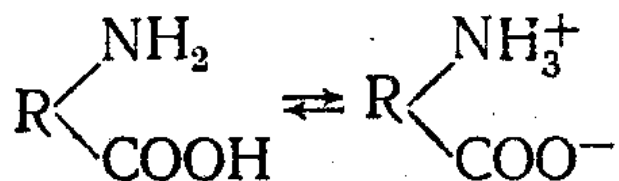
Oqsillar yuqori molekulyar biologik polimerlar bo'lganligi sababli ular suvda eriganda kolloid eritmalar hosil qiladi. Oqsil molekulasida o'zining aminokislota tarkibiga qarab eritmada musbat yoki manfiy zaryadga ega bo'ladi. Oqsil

zarrachasining zaryadi uni eritmada stabillovchi asosiy faktor hisoblanadi.

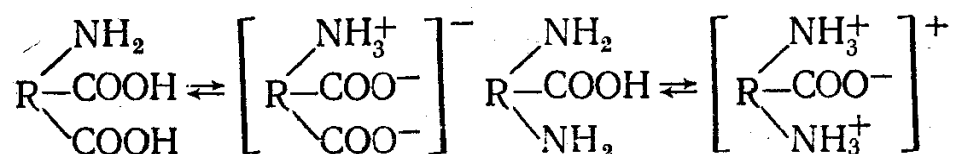
Oqsillarning muhim xususiyatlaridan biri ularning eruvchanligi va cho'kishi hisoblanadi. Turli oqsillarning molekulyar xususiyatlari, bajaradigan vazifasi, tabiatda tarqalgan ob'ektiga bog'liq ravishda turli darajadagi eruvchanlikka ega. Ular turli fizik va ximiyaviy omillar ta'sirida eritmadan cho'kadi. Cho'ktiruvchining turi va oqsil erigan muhitga qarab oqsil o'z xoliga qaytmas bo'lib cho'kishi, denaturasiyaga uchrashi yoki qayta cho'kishi mumkin.

Oqsil eritmada qizdirilganda, organik erituvchilar, konsentrlangan ishqor yoki kislotalar, og'ir metall ionlari ta'sirida denaturasiyaga uchraydi. Denaturasiya vaqtida ba'zi molekula ichidagi bog'lar (vodorod, disulfid va boshqalar) qayta gruppalanishi hisobiga oqsil molekulasining uchlamchi tuzilishida muhim o'zgarish ketadi. Natijada ba'zi fizik, ximiyaviy va biologik xususiyatlari yo'qoladi. Oqsillarning oddiy erituvchilarda (suv, tuz eritmalari va boshqalar) eruvchanligi yo'qoladi, denaturasiya natijasida gidrofil xossalarini yo'qotib gidrofob xossalariga ega bo'ladi. Denaturasiyaning bunday turi qaytmas denaturasiya deb atalib, bunday oqsil o'zining nativ xossalariga har qandan sharoitda ham qaytmasligi mumkin.

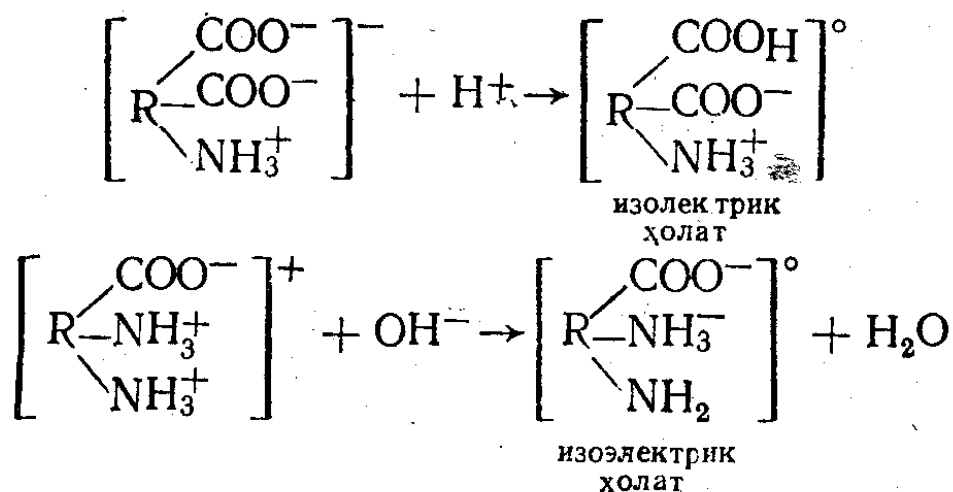
Oqsillarning eruvchanligi va eritmada turishini ta'minlovchi asosiy faktorlardan biri oqsil molekulasining zaryadi va unga bog'liq bo'lgan suv qobig'idir. Oqsillar aminokislotalardan tarkib topganligi uchun amfoter xususiyatga ega:



Oqsil molekulasidagi erkin amino-karboksil gruppalarni miqdori va nisbati turli oqsillarda turlicha bo'ladi, shu sababli oqsillar zaryadining kattaligi va turi har xil bo'lishi mumkin:



Karboksil gruppaning dissosilanishi kislotali muhitda, aminogruppaniki esa ishqoriy muhitda kamayadi. Shuning uchun oqsil erigan eritmaning pH ko'rsatkichi oqsilning zaryadiga qarab kislotali yoki ishqoriy tomonga o'zgartirilsa, molekuladagi musbat yoki manfiy zaryadlangan funksional gruppalar soni tenglashib, oqsil zarrachasining umumiy zaryadi nolga teng bo'lib qoladi. Bu holat oqsilning **izoelektrik holati**, shu muhitdagi vodorod ionlar konsentrasiyasi (pH) oqsilning **izoelektrik nuqtasi** deb ataladi:



Oqsil molekulasining eruvchanligi izoelektrik holatda kamayib, juda oson cho'kadigan bo'lib qoladi. Ko'pchilik oqsillarning izoelektrik nuqtasi kislotali sharoitga to'g'ri keladi. Chunki karboksil gruppaning dissosilanish darajasi aminogruppanikiga qaraganda yuqori, natijada hatto oqsil molekulasida teng miqdorda — amino-karboksil gruppalarida tutgan holatda ham oqsil zarrachasining zaryadi manfiy bo'ladi.

Oqsilning ikkilamchi va uchlamchi tuzilishi unga bog'liq bo'lgan elektr zaryadi va suv qobig'i uning turg'un eritma hosil qilishini ta'minlaydi. Oqsil zarrachasining nativ fazoviy tuzilishiga ta'sir qiluvchi, zaryadsizlantiruvchi, suv qobig'ini buzuvchi ta'sirotlar oqsilni eritmadan cho'kishga olib keladi. Ularga yuqori temperatura, og'ir metall tuzlari, organik erituvchilar, organik va mineral kislotalar, alkaloid reaktivlari va boshqalar kiradi. Aytib o'tilgan agentlar ta'sirida oqsil denaturasiyaga uchraydi va o'z holiga qaytmas bo'lib cho'kadi. Ishqoriy metallar neytral tuzlarining yuqori konsentratsiyali eritmalarida ta'sirida oqsil zarrachasining suv qobig'i yo'qoladi, oqsil o'z holiga qaytar bo'lib cho'kadi. Bu hodisa tuzlanish deb ataladi.

20-ish Oqsillarning eruvchanligini aniqlash

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. Shtativ, 2. Probirkalar, 4. Pipetkalar, 5. Chinni hovoncha, 6. Tuxum oqsilining 1% li eritmasi, 7. Distillangan suv, 8. Osh tuzining eritmasi, 9. Natriy gidroksidning 0,2 % li eritmasi, 10. Mis (II)—sulfatning 1% li eritmasi.

Tuxum oqsili, qon zardobi, muskul plazmasi va boshqa biologik suyuqliklar suv bilan suyultirilsa, loyqa paydo bo'lishi mumkin, chunki bu suyuqliklarda albumin va globulin oqsillari bo'lib globulinlar kuchsiz tuz eritmalarida eriydi, toza suvda erimaydi. Shuning uchun ular distillangan suvda suyultirilganda cho'kmaga tushadi. Agar bu eritmaga ishqoriy metallarning neytral tuzlaridan (NaCl, KCl, Na₂SO₄ va boshqalar) oz miqdorda qo'shilsa, cho'kma erib ketib, eritma tiniqlashadi.

O'simlik oqsillarini yuvib olish uchun tekshirilayotgan ob'yektdagi oqsil fraksiyasining xarakteriga qarab turli xil erituvchilardan foydalaniladi. Bug'doy,

suli va arpa unlarining oqsillari 0,2% li NaOH da yaxshi, 50—60% li spirtidagi NaOH ning 0,2% li eritmasida undan ham yaxshiroq eriydi. Eritmaga albumin, globulin, prolamin va glyutelinlar o'tadi. Glyutelinlar tarkibida dikarbon aminokislotalar (asparagin va glyutamin kislotalar) borligi, kislota tabiatli bo'lganligi uchun ishqorda yaxshi eriydi. Prolaminlar (bug'doy va suli gliadini, arpa gordeini) suvda va turli eritmalarda erimaydi. Faqat 50—80% li spirtida eriydi. Bu oqsillar tarkibida ko'p miqdorda prolin va glyutamin kislotalar bo'ladi. Amaliy ish natijasi jadval (2- jadvalga qarang) ko'rinishida yoziladi.

Ishning bajarilishi. 2 ta probirka olib, 2 tomchidan suyultirilmagan tuxum oqsilidan tomizib, birinchisiga 20 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 20 tomchi 6% li NaCl eritmasi qo'shiladi va 3—5 minut davomida tindirib qo'yiladi. Birinchi probirkada cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi. Chinni hovonchaga 200 mg bug'doy uni solib, 5 ml 0,2% li NaOH quyib, yaxshilab eziladi. Eritmaga albumin, globulin va glyutelinlar o'tadi. Aralashma tingandan keyin bir qismi bilan oqsilga rangli reaksiya qilinadi, qolganini cho'ktirish reaksiyalari uchun olib qo'yiladi.

2- j a d v a l

Oqsilning nomi	H ₂ O	5% li NaCl	0,2% li NaOH	
Xulosa. Eslatma. Oqsilning nomi bo'limiga albumin, globulin, glyutelin yoziladi. Qolganlariga eruvchanlikni ifodalash uchun musbat (+) va manfiy (—) belgilar qo'yiladi.				

MURAKKAB OQSILLAR

Gidrolizlanganda aminokislotalar bilan bir qatorda prostetik grupp deb ataluvchi turli kimyoviy tarkibli moddalar hosil qiluvchi yuqori molekulyar biologik polimerlar murakkab oqsillar deb ataladi. Prostetik gruppaning ximiyaviy tarkibiga qarab murakkab oqsillar xromoproteinlar, nukleoproteinlar, lipoproteinlar, glikoproteinlar, fosfoproteinlar va metalloproteinlarga bo'linadi.

Prostetik grupp sifatida tarkibida oqsil xarakteriga ega bo'lmagan turli xil rangli birikmalar bo'ladigan murakkab oqsillar xromoproteinlar deb ataladi.

Xromoproteinlar hayvonot va o'simlik olamida keng tarqalgan bo'lib, organizmda ketadigan turli biokimyoviy, metabolitik prosesslarda muhim rol o'ynaydi. Tabiatda tarkibida gem va shunga o'xshash birikmalar bor xromoproteinlar keng tarqalgan. Bularga qon gemoglobini, muskul to'qimasining mioglobini, o'simlik va hayvonot dunyosida keng tarqalgan fermentlar — katalaza, peroksidaza, sitoxromlar, tarkibida xlorofill bor plastida oqsillari misol bo'la oladi.

Gem yadrosidagi temir birinchidan o'zgaruvchan valentli bo'lganligi, ikkinchidan koordinasion bog' hosil qila olish qobiliyati bo'lganligi uchun tarkibida gem bo'ladigan murakkab oqsillarning tirik organizmda ishtirok etadigan moddalar

almashinuv proesslari miqyosi juda keng.

Gemoglobin oqsil qismi globindan va pigment qismi gemdan tashkil topgan. Odam va hayvonlar gemoglobining turlaroro o'ziga xosligi uning oqsil qismi globin strukturasiga bog'liq. Gemning tuzilishi gemin tabiatli barcha murakkab oqsillarda bir xil. Ikki valentli temir bilan bog'langan protoporfirin gemning asosini tashkil etadi.

XROMOPROTEIDLARGA XOS REAKSIYALAR

21-ish Oksigemoglobin kristalini ajratib olish

Kerakli asbob va reaktivlar: stakan (50 ml li), pipetkalar, shisha tayoqcha, mikroskop, buyum va qoplagich oynalar, sentrifuga, filtr qog'oz, voronka, og'zi berk idish. Quyon, it yoki qoramol qoni, suv bilan efir aralashmasi (1:1 nisbatda), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ nint to'yingan eritmasi.

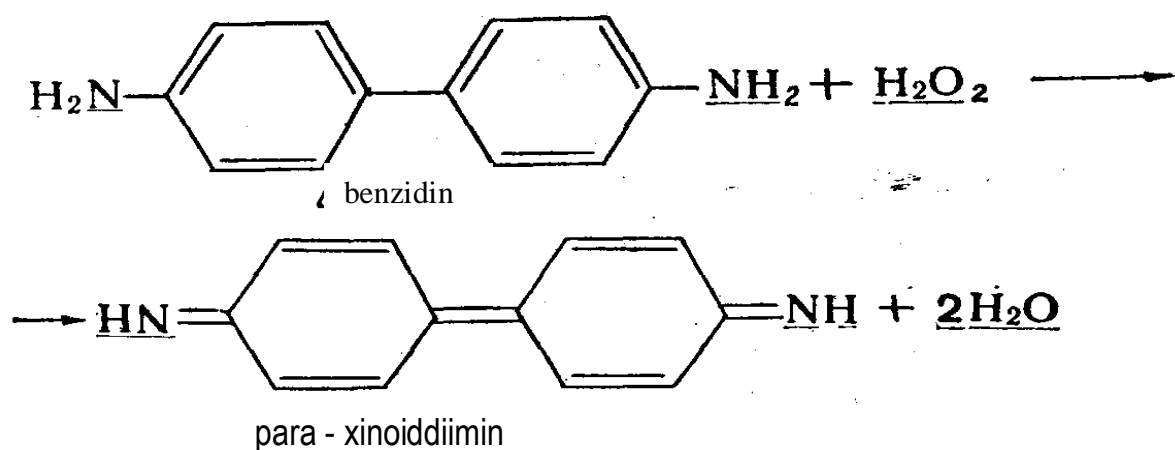
Organizm sharoitida odam qonidagi gemoglobinning 60—65% oksigemoglobin ko'rinishida bo'ladi. Agar qon tipotonik eritmalar, distillangan suv bilan ishlanganda eritrositlar gemolizga uchraydi. Organik erituvchilar efir, toluol qo'shilsa ham qizil qon tanachalari devori erib, undagi oqsillar eritmaga o'tadi. Hosil bo'lgan gemolizatdan oksigemoglobinni ammoniy sulfat yordamida cho'ktirish orqali ajratib olish mumkin.

Ishning bajarilishi. Gemoliz qilish uchun 10 ml qonga (quyon, it, ot, koramol yoki donor qoni) suv bilan efir (1:1) ning 2 ml aralashmasi quyiladi va aralashtiriladi. Gemoliz ketishini mikroskop yordamida kuzatib turish mumkin. Gemolizlangan qonga teng miqdorda (12 ml) ammoniy sulfatning to'yingan eritmasi quyilib aralashtirilgach, darhol sentrifugalanadi yoki filtrlanadi. Filtratni og'zi berk idishga quyib sovuq joyda bir sutka qoldiriladi, keyin mikroskop ostida prizmatik yoki plastinkasimon qizil rangli oksigemoglobin kristallari kuzatiladi.

22-ish Gemoglobindagi gemin gruppani benzidin va gvyakol reaksiyalari yordamida aniqlash

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, benzidinning sirka kislotadagi 1 % li eritmasi, yangi tayyorlangan gvyakol smolasining 1 % li eritmasi, vodorod peroksidning 3% li eritmasi, 50—100 marta suyultirilgan qon.

Benzin vodorod peroksid yordamida oksidlanib para-xinoiddiminga aylanishi mumkin. Bu reaksiya oddiy sharoitda juda sekin ketgani uchun amalda sezilmaydi. Agar reaksiya aralashmaga juda oz miqdorda nihoyatda suyultirilgan qon qo'shilsa, reaksiya birdaniga tezlashib, probirkadagi suyuqlik yashil yoki ko'k rangga kiradi:

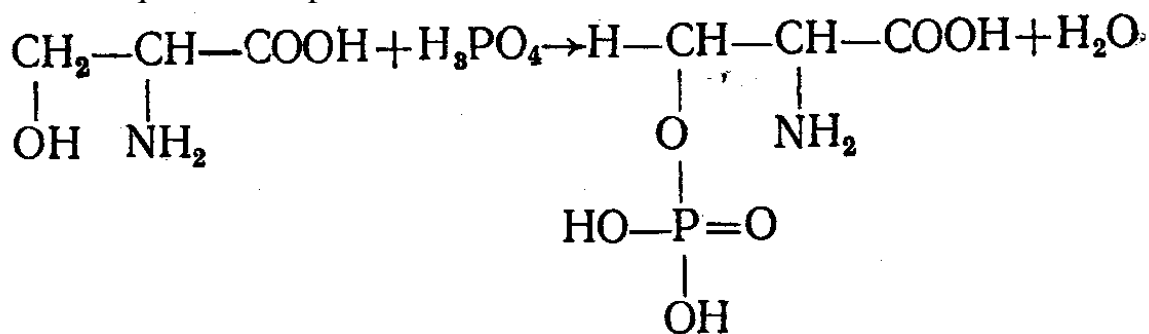


Gvayakol smolasining vodorod peroksid bilan oksidlanishi ham benzidin reaksiyasidagidek suyultirilgan qon ta'sirida tezlashadi. Bu reaksiyada gemoglobinning gem yadrosi katalizator rolini o'ynaydi.

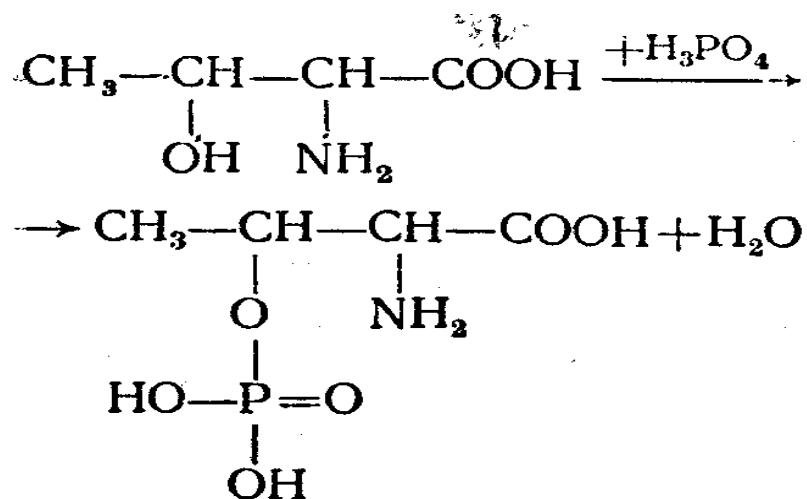
Ishning bajaralishi. Ikkita probirka olib birinchisiga 4—5 tomchi benzidinning muz-sirka kislotadagi 1%li eritmasi, ikkinchisiga 4—5 tomchi yangi tayyorlangan 1%li gvayakol smolasining spirtli eritmasini kuyib, har ikkala probirkaga 5 tomchidan 3% li vodorod peroksid, 5 tomchi 50—100 marta suyultirilgan qon qo'shiladi. Probirkalardagi aralashma yashil yoki ko'k rangga kirishi kuzatiladi.

FOSFOPROTEINLAR

Tarkibidagi murakkab efir bog'i yordamida bog'langan fosfat kislotali murakkab oqsillar fosfoproteinlar deb ataladi:



serinfosfat



treonin fosfat

Fosfoproteinlar tarkibida fosfat kislota har xil miqdorda (0,5—1,0%) bo'ladi. Tarkibida ko'p miqdorda fosfat kislota bo'ladigan fosfoprotein — fosvitindir (10%). Fosfoproteinlar kislotali xossaga ega bo'lib, ishqoriy muhitda eriydi. Muhit nordonlashtirilsa cho'kadi. Fosfoproteinlarning keng tarqalgan birikmalaridan sut kazeini, tuxum sarig'idan olingan vittelin, baliq ikrasida uchrovchi ixtullin va boshqalar ma'lum.

23-ish Sutdan kazein ajratib olish

1-Tajriba. Kerakli asbob va reaktivlar: 1. O'lchov probirkasi, 2. Shtativ, probirkalar, 3. Pipetkalar, 4. Filtr qog'oz, 5. Voronka, 6. Kazein kukuni, 7. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi, 8. Sirka kislota 10% li eritmasi, 9. Mis (II)-sulfatning 1% li eritmasi, 10. Konsentrlangan nitrat kislota.

Sutda kazein suvda eriydigan kalsiy tuzi ko'rinishida uchraydi. Kislotali muhit yaratilsa, kalsiy tuzi parchalanib kazein cho'kadi. Bunda ortiqcha miqdorda kislota qo'shishdan ehtiyot bo'lish kerak, chunki oqsil izoelektrik nuqtadan past pH (kazeinning izoelektrik nuqtasi pH-4,7 ga teng) ko'rsatkichida qayta zaryadlanib erib ketishi mumkin.

Ishning bajarilishi. 2 ml sut olib, teng miqdordagi distillangan suv bilan suyultiriladi va uning ustiga 2 tomchi 10% li sirka kislota qo'shiladi. Kazeinning pag'a-pag'a cho'kmasi paydo bo'ladi, cho'kma filtrlab olinib, distillangan suv bilan yuviladi. Cho'kmadan ozgina miqdorda olib oqsilga xos rangli reaksiyalar qilish (Biuret, Millon, Adamkevich, Ksantoprotein va boshqalar) uchun ishlatiladi.

2-Tajriba. Kerakli asbob va reaktivlar: probirkalar, shisha nay o'tkazilgan probka, asbest to'r, shtativ, gaz gorelkasi, voronka, filtr qog'oz, kazein kukuni, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, konsentrlangan nitrat kislota, molibden reaktivi.

Ishning bajarilishi. 100 mg kazein kukuni 3 ml 10% li o'yuvchi natriy eritmasida eritiladi. Probirkani shisha nay o'tkazilgan probka bilan (sovitgich sifatida) berkitiladi va asbest to'r bilan jihozlangan shtativga mahkamlab, qizdiriladi. 1 soatdan keyin gidroliz to'xtatiladi va suyuqlik filtrlab olingach, filtdan 2—3 tomchi olib, unga 1 ml molibden reaktivi qo'shib qizdiriladi. Limon sarig'i rangli ammoniy-fosfomolibdat cho'kmasi hosil bo'ladi.

