

T.O. QARSHIYEV

**BIOKIMYO LABORATORIYA
MASHG'ULOTLARI**



**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY TA'LIM, FAN VA
INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI
TOSHKENT KIMYO - TEXNOLOGIYA INSTITUTI**

BIOKIMYO

LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI

*O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar
vazirligi, Toshkent kimyo - texnologiya instituti tomonidan oliy o'quv
yurti talabalari uchun o'quv qo'llanma sifatida tavsiya etilgan*

Toshkent-2025

UO`K: 577(075.8)
KBK: 28.072ya73
Q 45

T.O.Qarshiyev

**Biokimyo laboratoriya mashg'ulotlari: o'quv qo'llanma/ T.O.Qarshiyev,-Toshkent:
"Afzalzoda books", 2025.-172 bet**

ISBN 978-9910-8071-2-1

Mazkur o'quv qo'llanma oiliy ta'lim muassasalarining 5140100 –Biologiya va 5320500 - Biotexnologiya yo'nalishlarida tahsil olayotgan talabalari hamda texnologik institutlar va universitetlarning bakalavrlari uchun mo'ljallangan, Bilim sohasi 700 000 - muhandislik, ishlov berish va qurilish sohalari; Ta'lim sohasi 720 000 - Ishlab chiqarish va ishlov berish; Ta'lim yo'nalishlari:- 60710200 – biotexnologiya (oziq-ovqat, oziqa, kimyoviy mahsulotlar va qishloq xo'jaligi); 60720100 - oziq-ovqat texnologiyasi (mahsulot turlari bo'yicha); 60720200 - yog'lar, efir moylari va parfyumeriya-kosmetika mahsulotlari texnologiyasi; 60720400 - konservalash texnologiyasi; 60720500 - funksional ovqatlanish va bolalar mahsulotlari texnologiyasi; 60720300 - vinochilik texnologiyasi, bijg'ish mahsulotlari va alkogolsiz ichimliklar texnologiyasi; 61010200 - aholi va turistlarning ovqatlanishini tashkil etish xizmati yo'nalishlarida tahsil olayotgan talabalari uchun mo'ljallangan.

Biokimyo fanini amaliy jihatdan o'zlashtirishda biologik materiallar tarkibidagi oqsillar, uglevodlar, lipidlar, nukleyin kislotalar, fermentlar, vitaminlar hamda sifat va miqdoriy tahlil qilishda usullar yoritib berilgan.

Har bir bo'limda talaba va foydalanuvchiga qisqa nazariy bilimlar ham yoritib berilgan.

Taqrizchilar:

I.J. Ishimov - kimyo fanlari nomzodi, katta ilmiy xodim, O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi Bioorganik kimyo instituti "Oqsillar va peptidlar kimyosi" laboratoriyasi katta ilmiy xodimi

X.T. Xasanov - biologiya fanlari nomzodi, dotsent, Toshkent kimyo texnologiya instituti, "Enologiya va bijg'ish mahsulotlari texnologiyasi kafedrası" dotsenti

ISBN 978-9910-8071-2-1

© Qarshiyev T.O.-2025
© "Afzalzoda books",2025

SO‘Z BOSHI

«Biokimyodan laboratoriya mashg‘ulotlari» deb nomlangan ushbu o‘quv qo‘llanma O‘zbekiston respublikasi davlat ta‘lim standartining 5140100 - Biologiya va 5320500 - Biotexnologiya yo‘nalishlarida tahsil olayotgan talabalari, hamda texnologik institutlar va universitetlarning, Bilim sohasi 700 000 - muhandislik, ishlov berish va qurilish sohalari; Ta‘lim sohasi 720 000 - Ishlab chiqarish va ishlov berish; Ta‘lim yo‘nalishlari;- 60710200 – biotexnologiya (oziq-ovqat, oziqa, kimyoviy mahsulotlar va qishloq xo‘jaligi); 60720100 - oziq-ovqat texnologiyasi (mahsulot turlari bo‘yicha); 60720200 - yog‘lar, efir moylari va parfyumeriya-kosmetika mahsulotlari texnologiyasi; 60720400 - konservalash texnologiyasi; 60720500 - funktsional ovqatlanish va bolalar mahsulotlari texnologiyasi; 60720300 - vinochilik texnologiyasi, bijg‘ish mahsulotlari va alkogolsiz ichimliklar texnologiyasi; 61010200 - aholi va turistlarning ovqatlanishini tashkil etish servisi yo‘nalishlarida tahsil olayotgan talabalari uchun mo‘ljallangan. Biokimyo fanini amaliy jihatdan o‘zlashtirishda biologik materiallar tarkibidagi oqsillar, uglevodlar, lipidlar, nukleyin kislotalr, fermentlar, vitaminlar hamda sifat va miqdoriy tahlil qilishda usullar yoritib berilgan. Har bir bo‘limda talaba va foydalanuvchiga qisqa nazariy bilimlar ham yoritib berilgan.

Mazkur qo‘llanma institutlar va universitetlarning biologiya, biotexnologiya, hamda texnologik institutlar va universitetlarning bakalavrlari uchun mo‘ljallangan.

Qo‘llanmada bo‘ljak bakalavrlarning bilim, malaka va ko‘nikmalarini shakillantirish hisobga olingan.

LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI JARAYONIDAGI TARTIB - QOIDALAR. ERITMALARNI TAYORLASH

Biokimyodan laboratoriya mashg'ulotlarini olib borishda rioya qilinishi zarur bo'lgan tartib – qoidalarni talaba to'liq o'zlashtirmasa, unda ayrim havfli holatlarning yuzaga chiqishi aniq. O'z navbatida dars jarayonida talaba biror bir ehtiyotsizlik oqibatida nojo'ya xarakat qilish qo'yganda, ya'ni masalan: teri kuyishi, zaharlanish, yallig'lanish yuz berganda, unga birinchi yordam ko'rsatish qoidalari bilan ham tanish bo'lish talab qilinadi.

Shu sababli talabalarni gigiyena qoidalari, laboratoriyada ishlash va texnika-xavfsizligi qoidalari, ko'ngilsiz holatlar yuzaga kelganda birinchi yordam ko'rsatish tartib-qoidalari bilan tanishtirish muhim ahamiyatga ega bo'ladi. Shuningdek biokimyoviy laboratoriya ishlari va ularni o'tkazish uchun kerakli jihozlar hamda ishlatiladigan xilma xil konsentrasiyadagi kerakli reaktivlar bilan ishlashga tegishli ko'nikmalarga ega bo'lishni talab qilganligi uchun birinchi darsning mavzusi aynan shu muammolarning yechimiga qaratiladi.

Darsning maqsadi. Ushbu dars davomida talabalar laboratoriya mashg'ulotlarini bajarishda gigiyenik, laboratoriya, texnika xafsizligi qoidalari bilan tanishtirish hamda umumiy tartib-intizomga rioya qilish, laboratoriya jihozlari bilan ishlash, shuningdek reaksiyalarni o'tkazish uchun zarur bo'lgan kerakli reaktivlarni tayyorlash ko'nikmalarini shakllantirish hisobga olingan.

GIGIYENA QOIDALARI

1. Laboratoriya ishlarini bajarishda doimo oq xalatda bo'lishni ta'minlanishi.
2. Agar biologik materiallar (xar xil to'qimalar na'munalari, amilaza ferment eritmasi, qon, siydik, va axlatlar)ni biokimyoviy tahlil ishlarini olib borishda qo'lni shikastlanishini oldini olish maqsadida ishni rezina qo'lqoplar yordamida bajarish tavsiya etiladi va mashg'ulotdan so'ng qo'lqoplar oldin fiziologik eritma so'ng 4% li vodorod peroksid eritmasi va sovun bilan yuviladi.

3. Singan shisha idishlar, pipetkalar, probirkalardan foydalanish man etiladi.
4. Laboratoriya xonasi va talaba o'z ish stolini tartibli saqlashi lozim, shuningdek stol ustida ish uchun keraksiz buyumlarning bo'lmasligiga erishish kerak.
5. Biologik materiallar va kimyoviy reaktivlar bilan ishlagandan so'ng ishning nihoyasida albatta qo'llarni sovun bilan yuvish shart.
6. Laboratoriya ishi bajariladigan xonalarda ovqatlanish, pardozu-andoz bilan mashg'ul bo'lish va mavzuga bog'liq bo'lmagan boshqa mashg'ulotlar bilan shug'ullanish man etiladi.
7. Reaktivlarni va tekshirish uchun mo'ljallangan materiallar saqlanadigan muzlatgichlarda oziq – ovqat mahsulotlarini vaqtincha va uzoq muddatlarda saqlash qat'iy taqiqlanadi.
8. Qon olish vaqtida faqatgina steril ignadan yoki bir martalik skorifikatorlardan foydalanish kerak.
9. Teriga tushib qolgan biologik material, qon, siydik namunalari qoldiqlari tushgan joy 70% tibbiyot spirti yoki dezinfikatsiyalovchi boshqa eritma surtib tozalanadi.

LABORATORIYADA ISHLASH QOIDALARI

1. Tajriba o'kazish oldidan aniq bajariladigan ishni ushbu qo'llanmadan e'tibor bilan o'qib tushunib olish va reaktivlarning xossalari bilan tanishib chiqish zarur.
2. Laboratoriya mashg'ulotlari uchun tutilgan daftarda sana, bajariladigan laboratoriya ishi mavzusi, ishning to'liq mazmuni, formulalar, tenglamalar, jadvallar, rasmlar, sxemalar, xulosalar yozib borilishi lozim.
3. Talabani ish daftarida dars uchun kerakli jihozlar va kimyoviy reaktivlar, ularni tayyorlashga oid yo'l-yo'riqlar o'z aksini topishi lozim.
4. Laboratoriya ishini bajarishda uni diqqat bilan ushbu qo'llanmada keltirilgan tartibdagi ketma - ketlikda, shoshmasdan, xatoga yo'l qo'ymasdan amalga oshirish talab etiladi.

5. Kimyoviy reaktivlar solingan idishlarning qopqoqlari va tiqinlarini stol ustiga reaktivlar tegmagan tomoni bilan qo'yish va ulardan foydalangandan so'ng idishlarning o'z-o'ziga adashtirmasdan yopib qo'yish lozim.
6. Laboratoriya ishlarini bajarish vaqtida tahlil qilinuvchi namunalarni bir joyda saqlash va hamma uchun umumiy bo'lgan texnik jixozlar va o'lchov tarozilarini joyidan siljitmaslik lozim.
7. Laboratoriyada noma'lum tavsifli bo'lgan reaktivlarni ta'mini tatib ko'rish, teriga tomizib sinash, xonada chekish man etiladi.
8. Kuchli kislotalar, ishqor eritmalari va zaharli moddalar bilan mo'rili shkaf ostida ishlash, ularni o'lchab olishda avtomatlashtirilgan pipetkalaridan foydalanish, qolgan xollarda esa, bu ishni o'lchov silindrlari yordamida o'lchab olib bajarish. Brom, vodorod xlorid va boshqa zaharli moddalar solingan idishini og'zini mo'rili shkaf ostida chetga qaratib ochish kerak.
9. Ishlatilgan kislotalar, ishqorlar, xromli aralashmalar, oltingugurtli aralashmalar birikmalari va boshqalarni alohida belgilangan idishlarga to'kiladi.
10. Konsentrlangan kislotalarni suyultirishda suvni kislotaga emas, balki kislotani suvga asta – sekinlik bilan aralashtirib turgan holda qo'shib borish talab qilinadi.
11. Mashg'ulot davrida ish rejasida ko'rsatilmagan tajribalarni qo'shimcha ravishda bajarish man etiladi.
12. Laboratoriya mashg'ulotlarida rejalashtirilgan ishlar bajarilgandan keyin barcha ishlarning natijalari rasmiylashtiriladi va foydalanilgan asbob-uskunalar, idishlar va boshqa jihozlar tozalab yuvilgandan so'ng navbatchi talabalar tomonidan yig'ib olinib kafedraning laborantiga olib borib topshiriladi.

YONG'IN VA TEXNIKA XAVFSIZLIK QOIDALARI

1. Laboratoriyada ishlayotgan har bir kishi yong'in va texnika xavfsizlik qoidalariga amal qilishi lozim.
2. Turli gaz gorelklar va spirt lampalardan to'g'ri foydalanishni bilishi kerak.
3. Issiq idish va asboblarni hech qachon stolga to'g'ridan-to'g'ri qo'yish yaramaydi, buning uchun maxsus taglik (azbest qog'oz, oyoqli metal panjara) bo'lishi kerak.
4. Tez alanganuvchi moddalar solingan idishlarni ochiq alangada qizdirish va uning yaqinida saqlash mumkin emas.
5. Agar tez alanganuvchi moddalar yonib ketsa darhol qizdirish manbayini o'chirish va qum sepish yoki maxsus o't o'chirish vositalaridan foydalanish kerak.
6. Ishlayotgan kishining ust kiyimi yonib ketsa darhol qalin mato yopib havoning kirishini to'xtatish lozim.
7. Elektr asbob – uskunalari tokga ulanganda, nazorat doim bo'lishi lozim.
8. Laboratoriya xonalarida har bir elektor ulanish nuqtalari (rezetkalar) izolatsiyalangan va kuchlanish volt kattaligi ko'rsatilgan bo'lishi kerak.
9. Ish tugagandan so'ng barcha asbob – uskunalarini tozalab, reaktivlarni joy – joyiga qo'yish, elektr ulagichlarini o'chirib, gaz va suv jo'mraklarini berkitib chiqish va ish joyini tartibga solib, laborantga topshirish talab etiladi.

BIRINCHI YORDAM KO'RSATISH

1. Teriga kislotalar to'kilsa darhol o'sha joy suv bilan 3–4 marta yuviladi, so'ngra kaliy permanganat yoki natriy bikarbonat tuzining 3% li eritmasiga botirilgan paxta qo'yiladi.
2. Teriga ishqor to'kilganda avval oqar suv bilan toki silliqligi ketguniga qadar yuvish kerak. So'ngra kaliy permanganatning 3% li, sirka yoki bor kislotaning 2% li eritmasi bilan yuviladi.

3. Ko'zga kislota yoki ishqor sachrasa, ko'zni yaxshilab toza suv bilan yuvish so'ngra vrachga murojoat etish kerak.
4. Alanga yoki issiq ta'sirida kuygan joy kaliy permanganatning 3% li eritmasi, taninning spirdagi eritmasi bilan yuvilib, so'ngra streptasid emulsiyasi surtib bog'lab qo'yish kerak.
5. Xrom, brom, vodorod sulfid, karbon (II) oksidi va simob bilan zaharlanganda ochiq havoga chiqarib, vrachga murojoat qilish lozim.

ERITMALARNI TAYYORLASH

Tarkibida ikki yoki bir nechta moddadan iborat bo'lgan gomogen sistema (tizim)ga eritma deyiladi. Eritmalar erituvchi modda (dispersion muhit) va eruvchi modda (dispersion faza) lardan tashkil topgan bo'ladi. Demak dispersion muhitda dispersion faza zarrachalarining tekis tarqalishi natijasida eritmalar hosil bo'ladi. Dispersion muhit eritmaning tarkibida ko'p miqdorda bo'ladi, masalan, suyuq eritmalar uchun suv va har xil organik moddalar erituvchi hisoblanadi. Dispersion faza esa, aralashma tarkibida kam miqdorda bo'lib eruvchi modda (tuzlar, ishqorlar, kislotalar) hisoblanadi. Eritmalarda dispersion muhit ham, dispersion faza ham asosan uch xil agregat holatlarda, yani: qattiq, suyuq va gazsimon bo'lishi mumkin. Shunday qilib, dispersion muhit va dispersion fazalarning holatiga qarab eritmalar quyidagi xillarda bo'lish mumkin:

1. Gaz: Gaz;
2. Gaz: Suyuqlik;
3. Gaz: Qattiq modda;
4. Suyuqlik: Gaz;
5. Suyuqlik: Suyuqlik;
6. Suyuqlik: Qattiq modda;
7. Qattiq modda: Gaz;
8. Qattiq modda: Suyuqlik;
9. Qattiq modda: Qattiq modda.