FERMENTLAR

Fermentlar moddalar almashinuvi jarayonida ishtirok etuvchi biologik katalizatorlar hisoblanadi.

Fermentlar ham boshqa barcha katalizatorlar kabi, bir qator xususiyatlarga ega:

* Ular juda kam miqdorda ham yuksak samara beradilar: 1 minut davomida 1 mol ferment ishtirokida o'zgaradigan substrat miqdori 100 mol dan 3 000 000 mol gacha bo'lishi mumkinligi fermentativ reaksiyalarning qanday tezlik bilan kechishini ko'rsatadi.

• Katalizatorlar reaksiya oxirida o'zgarmay qoladi. Fermentlar reaksiya davomida ferment — substrat kompleksini hosil qilib, oraliq reaksiyaga kirishadi, lekin reaksiya sikli tugashi bilan ferment qayta tiklanadi.

* Katalizator reaksiya muhitida substratga qaraganda juda kam miqdorda bo'ladi, qaytalama reaksiyaning muvozanat holatiga ta'sir etmaydi va reaksiyani tezlatadi. Fermentlar va boshqa katalizatorlar ham kimyoviy reaksiyalarni tezlatishda spetsifiklikka (o'ziga xoslikka) ega, ya'ni katalizatorlar- ning katalitik ta'siri ma'lum tipdagi kimyoviy reaksiya bilan chegaralanadi.

Ferment so'zi, birinchi marotaba XVII asrning boshlarida mashhur golland tabiatshunosi Van-Gelmont tomonidan kiritilgan. Bu so'z lotincha fermentare - tolqinlatuvchi degan ma'noni anglatadi. K.S.Kirxgoff 1814-yili arpa doni ekstrakti ta'sirida kraxmal parchalanib, maltozaga aylanishini ko'rsatdi. 1883-yilda Payon va Perso arpa ekstraktidan diastaza deb ataladigan fermentni ajratgan. Dastlabki davrda ferment so'zi faqat achish jarayoni bilan bogliq holda qabul qilinib (Lui Paster-spirtli bijgMsh), achitqilarning o'zi achish fermentlari deb qaraldi. 1878-yilda Kyune tomonidan fanga kiritilgan enzim (yunoncha enzyme-achitqi ichida) nomi bilan yuritila boshladi. 1897-yili Byuxner hujayradan glyukozani etil spirt va CO₂ parchalaydigan ekstrakt ajratib oldi. Shu bilan ferment va enzim so'zlari orasidagi farq yo'qoldi (sinonim so'zlar).

Birinchi kristall ferment-ureaza 1926-yilda Samner tomonidan olindi. Barcha fermentlar oqsillardan tuzilgan. Fermentlar bir komponentli va ikki komponentli tarkibga ega. Bir komponentli fermentlar faqat oqsillardan tuzilgan. Ularga pepsin, tripsin, papain, ureaza va boshqa bir qator fermentlar kiradi. Ikki komponentli fermentlarda oqsil qismidan tashqari prostetik gruppalar ham bo'ladi. Prostetik gruppalar rolini mikroelementlar ioni, vitaminlar, nukleotidlar va boshqalar bajarishi mumkin. Ular kofermentlar deb nomlanadi. Oqsil qismi apoferment-feron, ikkalasi birgalikda xoloferment yoki simpleks deb ataladi.

Fermentlar molekulyasi ikki va undan ortiq protomerdan tashkil topgan bo'lishi mumkin. Bunday fermentlar multimer fermentlar deb yuritiladi. Mas., laktatdehidrogenaza 4ta, katalaza 3 ta protomerdan tashkil topgan.

Bir xil fermentativ faollikka ega bo'lib, turli fizik-kimyoviy xossaga ega fermentlar izomer fermentlar yoki izoenzimlar deb ataladi. Fermentning faol markazi deb oqsil ferment molekulasining substrat bilan birikishini va uning kimyoviy o'zgarishini ta'minlaydigan ma'lum qismlariga aytiladi. Shakli bo'yicha faol markaz uning ichiga kiradigan substrat molekulasida komplementar mos keladi.

Faol markaz fermentning spetsifikligini va katalitik faolli'gini ta'minlaydigan fazoda ma'lum ravishda oriyentatsiyalangan bir qator funktsional gruppalaridan iborat. Faol markazning tashkil topishida oqsil molekulasi bir qator gruppalar alohida ahamiyatga ega.

Ular qatoriga erkin karboksil va aminogruppalar, gistidinning imidazol gruppasi, serin va treoninning gidroksil gruppalar, sulfidril, disulfid va tiofir, triptofan va fenol gruppalar kiradi.

Substratga yaqinlikni, ya'ni spetsifik boglanishni ta'minlaydigan kontakt yoki aloqa qismi hamda substratni kimyoviy o'zgarishini ta'minlaydigan katalitik faol markaz farq qilinadi.

Ayrim fermentlarda bir-biridan mustaqil faoliyat ko'rsatuvchi bir necha faol markaz bo'lishi mumkin. Masalan, jigar alkogoldehidrogenazasida (MO-84000) 2 ta, achitqilar alkogoldehidrogenazasida (MO-150000) 4 ta faol markaz boladi

Bundan tashqari, multimer fermentlarda alohida allosterik markazlar ham mavjud. Ular spetsifik effektorlarni biriktirib olib, faollikni boshqarishda ishtirok etadi.

Fermentlar faolligiga haroratning ta'siri. Harorat ko'tarilishi bilan fermentlarning faolligi ma'lum darajada ortadi. Lekin harorat 40° dan oshganda ferment faolligi pasaya boshlaydi Ko'pchilik fermentlar 60°—80° da butunlay faolligini yo'qotadi, bunda ularning strukturasi butunlay o'zgarib, qaytmas denaturatsiyaga uchraydi. Ferment faolligi eng yuqori bo'lgan harorat ko'rsatkichi, uni harorat optimumi deb yuritiladi. Fermentlarning bu xususiyati ularning oqsil tabiati bilan bog'liq.

Vodorod ionlari konsentratsiyasining ta'siri. Muhitning kislotali yoki ishqoriy tomonga o'zgarishi ular faolligining pasayishiga sabab bo'ladi. Barcha fermentlar ma'lum pH muhitidagina yuqori faollikka ega bo'ladi. Mas., pepsin pH-1,5; furriaraza pH - 6,5 ga teng bo'lgan muhit kerak bo'ladi.

Arginazaning eng yuqori faolligi pH -9,5-9,9 da kuzatilgan. Fermentlar faolligi yuqori bo'lgan pH ko'rsatkichi pH optimum deyiladi

Aktivatorlar va ingibitorlarning ta'siri. Fermentlar optimal faollikka ega bolishi uchun harorat, pH, substrat konsentratsiyalari bilan bir qatorda ba'zi bir birikmalar, metall ionlari ham talab qilinadi. Bunday kofaktorlar aktivatorlar deb ataladi. Reaksiya muhitida ferment faolligini pasaytirishi, hatto yo'qotishi mumkin bo'lgan moddalar ingibitorlar deb ataladi. Ingibitorlar ta'siri jihatidan ikki gruppaga: raqobatli va raqobatsiz (konkurent va nokonkurent) ingibitorlarga bolinadi. Agar ingibitor strukturasi ko'ra muayyan ferment substratiga o'xshasa konkurent (raqobatli) tormozlanish yuz beradi, bunday ingibitor konkurent ingibitor deb ataladi. Nokonkurent ingibitorlar fermentning boshqa joyga boglanib, fermentativ reaksiyani tormozlaydi.

Fermentlar faoliyatida nisbiy, grupp, mutlaq (absolyut) va stereokimyoviy spetsifiklik farq qilinadi. Nisbiy spetsifiklikka ega bolgan fermentlar ma'lum kimyoviy bog' hosil bolishi yoki parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Mas., lipaza fermenti glitserin turli xildagi yog' kislotalar bilan hosil qilgan murakkab efir boglarini suv yordamida uzadi.

Fermentlarning ba'zilar ma'lum funktsional gruppaga nisbatan spetsifiklikni

namoyon qiladi, bunday fermentlar gruppaga xos spetsifiklikka ega bolgan fermentlar deb ataladi. Mas., tripsin fermenti ishqoriy aminokislotalar — arginin va lizinlaming karboksil gruppalari hisobiga hosil bolgan peptid bog'larini suv yordamida uzsa, ximotripsin aromatik aminokislotalar — fenilalanin, tirozin va triptofanning karboksil gruppasi hosil qilgan peptid bog'larini gidrolizlaydi.

Mutlaq spetsifiklikka ega bolgan fermentlar faqat ma'lum bir substratga ta'sir ko'rsatib, ma'lum o'zgarishlarhi keltirib chiqaradi. Mas., ureaza fermenti karbonat kislotaning amidi — siydikchilni (mochevina) gidrolizlab, ammiak va karbonat angidrid hosil qiladi. Lekin boshqa kislota amidlariga ta'sir qilmaydi.

Stereokimyoviy spetsifiklik. Bunda fermentlar faqat bitta stereokimyoviy formadagi substratga, ya'ni substratning bitta optik izomeriga ta'sir etadi. Laktatdegidrogenaza fermenti laktat kislotaning faqat L-izomerinigina degidrilab, pirouzum kislota hosil qiladi.

Fermentlarning ratsional nomi enzim ta'sir etadigan modda (substrat) yoki reaksiya nomining oxiriga aza qo'shimchasini qo'shish bilan tuziladi. Binobarin, aza bilan tugaydigan so'zlar, albatta, ma'lum fermentni ko'rsatadi. Masalan, kraxmal, yog', glikozid, peroksid, siydikchil ga ta'sir etadigan enzimlar amilaza, lipaza, glikozidaza, peroksidaza, ureaza deb ataladi.

Ayrim fermentlarning ilmiy adabiyotga kirib qolgan trivial (tarixiy) nomlari ham saqlangan, masalan pepsin, tripsin, papain, va boshqalar. Fermentni nomi ularning ta'siriga qarab sinflarga bolish qabul qilingan. Ferment katalizlaydigan reaksiyaga muvofiq klassifikatsiya qilinganda uziladigan bog'laming va ko'chiriladigan gruppalarning xarakterini yoki ferment ta'sir etadigan substratning kimyoviy tabiatini asos qilib olish mumkin.

Hozirgi vaqtda butun dunyo bo'yicha enzimlarning umumiy klassifikatsiyasi va indeksi qo'llaniladi. Xalqaro Biokimy o'itifoqi assambleyasi tomonidan 1961-yili Moskvada ma'qullangan bu klassifikatsiyaga ko'ra, barcha fermentlar 6 ta sinfga bo'linadi. Bu sinflar o'z navbatida kichik sinflar va kenja sinflarga ajratiladi.

Hozirgacha ma'lum barcha fermentlar ro'yxatga olinib, har biri uchun 4 sonli individual raqam-shifr belgilangan. Birinchi son sinf raqami, ikkinchisi kichik sinf, uchinchisi kenja sinf va oxirgisi konkret ferment raqamini ifodalaydi.

1. Oksidoreduktazalar - oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini katalizlaydi. Bu sinfga barcha degidrogenazalar, oksidazalar, peroksidazalar va sitoxromreduktazalar kiradi.

2. Transferazalar - turli kimyoviy gruppalar va qoldiqlaming molekulalararo ko'chirilishini katalizlaydi. Transferazalar amino, fosfat, metil, sulgidrii gruppalami, kislota, glikozil, aldegid va keton, bir uglerodli qoldiqlami ko'chirilishini ta'minlaydi.

3. Gidrolazalar - molekula ichidagi bog'laming gidrolitik parchalanishini tezlatadigan fermentlar. Bu sinfga murakkab efirlar, glikozidlar, oqsillar, peptidlar va amidlami parchalovchi fermentlar kiradi.

4. Liazalar - qo'shbog bo'yicha birikish va aksincha, shunday gruppalarni substratda qo'shbog' hosil qilib uzilishini katalizlaydi. Bu sinfga suv, amiak, SO₂

biriktiruvchi va ajratuvchi fermentlar kiradi.

5. Izomerazalar - molekula ichidagi ko'chish, oksidlanish- qaytarilish, kimyoviy boglanishni qayta taqsimlash reaksiyalari kimyoviy birikmalarning fazoviy izomerlanish reaksiyalarini tezlashtiradi.

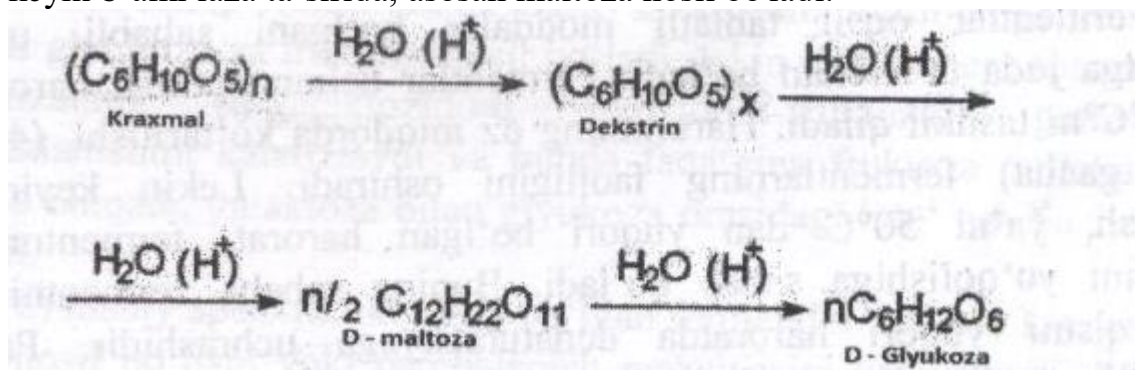
6. Ligazalar (sintetazalar) - ATF yoki unga o'xshash nukleotidlar molekulasida pirofosfat makroergik bog'i uzilishi bilan birga o'tadigan ikki molekulani sintetik birikish jarayonini katalizlaydi.

FERMENTLARGA XOS REAKSIYALAR

24-ish Kraxmalning fermentativ gidrolizi

Kraxmalning fermentativ gidrolizi amilaza ishtirokida amalga oshadi. Amilaza so'lakning tarkibida, oshqozon osti bezining suyuqligida, qonning tarkibida, jigarda, miyada bo'ladi. Sanoatda amilazaning manbayi bo'lib, undirilgan don o'simalari, achitqilar va mog'or zamburug'ining mitseliylari xizmat qiladi.

Amilazaning 5 - turi ma'lum. Bular bir-biridan ta'sir qilish mexanizmi bilan farq qiladi. a-amilaza ta'sirida kraxmalning fermentativ gidrolizi dekstrinlar bosqichigacha davom etadi. Btinda maltoza kam miqdorda hosil bo'ladi. Bundan keyin b-amilaza ta'sirida, asosan maltoza hosil bo'ladi.



Maltoza maltaza fermenti ta'sirida ikki molekula a-D- glyukozagacha parchalanadi. Bundan tashqari kraxmalga glyukoamilaza fermenti ta'sir etishi mumkin. Bu ferment kraxmalni glyukozagacha parchalanishini katalizlaydi.

Kraxmalning fermentativ gidrolizi natijasida erkin glikozid gruppasining miqdori oshib boradi. Oxirgi mahsulot bo'lgan glyukoza va maltozalar mis oksidini mis gidroksidigacha qaytarish xususiyatiga ega bo'ladi. Bu protsessni Trommer, Benedikt yoki Nilander reaksiyalari yordamida tekshirib ko'rish mumkin. Bu reaksiyalarning mohiyati uglevodlarni qaytarish xossasiga bog'liqdir.

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. So'lak (yangi so'lak 10 barobar distillangan suvdan suyultiriladi), 2. 1% li kraxmal eritmasi, 3. Yodning kaliy yodididagi eritmasi (Lyugol eritmasi), 4. 5% li O'yuvchi natriy, 5. 5% li mis sulfat (CuSO₄·5H₂O).

Ishning bajarilishi: 2 ta probirkaga 2 ml dan 1% li kraxmaldan solinadi.

Ulardan biriga 1 ml suyultirilgan so‘lakdan (1 : 10), ikkinchisiga 1 ml distillangan suv solib, 10 minut suvli termostatga (37-38°C) qo‘yiladi. Vaqt o‘tgandan keyin probirkalar sovuq suv bilan sovutiladi. Shundan so‘ng har ikkala probirkadagi suyuqlik ikkiga bolinib, har birida Trommer va Lyugol reaksiyalari qilib ko‘riladi. Trommer reaksiyasini amalga oshirish uchun tajriba probirkalariga avval teng miqdorda o‘yuvchi natriy qo‘shiladi, so‘ngra 2-3 tomchi mis sulfatdan solinadi va past olovda qaynaguncha qizdiriladi.

25- ish Fermentlarni yuqori harorat ta‘sirida inaktivatsiyaga uchrashi

Fermentlar oqsil tabiatli moddalar bolgani sababii, ular haroratga juda ta‘sirchan boladi. Fermentlar uchun optimal harorat 37-38°C ni tashkil qiladi. Haroratning oz miqdorda ko‘tarilishi, (40- 45°C gacha) fermentlarning faoiligini oshiradi. Lekin keyingi qizdirish, ya‘ni 50°C dan yuqori bolgan harorat, fermentning faoiligini yo‘qolishiga sabab bo‘ladi. Buning sababi, fermentning oqsil qismi yuqori haroratda denaturatsiyaga uchrashidir. Past haroratda esa ferment o‘z faoiligini yo‘qotmaydi, lekin shu haroratda faolligi kamayishi mumkin. Agar harorat ferment uchun optimal holgacha ko‘tarilsa, fermentning faolligi yana tiklanadi.

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. 5 marta suyultirilgan solak, 2. 1% li kraxmal; 3. Yodning kaliy yodiddagi eritmasi (Lyugol eritmasi); 4. Trommer reaksiyasi uchun kerak bolgan reaktivlar: 5%li o‘yuvchi natriy, 5%-li mis sulfat (tajriba probirkalariga avval o‘yuvchi natriy qo‘shiladi, so‘ngra tomchilatib mis sulfatdan solinadi va past olovda qaynaguncha qizdiriladi).

Ishning bajarilishi: 2 ta probirkaga 1 ml dan suyultirilgan so‘lak solinadi. Ulardan bittasi past olovda 2-3 minut davomida qaynatib olinadi. Shundan so‘ng har ikkalasiga 1 ml dan kraxmal eritmasidan solib, 10 minut 38°C li termostatga qo‘yiladi. Keyin har ikkala probirkadagi suyuqlik ikkiga bo‘linib, Trommer va Lyugol reaksiyalari o‘tkaziladi. Shuni aytish kerakki, qaynatilgan so‘lakli probirkada kraxmalning fermentativ gidrolizi bolmaydi.

Fermentlarning spetsifikligi

Fermentlarning spetsifik ta‘sir qilishi eng muhim xossalaridan biridir. Har bir ferment ma‘lum bir moddaga yoki tuzilishi jihatdan o‘xshash bo‘lgan moddalar gruppasiga ta‘sir qiladi.

Quyidagi spetsifiklik turlari farqlanadi:

a) absolyut spetsifiklik, bunda ferment faqatgina bitta moddani o‘zgarish reaksiyasini katalizlaydi. Masalan, ureaza (karbamidamido- gidrolaza) mochevinani ammiak va uglerod (II)-oksidigacha gidrolitik parchalanishini katalizlaydi;

b) gruppali spetsifiklik, bunda ferment tuzilishi jihatdan o‘xshash bo‘lgan moddalarning o‘zgarish reaksiyalarini katalizlaydi. Mas., saxaroza (P-fruktofuranozidaza) saxarozani gidrolitik parchalab, bunda glyukoza va fruktoza hosil bo‘ladi, lekin shu ferment trisaxarid rafinozaning (a-

galaktozido-a-glyukozido-p-fruktozid) gidrolitik parchalanishini katalizlaydi va bunda faqatgina fruktoza molekulasini ajralib chiqadi, galaktoza bilan glyukoza orasidagi bog' esa buzilmay qoladi.

d). nisbiy spetsifiklikka ega bo'lgan fermentlar ma'lum kimyoviy bog' hosil bo'lishi yoki parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Mas., lipaza fermenti glitserin turli xildagi yog' kislotalar bilan hosil qilgan murakkab efir bog'larini suv ishtirokida uzadi, ya'ni ferment murakkab efir bog'lariga nisbatan spetsifiklikka ega.

e). stereokimyoviy spetsifiklik, bunda ferment moddani faqatgina bitta stereoisomerining sintezlanishini yoki parchalanishini katalizlaydi. L- sut kislotasining pirouzum kislotasigacha oksidlanishi laktatdehidrogenaza fermenti orqali amalga oshiriladi, lekin o'sha protsess D- sut kislotasida boshqa ferment -d-laktatdehidrogenaza fermenti orqali amalga oshiriladi.

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. So'lak (10 marta suyultirilgan), 2. 1% li saxaroza, 3. 1% li kraxmal, 4. Trommer reaksiyasi uchun kerakli reaktivlar.

Ishning bajarilishi: 2 ta probirka olib, ularning har biriga 1 ml dan suyultirilgan so'lak solinadi. Ulardan biriga 1 ml saxaroza, ikkinchisiga 1 ml kraxmal solib, 10 minut termostatga (38°C ga) qo'yiladi. Bundan keyin sovitiladi va har bir probirkada Trommer reaksiyasi qilib ko'riladi. Reaksiya natijasi shuni ko'rsatadiki, amilaza faqatgina kraxmalni katalizlaydi, saxarozaga ta'sir etmaydi.

26-ish So'lakdagi amilaza fermentining faolligiga pH ning ta'siri

Har bir ferment ma'lum pH muhitida optimal faollikka ega bo'ladi. Masalan, pepsin uchun pH 1,5-2,0 ga teng, so'lakning amilazasi uchun 6,8 - 7,0, tripsin uchun 7,8, oshqozon osti bezining lipazasi uchun 7,0-7,8 ga teng bo'ladi.

Tajribalar shuni ko'rsatadiki, har xil substratdan ajratib olingan va bir xil reaksiyani katalizlaydigan fermentlar o'zining optimal faolligini pH ning har xil ko'rsatkichlarida namoyon qiladi. Masalan, shakarqamichda uchraydigan saxarozaning optimal ta'sir qilish pH ko'rsatkichi 6,2 ga teng, achitqilardan ajratib olingan saharazaning optimal pH i 4,6-6,0 ga teng. Solak amilazasining optimal pH i 6,8- 7,0 ga teng bo'lsa, unayotgan bug'doy amilazasining pH i 4,4-4,5 ga teng bo'ladi.