Qattiq eritmalarga (oltin va mis, chuyan), suyuq eritmalarga (suv va spirt) gazsimon eritmalarga (havo) kirishi mumkin. Eruvchi moddaning

erituvchi moddada ma'lum hajm yoki og'irlik birligida erigan miqdoriy ko'rsatkich kattaligiga eritmaning konsentrasiyasi deyiladi. Eritma tavsifini ifodalashning quyidagi noaniq konsentrasiyali turlari mavjud:

- konsentrlangan;
- to'yingan;
- to'yinmagan;
- suyultirilgan;
- o'ta suyultirilgan.

Eritmaning biokimyoviy tahlillarda foydalaniladigan aniq konsentrasiyali tavsifli turlari jumlasiga:

- foiz (%) li konsentratsiya;
- molyar (mol/l) konsentratsiya;
- normal (mol/ekv\l) konsentratsiya;
- titr (t.g/ml) konsentratsiya li xillari kiradi.

Laboratoriya darslarida asosan foizli, molyar va normal eritmalardan keng foydalaniladi.

Foizli eritma tayyorlash. Har qanday erituvchi moddaning 100 ml hajmida erigan modda miqdoriga foiz(%)li eritma deyiladi. Masalan: osh tuzining 0,9% li eritmasi (yani fiziologik eritma) ni tayyorlash uchun 0,9g osh tuzini tarozida tortib olib 100 ml. li o'lchov silindriga solamiz va o'lchov belgisiga yetguncha distillangan suv qo'shamiz. Suyuq holatdagi konsentrlangan moddalardan foizli eritma tayyorlashda ularning solishtirma og'irliklarini inobatga olish talab qilinadi. Masalan, sulfat kislotani uning konsentrlangan eritmasidan 10 % li eritmasini tayyorlashda bu eritmaning solishtirma og'irligi 1,84 ga tengligini e'tiborga olib, 100 ml li o'lchov kolbasiga qancha ml konsentrlangan sulfat kislota kerakligini $10:1,84 = 5,43$ yo'li bilan aniqlanadi. Demak, 100 ml li hajmda 5,43 ml konsentrlangan sulfat kislota distillangan suv qo'shib aralash tirganda, uning 10 % li eritmasi hosil bo'ladi.

Molyar eritma tayyorlash. Erituvchi moddaning bir litr hajmida molyar massa hisobiga erigan moddaning miqdoriy ko'rsatkichiga molyar (M) eritma deyiladi.

Masalan; osh tuzining (NaCl) 1 molyar eritmasini tayyorlashda uning molyar massasi hisoblab topiladi, ya'ni: $\text{Na}=23$, $\text{Cl}=35,5$; demak: NaCl molyar massasi $=23\text{g}+35,5\text{g}= 58,5\text{g}$ ga teng.

Shunday qilib, osh tuzini 1 molyar eritmasini tayyorlash uchun bir litrli o'lchov idishiga 58,5 g osh tuzi olinib, uning ustiga o'lchov belgisigacha bo'lgan miqdorda distillangan suv qo'shiladi. NaCl ning 2M eritmasini tayyorlash uchun esa 117 g osh tuzi 1 l suvda eritiladi.

Sulfat kislota (H_2SO_4) ning 1M eritmasini tayyorlash uchun yuqorida keltirilgan tartibda ish yuritib H_2SO_4 , ya'ni $\text{H}=1\times 2=2$; $\text{S}=32\times 1=32$; $\text{O}=16\times 4=64$, demak sulfat kislotaning molyar massasi: $2+32+64=98$ g ga teng. Demak, sulfat kislotaning 1 molyar eritmasini tayyorlash uchun $98:1,84=53,3$ ml kons. sulfat kislota olinib 1000 ml li hajmi qolgan qismini distillangan suv tashkil qiladi.

Normal eritma tayyorlash. Erituvchining 1 hajmida erigan moddaning gramm ekvivalenti hisobiga eritilgan miqdoriga normal (N) eritma deyiladi. Masalan, osh tuzining 1 N eritmasini tayyorlash uchun, uning molyar massasi hisoblanadi, bu 58,5 g ga teng, uning ekvivalenti natriyning valentligi hisobiga 1 ga teng. Endi $58,5:1=58,5$ kelib chiqadi demak, Na ning valentligi 1 bo'lganligi sababli molyar massa o'zgarmaydi va shuning uchun 58,5 g osh tuzi 1000 ml hajmda distillangan suv qo'shilsa osh tuzining 1N eritmasi tayyor bo'ladi.

Agar $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ ning 1N eritmasini tayyorlash kerak bo'lsa, uning molyar massasi hisoblandi va Cu ning valentligiga bo'linadi va suvda eritiladi. $\text{Cu}=64$, $\text{N}=14\cdot 2=28$, $\text{O}=16\cdot 6=96$, jami $64+28+96=188$ Cu ning valentligi 2 ga teng bo'lganligi uchun $188:2=94$ kelib chiqadi. Demak, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ tuzining 1N eritmasini tayyorlash uchun 94 g tuz olib o'lchov kolbasiga ko'chirib, distillangan suv yordamida hajmi 1000 ml ga yetkaziladi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

1. Laboratoriyada ishlash qoidalariga nimalar kiradi?
2. Laboratoriyada qanday gigiyena qoidalariga rioya qilish lozim?
3. Yong'in va texnika xavfsizligi qoidalarini bayon qiling?
4. Eritmalar nima?
5. Eritmalarning noaniq tavsifli konsentrsiyalariga nimalar kiradi?
6. Aniq konsentrsiya tavsifiga ega bo'lgan eritmalarga qaysi xil eritmalar kiradi?
5. Foizli eritma qanday tayyorlanadi?
6. Molyar va normal eritmalarchi?
7. 0,9 % osh tuzi eritmasi qanday tayyorlanadi?
8. Solishtirma og'irligi 1,84 bo'lgan konsentrlangan sulfat kislotadan 0,05 M eritmasini qanday tayyorlanadi?
9. Shu kislotaning 0,05 N eritmasi qanday tayyorlanadi?

OQSILLAR BIOKIMYOSI

Oqsillar – yuqori molekular, azot tutuvchi organik moddalar bo'lib, ularning tarkibi aminokislotalardan tashkil topgan makromolekulalardir. Darhaqiqat, bu biomakromolekulalar hujayraning tuzilmasi va funksiyalarida birlamchi rolni o'ynaydi, chunki ular orqali genetik axborot ko'chirilishini ta'minlaydi. Hayvonlar organizmida ularning quruq massasini 40-50 % ni tashkil qiladi, o'simliklarda esa biroz kamroq bo'ladi (2,0-35 %). Hisoblarga qaraganda, tabiatda 10^{10} - 10^{12} xil xilma-xil oqsillar uchraydi. Oqsillar organik birikmalarning boshqa xillariga xos bo'lmagan qator xususiyatlarga ega bo'ladi. Oqsil tanachalarining bu xususiyatlari ularning hayotiy jarayonlari boshqarishdagi ishtiroki bilan bog'liq. Bu xususiyatlar jumlasiga:

- tuzilmalarning xilma xilligi va unga bog'liqlikda turga xos maxsuslikka egaligi;
- fizik va kimyoviy o'zgarishlarining xilma xilligini cheksizligi;
- molekulararo ta'sirlanish xususiyatlarining cheksizligi;
- molekula konfiguratsiyasining o'zgarishiga javob berish va ta'sirlanishning nihoyasiga yetishi bilan dastlabki holatni tiklash xususiyatini mavjudligi;
- boshqa kimyoviy birikmalar bilan birikib kompleks va boshqa xil tuzilmalarni hosil qilish xossasiga egaligi;
- biokatalitik va boshqa sifatli xossalarga egaligi kabilar kiradi.
- Oqsillarning elementar tarkibi:
 - uglerod 50,0-55,0%;
 - vodorod 6,5-7,3%;
 - azot 15,0-18,0%; - kislorod 21,0-24,0%; - oltingugurt 0,0-2,54%;
 - kul 0,0-0,5% dan tashkil topgan.

Gidrolizlanganda faqat aminokislota qoldiqlarini hosil qiluvchi makromolekulalarga *oddiy oqsillar* deyiladi. Ularga: protaminlar, gistonlar, albuminlar, globulinlar, prolaminalar, glyutyelinlar, proteinoidlar, tabiiy peptidlar kiradi. Bu oqsillarning qisqacha tavsifi quyidagicha:

- **Albuminlar** - o'simliklar urug'lari, tuxum albumini, qon zardobi albumini, sut albumini, mushak albumini holda keng tarqalgan. Tarkibida 20 ta aminokislota uchraydi.

- **Globulinlar** - barcha o'simlik, hayvon va odam hujayralarida uchraydi. Masalan, qon plazmasi globulini, sut zardobi globulini, mushak globulinlari - miozin, aktin, o'simliklardan no'xat legumini, loviya fazeolini, zig'ir erestini va boshqaqalar shular jumlasidandir. Globulinlar tarkibida barcha aminokislotalar uchraydi.

- **Protaminlar** - o'simlik oqsillari bo'lib, tarkibida prolinning ko'pligi, lizinning deyarli bo'lmasligi bilan tavsiflanadi. Ularga bug'doy donidagi gliadin oqsili, arpadagi - gordein, makkajuxoridagi - zein kabi oqsillar misol bo'ladi.

- **Glyutelinar** - o'simlik oqsillaridir, tarkibida aminokislotalarning turli-tumanligi bilan tavsiflanadi. Guruchdagi orizenin, bug'doydagi glyutenin oqsillari misol bo'ladi.

- **Protaminlar** - tarkibida 80% gacha diaminomomonokarbon kislotali aminokislotalar saqlovchi, ishqor tabiatli, oddiy oqsillardir. Ular sperma, baliq ikresi kabi ko'payish mahsulotlari tarkibida uchraydi. DNK molekulasi bilan birikib, ularning barqarorligini ta'minlaydi.

- **Gistonlar** - 30% gacha ishqorli ya'nidiaminomomonokarbon aminokislotalardan tarkib topgan, ular hujayralarda nuklein kislotalar bilan bog'langan holda uchraydi, xromatin tuzilmasini hosil qiladi, oqsillar sintezini va irsiy belgilarni avloddan - avlodga berilishida faol qatnashadi.

- **Proteinoidlar** - tayanch to'qimalar (suyak, tog'ay, pay, soch, jun, ipak va boshqalar) da keng tarqalgan bo'lib, ularni oqsilsimon moddalar ya'ni proteinoidlar deb atashadi. Ularga kollagen, keratin, fibroin oqsillari misol bo'ladi. Kollagen oqsili tarkibida sistin, sistein, triptofan aminokislotalari uchramaydi, keratin tarkibida, aksincha, 10-14% gacha sistin va sistein, 9% gacha prolin va oksiprolin bo'ladi, ipak oqsili fibroin - 90% gacha faqat to'rta: glisin, alanin, serin va tirozin aminokislotalaridan tarkib topgan.

Tabiiy peptidlar - keyingi paytda qator maxsus funksiyalarni bajaruvchi past molekulari peptidlar o'rganildi. Ular o'zlarining biologik faolliklari, ta'sir etish tavsiflari va kelib chiqishiga bog'liq holda to'rt guruhga bo'linadi:

1. Gormonal faollikka ega bo'lgan peptidlar (vazopressin, oksitosin, kortikotropin, glukagon, kalsitonin, melanostimullovchi gormon (MSG) gipotalamusning - rilizing omili.
2. Ovqat hazmi jarayonida ishtirok etuvchi peptidlar (gastrin, sekretin)
3. Qon zardobini α_2 - globulin fraksiyasi asos bo'lib xizmat qiluvchi peptidlar (angiotenzin, bradikinin va kallidin).
4. Neyropeptidlar.

Gidrolizlanganda aminokislotalar va ularga qo'shimcha ravishda boshqa nooqsil tabiatli moddalarni ham hosil qiluvchi makromolekularga **murakkab oqsillar** deyiladi. Ularga quyidagi oqsillarni kiritish mumkin.

Xromoproteinlar - tarkibida aminokislotalardan tashqari nooqsil tabiatli modda sifatida bo'yoq moddalarini tutuvchi murakkab oqsillar hisoblanib, ular gemprotein (nooqsil guruh sifatida tarkibida temir tutuvchi)lar, magniy-porfirinlar va flavoprotein (izoalloksazin hosilalari tutuvchi)larga bo'linadi. Xromoproteinlarning vakili sifatida hayvonlarda gemoglobin, mioglobin, o'simliklarda-xlorofilni keltirib o'tish mumkin. Murakkab oqsillarning bu vakillarini nafas olish va fotosintez jarayonlaridagi ahamiyati ma'lum.

Nukleoproteinlar - oqsillar va nuklein kislotalar qoldiqlaridan tashkil topgan makromolekulalar hisoblanadi. Bu murakkab oqsillar tarkibiga kirgan nuklein kislotalarning xiliga qarab dezoksiribonukleoprotein (DNP)lar va ribonukleoprotein (RNP) larga bo'linadi. Bu oqsillar hujayraning yadrosi va protoplazmasida mavjud bo'lib, irsiy axborotni saqlanishi ko'chirilish va realizatsiyasi, o'sish, rivojlanish, ko'payish jarayonlarini sodir bo'lishi shu oqsillar funksiyalari bilan bog'liqdir.

Lipoproteinlar - oqsillar va lipidlarning kompleksidan hosil bo'lgan makromolekulalar hisoblanadi. Ular tirik organizmning barcha to'qima va hujayralarida uchraydi, ayniqsa nerv to'qimasidako'p bo'ladi. Bu oqsillarning funksiyalari ham xilma xil bo'lib, lipidlarni

organizm bo'ylab tashilishidan tortib to hujayralar va ularning organellalarini membranalari tuzilmasini hosil qilishgacha bo'lgan funksiyalarni bajaradi.

Glikoproteinlar - oqsillarning uglevodlar va ularning hosilalari bilan birikishidan hosil bo'lgan makromolekulalari hisoblanadi. Ular jumlasiga biriktiruvchi to'qimani asosi hisoblangan - xondroitin sulfat kislota, gialuron kislota, interferonlar va qon zardobi tarkibida uchrovchi glikoproteinni kiritish mumkin. Bu murakkab oqsillarning funksiyalari ham xilma xildir.

Fosfoproteinlar - oqsil molekulasidagi β - oksi aminokislota (asosan serin, kamdan kam holatlarda treonin) larga fosfat kislota qoldig'i birikishidan hosil bo'lgan murakkab oqsillar hisoblanadi. Bu oqsillar o'suvchi organizmlar uchun zahira oziqa vazifasini bajaradi. Ularning vakillari sifatida kazeinogen (sut), ovovitellin (tuxum), ixtullin (baliq)larni keltirish mumkin.