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. So'lak (100 marta suyultirilgan), 2. 0,5% li kraxmal, 3. 1% li natriy xlorid, 4. 0,1 M li limon kislotasi, 0 0,2 M li natriy fosfat, 5. Lyugol eritmasi.

Ishning bajarilishi: 7 ta probirka olib, ularning har biriga limon kislotasi va natriy fosfatning eritmasidan jadvalda ko'rsatilgandek qilib solinadi. Bunda har bir probirkadagi eritma 5,6 dan 8,0 gacha pH ga ega bo'ladi. Shundan so'ng har bir probirkaga 10 tomchidan 1% li natriy xlorid, 0,5% li kraxmal va 100 marta suyultirilgan solak solinadi va aralashtiriladi.

Probirkalar raqami	Natriy fosfat, ml	Limon kislota, ml	Bufer aralashmasining pHi
1	0,58	0,42	5,6
2	0,63	0,37	6,0
3	0,69	0,31	6,4
4	0,77	0,23	6,8
5	0,87	0,13	L2 ____
6	0,94	0,06	7,6
7	0,97	0,03	8,0

Probirkalar 10 minut 38°C li termostatga qo‘yiladi. Vaqt o‘tgach probirkalarni termostatdan olib tezda sovutiladi va har biriga 1 tomchidan Lyugol eritmasidan solinadi va hosil bolgan rang kuzatiladi. Shundan so‘ng qaysi pH li probirkada kraxmal to‘liq parchalanganligini aniqlash kerak (yod bilan sariq yoki qo‘ngir sariq rang hosil bo‘lishi kerak).

27-ish Solak amilazasi faolligiga aktivatorlar va ingibitorning ta’siri

Ferment faolligiga aktivatorlar va ingibitorlar sezilarli ta’sir ko‘rsatadi. Bular metallarning ionlari yoki organik moddalar, ba’zan esa murakkab birikmalar bo‘lishi mumkin: Aktivatorlar ko‘pgina mikroelementlar va suvda eruvchi vitaminlar bo‘lishi mumkin.

Metallar aktivator sifatida ba’zi hollarda fermentlar bilan mustahkam birikmaydi, ikkinchi hollarda metall fermentning organik strukturasi ichiga kirib, haqiqiy metalloenzimlarni hosil qilishi mumkin.

Ferment faolligini pasaytiruvchi moddalar spetsifik xarakterga ega bo‘lib, ulapning ta’sir qilish mohiyati qaytar va qaytmas bo‘lishi mumkin. O‘z navbatida qaytar ta’sir ko‘rsatuvchi ingibitorlar konkurent va konkurent bo‘lmagan ingibitorlarga bo‘linadi. Nokkurent ingibitorlar substrat bilan birikib,- fermentning faollik markaziga birlashadi. Mas., malonat suksinatdegidrogenaza fermentining konkurent ingibitori hisoblanadi. EDTA va og‘ir metallar (Cu , Hg, Ag va boshqalar) konkurent bo‘lmagan ingibitorlar bo‘lib, iodasetamid, diizopropilforfosfat (DFF) esa qaytmas ingibitor hisoblanadi.

Spetsifik ingibitorlar qatoriga quyidagi birikmalar kiradi, antibiotiklar, gerbitsidlar, insektisidlar va boshqalar.

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. Stakanlar, 2. Probirkalar, 3. Pipetkalar, 4. Voronkalar, 5. Filtr qog‘ozi, 6. Shisha tayoqcha, 7. Predmet oynachasi, 8. 1 % li natriy xlorid, 9. 1% li CuSO₄, yodning kaliy iodiddagi eritmasi, 1. 0,5% li kraxmal.

Ishning bajarilishi: So‘lakdagi amrlaza fermentini ajratib olish quyidagicha bajariladi: og‘iz yaxshilab suv bilan chayib tashlanadi, shundan keyin 10-12 ml distililangan suv olib, 2-3 minut og‘izda ushlab turiladi, stakanga sojinadi va filtr qog‘ozi yordamida Filtrlanadi.

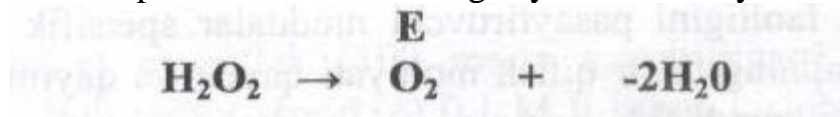
Uchta probirka olib, har biriga 1 ml dan solak amilazasidan sojinadi. Birinchi probirkaga 2 tomchi 1% li natriy xlorid, 2-probir- kaga 2 tomchi 1% li

mis sulfat soiinadi 3-probirkaga qo'shimcha hech narsa solinmaydi. Keyin har bir probirkaga 0,5 ml dan 0,5% li kraxmal eritmasidan solinadi va xona haroratida ushlab turiladi.

Har 2-3 minut oralig'ida uchchala probirkadan 1-2 tomchidan predmet oynachasiga tomizib, 1 tomchidan Lyugol eritmasidan tomiziladi va kraxmalning gidroliz darajasi har bir variantda qandav ketayotganligi aniqlanadi.

28-ish Katalaza fermentining faolligini aniqlash

Katalaza vodorod peroksidini suv va O₂ ga aylanish reaksiyasini katalizlaydi:



Bu metod katalaza fermenti ta'siri tugagandan keyin qolgan H₂O₂ ni kaliypermanganat bilan titrlash yordamida aniqlashga asoslangan.

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. Tarozi, termostat, 2. 50 ml ii kolbalar, byuretkalar, 3. 100 ml li tagi tekis kolbalar, 4. Pipetkalar, 5. Voronkalar, 6. Filtr qog'oz, 7. Chinni hovoncha, 8. Maydalangan shisha, 9. Shisha tayoqcha, 10. 1% li vodorod peroksid, 11. 0,1 n li permanganat, 12. 0,1 M fosfat buferi (pH=6,8), 13. 2 n li sulfat kislota.

Materialiar: barg, unayotgan urug'.

Ishning bajarilishi: 5 g o'simlik bargidan yoki unayotgan urug'dan olib, 5 ml fosfat buferi va maydalangan shishadan solib, shisha hovonchada yaxshilab maydalanadi.

Maydalangan massa 50 ml li kolbaga solinadi va fosfat bufer bilan 50 ml gacha yetkaziladi. Aralashma yaxshilab aralashtiriladi va 37°C li termostatga 15 minutga qo'yiladi va undan olib, aralashma filtrlanadi. Shundan so'ng 2 ta tagi tekis kolba olib, har biriga 20 ml dan filtratdan solinadi. Birinchi kolbaga (kontrol) 5 ml 2 N-li H₂SO₄ dan fermentni faolligini yo'qotishi uchun solinadi. Keyin har ikkala kolbaga 20 ml dan suv va 3 ml dan 1% li H₂O₂ eritmasidan solinadi va 37°C li termostatda 15 minut ushlanadi. Vaqt o'tgandan keyin 2- tajriba kolbasiga 5 ml 2 n li H₂SO₄ solinadi, aralashtiriladi va kaliy permanganatning 0,1 M li eritmasi yordamida titrlanadi. Bunda och pushti rang hosil bo'lishi va 30 sekund davomida yo'qolmasligi kerak.

Katalazaning faolligi quyidagi formula orqali hisoblanadi:

$$V = \frac{(B-A) KC}{nC_t t}$$

bu yerda A va B - titrlash uchun ketgan kaliy permanganatning miqdori, ml da, (kontrol va tajriba uchun ketgan miqdor).

K - 0,1 M kaliy permanganatni titrlash uchun luzatish ko'rsatkichi;

C - aralashma hajmi, ml da;

C_i — aniqlash uchun olingan aralashmani hajmi, ml da;
 n - o'simlik materialining og'irligi, g da;
 t - vaqt, soatda.

UGLEVODLAR

Uglevodlar eng muhim organik birikmalardan bo'lib, ular hamma tirik organizmlar tarkibiga kiradi, lekin o'simlik organizmida ko'proq bo'ladi. Uglevodlarning almashinuvi organizm uchun juda muhim hisoblanadi. Avvalambor tirik tabiatdagi organik moddalar o'simliklarda ketadigan fotosintez natijasida hosil bo'ladigan uglevodlardan hosil bo'ladi. Shu bilan birga hujayra uchun kerakli energiyaning asosiy qismi uglevodlar parchalanishida hosil bo'ladi. Bundan tashqari ayniqsa o'simliklarda va mikroorganizmlarda uglevodlar energiya deposi va struktura birligi bo'lib ham xizmat qiliadi.

Keyingi yillarda bioximiklar uglevodlarni o'rganishga katta e'tibor bera boshladilar, buning sababi shundaki, uglevodlardan glikoproteidlar va glikolipidlar hujayrada ketadigan muhim jarayonlarda, jumladan morfogeneza va differensiyalanishda muhim ahamiyatga ega.

Uglevodlar tirik organizmiarda bir qator muhim vazifalarni bajaradi. Masalan; pentozalardan riboza va dezoksiriboza nuklein kislotalarning tarkibiy qismi hisoblanadi. Uglevodlar ko'pgina antibiotiklarning tarkibiga kiradi (masalan, streptomitsin, neomitsin, linkomitsin va boshqalarning). Uglevodlar immunitetning hosil bolishida ham muhim rol o'ynaydi. Ko'pgina antitelolarning hosil bo'lishiga sabab bo'ladigan mikroorganizmlar ham uglevodlar (polisaxaridlar) jumlasiga kiradi. Antitelo sifatidagilarga asosan glikoproteidlar - oqsillarning uglevodlar bilan hosil qilgan birikmasi kiradi.

Uglevodlar nomi ulaming empirik formulasi (CH_2O), bo'lishi bilan belgilanadi. Uglevodlar 3 ta sinfga bo'linadi:

1. Monosaxaridlar.
2. Disaxaridlar.
3. Polisaxaridlar.

Monosaxaridlar molekulasidagi uglevod atomlari soniga qarab triozalar (3 C), tetrozalar (4 C), pentozalar (5 C), geksozalar (6 C), heptozalar (7 C) ga bolinadi.

Tirik hujayralar tarkibida asosan pentozalar va geksozalar uchraydi. Eng ko'p tarqalgan geksozalardan glyukoza — eng muhim monosaxarid hisoblanadi, chunki u asosan hamma polisaxaridlarning monomeri hisoblanadi. Bundan tashqari tabiiy moddalar tarkibida glyukozaga yaqin bolgan uglevodlar — mannoza, fruktoza, galaktoza va ramnoza uchraydi. Kuchsiz ishqoriy muhitda glyukoza, mannoza va fruktoza oson biri ikkinchisiga o'tishi mumkin.

Eng ko'p tarqalgan pentozalardan riboza va dezoksiribozalar boglangan holda nuklein kislotalar tarkibida uchraydi. Bulardan tashqari ksiloza va arabinoza ham pentozalar qatoriga kiradi. Fotosintez jarayonida ketopentoza -ribuloza muhim ahamiyatga ega.

Monosaxaridlarning eng muhim xossaligidan biri ulaming oson oksidlanishidir. Ular metall tuzlarini qaytarish xususiyatiga ega bolib, oson oksidlanadi.

Disaxaridlar 2 ta monosaxariddan tuzilgan bolib, ular bir-biri bilan glikozid bog'i orqali boglangan boladi.

Eng muhim disaxaridlar asosan 3 ta: saxaroza, laktoza va maltozadir. Bulardan tashqari tregaloza yoki mikoza, sellobioza va gensiobioza uchraydi.

Maltoza 2 ta molekula glyukozadan tashkil topgan bo'ladi, 1ta erkin glikozid gidroksil (karbonil gruppasi) bo'lganligi uchun metallarni qaytarish reaksiyalari amaiga oshadi.

Laktoza 1 molekula glyukoza va 1 molekula galaktozadan tashkil topgan. Laktoza ham maltoza kabi erkin karbonil gruppasiga ega bo'lganligi uchun Trommer, Benedikta, Nilender va boshqa reaksiyalarga oson kirisha oladi.

Saxaroza 1 molekula glyukoza va 1 molekula fruktozadan tuzilgan bolib, ularda erkin glikozid gidroksili bo'lmaydi. Shuning uchun saxaroza metallarni qaytarish reaksiyalarini amaiga oshirolmaydi. Saxaroza oson gidrolizga uchrab, glyukoza va fruktozaga parchalanadi. Shuning uchun saxarozaning bunday holati invert qand deb ataladi. Invert qand mannozalarga xos hamma reaksiyalarga kirisha oladi.

Polisaxaridlar polimer moddalar bo'lib, monosaxaridlardan tashkil topgan. Kraxmal, glikogen (hayvon kraxmali), inulin, sellyuloza, xitin va boshqalar tabiatda eng ko'p tarqalgan polisaxaridlar hisoblanadi. Ular organizmda turli-tuman vazifalarni bajaradi. Polisaxaridlar molekulasidagi monomer soni, boglanish usuli, xossalari va bajaradigan funksiyalari bilan bir-biridan farq qiladi.

Polisaxaridlar shirin mazaga ega bolmaydi va kristall holiga o'tmaydi, ularning ko'pchiligi kolloid eritma hosil qiladi. Ular kislotalar yoki fermentlar yordamida gidrolizlanganda, disaxarid va monosaxaridlarga parchalanadi. Mannozalarning qolgan qoldig'iga polisaxaridlarning molekulasida glikozid bog'i bilan boglangan bo'lib, to'g'ri va tarqalgan holda joylashadi. Polisaxarid molekulasidagi mannozalarning turiga ko'ra gomo va geteropolisaxaridlar farqlanadi. Gomopolisaxaridlarning molekulasi bir xil monosaxaridlarning takrorlanishidan hosil bo'ladi. Geteropolisaxaridlarning tarkibiga turli xil monosaxaridlar kirishi va ular uglevod bo'lmagan moddalar (lipidlar, oqsillar aminokislotalar va boshqalar) bilan boglangan bo'ladi.

Kraxmal — yuqori tuzilishga ega bolgan polisaxarid bo'lib, o'simliklarning asosiy zaxira moddasi hisoblanadi. O'simlik hujayralarida to'planadigan kraxmal ma'lum o'simliklarda ko'p bo'ladi. Masalan, kartoshkada, bug'doyda, guruchda, suli va arpada ko'p miqdorda to'planadi. Kraxmalga boy bolgan o'simliklar oziq-ovqat sanoatining asosiy xomashyosi va manbayi hisoblanadi.

Kraxmal donachalari 2 ta komponentdan tuzilgan bo'lib, amiloza va amilopektindan tashkil topgan. Amiloza issiq suvda yaxshi eriydi, amilopektin esa klestr hosil qiladi. Amiloza yod bilan ko'k rang, amilopektin esa qizil-binafcha rang hosil qiladi. Amilozaning tarkibida D glyukoza bo'lib, glikozid bog'i bilan boglangan va to'g'ri zanjirli tuzilishga ega. Amilopektin esa xuddi o'sha α -D — glyukozadan tuzilgan bo'lib, lekin u shoxlangan zanjirli tuzilishga ega.

Kraxmal tarkibida amilopektinning miqdori ko'proq bo'lib, 70 - 80 % ni tashkil qiladi.

Kislotalar yoki amilaza fermenti ta'sirida kraxmal parchalanib, oxirgi mahsulot sifatida α -D-glyukoza ajralib chiqadi.

Gidrolizning oraliq mahsuloti bo'lib, dekstrinlar hisoblanadi. Kislotali gidrolizda kraxmal glyukoza hosil bo'lguncha parchalanadi. Fermentativ gidroliz natijasida maltoza disaxaridi hosil boladi.

Kraxmal qaytaruvchanlik xususiyatiga ega bo'lmaganligi uchun Trommer, Nilander, Benedikte reaksiyalarini bermaydi.

Glikogen (hayvon kraxmali). Jigarda (2-10%), sklet va silliq muskullarda, bosh miyada boladi. O'simliklardan zamburug'larda — askomisetlarda, fikomisetlarda, bazidiomisetlarda sezilarli darajada bo'ladi. Glikogen issiq suvda kolloid eritma hosil qiladi va yod ta'sirida qizil-qo'ng'ir yoki qizil-binafsha rang hosil qiladi.

Glikogen kislotali yoki fermentativ gidroliz (glyukoamilaza va glikogenfosforilaza ta'sirida) natijasida α -D-glyukozagacha parchalanadi. Amilaza fermenti ta'sirida glikogen maltozagacha parchalanadi.

Glikogen o'zining tuzilishi va xossasi bilan kraxmalning komponenti bo'lgan amilopektinga juda o'xshaydi. Glikogen molekulasida ham xuddi amilopektin molekulasida singari, juda tarmoqlangan bo'lib, kislorod ko'priklari bilan α -glyukozidlar tipida o'zaro bog'langan bir qadar kalta zanjirlardan (12-18 glyukoza qoldiqlaridan) tuzilgan. Glikogen quruq holda oq amorf kukundir. Glikogen hujayrada granular - donachalar shaklida bo'lib, asosan silliq endoplazmatik to'ra bilan birikib turadi.

Sellyuloza. Sellyuloza ham polimer modda bo'lib, uning monomeri ham p-glyukoza hisoblanadi. O'simlik organizmidagi 50% uglerod sellulozaga to'g'ri keladi va u yer sharida hamma organik moddalar orasida o'zining massasi bilan birinchi o'rinda turadi. Sellyulozaning hammasi asosan o'simlik organizmida uchraydi, lekin tuban umurtqasizlarda va zamburug'larning bir gruppasining (oomisetlarda) tarkibida ham bo'ladi. O'simliklardagi hujayra devori asosan (20—40% gachasi) sellulozadan tuzilgan. Sellyulozaning tuzilishi uning funksiyasi bilan bog'langan. Ular uzun zanjirli bo'lib, taxminan 10000 glyukoza qoldig'idan tashkil topgan. Zanjirning chetidan ko'plab — OH gruppasi tashqariga chiqqan bo'lib, turli tomonga tarqaladi va qo'shimcha zanjir bilan vodorod bog'larini hosil qiladi. Bu esa sellulozaning mustahkamligini ta'minlab turadi. Zanjirlar bir-biri bilan birikib mikrofibrillalarni hosil qiladi. Bu mikrofibrilla qatlamlari mustahkam bo'lishiga qaramay, suv va unda erigan moddalarni oson o'tkazish xususiyatiga ega. Sellyuloza o'simliklarda hujayra devori vazifasini bajarish bilan birga, ko'pgina hayvonlar, zamburug'lar va bakteriyalar uchun ozuqa modda bo'lib ham xizmat qiladi. Sellyulozani glyukozagacha parchalovchi ferment sellulaza tabiatda nisbatan kam uchraydi. Shuning uchun ko'pgina hayvonlar, shu jumladan odam ham sellulozani, glyukozaning boy manbayi bo'lishiga qaramay o'zlashtira olmaydi. Shuni aytish kerakki, kavsh qaytaruvchi hayvonlarning ichagida simbiot holda yashovchi bakteriyalar sellulozani oson o'zlashtirishga yordam beradi.

Sellyulozani sanoatdagi ahamiyati juda katta. Undan gazlama va qog'oz tayyorlanadi.

Inulin. Inulin fruktozadan tashkil topgan polisaxarid. Inulin ko'pgina o'simliklapning (qoqio't, sachratqi, ko'k-sarg'ish yer nok, kartoshka gul) ildizida bo'ladi va shu bilan birga ba'zi suv o'tlarida ham bo'ladi. Uning tarkibida — D fruktoza bo'lib, o'zaro glikozid bog'i bilan bog'langan. Ko'pgina donli o'simliklapning ildizi va bargidan fruktozadan tashkil topgan polisaxarid topilgan bo'lib, inulidlar deb ataladi. Inulidlarning inulindan farqi shundan iboratki, fruktozaning qoldig'i 2 holatda bog'langan bo'ladi. Inulin va inulidlar iliq suvda eriydi va kolloid eritma hosil qiladi. Inulin eritmasi yod bilan reaksiyaga kirishmaydi. Kislotalar bilan qaynatilganda yoki inulaza fermenti ta'sirida inulin molekulasida gidrolitik parchalanib, β -D — fruktoza hosil bo'ladi.

Xitin. Xitin o'zining tuzilishiga ko'ra sellulyozaga juda o'xshaydi. Xitin bir qator zamburug'larning tarkibida uchrab, hujayra devorini hosil qiladi. Shu bilan birga bir guruh hayvonlarda, asosan bo'g'imoyoqlilarda bo'lib, ularda tashqi skelet sifatida katta ahamiyatga ega. Xitinning tuzilishi sellulyozaga o'xshash bo'lib, uning tarkibida 2 — uglerod atomida gidroksil gruppasi ($-\text{OH}$) — $\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}_3$ gruppasi bilan almashingan bo'ladi.

Uglevodlar organizm uchun zarur polimer moddalardan biri bo'lib, asosiy energiya manbai hisoblanadi. Shuning uchun uglevodlarni har tomonlama o'rganish va aniqlash metodlarini o'zlashtirish muhim hisoblanadi.

29- ish Monosaxaridlarga xos sifat reaksiyalari

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. Probirkalar, 2. Suv hammomi (80°C li), 3. Pipetkalar, 4. α -naftolning spirtidagi 10% li eritmasi, 5. Konsentrlangan sulfat kislota, 6. Selivanov reaktivi, 7. Fruktozaning 1 % li eritmasi, 8. Ribozaning 1 % li eritmasi, 9. Orsin reaktivi, 10. Difenilamin eritmasi, 11. Dezoksiriboza yoki DNKning 1% li eritmasi.

1-tajriba. Uglevodlarni α -naftol yordamida aniqlash. Bu reaksiya hamma uglevodlar uchun xosdir. Uglevodlar konsentrlangan sulfat kislota ta'sirida furfural yoki uning hosilalariga aylanadi. Hosil bo'lgan mahsulot 2 mol α -naftol bilan kondensasiyalanib rangli kompleks hosil qiladi.

Ishning bajarilishi. Tekshirilayotgan eritmadan 2 ml yoki tarkibi uglevodli qattiq moddadan 0,1 g olib, 1 ml suvda eritiladi, ustiga α - naftolning 10% spirtli eritmasidan 2 tomchi tomiziladi va probirka devoridan ohistalik bilan 1 ml konsentrlangan H_2SO_4 quyiladi. Sulfat kislotaning zichligi katta bo'lgani uchun probirka tagiga cho'kib, suyuqlik ikki qavatga bo'linadi. Xuddi shu ikki qavat chegarasida binafsha rang (xalqa) hosil bo'ladi.

2-tajriba. Fruktozani rezorsin yordamida aniqlash. Fruktozaga xlorid kislota qo'shib qizdirilganda oksimetilfurfural hosil bo'ladi, bu mahsulot rezorsin bilan pushti-qizg'ish rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiya ketogeksozalarni aldogeksozalardan farqlashga imkon beradi.