Metalloproteinlar - oqsillarga bir yoki bir necha metall ionlarini birikishidan hosil bo'lgan biopolimerlardir. Bu oqsillar jumlasiga: ferritin, transferrin va gemosederinlarni kiritish mumkin. Shuningdek ko'p fermentlarning tarkibiga xilma xil metallar kiradi. Masalan: alkogoldehidrogenaza, karbongidraza va karboksipeptidazalarning tarkibiga rux kirs, fosfogidrolaza va fosfotransferazalar takibiga-magniy, peroksidaza va katalazalar tarkibiga - temir, tirozinaza va sitoxromoksidazalar tarkibiga-mis, arginaza tarkibiga-molibden kiradi.

Xossalari jihatidan oqsillar, eng avvalo, gidrofil xususiyatni namoyon etadi ya'ni bo'kadi. Suvdagi eritmasi kolloid eritmadir. Tindal effektini beradi ya'ni yorug'lik nurini sindira oladi.

Molekulasi tarkibida ko'p miqdorda - COOH, - NH₂ funksional guruhleri bo'lganligi uchun oqsillar amfoter hossasiga ega bo'ladi.

Eritmadagi H⁺ ionlari konsentratsiyasi (pH ko'rsatkichi)ni o'zgartirish yo'li bilan oqsil molekulasini dissosilanishini ko'chaytirish yoki pasaytirish mumkin.

Zaryadsiz amfionlar eritmaning ma'lum pH ko'rsatkichida, elektrmaydoni bo'ylab na anodga va na katodga qarab harakatlanmaydi. Bu holat izoelektrik holat deyiladi.

Anashu izoelektrik holatini namoyon qiluvchi pH ko'rsatkichi shu oqsilning izoelektrik nuqtasi (IEN) deyiladi. Ayrim oqsillar uchun IEN ko'rsatkichi quyidagicha: pepsin - 1,0; gemoglobin - 6,8; sitoxrom - 10,65; tuxum albumini - 4,6; mioglobin - 7,0; lizosim - 11,0 vahakoza.

Oqsil molekulasining kation yoki anion holiday zaryadining kattakichikligiga qarab elektroforez (elektr maydonidagi harakat) hodisasi namoyon bo'ladi, undan oqsil molekulasini ajratib olishda, gomogenlik darajasini aniqlashda foydalaniladi.

Oqsillarning eng muhim xususiyatlaridan biri, ularning tabiiy holatda native (iviq) ko'rinishda bo'lishidir. Yuqori harorat (50-60°C) da, ionlantiruvchi nurlar, ultratovush, og'ir metallarning tuzlari, kuchli ishqoriy yoki kislotali muhit, organik erituvchilar ta'sirida oqsilning nativ holatini o'zgartiradi, denaturatsiyaga uchratadi. Natijada uning biologik hususiyati, fermentli faolligi yo'qoladi, molekulasi tartibsiz shaklga kelib qoladi. Denaturatsiyalangan oqsil molekulasi yana tabiiy holatga qaytishi mumkin, buni oqsil renaturatsiyasi deyiladi.

Oqsillar bo'yicha olib boriladigan laboratoriya ishlari: «To'qima va biologik suyuqliklardan oqsillarni ajratish va ularning eruvchanligini aniqlash», «Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari», «Oqsillarga xos rangli reaksiyalar», «Oqsillarni dializlash va izoelektrik nuqtalarini aniqlash», «Oqsillarni miqdorini aniqlash», «Oqsillarni gidrolizlash» va «Qog'oz xromatografiyasi uslubida oqsillarni aminokislota tarkibini aniqlash» mavzularini o'tishga mo'ljallangan.

Aminokislotalar - molekulasida amin va karboksil guruhi bo'lgan organik birikmalar, o'simlik hamda hayvon oqsilining asosiy elementi hisoblanadi. aminokislotalar rangsiz, suvda eruvchan kristall moddalar. 200 ta tabiiy aminokislotalar ma'lum. Lekin oqsillar tarkibida faqat 20 aminokislotalar va ularning 2 ta amidi uchraydi. Qolganlari oqsillar tarkibiga kirmaydi. Aminokislotalarning D-yoki L-qatorga tegishligini N va NH₂ guruhning uglerod atomida qanday joylashganligi ko'rsatadi.

Deyarli barcha tabiiy aminokislotalar L-qatoriga kiradi. D-qatorga mansub aminokislotalar tabiatda kamdan-kam bo'lib, mikroorganizmlar tarkibida topilgan. Aminokislotalarning L-formasi o'simliklar tomonidan yaxshi o'zlashtiriladi va u moddalar almashinuvining barcha

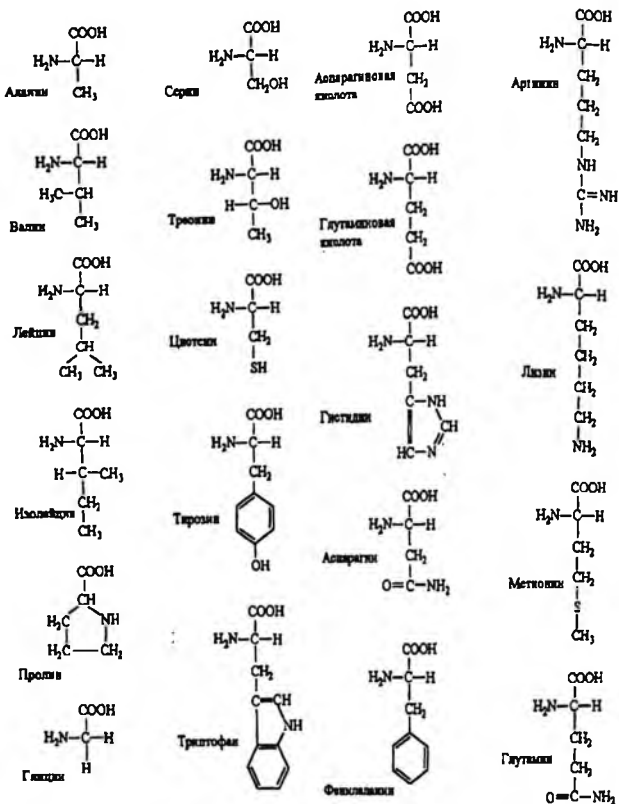
jarayonlarida qatnashadi, lekin D-formalarini o'simliklar o'zlashtira olmaydi, ba'zan ular moddalar almashinuvi jarayonlarini to'xtatib qo'yadi. Bu organizmning fermentativ sistemasi aminokislotalarning L-qatoriga moslashganligidan darak beradi.

Aminokislotalar organizmda erkin holda va oqsillar yoki boshqa birikmalar tarkibida uchraydi. Oqsillar sintezi uchun L-formali 20 xil aminokislotalar- proteinogen aminokislotalar (lizin, gistidin, arginin, aspartat kislota, asparagin, treonin, serin, glutamat kislota, glutamin, prolin, glitsin, alanin, sistein, izoleysin, leysin, metionin, valin, tirozin, fenilalanin va triptofan)dan foydalaniladi.

Oqsillar tarkibida uchraydigan aminokislotalar esa ularning fermentativ o'zgarishi natijasida hosil bo'ladi. Ayrim aminokislotalar hayvon va odam organizmida sintezlanmaydi. Bu almashinmaydigan aminokislotalardir. Odam organizmi uchun 8 (triptofan, fenilalanin, metionin, lizin, valin, treonin, izoleysin va leysin) almashinmaydigan aminokislotalar bor.

O'simliklar o'zi uchun zarur bo'lgan barcha azotli birikmalarni sintezlash qobiliyatiga ega. Aminokislotalar sintezi jarayonida ammiakli azot organik birikmalarga aylanadi. O'simliklarda hosil bo'lgan aminokislotalar uzluksiz almashinib turadi. Ular asosan, oqsillar sintezi uchun sarflanadi, shuningdek, dekarboksillanishi, azot asoslari va boshqa birikmalar sintezi uchun ishlatilishi, aminogruppani ajratib yuborishi, to'liq oksidlanishi va organizm uchun energiya manbai bo'lib xizmat qilishi mumkin.

Tabiatda 500 ga yaqin aminokislotalar uchraydi. Ularning yarmidan ortig'i, umuman oqsil tarkibiga kirmaydi, qolgan yarmining ko'p qismi ham faqat ayrim organizmlarda, ba'zilar alohida peptidlar tarkibida bo'ladi. Hamma organizmlarda oqsillar tarkibiga kiradigan aminokislotalar soni 20 ga teng. Ular proteinogen aminokislotalar deb ataladi. Oqsillarning biologik funksiyasi asosan aminokislotalarning oqsil molekulasidagi o'rni, ya'ni ularning ketma-ketligi bilan aniqlanadi.



Peptidlar va, umuman oqsil molekularining aminokislota tarkibi yozilganda, ularning nomi boshlang'ich uch harfdan tuzilgan qisqartmalaridan foydalaniladi.

1-LABORATORIYA ISHI.

ODDIY OQSILLARNI MAXSULOTLARDAN AJRATIB OLIISH VA ULARGA XOS RANGLI SIFAT REAKSIYALAR.

Ishning maqsadi - ozuqa maxsulotlari (bug'doy uni, nuxot, loviya, tuxum oqsili va ozuqa maxsulotlari), tarkibidan turli oqsillarni eritmalarga o'tkazish, ularni cho'kmaga tushirib ajratish, hamda shu eritmalardan oqsillarga xos rangli sifat reaksiyalarni bajarishda foydalanish.

Oqsillarni ajratib olish Oqsillarni biomateriallardan ajratib olish uchun ularning eruvchanlik hususiyatidan foydalaniladi. Lekin oqsillarini ajratib olish ancha qiyinchiliklarga olib keladi. Bu ajratishdagi asosiy qiyinchilik ularning beqarorligidir. Ular yuqori temperatura, kuchli kislota va ishqorlar, juda ko'p reaktivlar ta'sirida o'zlarining tabiiy "nativ" hususiyatlarini yo'qotadilar. Bu jarayonlar denaturatsiya deyiladi.

Oqsillarni ajratib olishda uchraydigan ikkinchi qiyinchilik biologik materialdan olinadigan murakkab aralashmalarda oqsil molekularidan, ular bilan aralashgan holda birga bo'ladigan va ular bilan komplekslar hosil qiladigan boshqa organik birikmalar lipidlar, uglevodlar, nuklein kislotalardan qutilishdir. Masalan, oqsillarni ajratish ko'p hujayra proteinlarining suvda erimaydigan lipidlar bilan bog'lanishi tufayli, ularning ekstraksiyasini qiyinlashtiradi.

Umuman, oqsillarni ajratib olishning hamma davrida temperatura mumkin qadar past darajada saqlanishi, ishlash uchun eng qulay temperatura erituvchining muzlash darajasiga yaqin chegarada tutilishi kerak. Muhitning kislotalilik va ishqoriylik darajasi diqqat bilan ko'zati borilishi va imkoni boricha oqsil nativ sharoitiga yaqin tutilishi lozim.

Oqsillarning suvli eritmalaridan ajratish uchun eritmaga anorganik tuzlarning etarli miqdorini qo'shib, cho'ktirish usuli ko'p qo'llaniladi. Bu maqsad uchun suvda eng yuqori erish hususiyatiga ega bo'lgan tuz ammoniy sulfatdir. Bu tuzni qo'shib eritmani turli darajada to'yintirish yo'li bilan oqsillar bir – biridan ajratiladi. Boshqa sulfatlar, masalan magniy sulfat va natriy sulfat eruvchanligi ammoniy sulfatga nisbatan

kamroq bo'lsada, ularning afzalligi shundaki, bu tuzlar bilan cho'ktirilgan oqsillarda azot miqdorini bevosita analiz qilish mumkin.

Organik erituvchilar, - etanol, metanol, atseton va boshqalar bilan oqsillarning suvli eritmalardan cho'ktirish mumkin. Bu usul juda past (-10°C) temperaturada juda yaxshi natija beradi.

Ayrim oqsillarni cho'ktirishda og'ir metallar (Hg^{++} , Zn^{++} , Cd^{++} , Ba^{++} , Pb^{++} , Cu^{++} va boshqalar) tuzlaridan ham foydalaniladi.

Oqsillar ekstraksiyalanganidan keyin fraksiyalash asosida bir-biridan ajratiladi. Tuzlar yordamida cho'ktirish ularni fraksiyalashda qo'llaniladigan eng oson usullardan biridir. Oqsillarni organik erituvchilar yordamida fraksiyalash usuli ham ularning eruvchanligiga asoslangan.

Hozirgi kunda oqsillarning fraksiyalashda ultratsentrifugalash, elektroforez, xromatografiya va immunobiologik fraksiyalash usullari keng qo'llaniladi.

Yuqoridagi usullar bilan ajratib olingan oqsillar tarkibida doim qo'shimcha moddalar bo'lib, bularni tarkibida doim uchraydigan tuzlar ionlarini tozalashda, odatda dializ, elektrodializ, kristallantirish, qayta kristallantirish, gelfiltratsiya va boshqa usullardan foydalaniladi.

Tekshiriladigan maxsulotlar: bug'doy uni, nuxat uni, tuxum oqsillari va boshqa o'simlik hayvon maxsulotlari.

Reaktiv va asboblari:

1. Distillangan suv
2. 10%-li NaCl eritmasi
3. 70%-li etil spirti
4. NaCl -ning to'yingan eritmasi
5. Probirkalar
6. Suv xammomi
7. Termometr

Ishning bajarilishi

Bug'doy unidan albumin oqsilini ajratib olish uchun probirkaga 1 g. un olib, ustiga 10 ml distillangan suv qo'shiladi va aralashtiriladi. Probirka 30 minutga $30-35^{\circ}\text{C}$ li suv hammomiga qo'yiladi. Birinchi 20 minut davomida probirkadagi massa aralashtiriladi, so'ngra tindiriladi.

30 minutdan so'ng probirkadagi albuminli eritma, sentrifugalanadi (5 min. 2500 ob./min.) filtr qog'oz yordamida filtrlab ajratib olinadi. Filtratning yarmi keyingi sifat reaksiyasi uchun qoldiriladi. Ikkinchi yarmi (3-4 ml) taxminan teng hajmi NaCl- ning to'yingan eritmasi qo'shilsa, eritma xiralashadi. Chunki faqat suvda eriydigan albuminlar tuz ta'sirida eruvchaligini yo'qotadi va tuzning ma'lum kotsentratsiyasida to'liq cho'kmaga tushishi kuzatiladi.

Nuxot unidan globulin oqsilini ajratib olish uchun probirkaga 1 g. Nuxot uni olib, ustiga 10 ml 10%-li NaCl qo'yiladi va aralashtiriladi. Probirka 30 minutga 30-35⁰C li suv hammomida ushlanadi. 30 minutdan so'ng globulin eritmasi sentrifugalanadi (5 min. 2500 ob./min.) qog'oz filtr yordamida filtrlab ajratib olinadi. Eritmaning bir qismi rangli sifat reaksiyasi uchun qoldiriladi. Globulinlar distillangan suvda erimaganligi sababli, globulinli filtratning ikkinchi osh tuzi yo'qotilsa, globulinlar cho'kmaga tushadi. Buning uchun yuqori molekulyar kolloid zarrachalarni tutib qoluvchi maxsus yarim o'tkazgich pardalardan (membra-nalardan) foydalaniladi. Bu usul dializ deyiladi. Globulin eritmasi yarim o'tkazgich xaltagacha solinib, distillangan suvli stakanga 1,5-2 soatga botirib osib qo'yiladi. Stakandagi suv tez-tez aralashtirilib turiladi. Xaltachada globulin cho'kmasi qoladi.

Bug'doy unidan prolamin oqsilini ajratib olish uchun probirkaga 1 g. Bug'doy uni olib, ustiga 10 ml 70% -li etil spirti quyiladi probirka 30 minutga 30-35⁰C li suv hammomida 30 minut ushlanadi, vaqti-vaqti bilan aralashtiriladi. 30 minutdan so'ng globulinlarning spirtli eritmasi sentrifugalanadi (5 min. 2500 ob./min.) yoki filtr qog'oz yordamida filtrlab, ajratib olinadi.