Ishning bajarilishi. Ikkita probirka olib, ularga rezorsinning 20% li xlorid kislotadagi 0,05% li eritmasidan 3 ml dan quyiladi, ularning biriga 0,5 ml fruktoza, ikkinchisiga 0,5 ml glyukoza eritmasidan quyiladi. Har ikkala probirka 80° li suv hammomiga 8 minut solib qo'yiladi. Bu vaqtda fruktozali probirkadagi suyuqlik

qizil rangga kiradi.

3-tajriba. Pentozalarni Orsin reaktivi yordamida aniqlash. Pentozalar kislotali muhitda temir (III)-xlorid ishtirokida Orsin reaktivi bilan yashil rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiya pentozalarning kislota ta'sirida furfuroлга aylanishini tasdiqlaydi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 1 ml riboza yoki tekshiriluvchi eritma quyilib, unga teng hajmda Orsin reaktividan qo'shiladi. Aralashma qaynayotgan suv xammomida 20 minut qizdiriladi. Agar tekshirilayotgan suyuqlikda pentoza yoki uning hosilasi bo'lsa, probirkadagi eritma yashil rangga kiradi.

4-tajriba. Dezoksiribozani difenilamin yordamida aniqlash. 2-dezoksipentozaga aromatik amin (difenilamin) qo'shib asta-sekin qizdirilsa, ko'k rangli kompleks birikma hosil bo'ladi. Bu reaksiya yordamida DNK molekulasidagi dezoksiribozani ham aniqlash mumkin.

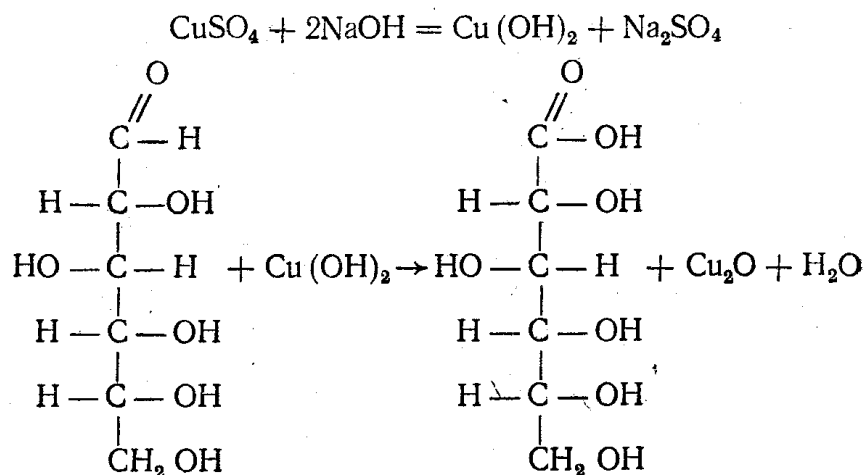
Ishning bajarilishi. 1 ml dezoksiriboza yoki DNK eritmasiga 2 ml difenilamin eritmasi qo'shiladi, so'ngra 10 minut qaynatiladi. Bu vaqtda reaksiya aralashma barqaror ko'k rangga kiradi.

30-ish Monosaxaridlarning qaytaruvchanlik xossalari

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. 1; 2; 5 ml li pipetkalar, 2. Suv hammomi, 3. 50 ml li byuretk, 4. Probirka, 5. Gaz gorelkasi yoki spirt lampa, 6. 1 % li glyukoza eritmasi, 7. 1 % li laktoza eritmasi, 8. 1% li maltoza eritmasi, 9. Nilander reaktivi, 10. Feling suyuqligi, 11. Barfed reaktivi.

Monosaxaridlar ishqoriy muhitda og'ir metall gidroksidlarini, masalan, mis (II)-gidroksidni mis (I)-oksidga, vismut oksidini metall holatgacha, kumush gidroksidni erkin kumushgacha qaytarish xossasiga ega. Bu reaksiyalar monosaxaridlarni sifat va miqdoriy jihatdan aniqlashda qo'llaniladi. Tarkibida erkin aldegid gruppaga bo'ladigan disaxaridlar — maltoza, laktoza va sellobiozalar ham qaytaruvchi xossaga ega. Bu shakarlarning oksidlanishi ishqoriy muhitda oson, iyyetral sharoitda qiyinroq, kislotali sharoitda esa juda qiyin boradi.

1-tajriba. Trommer reaksiyasi. Monosaxaridlar ishqoriy muhitda mis (II)-gidroksidni mis (I)- oksidgacha qaytaradi, bu reaksiya natijasida reaksiya uchun olingan aldozalarga to'g'ri kelgan kislotalar hosil bo'ladi:



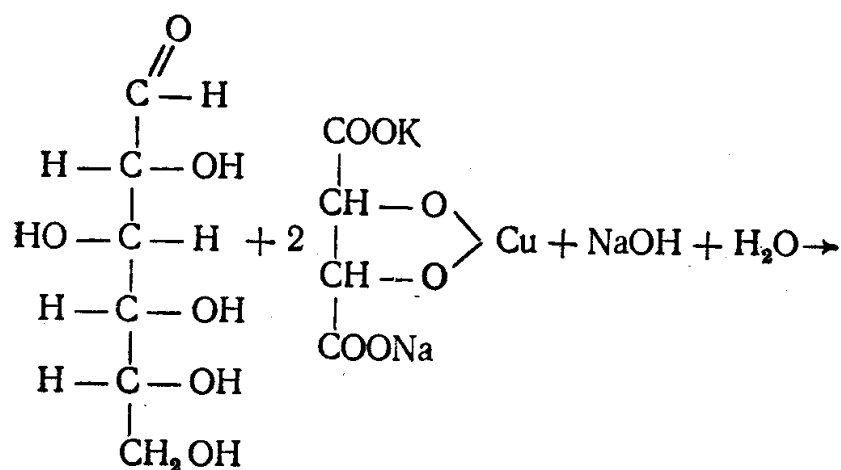
d-glukoza

α -glukonat kislotasi

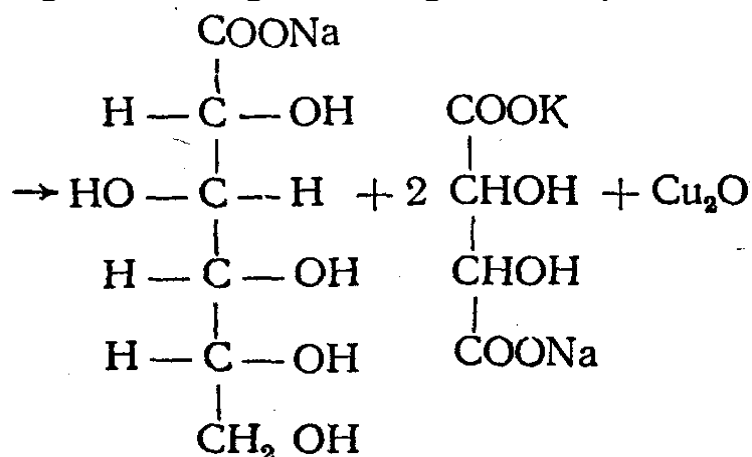
Reaksiya mahsuloti sifatida qizil rangli mis (I)-oksid hosil bo'ladi. Bu reaksiyaning kamchiligi shundaki, agar tekshirilayotgan eritmada shakar juda oz bo'lsa, ortiqcha miqdorda hosil bo'lgan mis (II)-gidroksid qizdirilganda parchalanib, qora rangli mis (II)-oksidga aylanadi. Natijada juda oz miqdorda hosil bo'lgan qizil rangli mis (I)-oksid sezilmay qoladi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 1 % li glyukoza eritmasidan 1—2 ml quyib, uning ustiga teng hajmda 10% li NaOH eritmasi qo'shiladi. Aralashmaga chayqatib turilgan holatda tomchilatib 5% li mis sulfat eritmasidan 1 ml qo'shiladi. So'ngra ohistalik bilan probirkadagi suyuqlik qizdiriladi. Avval sariq rangli loyqa paydo bo'lib, vaqt o'tishi bilan qizil rangli mis (I)-oksidga aylanishi kuzatiladi.

2-tajriba. Feling reaksiyasi. Uglevodlarning qaytaruvchanlik xossasini aniqlash uchun ko'p hollarda Feling reaktividan foydalaniladi. Bu reaktiv tarkibidagi ikki valentli mis ioni segnet tuzi (vino kislotaning natriy-kaliyli tuzi) molekulasida bog'langan holatda bo'lib, oksidlanish-qaytarilish reaksiyasiga erkin kirisha oladi. Reaksiya mexanizmi Trommer reaksiyasi bilan bir xil bo'lib, faqat aniqlashga xalaqit berishi mumkin bo'lgan mis (II)-oksid hosil bo'lmaydi. Bu reaksiya asosida glyukozani miqdoriy jihatdan aniqlash usuli ham ishlab chiqilgan:



d-glukoza segnet tuzining misli kompleksi

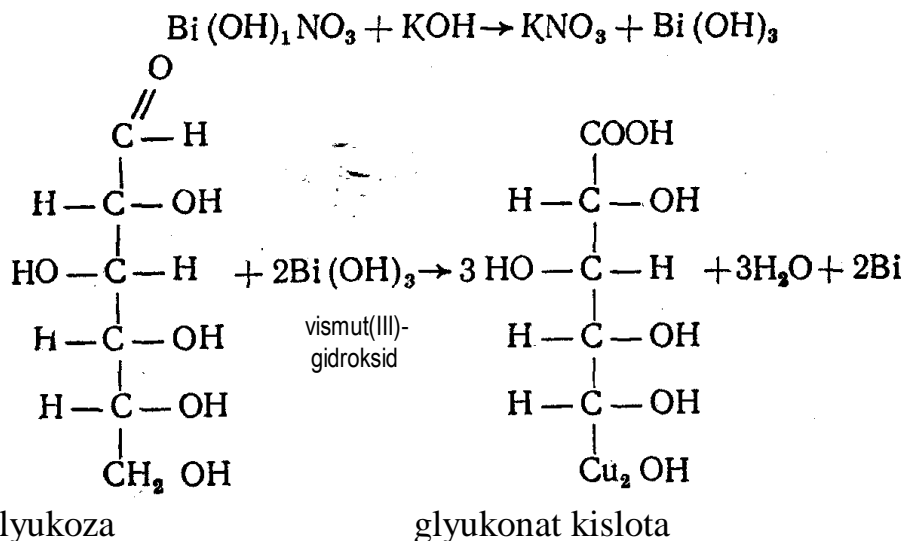


natriy glyukonat segnet tuzi mis (I)- oksid

Ishning bajarilishi. Probirkaga 1 % li glyukoza eritmasidan 1 — 2 ml quyib, unga teng hajmda feling reaktividan qo'shiladi va aralashma ohistalik bilan

qaynaguncha qizdiriladi. Reaksiya natijasida qizil rangli mis (I)-oksid cho'kmasi hosil bo'lishi kuzatiladi. Bu reaksiyani boshqa uglevodlar — maltoza, laktozalar ham hosil qiladi, saxaroza va kraxmal bilan esa qizil cho'kma hosil bo'lmaydi, chunki ular qaytaruvchanlik xossasiga ega emas.

3-tajriba. Nilander reaksiyasi. Turli biologik suyuqliklardagi shakarni aniqlashda ko'pincha vismut tuzlaridan foydalaniladi, chunki bu tuz mis tuzlaridan farqli o'laroq boshqa qaytaruvchi moddalar, masalan, urat kislota ta'sirida qaytarilmaydi.



Ishning bajarilishi. 1—2 ml glyukoza eritmasiga 0,5—1 ml Nilander reaktividan qo'shib, 2 minut davomida ohista qaynatiladi. Avval jigar rang, keyin qora vismut cho'kmasi hosil bo'lishi kuzatiladi.

4-tajriba. Barfed reaksiyasi. Monosaxaridlar mis asetatning nordon eritmasi ta'sirida ham oksidlanadi, bunday sharoitda disaxaridlar amalda oksidlanamaydi. Bu reaksiyani Barfed topganligi uchun shu olim nomi bilan yuritiladi va biologik ob'ektlardagi bu ikki grupp shakarlarni bir-biridan farq qilishda qo'llaniladi.

Ishning bajarilishi. 2 ta probirkaga 5 ml dan Barfed reaktividan quyib, biriga 1% li glyukoza eritmasidan 1 ml, ikkinchisiga maltoza yoki laktoza eritmasidan 1 ml qo'shiladi va suv hammomida 10 minut davomida qizdiriladi. Bu vaqtda birinchi probirkada qizil rangli mis (I)-oksid cho'kmasi hosil bo'ladi, ikkinchisida disaxarid oksidlanmaganligi sababli qizil cho'kma hosil bo'lmaydi. Probirkalardagi suyuqliklarni uzoq qizdirmaslik zarur, aks holda disaxaridlar xam oksidlanib ketadi.

DISAXARIDLAR

Disaxaridlar gidrolizlanganda ikki molekula monosaxaridga parchalanadigan uglevodlar hosil bo'lib, tabiatda uchraydigan oligosaxaridlarning asosiy qismini tashkil qiladi. Disaxaridlar bog'lanish tipiga qarab ikki gruppaga bo'linadi:

1) maltoza tipidagi disaxaridlar—ularning hosil bo'lishida birinchi monosaxaridning glyukozid gidroksogruppasi bilan ikkinchisining to'rtinchi uglerod atomidagi spirt gruppasi orasida kislorod ko'prigi hosil bo'ladi. Shuning uchun bu disaxaridlar erkin aldegid gruppasiga ega bo'lib, monosaxaridlar singari

qaytaruvchanlik xossasini namoyon qiladi. Bu gruppaga maltoza, sut shakari — laktoza, sellobioza kiradi.

2) tregaloza tipidagi disaxaridlar — bu gruppaga kiruvchi shakarlarda har ikkala monosaxarid molekulasidagi glyukozid gidroksogruppasi bog' hosil qilishda ishtirok etadi. Shu sababli qaytaruvchanlik xossasini namoyon qilmaydi. Bu gruppaning asosiy vakili saxaroza (α -D-glyukozid, 1,2 β -D-fruktozid)—lavlagi yoki shakarqamish shakari tabiatda keng tarqalgan disaxariddir.

31-ish Saxarozaning gidrolizi

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. Probirkalar, 2. Pipetkalar (1 ml li, sig'imi 5 ml li), 3. Shtativ, 4. Gaz gorelkasi yoki spirt lampa, 5. 5% li saxaroza eritmasi, 6. 10% li sulfat kislota eritmasi, 7. 10% li NaOH eritmasi, 8. a-naftol (10% li spirtli eritma), 9. Selivanov reaktivi, 10. Feling reaktivi, 11. Barfed reaktivi.

Saxaroza boshqa uglevodlar singari optik aktivlik xususiyatiga ega bo'lib, qutblangan nur sathini o'ngga buradi. Uning solishtirma burish burchagi $g^{\circ}_{66,5}$ ga teng. Gidrolizga uchratilgandan keyin esa gidrolizatning qutblangan nurni burish yo'nalishi va burchagi o'zgarib qoladi. Bu hodisa inversiya deb, hosil bo'lgan shakar esa invertirlangan shakar deb yuritiladi. Ikkinchi tomondan, saxaroza qaytaruvchanlik xossasini namoyon qilmagani xolda, uning gidrolizati Feling va Barfed reaktivlarini qaytaradi.

Ishning bajarilishi: 5% li saxaroza eritmasidan 4 ta probirkaga 1 ml dan quyib, birinchisida a- naftol bilan, ikkinchisida rezorsinning 0,05% li eritmasi bilan (Selivanov reaktivi), uchinchisida Feling, to'rtinchisida Barfed reaktivlari bilan tajribalar o'tkaziladi. Shundan keyin alohida probirkaga 5% li saxaroza eritmasidan 5—10 ml quyib, ustiga bir necha tomchi 10% li sulfat kislota qo'shib qaynatiladi. Gidrolizat sovitilgach, ohistalik bilan neytrallanadi va yuqoridagi reaksiyalar takrorlanadi. Kuzatish natijalari quyidagi jadval (3-jadval) ko'rinishida qayd qilinadi.

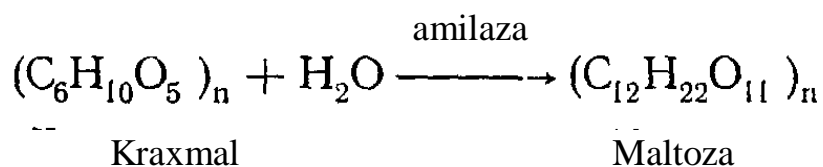
Kuzatish vaqti	Bajariladigan reaksiyalar	α -naftol bilan reakqiya	Selivanov reaksiyasi	Feling suyuqligi bilan reaksiya	Barfred reaksiyasi
Gidrolizgacha Gidrolizdan keyin					
Eslatma: reaksiya unumiga qarab «+» yoki « — » ishora yozib qo'yiladi. Xulosa: kuzapsh natijalari yozib qo'yiladi.					

32- ish Kraxmalni amilaza ta'sirida gidroliz qilish

Kerakli reaktiv va asboblari: 1.Ferment shirasi; 2. Suyultirilgan so'lak aralashmasi; 3. 1% li kraxmalning 0,3% li osh tuzidagi eritmasi; 4. Yodning kaliy yodidagi eritmasi; 5. Feling suyuqligi; 6. Probirkalar; 7. Pipetkalar; 8. Suv hammomi; 9. Voronka; 10. Filtr qog'ozi; 11. Stakan; 12. Termometr; 13. Shisha tayoqcha; 14. Shisha plastinka; 15. Shtativ.

Kraxmal ($C_6H_{10}O_5$) — uglevodlar orasida eng muhim ahamiyatga ega bo'lgan polisaxaridlardan biri bo'lib, oziq-ovqat mahsulotlarining un, guruch, kartoshka va boshqalar asosini tashkil etadi. Hayvon organizmida kraxmal so'lak tarkibidagi amilaz deb ataluvchi ferment ta'sirida maltozagacha parchalanadi. Kraxmalning parchalanishi bir necha reaksiyalardan iborat bo'lib, u ovqat hazm qilish kanallarida shakargacha parchalanib, ichak orqali qonga o'tadi.

Amilaza fermenti donli o'simliklar urug'larining unish paytida ko'p miqdorda hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan ferment urug' tarkibidagi kraxmalni maltozagacha parchalaydi.

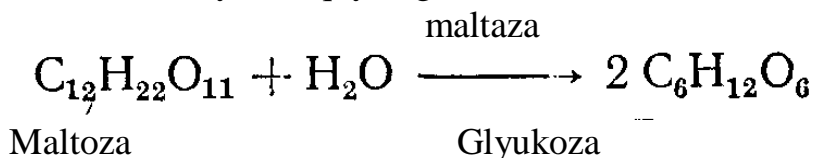


Kraxmal yuqori molekulyar polisaxarid bo'lib, o'zida erkin aldegid turkumini tutmaydi. Shuning uchun ham, u Trommer va Feling reaksiyalarini bermaydi. Ammo, kraxmalning amilaza fermenti ta'sirida parchalanishidan hosil bo'lgan maltoza, Trommer va Feling reaktivlari bilan ijobiy reaksiya beradi.

Kraxmal parchalanishidan hosil bo'lgan va o'zining ximiyaviy tuzilishi jihatidan kraxmalga yaqin bo'lgan dekstrinlar, yod eritmasi bilan ko'k rang beradi. Parchalanish jarayonida kimyoviy tuzilishi jihatidan kraxmaldan uzoq bo'lgan dekstrinlar ham hosil bo'ladi, ammo ular yod eritmasi bilan qizil-qo'ng'ir rang beradi. Kraxmal parchalanishida maltozaga yaqin past molekulyar moddalar ham hosil bo'ladi, lekin ular yod bilan rangli reaksiya bermaydi.

Kraxmalning parchalanish reaksiyasini so'lak tarkibidagi amilaza fermenti yordamida kuzatish mumkin. So'lak tarkibida amilaza fermentidan tashqari, maltozani parchalovchi maltaza fermenti ham bo'ladi. Maltozaning ferment

ta'sirida parchalanish reaksiyasini quyidagicha ifodalash mumkin:



Hosil bo'lgan glyukoza Trommer reaksiyasi yoki Feling suyuqligi yordamida aniqlanadi.

Kraxmalni kislota yordamida gidrolizga uchratish yo'li bilan ham glyukoza hosil qilish mumkin. Ammo glyukoza hosil bo'lishida ayrim farqlar bor: 1. Agar ferment ishtirokida boradigan reaksiyalar past haroratda — 40°S atrofida borsa, anorganik katalizator yordamida boradigan reaksiyalar ancha yuqori harorat ostida boradi. 2. Fermentlar o'ziga xoslikka ega, ya'ni har bir ferment ma'lum bir ximiyaviy moddaga ta'sir qiladi, masalan, amilaza fermenti kraxmal va unga yaqin bo'lgan glikogenga ta'sir qilib, ularni maltozagacha parchalaydi. Kislotalar esa faqat kraxmalni glyukozagacha parchalabgina qolmay, balki oqsil molekulasini ham parchalaydi. 3. Fermentlar muhitdagi vodorod ionlari konsentratsiyasiga nisbatan sezuvchan — o'zgaruvchan bo'ladi.

Ishning bajarilishi. Ikkita probirka olib, ularga 5 ml kraxmal eritmasidan solinadi. So'ngra probirkalardan biriga 3 ml distillangan suv, ikkinchisiga 3 ml suyultirilgan so'lak yoki ferment shirasidan qo'shib 37°S li suv hammomiga qo'yiladi va vaqt-vaqti bilan shisha tayoqcha bilan aralashtirib turiladi. Ikkita shisha plastinka olib, ularning ustiga (5—6 joyga) yod eritmasidan 1—2 tomchidan tomiziladi. Vaqt-vaqti bilan probirkalardagi aralashmadan 1 tomchidan olib, shisha plastinkadagi yod tomchilar i ustiga tomizib turiladi.

Reaksiyaning dastlabki davrlarida har ikkala probirkadan olingan aralashma tomchilari yod bilan ko'k rang beradi. Oradan 15—20 daqiqa o'tishi bilan ikkinchi probirkadan olingan aralashma tomchisi yod bilan qizil-qo'ng'ir rang beradi. Ma'lum vaqt o'tishi bilan esa aralashma yod bilan hech qanday rang bermaydi. Birinchi probirkadan olingan aralashma tomchisi esa butun tajriba davomida yod bilan ko'k rang beradi.

Ikkinchi probirkadan olingan aralashma tomchisining yod eritmasi bilan bo'yalmasligi, kraxmalning amilaza fermenti ta'sirida, maltozagacha parchalanganligidan dalolat beradi. Maltozaning hosil bo'lganligini Trommer va Feling suyuqligi bilan reaksiyalar o'tkazish orqali ham kuzatish mumkin. Ferment solinmagan probirkada esa bu reaksiyalar qayd qilinmaydi. Tajriba natijalari daftarga yozib olinadi va undan tegishli xulosalar chiqariladi.

33-ish Kraxmalning kislota ta'sirida gidrolizlanishi

Kerakli reaktiv va asboblari: 1.1% li kraxmal eritmasi; 2. Feling suyuqligi; 3. 10% li sulfat kislota; 4. yod eritmasi; 5. Stakan; 6. Probirkalar; 7. Pipetkalar; 8. Suv hammomi; 9. Elektr plitka yoki gaz gorelka.

Ishning bajarilishi. Uchta stakan olib, ularning har biriga 20 ml dan kraxmal eritmasidan solinadi. So'ngra birinchi stakanga 5 ml distillangan suv, qolgan ikkitasiga esa 5 ml dan 10% li sulfat kislotadan solib, uchala stakan ham

qaynayotgan suv hammomida 10 daqiqa tutiladi. qeyin stakaplar suv hammomidan olinib, vodoprovod tagida sovitiladi. Kislota solingan stakanlardan bittasi ishqor bilan neytrallanadi. So'ngra har qaysi stakandagi aralashmadan 1 ml dan olib, unga yod eritmasi ta'sir ettiriladi.

Birinchi stakandagi kislotasiz aralashma yod bilan ijobiy reaksiya beradi. Ikkinchi va uchinchi stakanlardan olingan aralashmalar esa yod bilan reaksiya bermaydi. Aralashmalarning yod bilan reaksiya bermasligi, kraxmalning parchalanganligini ko'rsatadi. Kraxmalning parchalanganligiga ishonch hosil qilish uchun Trommer va Feling suyuqligi bilan reaksiyalar o'tkaziladi. Bundan kislota solingan stakarlarda kraxmalning parchalanishi natijasida maltoza va glyukozaning hosil bo'lganligi haqida fikr yuritish mumkin.

LIPIDLAR

Lipidlarga gidrofob bolgan yuqori molekulali moddalar kiradi. Bu moddalar suvda erimaydi, faqatgina organik erituvchilarda (xloroform, efir, aseton, benzol, benzin) eriydi. Lipidlar hamma tirik organizmlar hujayrasining asosiy komponenti hisoblanadi. Kimyoviy tuzilishiga ko'ra lipidlar bir qancha guruhlarga bolinadi:

1. Neytral yoglar yoki triglitseridlar;
2. Fosfolitseridlar yoki fosfolipidlar;
3. Sfingolipidlar;
4. Glikolipidlar;
5. Sterin va steridlar;
6. Mumlar.

Organik erituvchilarda erishiga qarab va ulardagi qutubli funksional gruppalarining bor-yo'qligiga qarab 2 ga bolinadi:

1. Qutubli lipidlar;
2. Neytral lipidlar.

Qutubli lipidlarga fosfolitseridlar, sfingolipidlar, glikolipidlar kiradi. Neytral lipidlarga erkin yog' kislotalari va ularning efirlari, asilgliseridlar, steroidlar va mumlar kiradi.

Lipidlar tirikorganizmda juda muhim funksiyalarni bajaradi:

Birinchidan ular asosiy energiya manbai hisoblanadi, chunki 1g yog' parchalanganda 38,9 kkal energiya ajralib chiqadi. Bu esa 1 g uglevod va oqsil parchalanganda ajralib chiqqan energiyadan 2 marta ko'p hisoblanadi.

Ikkinchidan lipidlar hamma hujayralarning membranasining struktura birligi hisoblanadi va membraning yarim o'tkazgichligini ta'minlab turadi. Bunda hujayra ichiga kiradigan moddalar tanlab o'tkaziladi. Plazmatik membrana lipid va oqsillardan tashkil topgan bo'lib, ularning miqdoriy nisbati asosan 1:1 bo'ladi. Membrana tarkibidagi lipidlarning 40% dan 90% gacha bo'lgan qismi fosfolipidlardan tashkil topgan. Bakteriyalarning va mitoxondriyaning ichki membranasidan ko'p miqdorda kardiolipin topilgan.

Uchinchidan lipidlar himoya funksiyasini bajaradi. Bunda ichki organlarning ham masi yog' qavati bilan o'ralganligini kuzatish mumkin.

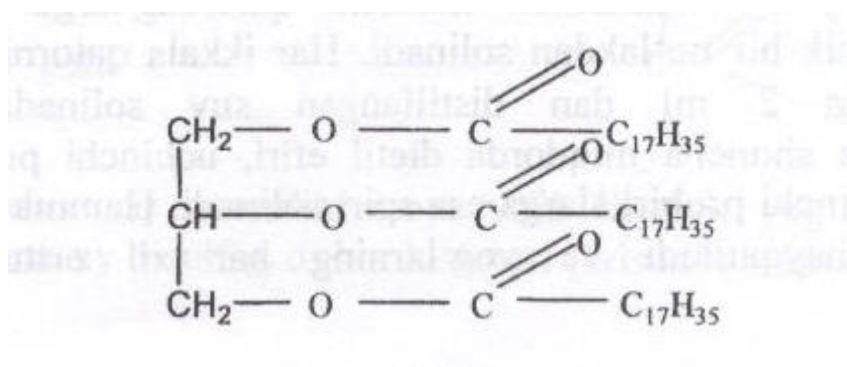
To'rtinchidan ko'pgina vitaminlar va gormonlar lipidlarga hos bo'lib, organizmda maxsus boshqarish funksiyalarini bajaradi.

Beshinchidan lipidlar termoregulyatsiya xossasiga ega bo'lib, organizmdagi issiqlikni boshqarib turadi.

Oltinchidan yog'lar suv manbayi bo'lib, ular parchalanganda suv ajralib turadi va bu cho'l zonasida yashovchi hayvonlar uchun suv manbayi bo'lib xizmat qiladi.

Sterinlar esa miyaning oq moddasining tarkibida bo'ladi va ko'pgina biologik faol moddalar - vitaminlar, gormonlar va o't kislotalarini hosil bo'lishida qatnashadi.

Oddiy yog'lar triglitseridlar bo'lib, ular yog' kislotalari va glitserinning murakkab efiri hisoblanadi:



Yog'lar tarkibiga to'yingan va to'yinmagan yog' kislotalari kiradi. To'yingan yog' kislotalaridan stearin ($\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$) va palmitin ($\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$)lar yog'laming tarkibida eng ko'p bo'ladi. To'yinmagan yog' kislotalardan eng asosiylari olein ($\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$), linol ($\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$) va linolen ($\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{COOH}$) kislotalari hisoblanadi. To'yinmagan, yog' kislotalarining tarkibida qo'shbog' bo'lib, bu ularning reaksiyaga oson kirishishini ta'minlab beradi. Olein kislotasining molekulasida 1 ta, linol kislotasida 2 ta, linolen kislotasida esa 3 ta qo'shbog' bo'ladi. Linol va linolen kislotalari odam organizmida sintezlanmaydi va ovqat bilan kirishi zarur. Bu kislotalarning organizmdagi yetishmasligi natijasida moddalar almashinuvi buziladi. Shuning uchun yuqoridagi moddalar vitamin sifatida ta'sir etuvchi moddalar xossasiga (vitamin E) ega.

Linol va linolen kislotalari o'simlik moylari (kungaboqar, zig'ir) tarkibida bo'ladi. Araxidon kislotasi esa baliq moyida. sari yog' da va bir qancha margarinlaming tarkibida bo'ladi.

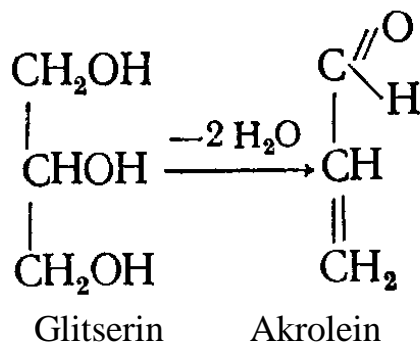
Lipidiami aniqlash bo'yicha quyidagi metodlardan foydalanish maqsadga muvofiq bo'lib, bular lipidiami biologik materiallardan ajratib olish, bir qator lipidiami miqdoriy aniqlash, analitik fraksiyalash va ulami yupqa qatlamlarda xromatografiya qilishdan iboratdir.

YOG'LARNING FIZIK-XIMIYAVIY XOSSALARI

34-ish Yog'larning akrolein reaksiyasi

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. Chigit yoki kungaboqar moyi; 2. Kaliy gidrosulfat tuzi; 3. Probirkalar; 4. Pipetkalar; 5. Shtativ; 6. Pichoq; 7. Elektr plitka yoki gaz gorelka.

Yog' tarkibida gliserin bo'lganligi uchun ham yog'lar akrolein reaksiyasini beradi. Akrolein o'zining tabiati jihatidan qo'lansa hidli to'yinmagan aldegid bo'lib, odatda u gliserindan olinadi.



Reaksiya tenglamasidan ko'rinib turibdiki, gliserin molekulasidan 2 molekula suv ajralishi bilan akrolein hosil bo'ladi. Gliserin molekulasidan suvni tortib olishda, kaliy gidrosulfatdan foydalaniladi.

Ishning bajarilishi. Toza yuvib quritilgan pro-birkaga 2—3 tomchi paxta yoki kungaboqar moyidan solib, uning ustiga pichoq uchida 0,2—0,3 g kaliy gidrosulfat tuzi qo'shiladi va elektr plitkada quyuq oq bug' chiqqunga qadar qizdiriladi. O'tkir qo'lansa hidning (ehtiyotkorlik bilan hidlang!) paydo bo'lishi, akrolein hosil bo'lganligidan dalolat beradi.

35-Yog'larning rangli reaksiyalari

Kerakli reaktiv va asboblari: 1. Paxta yoki kungaboqar moyi; 2. 1 % li osmiy kislota; 3. Chinni kosacha; 4. Mikroskopning buyum oynasi.

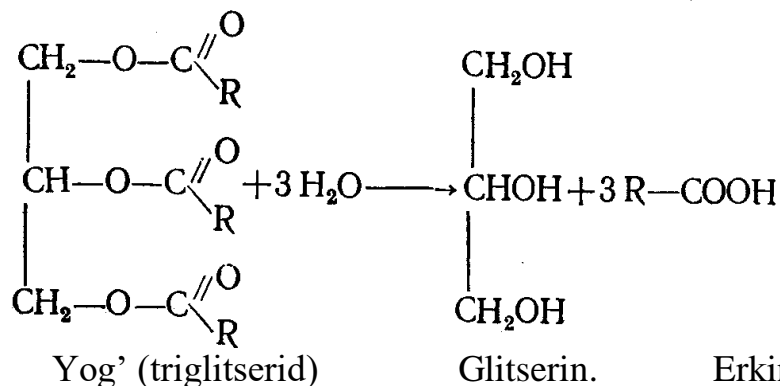
Ishning bajarilishi. Mikroskopning buyum oynasi ustiga yoki chinni kosachaga 1—2 tomchi moy tomizib, uning ustiga osmiy kislota eritmasidan 1 tomchi tomizilsa, qora rang hosil bo'ladi. Osmiy (VIII)-oksid (OsO_4) kuchli oksidlovchi xossaga ega bo'lganligidan u yog'lar bilan shiddatli reaksiyaga kirishadi. Natijada moy oksidlanadi, osmiy (VIII)-oksid esa qaytarilib, qora tusli osmiy (IV)-oksid OsO_2 ga o'tadi. Olingan natija daftarga yozib olinadi.

36-ish Yog'larning sovunlanish reaksiyasi

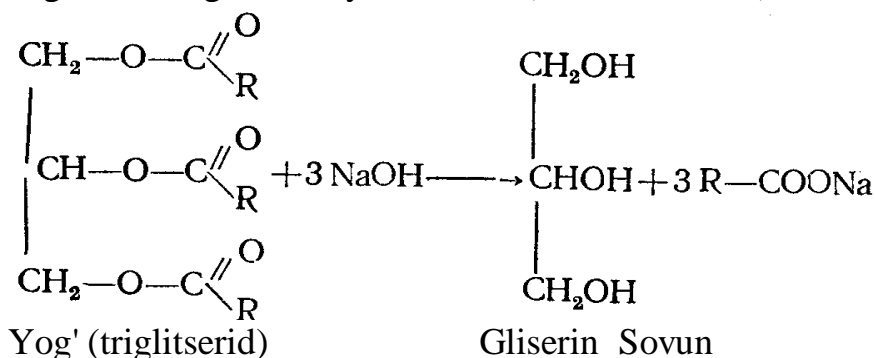
Kerakli reaktiv va asboblari: 1. Paxta yoki kungaboqar moyi; 2. 0,5 n natriy yoki kaliy gidroksidning spirtidagi eritmasi; 3. Etil spirt; 4. Konsentrlangan xlorid kislota; 5. 10% li soda (Na_2CO_3) eritmasi; 6. 5% li kalsiy xlorid; 7. 10% li qo'rg'oshin asetat eritmasi; 8. Efir; 9. Natriy xlorid (quruq holda); 10. Fenolftalein;

11. Lakmus qog'ozi; 12. Sovutgich (xolodilnik); 13. 50—100 ml li kolbalar; 14. Suv hammomi; 15. Shisha naycha; 16. Shtativ; 17. Probirkalar; 18. Elektr plitka yoki gaz gorelka.

Yog'lar ham xuddi boshqa murakkab efirlar singari gidrolizlanadi. Neytral yog'lar suv bilan birikib, gliserin va yog' kislotalarigacha parchalanadi;



Bunday reaksiyalar ishqorlar, kislotalar ta'sirida yoki tegishli fermentlar ishtirokida amalga oshadi. Yog'lar ishqoriy muhitda gidrolizlanganda, erkin yog' kislotalari o'rniga, ularning tuzlari, ya'ni sovun ($\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COONa}$) hosil bo'ladi.



Yog'larning ishqorlar ta'sirida gidrolizlanish jarayoni -sovunlanish, hosil bo'lgan yog' kislotalarining tuzlari esa s o v u n deb ataladi.

Yog' kislotalarining natriy va kaliy ishqorlari bilan bergan tuzlari suvda yaxshi eriydi, ammo ishqoriy yer va og'ir metallar bilan bergan tuzlari esa suvda yaxshi erimaydi yoki butunlay erimaydi.

Ishning bajarilishi. 50—100 ml hajmdagi kolbaga 0,5—1,0 ml moy solinib, uning ustiga 10 ml kaliy yoki natriy gidroksiddan qo'shiladi. So'ngra kolba og'zini, uzunligi 50—60 sm keladigan shisha naychaga o'rnatilgan tiqin bilan berkitiladi. Shisha naychaning yuqori uchiga sovutgich ulansa yanada yaxshi bo'ladi. So'ngra kolba qaynab turgan suv hammomida 30 daqiqa davomida saqlanadi. Bu davrda yog'ning ishqor bilan qaynashi natijasida, yog' to'la gidrolizlanib, parchalanadi. Buni suv ustida yuradigan yog' tomchilarining yo'qolib ketishidan ham bilish mumkin.

Yog'ning to'la gidrolizlanganligiga ishonch hosil qilish uchun kolbadagi gidrolizatdan pipetka yordamida 3—4 tomchi olib, uni 1—2 ml suv bilan aralashtirilib ko'riladi yoki 1—2 tomchi gidrolizatni gazmol va qog'oz parchasi ustiga tomizib quritiladi. Agar gazmol yoki qog'oz parchasida dog' paydo bo'lmasa, yog' to'la parchalangan deb hisoblanadi; mabodo dog' hosil bo'lsa, kolbadagi

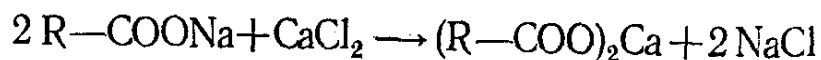
aralashmani suv hammomida qaynatish davom ettiriladi. Hidrolizlanish jarayoni tamom bo'lishi bilan kolbadagi gidrolizat chinni kosachaga o'tkazilib, unga 10 ml distillangan suv qo'shiladi va undagi spirtni bug'latish maqsadida chinni kosacha qaynayotgan suv xammomiga qo'yiladi, so'ngra u bilan quyidagi reaksiyalar o'tkaziladi.

I. Gidrolizatdan 2—3 ml olib, toza yuvilgan probirkaga solinadi va uning ustiga 2—3 tomchi konsentrlangan xlorid kislota tomiziladi. Natijada yog' kislotalar cho'kmaga tushadi. Cho'kma filtrlanadi. Filtrda qolgan cho'kmani distillangan suv bilan bir necha marta yuviladi. Cho'kmani yuvish, filtrdan tushayotgan suvning neytral holga kelguniga qadar davom ettiriladi. So'ngra cho'kma 2—3 ml efirda eritilib, boshqa idishga solinadi.

Toza yuvib quritilgan probirkaga 1—1,5 ml etil spirt solib, uning ustiga 1—2 tomchi sodaning 10% li eritmasidan va 1—2 tomchi fenolftalein eritmasidan tomizilsa, probirkada qizil rang hosil bo'ladi. Probirkada hosil bo'lgan rangli aralashma ustiga efirda eritilgan cho'kma eritmasidan bir necha tomchi tomizilsa, qizil rang o'chadi. Bu sodaning (ishqoriy muhitning) yog' kislota ta'sirida neytrallanganligidan dalolat beradi.

II. 4 ta probirka olib, ularning har biriga o'sha gidrolizatdan 1 ml dan quyiladi. Agar birinchi probirkadagi gidrolizat ustiga 1 ml distillangan suv solib chayqatilsa, probirkada ko'pik hosil bo'ladi. Bu yog'ning gidrolizlanishi natijasida sovun xosil bo'lganligini ko'rsatadi.

Ikkinchi probirkadagi gidrolizat osh tuzi bilan to'yintirilsa, cho'kma tushadi. Agar uchinchi probirkadagi gidrolizat ustiga 5% li kalsiy xlorid eritmasidan, to'rtinchi probirkadagi gidrolizat ustiga esa 10% li qo'rg'oshin asetat eritmasidan bir necha tomchi tomizilsa, suvda erimaydigan cho'kma hosil bo'ladi. Bu jarayonda tuzlar ta'siridan yog' kislotalarining kalsiyli va qo'rg'oshinli tuzlari hosil bo'ladi. Reaksiya ko'rinishi tubandagicha bo'ladi:



37-ish Yoglarning to'yinganlik darajasini aniqlash

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. 25 yoki 50 ml li stakan yoki kolba, 2. Mikrobyuretk, 3. 250 ml li shlifli kolba, 4. Analitik-tarozi, 5. Penisillin idishi, 6. 100 ml li o'lchov silindri, 7. Byuretk (25 ml li), 8. 1 ml li pipetka, 9. Xloroform, 10. Yodning 0,001 n eritmasi, 11. Yodning 0,2 n spirtli eritmasi, 12. Tiosulfatning 0,1 n eritmasi, 13. Qo'y yog'i, mol yog'i, margarin, paxta yoki boshqa o'simlik moyi.

Tabiiy yog'lar tarkibida to'yinmagan yog' kislotalar, bo'lishi bilan bir-biridan farq qiladi. To'yinmagan birikmalar o'z molekulasidagi qo'shbog' hisobiga galogenlarni biriktirib olish reaksiyasiga oson kirishadi. Odatda, yog'larning to'yinmaganlik darajasi yod soni bilan belgilanadi. 100 g yog' biriktirib olgan yod miqdori yod soni deb yuritiladi.

Yog'larning yod soni ularning eng muhim ximiyaviy xarakteristikasi bo'lib, u yog'larning turli o'zgarishlarga moyilligini aniqlashga yordam beradi.

1-tajriba. Turli yog'larning to'yinmaganlik darajasini taqqoslash. Turli xil yog'lar (mol, qo'y yog'i, margarin, paxta moyi yoki boshqa o'simlik moyi)dan 0,5 g dan tortib olinadi va ularning har biri 3 ml xloroformda eritiladi va mikrobyuretkada yodning 0,001 n eritmasi bilan titrlanadi. Yod eritmasi asosida qancha sarflanganiga qarab olingan yog'larning to'yinmaganlik darajasi taqqoslanadi.

2-tajriba. Yod sonini aniqlash. Ikkita 50 ml li quruq kolba olib, birinchisiga 0,1—0,2 g tekshiriladigan yog' solinadi. Ikkinchisiga 0,1—0,2 ml suv quyiladi. Yog'ni eritish uchun har ikkala kolbaga 10 ml dan absolyut spirt quyiladi, yog' yaxshi erimasa uni suv hammomida bir oz isitiladi. Ikkala kolbaga 10 ml dan yodning spirtidagi 0,1 n eritmasidan quyib, ustiga 10,1 ml dan distillangan suv qo'shiladi va kolba probkasi berkitib yaxshilab chayqatiladi. 5 minut o'tgach, kolbadagi suyuqlik 0,1 n tiosulfat eritmasi bilan och sariq rangga kirguncha, so'ngra 1 ml kraxmal eritmasidan qo'shib, ko'k rang yo'qolguncha titrlanadi.

Kontrol va tajriba uchun sarflangan 0,1 n tiosulfat eritmaları hajmlarining farqi olingan moyning yod soniga to'g'ri keladi. Iod soni quyidagi formula bo'yicha hisoblab topiladi:

$$\text{Yod soni} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,0127 \cdot 100}{a}$$

bu yerda: V_1 —kontrol titrlash uchun sarflangan 0,1 n tiosulfat eritmasining ml miqdori; V_2 — tajriba uchun ketgan 0,1 n tiosulfatning ml miqdori; 0,127 — tiosulfatning yod bo'yicha titri; a — olingan yog'ning miqdori (g).

38-ish Yog'larning kislota sonini aniqlash

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. Analitik tarozi, 2. Penisillin idishi, 3. 100 ml li Erlenmeyer kolbasi, 4. Mikrobyuretk, 5. Neytrallangan 1:1 nisbatli spirt-efir aralashmasi, 6. Fenoltaleinning spirtidagi 0,1% li eritmasi, 7. Kaliy gidroksidning spirtidagi 0,1 n eritmasi.

Boshqa fizik-ximiyaviy ko'rsatkichlar qatori yog'larning kislota sonini aniqlash ham katta ahamiyatga ega. Agar yog' yaxshi pishib yetilgan urug'lardan olingan bo'lsa, erkin yog' kislotalar oz, pishmagan urug'lardan olingan bo'lsa, ko'p bo'ladi. Yog' uzoq saqlangan bo'lsa, gliseridlar qisman gidrolizlanib erkin yog' kislotalar to'planishiga olib keladi. Yog'lardagi erkin kislotalar miqdorini ifodalovchi ko'rsatkich kislota soni deb ataladi. 1 g yog'dagi erkin yog' kislotalarini neytrallash uchun sarf bo'lgan kaliy gidroksidining mg miqdori yog'larning kislota sonini belgilaydi. Yog'ning kislota soni qancha yuqori bo'lsa, sifati shuncha past bo'ladi.