Eritmaning bir qismi rangli sifat reaksiyalar uchun qoldiriladi. Eritmaning qolgan qismiga (3-4) teng xajmda distillangan suv qo'shib, spirtning kotsentratsiyasi ikki marta kamaytiriladi. Bunda tuzda eruvchi globulinlarning eruvchanligi yuqolib, ular cho'kmaga tushadi.

Tuxum albuminini (avalbumin) olish uchun tuxum oqi ajratiladi. 1 ml tuxum oqiga 5 ml distillangan suv qo'shiladi va yaxshi aralashtiriladi to'liq ekstraksiyalash maqsadida 30-35⁰C li suv

xammomida 30 minut aralashtirib turish mumkin. Keyin sentrifugalanadi (5 min. 2500 ob./min.) yoki so'ngra to'rt qavatli dokadan va qog'oz filtdan o'tkaziladi. Filtrning bir qismi rangli sifat reaksiyasi uchun ishlatiladi. Ikkinchi qismiga teng hajmda NaCl - ning tuyintirilgan eritmasi qo'shilsa, albuminlar eruvchanligini yuqotib, eritma xiralashadi yoki cho'kma tushadi.

Olingan natijalar va ulardan tegishli xulosa daftarga yozib olinadi. Tayyorlangan oqsil eritmaları keyingi tajriba uchun sovutgichda saqlanadi.

Eslatma: boshqolilar (bug'doy, arpa, suli, makkajo'xori), chigit, dukkakililar (loviya, mosh, soya), turli xildagi ozuqa maxsu lotlar va biomateriallar (go'sht, sut, kanserva) va boshqalardan yuqoridagi usullar bilan barcha turdagi oqsillarni eritmalariga o'tkazish usuli bilan ajratib olish mumkin.

2-LABORATORIYA ISHI.

OQSILLARGA XOS RANGLI SIFAT REAKSIYALAR.

Ishning maqsadi. - ozuqa mahsulotlari va biomateriallardan eritmalariga o'tkazilgan oqsillarni sifat reaksiyalar orqali aniqlash.

Oqsillarni ularga xos bo'lgan ma'lum sifat reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Bu sifat reaksiyalari oqsillarning fizik-kimyoviy xossalari, hamda tarkibida mavjud bo'lgan kimyoviy gurupplarning maxsus reaktivlar bilan hosil qiladigan rangli birikmalarga asoslangan.

Oqsillarni temperatura ta'sirida aniqlash.

Oqsillarning eng asosiy fizik xususiyatlaridan biri ularning denaturatsiyalanishidir.

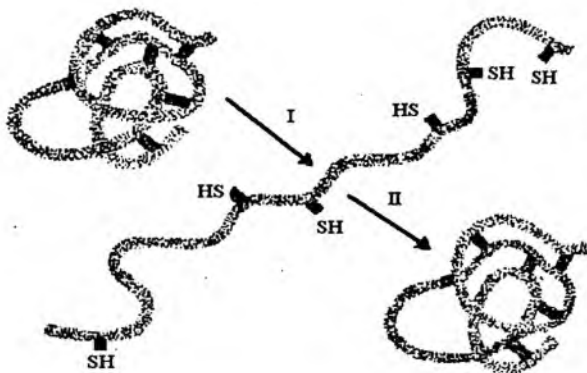
Denaturatsiyalanish yuqori temperatura, reaksiya, ultrabinafsha nurlanish, mexanik ta'sir, organik erituvchilar, kuchli ishqor va kislotalar ta'sirida bo'lishi mumkin.

Oqsillarning denaturatsiyasi, deb turli fizik va kimyoviy ta'sirlar ostida *nativ (tabiiy)* hususiyatlarini yo'qotish laridir. Oqsil eritmaları qizdirilganda, uning ivib, cho'kma holiga kelishi denaturatsiyadir, ammo

oqsil ishqoriy metall tuzlari, ammoniy sulfat bilan tuzlanganda cho'ksa ham denaturatsiyalanmaydi, u qaytadan erib, nativ holatga o'tadi.

Denaturatsiya holatidan oqsillar qayta yana nativ holatiga o'tishi *renaturatsiya* deb ataladi.

Denaturatsiya vaqtida oqsillarning strukturalarida o'zgarish kuzatiladi, bunda oqsillarning 2-, 3-, 4- strukturalari buziladi. Faqatgina 1- struktura mustaxkam peptid bog'lardan iborat bo'lgani uchun buzilmaydi.



1-rasm. Oqsil malekulasining denaturatsiya va renaturatsiya holatlari.

Denaturatsiya holati peptid bog'larining gidrolitik parchalanishiga aloqasining yo'qligi, ammo o'ziga xos spetsifik konfiguratsiyaning o'zgarishi bilan bog'liqligi ko'pgina analizlar natijasida aniqlangan.

Oqsillarning shu hususiyatidan ularning aniqlash uchun qo'llaniladigan sifat reaksiyasida foydalaniladi.

Suvda eriydigan oqsil-albumin yoki tuzlarning neytral eritmalarida eriydigan oqsil-globulin qizdirilganda cho'kmaga tushadi. Oqsillarning tabiatiga ko'ra ularning koagulyasiyalanish temperaturasi har xil bo'ladi.

Tekshiriladigan mahsulotlar: turli oqsil eritmaları

Reaktiv va asboblari: 1. 10%li NaOH eritmasi

2. 0,5%-li CuSO_4 eritmasi
3. Konsentrlangan nitrat kislota
4. 1%-li ningidrin eritmasi
5. probirkalar
6. pipetkalar
7. elektr plitka
8. termometr

Ishning bajarilishi.

Oqsillarni temperatura ta'sirida aniqlash uchun turta probirkaga yuqorida tayyorlangan to'rt xil oqsil eritmasidan 5 ml dan solib, termometrlar o'rnatiladi. Probirkalar suv hammomiga qo'yilib, asta sekin qizdiriladi. Har bir probirkada xiralanish temperaturasi, so'ngra cho'kmaga tushish temperaturasi belgilanib yozib olinadi.

Oqsillarning rangli sifat reaksiyalari

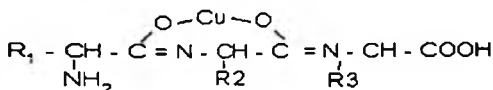
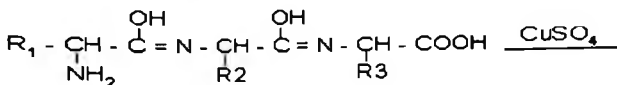
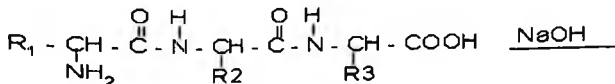
1. Biuret reaksiyasi. *Oqsillarga xos sifat reaksiya.* Oqsillarni sifat ko'rsatkichi, ya'ni bor yo'qligini aniqlash uchun bir kancha analitik usullardan foydalaniladi. Buning uchun oqsilni tug'ridan-tug'ri aniqlash yoki gidrolizlab aminokislotalarni aniqlash usulidan foydalanish mumkin.

Oqsillarga xos universal rangli sifat reaksiyasi **Biuret reaksiyasi** deyiladi. Bu reaksiya orqali biomateriallardan ajratib olingan turli xildagi eritmalarda, oqsil bor yoki yo'qligini, hamda reaksiya natijasida hosil bo'lgan rangni to'q ko'k bingafsha va och ko'k binafsha hollatiga qarab, shu aniqlangan oqsil molekulasini zanjirining uzun yoki kaltaligini ham aniqlab xulosa qilish mumkin.