Yog'larning kislota sonini aniqlash yog'lardagi erkin yog' kislotalarini 0,1 n KOH bilan titrlashga asoslangan. Titrlash uchun albatta kaliy gidroksiddan foydalanish kerak, chunki hosil bo'ladigan kaliyli sovun tajriba sharoitida suvda yaxshi eriydi.

Ishning bajarilishi. Iod sonini aniqlashdagi singari, 1 g yog'ni aniq tortib olib, 50 ml sig'imli Erlenmeyer kolbasiga solinadi va 10 ml neytral spirt-efir aralashmasida (1:1) eritiladi. yog' erigandan keyin 2 tomchi fenoltalein eritmasidan tomizib, aralashma och pushti rangga kurguncha o'yuvchi kaliyning spirtidagi 0,1 n eritmasi bilan titrlanadi. Chayqatilganda 0,5 — 1 minut davomida yo'qolmaydigan rang hosil bo'lguncha titrlash davom ettiriladi.

Yog'ning kislota soni quyidagi formula bo'yicha hisoblab topiladi:

$$K = V \cdot T$$

bu yerda: K — kislota soni; V — sarflangan 0,1 n o'yuvchi kaliyning ml miqdori; T — 0,1 n KON ning titri. Uning titri 5,6 ga teng.

STERINLAR VA STERIDLAR

Sterin va steridlar siklopentanopergidrofenantrenning hosilalari bo'lib, o'simlik va hayvonot dunyosida keng tarqalgan. Sterinlar ximiyaviy tarkibi jihatidan to'yinmagan siklik spirt bo'lib, tabiatda erkin hamda yuqori yog' kislotalar bilan bergan efirlari holatda uchrashi mumkin. Sterinlar ajratib olingan manbalariga qarab, hayvon sterinlari - zoosterinlar va o'simlik sterinlari - fitosterinlarga bo'linadi. Birinchisiga xolesterin, ikkinchisiga ergosterin misol bo'ladi. Sterinlar suvda erimaydi, ular xloroform, efir, benzol va hamda issiq spirtida oson eriydi.

39-ish Xolesterinni ajratib olish va uning sifat reaksiyalari

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. Quritkich shkaf, 2. Hovoncha, 3. Shpatel, pichoq yoki skalpel, 4. Probirkalar, 5. Voronka, 6. Filtr qog'oz, 6. Shisha plastinka (10X10 sm li), 7. Gips, 8. Xloroform, 9. muz-sirka kislota, 10. Sirka anhidrid, 11. Konsentrlangan sulfat kislota, 12. Xolesterinning muz-sirka kislota-dagi 0,1% li eritmasi, 13. Xolesterinning xloroformli ekstrakti (avvalgi ishda olingan), 14. Maydalangan miya.

Xolesterin birinchi marta o't toshidan ajratib olingan, o't toshining 90% xolesteringa to'g'ri keladi. Hayvon organizmi quruq massasining 0,25—0,3% ni xolesterin tashkil etadi. Nerv to'qimasi xolesteringa boy bo'lib, uning nam massasining 2—3% bosh miya kul rang moddasining 0,9—1,4%, oq moddasining esa 4—5,3% xolesterindir.

Xolesterin ximiyaviy tarkibi jihatidan to'yinmagan siklik spirt bo'lib, kuchli suv tortib oluvchi moddalar ta'sirida osongina suv yo'qotib, to'yinmagan siklik birikma — xolesteringa, oksidlanish yo'li bilan kondensasiyalanib yashil rangli bixolestadiyenga aylanishi mumkin.

Ishning bajarilishi. Bosh miyadan xolesterin quyidagicha ajratib olinadi: 3—5 g miya materiali avval 6—10 g gips bilan hovonchada yaxshilab maydalanadi, so'ngra olingan massani shisha plastinkaga yupka qilib surkaladi va gaz gorelkasida ohistalik bilan quritiladi. Quruq massani plastinkadan to'plab,

quruq probirkaga solinadi. Probirkaga 5—6 ml xloroform quyib 5—10 minut davomida ekstrakt olinadi. Tayyor bo'lgan xloroformli ekstrakt filtrlanib, olingan filtrat keyingi ishlar uchun saqlab qo'yiladi.

1-tajriba. 2 ta probirka olib, biriga 1 ml xloroform ekstrakti, ikkinchisiga xolesterinning 1%li eritmasidan quyiladi. Har ikkala probirkaga teng hajmda konsentrlangan sulfat kislota quyiladi. Ikki kavat chegarasida qizil halqa hosil bo'ladi. Probirkadagi suyuqlik ohistalik bilan chayqatilib tindirilsa, ustki qavat qizil rangga, pastki qavat esa yashil fluoressensiyali to'q sariq rangga kiradi. Agar pastki qavatiga muz-sirka kislota qo'shilsa, suyuqlik fluoressensiyasi saqlangan holda pushti-qizil rangga bo'yaladi.

2- tajriba. Ikkita probirkaning biriga 1 ml xolesterin ekstrakti, ikkinchisiga shuncha miqdorda xolesterinning 1% li xloroformdagi eritmasi quyiladi. So'ngra ularning ustiga 10 tomchidan sirka angidrid va 2 tomchidan konsentrlangan sulfat kislota qo'shib, yaxshilab chayqatiladi. Suyuqlik avval qizil, keyin qizg'ish-binafsha, binafsha-ko'k va nihoyat, yashil rashta bo'yaladi. Eritmada yashil rang hosil bo'ladi.

VITAMINLAR

Vitaminlar kichik molekulali moddalar bo'lib, turli organik birikmalarning sinflariga mansub. Vitaminlar hayvon, o'simlik va mikroorganizmlarda kechadigan muhim fiziologik va biokimyoviy jarayonlarda faol qatnashadigan birikma hisoblanadi. Ko'pincha vitaminlar fermentlarning oqsilmas qismini tashkil qiladi.

Vitaminlar asosan o'simliklarda sintezlanadi. Odam va hayvon organizmiga esa ovqat bilan birga kiradi. Ovqatda vitaminning tarkibi kam bo'lsa, yoki organizmga so'rilishi buzilsa, moddalar almashinuvi izdan chiqadi va avitaminoz kasalligi kelib chiqadi.

Vitaminlarning funksiyalari bir-biri bilan boglangan bo'lib, ko'pincha polivitaminlar kuzatiladi. Vitaminning kamayib ketish holati (gipovitaminlar) ko'pincha uzoq vaqt antibiotiklar va sulfonamidlarni qabul qilish natijasida ham uchraydi.

Vitaminlarni keragidan ortiq qabul qilish natijasida gipervitaminlar vujudga kelib, bu esa moddalar almashinuvining buzilishiga olib keladi. Vitaminlarni sinfga bolishda ularning eruvchanligi hisobga olingan. Shunga asosan vitaminlar 2 gruppaga bo'linadi:

1. Yog'da va organik erituvchilarda eriydigan vitaminlar;
2. Suvda eriydigan vitaminlar.

Yog'da va organik erituvchilarda eriydigan vitaminlarga quyidagilar kiradi: A, D, E, K vitaminlari kiradi.

Suvda eriydigan vitaminlarga quyidagilar kiradi: B guruhi vitaminlari (B₁-timin, B₂-riboflavin, B₆-pirodaksin, B-pangomat kislota, B₁₂-sianokabolamin), S, PP, kiradi.

Yog'da va organik erituvchilarda eriydigan vitaminlar 40-ish A vitamining xos sifat reaksiyalari

Vitamin A (retinol) o'simlik tarkibidagi qizg'ish-sariq pigmentni parchalanishi natijasida hosil bo'ladi. Jigarda va ingichka ichakda, karotinaza fermenti ta'sirida ajralib chiqadi.

Karotinoidlar A vitaminining provitamini hisoblanadi. p - karotinning simmetrik molekulasida parchalanishi natijasida 2 molekula A vitamini hosil bo'ladi.

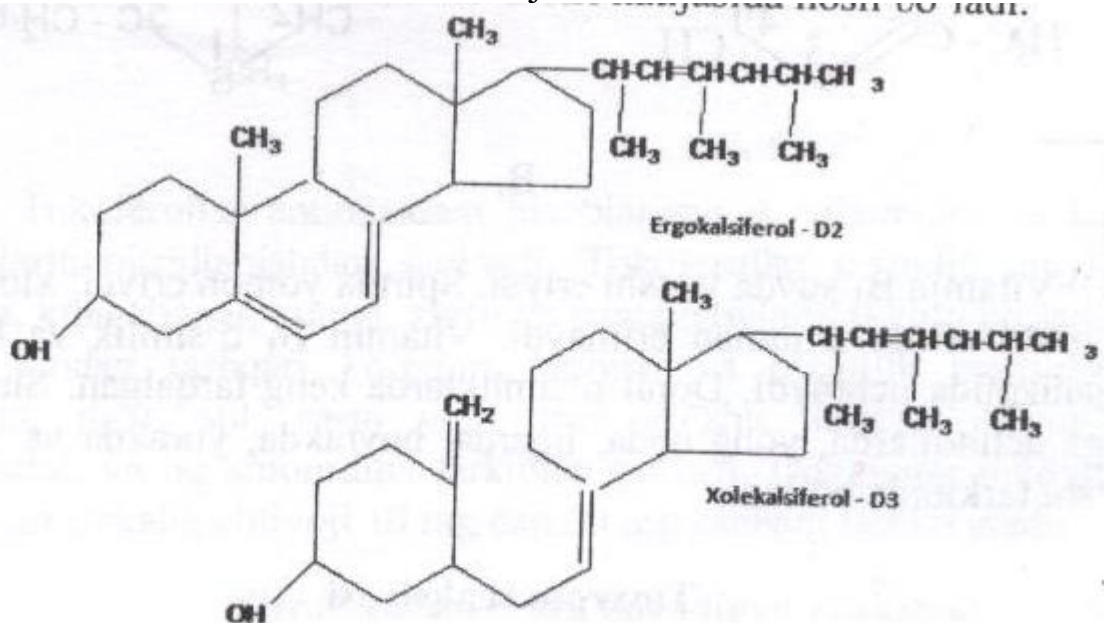
Vitamin A uchxlorsurma bilan reaksiyaga kirishganda ko'k rangli birikma hosil bo'ladi. Bu reaksiya jarayonida uchxlorsurma suvni tortib oluvchi bo'lib ta'sir ko'rsatadi va bo'yalgan kondensatsiya mahsuloti hosil bo'ladi.

Reaktivlar: 1. Uchxlorsurmaning 21-23% li xloroform- dagi eritmasi, 2. Bliq moyi, 3. Retinal atsetatning yog'dagi eritmasi, 4. Xloroform.

Ishning bajarilishi: 2 ta probirka olib, ulardan bittasiga bir necha tomchi baliq moyidan, ikkinchisiga 1 tomchi retinal atsetatning yog'dagi eritmasidan tomiziladi va 1 ml xloroformda eritiladi. Hosil bolgan eritmada bir tomchi olib, ustiga 5 tomchi uchxlorsurmaning xloroformdagi eritmasidan tomiziladi. Natijada beqaror havorang yoki ko'k rang hosil bo'ladi.

41-ish D vitamining xos sifat reaksiyalari

D grupp vitaminlari steroidli tabiatga ega boladi. Bulardan eng ahamiyatlisi vitamin D (ergokalsiferol) hisoblanadi. Vitamin D ergosterindan ultrabinafsha nur ta'siri natijasida hosil bo'ladi.



Anilin bilan boradigan reaksiya

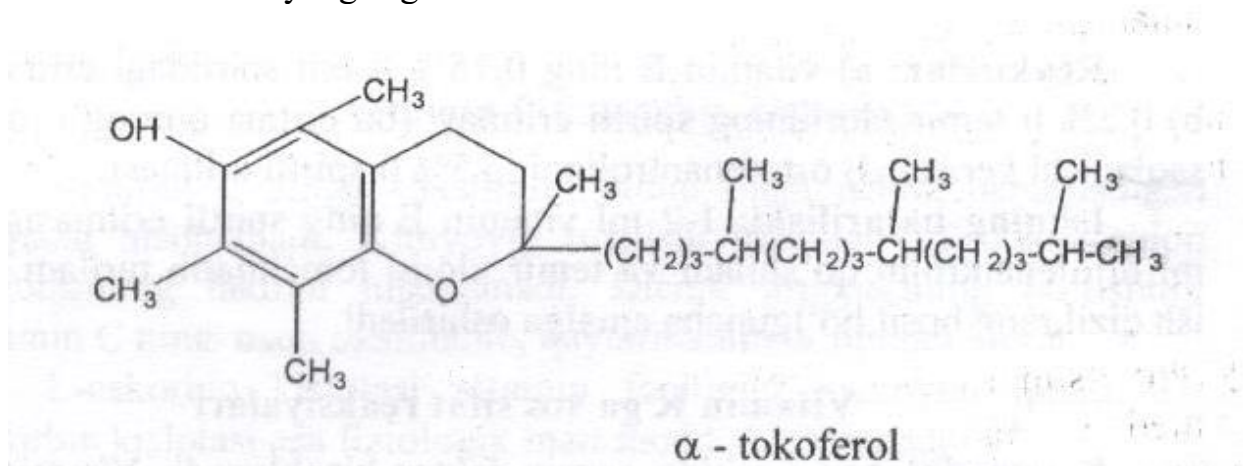
Reaktivlar: 1. Baliq moyi, 2. Anilin, 3. konsentrlangan xlorid kislota.

Ishning bajarilishi: baliq moyidan 1 ml olib, ustiga 4-5 ml anilindan va

0,5 ml konsentrlangan xlorid kislota dan solinadi. Probirka qaynaguncha qizdiriladi va 20-30 sekund qaynatiladi. Natijada suyuqlik qizil rangga bo'yaladi.

42-ish E vitamining xos sifat reaksiyalari

Vitamin E (tokoferol) yuqori haroratga chidamli bo'lib, nitrat kislota bilan oson oksidlanish xususiyatiga ega. Ultrabinafsha nurlari ta'sirida buziladi.



Tokoferollar antioksidant hisoblangan A vitaminini va karotinoidlarni oksidlanishdan saqlaydi. Tokoferollar o'simlik moylarida (soya, kungaboqar, kunjut, zig'ir va paxta moylarida) ko'p boladi.

Undan tashqari ko'pgina hayvon va o'simlik mahsulotlari: tuxum, jigar, sut, sariq yog', mol go'shti, karam, yeryong'oq, na'matak va oq smorodina tarkibida boladi. Odamning tokoferolga bolgan sutkalik ehtiyoji 10 mg dan 30 mg gachani tashkil etadi.

Nitrat kislota bilan boradigan reaksiya

Kuchli oksidlovchilar, mas., konsentrlangan nitrat kislota bilan reaksiyaga kirishib, tokoferol tokoferilxinonga aylanadi. Bunda qizil yoki sarg'ish-qizil rangli birikma hosil bo'ladi.

Reaktivlar: 1. E vitaminining yog'i konsentratini 0,15% li etil yoki butil spirtidagi eritmasi, 2. Konsentrlangan nitrat kislota.

Ishning bajarilishi: E vitaminining spirtli eritmasidan bir necha tomchi olib, ustiga 8-10 tomchi konsentrlangan nitrat kislota dan sekinlik bilan qo'shiladi va probirkalar sekin chayqatiladi. 1-2 minutdan keyin probirkadagi aralashma qizil yoki sarg'ish-qizil rangga kiradi. Reaksiya juda shiddat bilan boradi, shuning uchun nitrat kislota ni probirka devoridan sekinlik bilan qo'shilishi va bu ishlar tortuvchi shkaf tagida olib borilishi kerak boladi.

Temir xlorid bilan olib boriladigan reaksiya

Tokoferollar temir xlorid bilan oksidlanib, temir xlorid FeCl_2 gacha qaytariladi. Fe^{2+} ioni ortofenantrolin bilan reaksiyaga kirishib, $\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_2)_3$ ning kompleks ioni hosil boladi va natijada efirma qizil rangga bo'yaladi.

Tokoferollar temir xlorid bilan oksidlanganda piran halqasining buzilishi

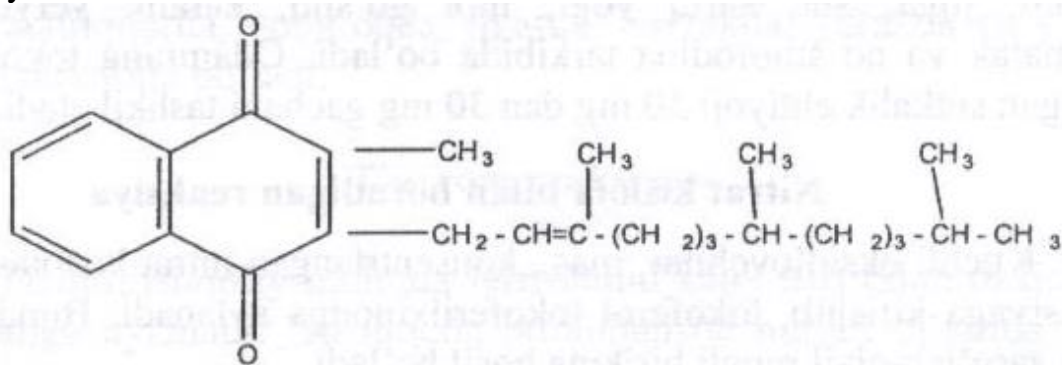
amalgam oshadi va -oksialkilxinon hosil boladi.

Reaktivlar: a) vitamin E ning 0,15% li etil spirtidagi eritmasi, b) 0,2% li temir xloridning spirtli eritmasi (bu eritma qorong'i joyda saqlanishi kerak), d) ortofenantrolin 5% li spirtli eritmasi.

Ishning bajarilishi: 1-2 ml vitamin E ning spirtli eritmasiga 1 ml ortofenantrolin qo'shiladi va temir xlorid tomchilatib turiladi. Bu ish qizil rang hosil bolguncha amalgam oshiriladi.

43-ish Vitamin K ga xos sifat reaksiyalari

K vitamini qon ivishida asosiy faktor hisoblanadi. Vitamin K yashil o'simliklarning xloroplastlarida sintezlanadi. Uning molekulasida 2-metil-1,4-naftoxinon va fitol spirtidan tuzilgan. K vitamini bosh va rangli karamda, pomidorda, qovoqda, na'matakning mevasida, bedada, petrushkada, sabzi, dayel va qarag'aylarda bo'ladi.



Vitamin K₁

Undan tashqari mol go'shtida, buyrak va jigarda ham bo'ladi.

Anilin bilan boradigan reaksiya

2-metil-1,4-naftoxinon anilin bilan reaksiyaga kirishib, 2-metil-3-fenilamino-1,4-naftoxinonni hosil qiladi va bu qizil rangli bo'ladi.

Reaktivlar: 1. Vikasol, 0,1% li suvli eritmasi yoki metionin, 2. 0,2% li etil spirtidagi eritmasi, 3. Anilin.

Ishning bajarilishi: 1 ml vikasol yoki metionin eritmasiga 6-8 tomchi anilin qo'shiladi va chayqatiladi. Natijada probirkadagi aralashma qizil rangga bo'yaladi.

Sistein bilan boradigan reaksiya.

Reaktivlar: 1. Vikasol, 0,1% li suvli eritmasi, 2. Sistein 0,03% li eritmasi, 3. 5% li natriy ishqori.

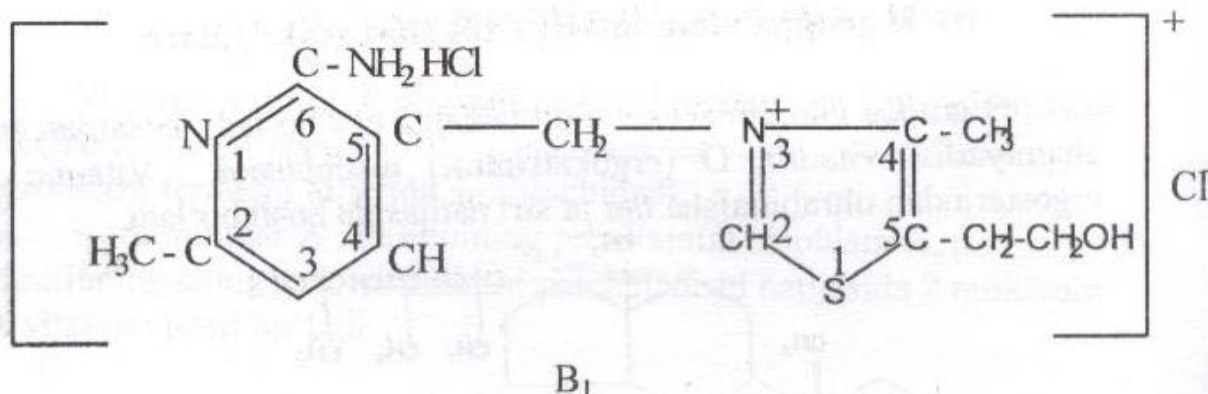
1 ml vikasol eritmasiga shuncha miqdorda sistein eritmasidan va 5-6 tomchi natriy ishqori eritmasidan solinadi. Natijada sariq yoki limon rang hosil bo'ladi.

Suvda eriydigan vitaminlar

44-ish B₁ vitamini uchun sifat reaksiyalari

Vitamin B₁ molekulasida 2 ta geterosiklik birikma - pirimidin va tiazol kiradi. Bu ikki birikma metil gruppasi bilan bog'angan boladi. Bundan

tashqari tiamin molekulasida gidroksil va amin gruppalari ham mavjud.



Vitamin B_1 suvda yaxshi eriydi. Spirtida yomon eriydi, xloroform va dietil efirda umuman erimaydi. Vitamin B_1 o'simlik va hayvon organizmida uchraydi. Donli o'simliklarda keng tarqalgan. Shu bilan birga achitqilarda, yong'oqda, jigarda, buyrakda, yurakda va yog'siz go'sht tarkibida bo'ladi.

Tioxrom reaksiyasi

Tiamin ishqoriy muhitda ferrosianid kaliy tuzi bilan oksidlanib, tioxromga aylanadi. Bu modda ultrabinafsha nurlari ta'sirida havo- rangni hosil qiladi.

Reaktivlar: a) tiamin bromid, b) kaliy ferrisianidning 5% li eritmasi [$K_3Fe(CN)_4$], d) 10% li o'yuvchi natriy, e) butil yoki izoamil spirti.

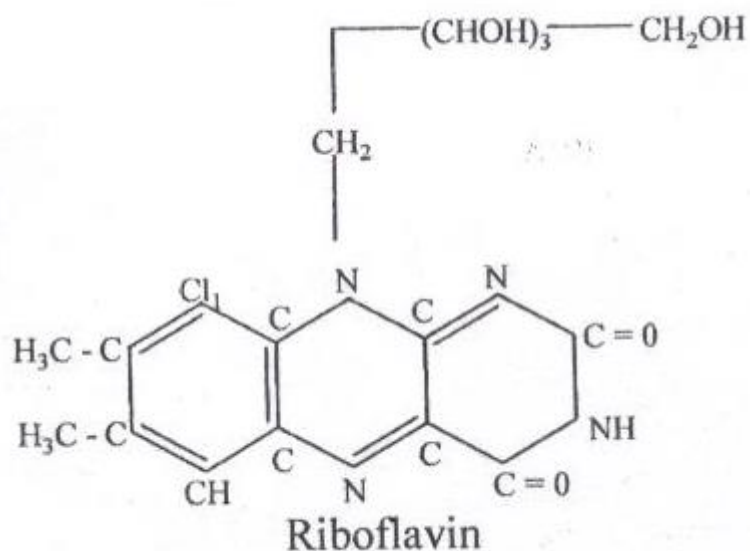
Ishning bajarilishi: 10 mg chamasi tiamin bromid kukunini 5 ml suvda eritib, ustiga 1 ml 3% li ferrisianid kaliy eritmasidan, 1 ml 10% li o'yuvchi natriy va 5 ml butil spirtidan solinadi. Probirka (yoki stakan) yaxshilab chayqatiladi va bir necha minut xona haroratida qoldiriladi. Yuqorigi, spirtli qatlam ehtiyotlik bilan ajratib olinib, qorong'i xonada simob-kvarsli lampa nurlari yordamida ko'riladi. Natijada havorang yoki ko'k rangli fluoressensiya aniq ko'rinadi.

45-ish B_2 Vitamin (riboflavin) ga xos sifat reaksiyalari

Vitamin B_2 organizmda ketadigan oksidlanish-qaytarilish prosesslarida ishtirok etuvchi hisoblanadi. U vodorod uzatilish protsessida ishtirok etadigan oksidlanish-qaytarilish fermentlarining faol guruhlari tarkibiga kiradi. Shu bilan birga oqsil moddalarining almashinishi bilan mahkam bog'langan.

Riboflavin ignasimon kristall bo'lib, qizg'ish-sariq rangli boladi. Suvda, etil spirtida, piridinda, siklogeksanda yomon eriydi. Xloroformda, atsetonda, benzolda umuman erimaydi. Riboflavin yuqori haroratga chidamli.

Vitamin B_2 molekulasining asosi dimetilizoalloksazanni ribitol spirtining qoldig'i bilan boglanishidan hosil bolgan. Shuning uchun riboflavinni 6,7-dimetil- 9-(1 -d-ribitol)-izoalloksazan deb atash mumkin.



Riboflavin o'simlik va hayvon mahsulotlarida boladi. Bu vitamanga odam organizmining ehtiyoji energiya sarfiga va ovqat tarkibidagi oqsilning miqdoriga bogliq. Riboflavinga boigan sutkalik ehtiyoj katta odamlarda 2,5-3,5 mg ni tashkil etadi (bu ko'rsatkich mehnatning turiga va organizmning fiziologik holatiga qarab belgilanadi). Yosh bolalarning ehtiyoji 3,0 mg ni, o'smirlar uchun esa (16-22 yoshgacha) 3,5 ni tashkil etadi.

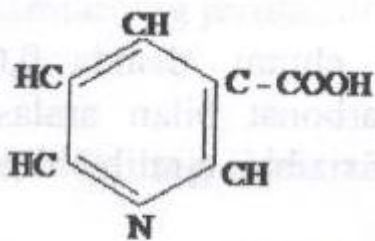
Riboflavinni qaytarilish reaksiyasi. Riboflavin oson oksidlanib, oson qaytarilish xususiyatiga ega. Uning vodorod bilan qaytarilishi natijasida rangsiz birikma - leykoflavin hosil bo'ladi. Bu birikmaning oksidlanishi natijasida esa osongina riboflavin hosil bo'ladi.

Rcaktivlar: 1. Riboflavinning 0,015% li eritmasi (eritma qora shisha idishda saqlanishi kerak), 2. Konsentrlangan xlorid kislota, 3. Metall holidagi rux.

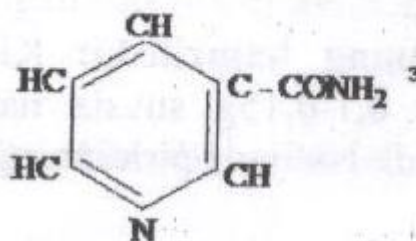
Ishning bajarilishi: 1 ml riboflavinning eritmasiga 10 tomchi konsentrlangan xlorid kislotadan va bir bo'lak rux metalidan solinadi. Ajralib chiqadigan vodorod ta'sirida eritmaning rangi sekin-asta o'zgarib boradi. Dastlab sariq rang paydo bo'ladi, u yashil rangga, keyin malina rangiga, pushti rangga aylanib, keyin rangsizlanadi. Bir necha minutdan keyin probirkaning yuqori qismidagi suyuqlik yana sariq rangni oladi.

46-ish PP Vitamin (nikotin kislota) ga xos sifat reaksiyalari

Vitamin PP o'zining kimyoviy tabiatiga ko'ra nikotin kislota va uning amidi hisoblanadi.



Nikotin kislota



Nikotin kislota amidi

Nikotin kislotasining va uning amidining biologik faolligi bir xil, lekin organizmda nikotinamid ko'proq uchraydi, chunki nikotin kislota organizmda oson amid holiga o'tadi. Shuning uchun ko'pgina olimlar nikotin kislotasini vitamin PP ning provitami, nikotinamidni esa vitamin PP deb ataydilar. Nikotinamid biologik oksidlanish jarayonida eng asosiy birikma hisoblanadi. U anaerob degidrogenazalar tarkibiga kiradi va nikotinamidadenindinukleotid (NAD) va nikotinamidadenin-dinukleotidfosfatlarning kofermenti hisoblanadi.

Vitamin PP yetishmasa, pellagra kasalligi kelib chiqadi. Vitamin o'simlik va hayvon mahsulotlarida keng tarqalgan bo'lib, odamning unga bo'lgan sutkalik ehtiyoji (yoshga va mehnat turiga va organizmning holatiga ko'ra) 15-25 mg ni tashkil etadi.

Mis atsetat bilan boradigan reaksiya. Nikotin kislota sirka kislotali muhitda mis tuzlari bilan reaksiyaga kirishib, nikotin kislotasining ko'k rangli mis tuzini hosil qiladi.

Reaktivlar: 1. Nikotin kislotasini 0,75% li eritmasi, 2. 15% li sirka kislota, 3. 5% li mis atsetat.

Ishning bajarilishi: 2 ml nikotin kislota eritmasiga 1 ml 15% li sirka kislotasidan solinadi va qaynatiladi. Keyin 1-1,5 ml mis atsetat eritmasidan qo'shiladi. Probirkada awal havorang aralashma paydo bo'ladi, keyin esa nikotin kislotasining ko'k rangli mis tuzi cho'kmaga tushadi.

Natriy karbonat bilan boradigan reaksiya

Nikotin kislotasini suvsiz natriy karbonat bilan qizdirilganda, spetsifik qo'Mansa hid ajralib chiqadi.

Reaktivlar: 1. Nikotin kislotasining kukuni, 2. Suvsiz natriy karbonat.

Ishning bajarilishi: Kichkina chinni idishda 0,05g nikotin kislota 0,1-0,15g suvsiz natriy karbonat bilan aralashtiriladi va qizdiriladi. Natijada piridinning yoqimsiz hidi ajralib chiqadi.

47-ish B₆ Vitamin ga xos sifat reaksiyalari

Vitamin B₆ xossasiga ega bo'lgan 3 xil modda bor. Bular piridoksol (piridoksin), piridoksal va piridoksamin bo'lib, bularning hammasi piridinning hosilasi hisoblanadi. Bu modda yuqori haroratga, ishqor va kislotalarning ta'siriga chidamli bo'lib, quyosh nuri ta'sirida buziladi.

Piridoksal va piridoksamin aminokislotalar almashinuvida muhim rol o'ynaydi. Ularning fosforlangan hosilalari (fosfopiridoksal va fosfopiridoksamin)

koferment funksiyasini namoyon qiladi va aminokislotalarning pereaminirlanish, dekarboksillanish reaksiyalarini katalizlaydi. Bundan tashqari fosfopididoksal nikotin kislotasini triptofandan sintezlanishini koferment bo'lib katalizlaydi. Vitamin V₆ shu bilan birga lipidlar almashinuvida ham ishtirok etadi.

Piridoksol, piridoksal va piridoksamin o'simlik va hayvon mahsulotlarida keng tarqalgan. Vitamin B₆ jigarda, buyrakda, muskul to'qimasida, tuxumda, achitqida, guruch kepagida, no'xotning tarkibida boladi.

Katta odamlarning piridoksinga boigan sutkalik ehtiyoji 2 mg ni tashkil etadi.

Vitamin B₆ ning temir xlorid bilan beradigan reaksiyasi

Piridoksin temir xlorid bilan reaksiyaga kirishib, qizil rangli kompleks hosil qiladi.

Reaktivlar: a) piridoksinning 0,5% li eritmasi, b) 1% li temir xlorid.

Ishning **bajarilishi**: 4-5 ml piridoksin eritmasiga 1 ml temir xlorid eritmasidan qo'shiladi. Natijada qizil rang hosil boladi.

Pridoksinni fosfor-volfram kislotasi bilan cho'ktirish reaksiyasi

Piridoksin piridinining hosilasi bolganligi sababli, bir qator alkaloidlar ta'sirida, shu jumladan fosfor-volfram kislotasi ta'sirida ham cho'kmaga tushadi.

Reaktivlar: 1. Xlorid kislotada eritilgan fosfor-volfram kitslotasining 1% li eritmasi (1:10), 2. Piridoksinning 5% li eritmasi.

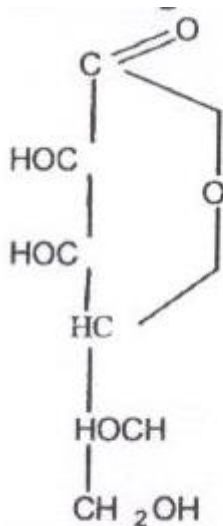
Ishning bajarilishi: 1 ml piridoksin eritmasiga 1 ml fosfor-volfram kislotasidan qo'shiladi. Natijada cho'kma tushishi kuzatiladi.

48-ish C Vitamin (askorbin kislotasi) ga xos sifat reaksiyalari

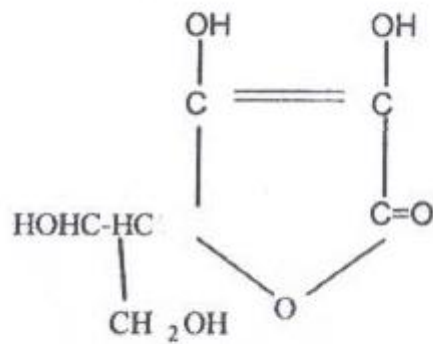
Vitamin C singa kasalligini oldini olish uchun ishlatiladigan preparat hisoblanadi. Kimyoviy tuzilishi jihatidan 2,3-dienol-gulon kislotasining laktoni hisoblanadi. Dienol gruppasining bo'lishligi vitamin C ning oson oksidlanib, qaytarilishini ta'minlab turadi.

L-askorbin kislotasi vitamin faolligini namoyon qiladi, D-askorbin kislotasi esa fiziologik inert modda hisoblanadi.

L- askorbin kislotasi rangsiz, suvda yaxshi eriydigan va nordon mazali bo'ladi. Benzolda, xloroformda, dietil efirda va yog'larda erimaydi. Askorbin kislotasining suvdagi eritmasi kislotali reaksiyani namoyon qiladi. U oson oksidlanib, degidroaskorbin kislotasiga aylanadi. Bunda uning vitaminli xossasi saqlanib qoladi.

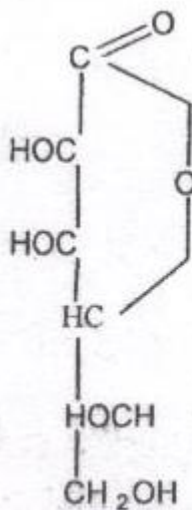


L-askorbin kislota

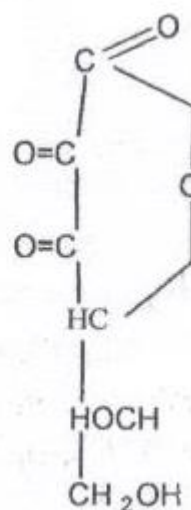
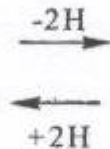


D-askorbin kislota

Degidroaskorbin kislotasi beqaror bo'lib, qaytarilish reaksiyasi natijasida yana L- askorbin kislotasiga aylanadi.



Qaytarilgan



Oksidlangan

GORMONLAR

Sut emizuvchi hayvonlarning endokrin bezlari to'g'ridan-to'g'ri qonga ajratadigan, yuqori darajadagi biologik aktivlikka ega bo'lgan moddalarni 1905 yili E. N. Starling gormonlar (yunoncha «hormoa» — qo'zg'ataman degan ma'noni anglatadi) degan nom bilan atashni taklif etadi. Gormonlar turli-tuman ximiyaviy tuzilishga ega bo'lgan moddalar bo'lib, ular moddalar almashinuvining ta'siri orqali butun tirik organizmlardagi o'sish, rivojlanish va shu singari hayotiy proseslarni boshqarib turadi. Gormonlar informasiyalarni hujayraga tashuvchi kimyoviy vositachi sifatida ham xizmat qiladi. Gormonlar turli-tuman proseslarga plazmatik membranalar orqali ionlar tashilishidan tortib to genom transkripsiyasigacha ta'sir ko'rsata oladi.

Gormonlar faqat endokrin bezlarida ishlab chiqariladi, ba'zi gormonlar o'zi sintezlangan organning o'zida ta'sirini o'tkazishi mumkin. Odatda gormonlar hujayralarda ketadigan proseslarni tezlashtiradi, shu bilan birga ular bu proseslarning tormozlanishiga olib keluvchi informasiyani ham yetkazib berishi mumkin.

Fiziologik sharoitlarda gormonlar tezda sintezlanib va parchalanib turadi. Ularning yarim yashash davri 1 soatdan oshmaydi. Shu sababli gormonlar organizmda normal fiziologik holatni tutib turish uchun doimo sintezlanib, darhol boshqaruvchi ta'sirini o'tkazishi va shu vaqtning o'zida tezlik bilan aktivligini yo'qotishi zarur.

Gormonlarning ta'sir mexanizmi juda murakkab. Ularning qondagi konsentrasiyasi 10^{-8} M dan oshmaydi. Bu qadar past konsentrasiyada bo'lishiga qaramay, ular hujayradagi metabolitik proseslarning asosiy regulyatorlari hisoblanadi. Ko'pchilik gormonlarning hujayra plazmatik membranalarida o'ziga xos reseptor oqsillari bo'lib, gormon ta'siri shu sezgir oqsil bilan bog'langandan keyingina xujayra javob reaksiyasini qaytaradi. Tireoid gormonlar va insulin bundan mustasno.

Gormonlar hujayra membranasidagi reseptor oqsil bilan bog'langandan keyin adenilatsiklaza (yoki guanilatsiklaza) fermenti aktivlashib siklik AMF yoki siklik GMF sintezi kuchayadi. Siklik AMF gormonlar ta'sirini hujayradagi metabolitik proseslarga o'tkazib beruvchi ikkinchi yoki uchinchi darajali vositachi vazifasini o'taydi. Siklik nukleotidning asosiy roli proteinkinaza ta'sirida oqsillarning fosforlanishini stimullashdir. Sitoplazmadagi oqsillar ichida ribosoma oqsillarining fosforlanishi sintezlanadigan oqsilning xarakteri va miqdoriga ta'sir ko'rsatishi mumkin.

Ba'zi gormonlar xususan, insulin va tireoid gormonlar uchun plazmatik membranadagi reseptordan tashqari xujayra yadrosida ham gormonlar bog'lanadigan spesifik joylar aniqlangan.

Steroid gormonlar spesifik oqsillar sinteziga ta'sir ko'rsatadi. Bu gormonlar o'zi ta'sir ko'rsatadigan hujayra sitoplazmasiga kiradi va spesifik sitoplazmatik oqsillar bilan birikib, xromatinga nisbatan yuqori moyillikka ega bo'lgan steroid-oqsil kompleksini hosil qiladi va yadro membranasidan ham oson o'ta oladigan ko'rinishga o'tadi. Hosil bo'lgan steroid — oqsil kompleksi yadroga kirib

xromatinga bog'lanishi natijasida spetsifik i-RNK sintezi boshlanadi, bu esa yangi biologik aktiv oqsil sinteziga olib keladi.

Gormonlar ximiyaviy tabiatiga ko'ra 4 gruppaga bo'linadi.

1. Peptid va oqsil tabiatli gormonlar. Bularga oshqozon osti bezi, qolqonsimon bez va qolqonsimon oldi bezida, gipotalamus, gipofiz va ovqat hazm qilish organlarining shiliq pardalarida ishlab chiqariladigan gormonlar — paratgormon, tireokalsitonin, insulin, glyukagon, tiroliberin, lyuliberin, somatostatin, oksitosin, vazopressin, somatotropin adrenokor-tikotropin, tireotropin, gonadotropin, melanositlarni stimullovchi gormon, gastrin, sekretin, pankreozimin, xolesistokinin, enterogastron va villikininlar kiradi.

2. Aminokislota tabiatli va ulardan hosil bo'lgan gormonlar. Bularga asosan qolqonsimon bez va buyrak usti bezining mag'iz qismida ishlab chiqaradigan tiroksin, di-, triyodtirozin, adrenalin va noradrenalin kiradi. Bu gruppaga ximiyaviy tarkibi va tuzilishi jihatidan aminokislotalarning hosilalariga o'xshash bo'lgan fitogormonlarni ham kiritish mumkin.

3. Steroid gormonlar. Bu gruppaga kiruvchi gormonlar buyrak usti bezining po'st qismida, urug'donlar, tuxumdorlar va ba'zi boshqa organ va to'qimalarda ishlab chiqariladi. Bu moddalar uchun umumiylik shuki, ularning molekulalarining hammasida siklopentano-pergidrofenantren yadrosi bor. Ulardan eng muhimlari kortikosteron, gidrokortizon, kortizon, u-dezoksikor-tikosteron, aldosteron, testesteron, estradiol va progesteronlardir.

4. Yog' kislotalaridan hosil bo'luvchi gormonlar. Bu gormonlar prostaglandinlar deb xam nomlanadi, ximiyaviy tarkibi jihatidan to'yinmagan yog' kislotalari hisoblanadi. Bu gormonoid moddalar ko'pchilik organlar va to'qimalarda hosil bo'lib, haqiqiy gormonal ta'sirga ega emas. Hozirgi davrda prostaglandinlarning ximiyaviy tabiati, biosintezi va moddalar almashinuvidagi roli keng o'rganilmoqda.

Quyida gormonlar gruppalarining eng muhim vakillarining fizik-ximiyaviy xossalriga to'xtalib o'tiladi.

GORMONLARGA XOS REAKSIYALAR

49-ish Oshqozon osti bezining gormoni – insulinga xos reaksiya

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. Probirkalar, 2. Pipetkalar, 3. Konsentrlangan nitrat kislota, 4. Insulin eritmasi (ampulalarda), 5. O'yuvchi natriyning 10% li eritmasi, 6. Mis (II)-sulfatning 1% li eritmasi, 7. Fol reaktivi.

Oshqozon osti bezi — Langergans orolchalarining β -hujayralari ishlab chiqqan, gormonal aktivlikka ega, oqsil tabiatli modda insulin (latinchasi — insula — orol) deb ataladi. Langergans orolchalarining α -hujayralari esa glyukagon gormoni ishlab chiqaradi.

Insulin o'z molekulasida 2 ta polipeptid zanjirini tashkil qiluvchi 51 ta aminokislota qoldig'i (A — zanjir 21 ta aminokislota qoldig'idan, B — zanjir esa 30 ta aminokislota qoldig'i) dan tarkib topgan. Insulinning molekulyar massasi 5733 ga teng.

Insulin uglevod almashinuviga har tomonlama ta'sir ko'rsatadi. Uning asosiy

roli uglevodlar almashinuvida namoyon bo'ladi: insulin hujayralar membranasining glyukozaga nisbatan o'tkazuvchanligini oshiradi, glyukokinaza fermentini aktivlaydi, glikolitik fermentlar biosintezini induksiyalaydi, glikogen sintezini, pentoz siklini stimullaydi. Insulin ta'snrida oqsillar va uglevodlardan lipidlar sintezi tezlashadi.

Insulin oqsillarga xos barcha sifat reaksiyalarni beradi.

1-tajriba. Geller reaksiyasi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 0,5—1 ml konsentrlangan nitrat kislota quyib, uning ustiga ehtiyotkorlik bilan probirka devori bo'ylab teng hajmda insulin eritmasi qo'shiladi. Probirkadagi qavatlariga bo'lingan suyuqlik aralashib ketmasligi kerak. Bu vaqtda har ikkala qavat chegarasida yupqa halqa ko'rinishidagi oq amorf cho'kma hosil bo'ladi.

2-tajriba. Biuret reaksiyasi. Probirkaga 0,5—1,0 ml insulin eritmasidan quyib, uning ustiga teng hajmda 10% li o'yuvchi natriy va 1—2 tomchi 1% li mis sulfat eritmasidan qo'shib chayqatiladi. Probirkadagi suyuqlik binafsha rangga kiradi.

3-tajriba. Fol reaksiyasi.

Insulin molekulasidagi 51 ta aminokislota qoldig'idan 6 tasi tarkibida oltingugurt bo'lgan aminokislota — sisteinga to'g'ri keladi.

Probirkaga 0,5 ml (10 tomchi) insulin eritmasidan quyib, ustiga teng hajmda Fol reaktividan qo'shiladi va qaynatiladi. 1—2 minutdan so'ng probirkada qo'ng'ir yoki qora rangli qo'rg'oshin sulfid cho'kmasi hosil bo'ladi.

50-ish Qalqansimon bez garmoni – tiroksinga xos reaksiya

Qalqonsimon bez to'qimasi tarkibidan 0.2-0.9% yod bo'ladigan, treoglobulin deb ataluvchi oqsil ajratib olingan. Bu glikoprotein xarakterli oqsilning molekulyar massasi 660000 ga teng. U qalqansimon bezning asosiy mahsuloti hisoblanadi. Ma'lum bo'lishicha u bez to'qimasidagi proteolitik fermentlar ta'sirida parchalanib, molekulasida 60% gacha yod bo'ladigan garmonlar – tiroksin, triyodtironin, diyodtironin ajraladi.

Qalqonsimon bezning asosiy garmoni – tiroksin treoglobulin molekulasidagi tirozin aminokislotalarining yodlanishi natijasida avval yodtirozinlar qoldig'i, so'ngra ularning 2 molekulasining o'zaro kondensatlanishi natijasida tiroksin sintezlanadi.

Tiroksinga xos sifat reaksiya undagi yodni aniqlashdir. Tiroksin oksidlanish yo'li bilan parchalanganda erkin yod ajralib chiqadi. Hosil bo'lgan elementar yodni uning kraxmal bilan beradigan reaksiyasi yo'rdamida aniqlash mumkin.

Kerakli asbob va reaktivlar: 1. Havoncha, 2. 10% li natriy bikarbonat, lakmus qog'zi, 3. Sulfat kislotaning 10% eritmasi, 4. Kaliy yodatning 2 % li eritmasi, 5. Kraxmalning 1%li eritmasi, 6. Tireoid preparati yoki qalqonsimon bez ekstrakti.

1-tajriba. Tireoidinni ishqoriy muhitda gidrolizlash.

Ishning bajarilishi. Havonchaga 5 ta tireoidin tabletkasi solinib, yaxshilab maydalanadi. Maydalangan kukun kolbaga solinadi., ustiga 10% li natriy

bikarbonat eritmasidan 5 ml va distillangan suvdan quyiladi. Kolbadagi suyuqlik 10-15 minut qaynatiladi.

2-tajriba. Hidrolizatdagi yodni aniqlash. 1-1.5 ml sovutilgan gidrolizatdan olib, lakmusga nisbatan kislotali muhit paydo bo'lguncha 10% li sulfat tomchilatib qo'shiladi. Hosil bo'lgan gidrolizatga 3 tomchi 1%li kraxmal eritmasi va 0.5 ml 2 % kaliy yodat eritmasi qo'shib chayqatiladi. Ajralgan yod hisobiga probirkadagi suyuqlik ko'k ranga kiradi.

ILOVA

Laboratoriya mashg'ulotlar uchun zarur bo'lgan ba'zi reaktivlarni tayyorlash usullari

1. Agar-agar parchasini tayyorlash. 10% li agar-agar parchasini tayyorlash uchun 20 g agar-agar ni ximiyaviy stakanga solib, uning ustiga 80 ml distillangan suv quyib elektr plitkada yoki gaz gorelkasida qizdiriladi. Qizdirish davomida stakandagi agar-agar aralashmasi shisha tayoqcha bilan aralashtirib turiladi. Hosil bo'lgan quyuq atala ustiga 2% li kraxmal eritmasidan solib aralashtiriladi, so'ngra uni Petri kosachasiga ko'chiriladi. Agar-agar Petri kosachasida bir tekisda qotgandan keyin, uning ustiga uzunasiga kesilgan unayotgan urug' bo'laklari yopishtirib qo'yiladi.

2. Azobenzol eritmasini tayyorlash. 14,5 mg azobenzolni 100 ml spirtda eritiladi. Bu eritma 2,35 mkg/ml karotinga to'g'ri keladi.

3. Amilaza shirasini olish. Unayotgan bug'doy, arpa, suli urug'idan (maysasidan) 8—10 g olib, chinni hovonchada yanchiladi. So'ngra hovonchani issik distillangan suv bilan yuvib, 50 ml li o'lchov kolbasiga o'tkaziladi va yarim soat tinch qoldiriladi. Bundan keyin filtrlanadi. Filtrat amilaza ferment sifatida ishlatiladi. Ferment shirasini tajriba boshlanishidan oldin tayyorlash kerak.

4. Anilinning spirtli eritmasi. Anilin spirtda 1:6 nisbatda eritiladi. Tayyorlangan eritma maxsus qora rangdagi idishlarda yoki usti qora qog'oz bilan o'ralgan shisha idishlarda saqlanadi.

5. Asetat buferini tayyorlash. 1 n sirka kislota (CH_3COOH) bilan 1 n natriy asetat (CN_3COONa) eritmaları 1:1 nisbatda aralashtiriladi. Shu nisbatda tayyorlangan aralashmadagi pH-4,7 ga teng bo'ladi.

6. Ganus eritmasi. 13 g yod kristali 100 ml sirka kislotada eritiladi. So'ngra uning ustiga 8,2 g brom qo'shib, hajmi sirka kislota bilan 1 l ga keltiriladi. Tayyorlangan eritma maxsus rangli idishda saqlanadi.

7. Gyubl eritmasi. Bu eritma ikki qismdan iborat bo'ladi: 1) 30 g simob (II)-xlorid (sulema ehtiyot bo'ling!), 500 ml 96% li etil spirtida eritiladi, 2) 25 g yod kristali 500 ml 96% li spirtida eritiladi. Tayyorlangan eritmalar ayrim-ayrim holda shisha idishlarda saqlanadi. Tajriba boshlashdan ikki kun oldin, eritmalar 1:1

nisbatda olinib, ularning ustiga solishtirma massasi 1, 19 bo'lgan xlorid kislotadan 25 ml qo'shiladi.

8. Diazoreaktiv. 0,9 g sulfanil kislotani 9 ml konsentrlangan xlorid kislotada eritiladi. Agar sulfanil kislota yaxshi erimasa, unga 2—3 tomchi distillangan suv qo'shib qizdiriladi. So'ngra aralashmaning 100 ml hajmi o'lchov kolbasiga solinadi va distillangan suv bilan o'lchov chizig'igacha yetkaziladi. Tayyorlangan eritma qora rangli shisha idishlarda yoki qora qog'oz bilan o'ralgan shisha idishda, sovutgichda saqlanadi.

Tajriba boshlashdan oldin bu tayyorlangan eritmada 1,5 ml olib, ilgari muzga (sovutgichga) qo'yilgan 50 ml li o'lchov kolbasiga solinadi. So'ngra uning ustiga 1,5 ml yangi tayyorlangan 5% li natriy nitrat eritmasidan qo'shib, 5 daqiqa muzga qo'yib sovutiladi. Kolbadagi aralashma yaxshilab chayqatiladi va uning ustiga 5% li natriy nitrat eritmasidan yana 6 ml qo'shib, hajmi distillangan suv bilan 50 ml ga yetkaziladi. Tayyorlangan eritmada bir sutka davomida foydalanish mumkin. Reaktiv sovutgichda saqlanadi.

9. Dixlorfenolindofenolning 0,001 n li eritmasi. Bu reaktivni tayyorlashda Serensen tomonidan tavsiya etilgan bufer eritmasidan foydalaniladi. 9,078 g KH_2PO_4 va 11,867 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tuzlaridan olib, ularni ayrim-ayrim holda 1 l distillangan suvda eritiladi. Tayyorlangan eritmalar ham alohida-alohida shisha idishlarda saqlanadi. So'ngra, 2,6-dixlor-fenolindofenoldan 0,25 g olib, 700 ml distillangan

suvda 1 l li o'lchov kolbasida eritiladi. Uning ustiga, tayyorlangan KH_2PO_4 va Na_2HPO_4 eritmalaridan

$$\frac{\text{KH}_2\text{PO}_4}{\text{Na}_2\text{HPO}_4} = \frac{2}{3}$$
 — nisbatda olib aralashtiriladi (bu aralashmaning rNi 6,9—7,0

atrofida bo'ladi) va o'lchov kolbasining chizig'igacha aralashma qo'shiladi. Eritma bir kundan keyin filtrlanadi. Filtrlash oldidan eritma yaxshilab aralashtiriladi. Shu usulda tayyorlangan 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi, to'yingan oksalat kislota ammoniyli tuzi ishtirokida Mor tuzining eritmasi bilan titrlash orqali, uning aniq titri topiladi. Titrlash uchun olingan har 10 ml 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasiga 5 ml oksalat kislotaning ammoniyli tuzidan qo'shiladi.

10. Ishqor eritmasi. 5,76% li natriy karbonat va 4% li natriy gidroksid eritmaları alohida-alohida tayyorlanadi. Ish boshlashdan oldin bu eritmalar 1:1 nisbatda aralashtiriladi.

11. Yod eritmasi. 20 g kaliy yodid 100 ml distillangan suvda eritiladi. So'ngra 1 g yod kristali tarozida tortib olinadi va tayyorlangan KJ eritmasida eritiladi. Shu usulda tayyorlangan yodning konsentrlangan eritmasidan ma'lum miqdorda olib, distillangan suv bilan 1:5 nisbatda suyultirilgach, tajribalarda ishlatiladi.

Yod eritmasi (kraxmalni aniqlash uchun). 7,5 g yod kristali 7,5 g kaliy yodid bilan chinni hovonchada 5—10 ml distillangan suv ishtirokida yanchiladi. So'ngra aralashma 250 ml hajmdagi o'lchov kolbasiga o'tkaziladi. Chinni hovoncha 3—4 marta distillangan suv bilan yuvilib, kolbaga solinadi, aralashma hajmi esa distillangan suv bilan 250 ml ga keltiriladi va eritma filtrlanadi.

12. Kumush nitratning ammiakdagi eritmasi. 5 g kumush nitrat tuzidan

olib, uni 50 ml distillangan suvda eritiladi. Agar eritma ustiga konsentrlangan ammiakdan bir necha tomchi tomizilsa, cho'kma tushadi. Cho'kma ustiga ammiak tomizishni davom ettirsak, u qayta eriydi. So'ngra, eritma hajmi distillangan suv bilan 100 ml ga keltiriladi.

13. Millon reaktivi. 40 g simob 57 ml konsentrlangan nitrat kislotada, avval xona haroratida, keyin esa suv hammomida qizdirish bilan eritiladi. Eritma ikki barobar hajmdagi distillangan suv bilan suyultirilib, ma'lum vaqt tinch qoldiriladi. Hosil bo'lgan cho'kmali suyuqlikning ustki qismi cho'kmadan ajratib olinadi.

14. Mor tuzining 0,01 n eritmasi. 3,92 g mor tuzi $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ olib, uni 1 l hajmdagi 0,02 n sulfat kislotada eritiladi.

15. MS-reaktivi. 0,1 g karbamid (mochevina)ni (9 ml) 96% li etil spirtida eritib, uning ustiga 1 ml xlorid kislotaning 1 n eritmasidan qo'shiladi.

16. Natriy gidroksidning spirtidagi 0,25 n eritmasi. 5 n natriy gidroksid eritmasidan 25 ml olib, 350 ml 96% li etil spirtga aralashtiriladi va uning hajmi distillangan suv bilan 500 ml ga keltirilib, so'ngra eritma filtrlanadi.

17. Natriy xloridning spirtidagi eritmasi. 20% li natriy xlorid eritmasidan 50 ml olib, 350 ml 96% li etil spirt bilan aralashtiriladi. So'ngra, uning hajmi distillangan suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

18. α -naftolning 0,2 li eritmasi. 0,4 g α -naftol olib, uni 50 ml etil spirtida eritiladi. Tajriba qilish oldidan undan 5 ml olib, 20 ml distillangan suv bilan suyultiriladi.

19. Nilander reaktivi. 2 g vismut gidroksinitrat — $\text{BiOH}(\text{NO}_3)_2$ va 4 g segnet tuzidan olib, 100 ml hajmdagi natriy gidroksidning 10% li eritmasida qizdirish yo'li bilan eritilib, keyin filtrlanadi.

20. Oqsil eritmasi. 1—2 ta tuxum oqsili olib, 1 l distillangan suvda eritiladi

21. Oqsilning tuzli eritmasi. Oqsillarni dializ qilishda va ularni cho'ktirishda oqsilning osh tuzidagi eritmasi ishlatiladi. Buning uchun 3 ta tuxum oqsili 700 ml distillangan suvda eritilib, uning ustiga 300 ml natriy xloridning to'yingan eritmasi solinadi. Eritma filtrlanadi.

22. Orsinli reaktiv. 1 g orsin, 500 ml 30% li xlorid kislotada eritilib, uning ustiga 10% li temir (III)-xlorid eritmasidan 4—5 ml solinadi. Tayyorlangan eritma og'zi berkitilgan qora rangli shisha idishlarda saqlanadi.

23. OTS reaktivi. 0,4 g salisilat kislota 96% li etil spirtning 10 ml da eritilib, uning ustiga 0,5 ml orto-toluidin qo'shiladi.

24. Rodanbromid reaktivi. Kolbaga kaliy rodanid (KCNS) yoki ammoniy rodanid (NH_4CNS) ning 0,1 n eritmasidan 10 ml olib, uning ustiga 1 g KVG kristalidan va 17% li xlorid kislotadan 1 ml solinadi. So'ngra aralashma ustiga 2 ml brom quyiladi.

25. Selivanov reaktivi. 0,05 g rezorsin olib, 20% li xlorid kislotaning 10 ml da eritiladi.

26. So'lak eritmasi. Suyultirilgan so'lak eritmasi tayyorlash uchun eng avval, og'iz bo'shlig'i distillangan suv bilan yaxshilab chayib tashlanadi. Og'iz bo'shlig'i ovqat qoldiqlaridan tozalangach, og'izga distillangan suv olib, 1—2 daqika tutib turiladi. Keyin esa stakanga solinadi. So'ngra uning hajmi distillangan suv bilan 10 ml ga keltiriladi. So'lak aralashmasi filtrlanadi. Filtrat, amilaza

fermenti manbai sifatida ishlatiladi.

27. Temir (III)-sulfat eritmasi. Temir (III)-sulfat $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ dan 50 g olib, 200 g (108,7 ml) konsentrlangan sulfat kislotada eritiladi. So'ngra uning hajmi distillangan suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

28. Temir (III)-sulfatning ammoniyli tuzi eritmasi. Bu eritmani tayyorlash uchun $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dan 100 g olib, 200 g konsentrlangan sulfat kislotada eritiladi va uning hajmi distillangan suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

29. Tirozin eritmasi. Tirozindan 0,05 g olib, 0,1% li soda eritmasining 50 ml da eritiladi. Eritma suv hammomida qizdirilsa, erish tezlashadi.

30. Feling suyuqligi. Bu ikki qism eritmada iborat bo'ladi: a) 200 g segnet tuzi 500 ml distillangan suvda eritilib, so'ngra uning ustiga 150 g natriy gidroksid qo'shib, eritma hajmi distillangan suv bilan 1 l ga yetkaziladi; b) 40 g mis sulfat tuzi 1 l distillangan suvda eritiladi. Tajribani boshlashdan oldin «a» va «b» eritmalaridan teng hajmda olib, aralashtiriladi. Shu tartibda tayyorlangan eritma Feling suyuqligi vazifasini bajaradi.

31. Folin reaktivi. 20 g natriy valformat ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) va 5 g natriy molibdat olib, 160 ml distillangan suvda eritiladi va 300—500 ml hajmdagi kolbaga solinadi. Aralashmaga 80% li fosfor kislotadan 10 ml va solishtirma massasi 1,19 g sm^3 bo'lgan xlorid kislotadan 20 ml qo'shib, kolba og'zi sovutgich o'rnatilgan tiqin bilan berkitiladi va eritma 10 soat davomida qaynatiladi. Mo'ljaldaqi vaqt tugashi bilan kolbaga 30 g litiy sulfat tuzidan, 10 ml distillangan suv va 1—2 tomchi brodo suvidan solinadi. Aralashmadagi ortiqcha brom haydaladi. Buning uchun kolba og'ziga sovutgich qo'ymasdan aralashma 15 daqiqa qaynatiladi. So'ngra eritmaning hajmi distillangan suv bilan 200 ml ga yetkazilib filtrlanadi. Eritma tiniq sariq rangda bo'ladi. Shu usulda tayyorlangan eritma maxsus qora shisha idishlarda yoki usti qora qog'oz bilan o'ralgan idishlarda saqlanadi. Ishlatish oldidan eritma distillangan suv bilan 1:1 nisbatda aralashtiriladi.

32. Fruktofuranozidaza shirasi

50 g xamirturush olib, chinni hovonchada yaxshilab yanchiladi va 1—2 soat davomida 200—250 ml distillangan suvda bo'ktirilib, keyin filtrlanadi. Filtrlash jarayoni juda ham sekin ketadi. Shu sababli filtrlashni kechasiga qoldirish ham mumkin. Filtrat ferment sifatida ishlatiladi.

33. Biuret reaktivini tayyorlash

250 ml kolbaga 0,375 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ va 1,5 g segnet tuzi solib, 150 ml suvda eritiladi. To'xtovsiz aralashtirib turgan holda 75 ml 10 % natriy gidroksid qo'shiladi va hajmi 250 ml ga etkaziladi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR:

1. Igamnazarov R.P., Abdullaeva M.M. Biokimyodan laboratoriya mashg'ulotlari. Toshkent. "Universitet" 2015 y.
2. SHeraliev A., S. Irgasheva Biokimyo. Namangan. "Universitet" 2008 y.
3. Қосимов А. ва бошқалар. Биохимия. Тошкент. «Ўқитувчи», 1988. й.
4. Қосимов А., Қўчқоров Қ., Муборакова Д. Биохимиядан амалий амалий машғулотлар. «Ўқитувчи», 1987 й.
5. Зикирëев А. Биохимиядан амалий машғулотлар. Тошкент. "Меҳнат" 1985й.

MUNDARIJA

SO`Z BOSHI.....	3
OQSILLAR.....	4
Oqsillarga xos rektsiyalar.....	7
1- ish Biuret reaksiyasi.....	7
2-ish Ningdrin reaksiyasi.....	8
3-ish Ksantoprotein reaksiyasi.....	9
4-ish Million reaksiyasi.....	9
5-ish Ademkevich reaksiyasi.....	10
6-ish Fol reaksiyasi.....	11
Oqsillarni cho`ktirish reaksiyalari.....	12
7-ish Oqsillarni tuzlar yordamida cho`ktirish.....	12
8-ish Oqsillarni spirt yordamida cho`ktirish.....	13
9-ish Oqsillarni og`ir metallar yordamida cho`ktirish.....	13
10-ish Oqsillarni mineral kislotalar bilan cho`ktirish.....	14
11-ish Oqsillarni organik kislotalar bilan cho`ktirish.....	14
12-ish Oqsillarni alkaloidlar bilan cho`ktirish.....	15
13-ish Oqsillarni yoqori harorat ta`sirida cho`ktirish.....	15
Oqsillarni dializ qilish va izoelektrik nuqtasini aniqlash.....	16
14-ish Oqsillarni dializ qilish.....	16
15-ish Oqsillarni izoelektrik nuqtasini aniqlash.....	17
Oqsillarni gidroliz qilish.....	19
16-Oddiy oqsillarni gidroliz qilish.....	19
Oqsil gidrolizati – aminokislotalar aralashmasini xromatografiya usuli bilan ajratish.....	21
17-ish Aminokislotalarni qog`oz xromatografiya usuli bilan ajratish.....	21
Oqsillarni miqdoriy jihatdan aniqlash usullari.....	24
18-ish Oqsil miqdorini Biuret reaksiysi yordamida aniqlash.....	24
19- ish Oqsil miqdorini louri usuli bilan aniqlash.....	24
Oqsillarni fizik-kimyoviy xossalari.....	25
20- ish Oqsillarni eruvchanligini aniqlash.....	27
Murakkab oqsillar.....	28
Xromoproteidlarga xos reaksiyalar.....	29

21-ish Oksigemoglobin kristalini ajratib olish.....	29
22-ish Gemoglobindagi gemin gruppani benzidin va gvyakol reaksiyalari yordamida aniqlash.....	29
Fosfoproteinlar.....	30
23-ish Sutdan kazein ajratib olish.....	31
FERMENTLAR	32
Fermentlarga xos reaksiyalar.....	35
24-ish Kraxmalning fermentativ gidrolizi.....	35
25-ish Fermentlarni yoqori harorat ta'sirida inaktivasiyaga uchrashi.....	36
26-ish So'lakdagi amilaza fermentining faolligiga pH ning ta'siri.....	37
27-ish So'lak amilazasi faolligiga aktivatorlar va ingibitorning ta'siri.....	38
28-ish Katalaza fermentining faolligini aniqlash.....	39
UGLEVODLAR	40
29-ish Monosaxaridlarga xos sifat reaksiyalari.....	43
30-ish Monosaxaridlarni qaytaruvchanlik xossalari.....	44
Disaxaridlar.....	46
31-ish Saxarozaning gidrolizi.....	47
32-ish Kraxmalni amilaza ta'sirida gidroliz qilish.....	48
33-ish Kraxmalning kislota ta'sirida gidrolizlanishi.....	49
LIPIDLAR	50
Yog'larning fizik-kimyoviy xossalari	52
34-ish Yog'larning akrolein reaksiyasi.....	52
35-ish Yog'larning rangli reaksiyalari.....	52
36-ish Yog'larning sovunlanish reaksiyasi.....	52
37-ish Yog'larning to'yinganlik darajasini aniqlash.....	54
38-ish Yog'larning kislota sonini aniqlash.....	55
Sterinlar steridlar.....	56
39-ish Xolestrinni ajratib olish uning sifat reaksiyalari.....	56
VITAMINLAR	57
Yog'da va organik erituvchilarda eriydigan vitaminlar.....	58
40-ish A vitamanga xos sifat reaksiyalari.....	58
41-ish D vitamanga xos sifat reaksiyalari.....	58
42-ish E vitamanga xos sifat reaksiyalari	59
43-ish K vitamanga xos sifat reaksiyalari.....	60

Suvda eriydigan vitaminlar.....	60
44-ish B ₁ vitamininga xos sifat reaksiyalari.....	60
45-ish B ₂ vitamininga xos sifat reaksiyalari.....	61
46-ish PP A vitamininga xos sifat reaksiyalari.....	62
47-ish B ₆ vitamininga xos sifat reaksiyalari.....	63
48-ish S A vitamininga xos sifat reaksiyalari.....	64
GARMONLAR	66
Gormonlarga xos reaksiyalar.....	67
49-ish Oshqozon osti bezining garmoni-insulinga xos reaksiya.....	67
50-ish Oshqozon osti bezining garmoni-tiroksinga xos reaksiya.....	68
ILOVA	69
Adabiyotlar.....	73

Abdikulov Zafar Umirboevich
Botirova Laziza Ahmadjanovna

Biokimyo fanidan amaliy va laboratoriy mashg'uloti

O'quv-uslubiy qo'llanma

Muharrir Y.Karimov

Kompyuterda terilgan nusxasi asosida bosildi.
Bosishga ruxsat berildi 24.04.2017yil. Qog'oz bichimi 60x84 1/16.
Garniturası –Times New Roman, hajmi 3.7 b.t. Adadi 100 nusxa. "Universitet"
bosmoxonasida chop etildi
Manzil: 120100, Guliston sh. 4-mavze, Guliston davlat universiteti..
Tel.: (0367)2254042