Biuret reaksiyasida hosil bo'ladigan kompleks rangi peptid zanjirining uzunligiga qarab har xil bo'ladi. Zanjir qancha uzun bo'lsa, rang shuncha pushtiga yaqinlashib boradi. Undan tashqari Biuret reaksiyasidagi rang eritmadagi mis ionlariga bog'liq, ya'ni missulfat eritmasi ko'proq qo'shilsa ko'k rang, kam qo'shilsa pushti rang hosil bo'ladi.

Biuret reaksiyasida oqsillarning faqat peptid bog'i ishtirok etganligi uchun bu reaksiya barcha oqsillar uchun xos, ya'ni bu reaksiya barcha oqsillar uchun uneverzal reaksiyadir.

Bu reaksiyada oqsil eritmasiga ishqoriy muhitda. mis sulfat tuzi ta'sir ettirilganda misning oqsil molekulasiga bilan ko'k-binafsha rangli kompleks birikmasi hosil bo'ladi:



Ko'k binafsha rangli kompleks.

Ishning bajarilishi.

Biuret reaksiyasini amalga oshirish uchun to'rtta probirkaga turt xil oqsil eritmasidan 5 tomchidan olinadi. Har bir probirkaga 1 ml dan NaOH eritmasidan qo'shib, aralastiriladi va 1-2 tomchi mis sulfat eritmasi qo'shilsa probirkadagi suyuqlik ko'k binafsha rangga kiradi. Probirkalar rangining och yoki tukligi eritmadagi oqsil kotsentratsiyasiga bog'liq. Demak, probirkalarga qarab quyidagi savollarga javob topsa bo'ladi: 1. Bugdoy unida albuminlar ko'pmi. globulinlar ko'pmi? 2. Albuminlar bug'doy unida ko'pmi. taxmin oqida ko'pmi.

2. Ningidrin reaksiyasi. Aminokislotalarning va oqsillarning ta'sirida amin kruppallari ningidrin ta'sirida ko'k-binafsha rang hosil qilina 34.

ta'sir ettirilsa sariq rang to'qlashadi. Bu reaksiya tarkibida aromatik aminokislotalar (fenilalanin, tirozin va triptofan) bo'lgan oqsil molekulalari. Agar oqsil zanjirida *aromatik aminokislota* bo'lsa (tirozin, fenilalanin), bunday oqsilni ksantaprotein-reaksiyasi bilan aniqlash mumkin. Ko'pchilik oqsil moddalar konsentrlangan nitrat kislota ta'sirida och sariq rangga kirib, ishqor ta'sir ettirilsa sariq rang to'qlashadi. Bu reaksiya faqatgina aromatik aminokislota tutgan oqsil moddalar uchungina xos bo'lib, oqsilga nitrat kislota ta'sir ettirilganda, oqsil tarkibidagi aromatik aminokislotani benzol halqasini nitrollaydi. Natijada aminokislotani nitrobirikmasi hosil bo'ladi.



Aminokislotalarning radikal kismiga xos bo'lgan reaksiyadan foydalanib ayrim aminokislotalarni, yoki shu aminokislotalar ishtirok etgan oqsillarni aniqlash mumkin. Masalan, ksantoprotein reaksiyasida konsentrlangan nitrat kislotaning aromatik aminokislotalar bilan nitrobirikma hosil qilib sariq rangga kirishidan foydalanilgan.

Aromatik aminokislota nitrat kislota ta'sir etganda, benzol halqasi nitrallanib, aminokislotalarning nitro birikmasi hosil bo'ladi.

Ishning bajarilishi.

Ksantoprotein reaksiyasini amalga oshirish uchun tayyorlangan to'rt xil oqsil eritmasidan to'rtta probirkaga 5 tomchidan olib, ustiga 2-3 tomchi konsentrlangan nitrat kislota qo'shiladi. Probirkalar elektr plitkada asta-sekin qizdirilsa, ulardagi suyuqlik och sariq rangga bo'yalishi mumkin. Sariq rangga bo'yalgan probirkalar sovutilib, ularga oshiqcha miqdorda ishqor qo'shilsa och sariq rang to'qlashadi.

Sariq rangga bo'yalgan probirkalardagi oqsillarning aminokislota tarkibi haqida xulosa qilish mumkin.

Uchala rangli sifat reaksiyalar bo'yicha kuzatuvlar va xulosalar daftarga yoziladi.

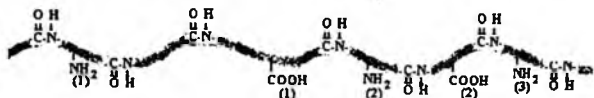
3-LABORATORIYA ISHI

OQSILLARNING IZOELEKTRIK NUQTASINI ANIQLASH

Ishning maqsadi - tuxum albumini, turli xildagi ozuqa oqsillari, boshqolilar va dukkakililar va shunga o'xshash biomateriallar oddiy oqsillarining izoelektrik nuqtasini aniqlash.

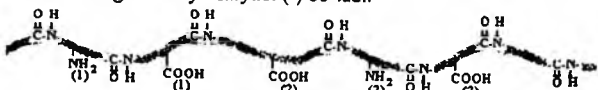
Ma'lumki, oqsil zanjirida aminokislotalar amin va karboksil gruppalari orqali, peptid bog'i hosil qilib, birikkan, Ammo, oqsil molekulasida ma'lum miqdorda ishqor hususiyatli erkin amin gruppalar va kislota hususiyatiga ega bo'lgan erkin karboksil gruppalari bo'ladi. Oqsil molekulalarida shu amino (NH_2) va karboksil (COOH) gruppalarining mavjudligidan, oqsil molekulasida ikki xil (+) va (-) zaryadli bo'lishiga olib keladi.

Agar oqsil molekulasida erkin amin gruppalarining soni erkin karboksil gruppalarini sonidan ko'p bo'lsa, u holda bunday oqsillarning umumiy zaryadi musbat (+) bo'ladi.



(+) - yanli oqsilning umumiy zaryadi musbat bo'ladi

Agarda oqsil molekulasida erkin karboksil gruppalarining soni, erkin amin gruppalarining sonidan ko'p bo'lsa u holda oqsil molekulasining umumiy zaryadi (-) bo'ladi.

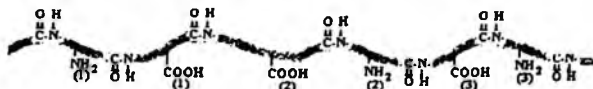


(-) - yanli oqsilning umumiy zaryadi manfiy bo'ladi

Bu yuqoridagi ikki holatda, (ya'ni oqsil molekulasining kation (+) holatli yoki anion (-) holatli) bo'lgan eritmaga o'tkazilgan oqsil moddalarga, su'niy ravishda biz ishqor yoki kislota qo'shish usuli bilan

molekuladagi bitta amino gruppani yoki bitta karboksil gruppani neytrallashtirish orqali ularni izoelektroneytral holatga keltirishimiz mumkin.

Bunday izoelektroneytral holatga keltirilgan oqsil molekulasida erkin amin gruppalarining soni erkin karboksil gruppalarining soni bilan teng bo'ladi, ya'ni (-) va (+) zaryadlarning soni teng bo'ladi, bu holatda oqsil molekulasida eritmada elektroneytral bo'ladi.



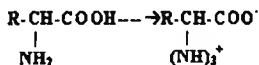
(+) - ya'ni oqsilning umumiy zaryadi musbat va manfiy bo'ladi.
Bu oqsil molekulasida izoelektroneytral bo'ladi (IEN)

Izoelektroneytral oqsilning umumiy zaryadi (0) ga teng bo'ladi. Bunday oqsillar eritmada tezda cho'kmaga tushadi. Bu quyida molekula ko'rinishida chizma orqali tasvirlangan.

Ushbu holatda oqsil molekulasida erkin amino (NH_2) gruppalar soni va erkin karboksil (COOH) gruppalar soni teng bo'ladi, oqsil umumiy zaryadi izoelektroneytral bo'ladi (IEN). Oqsilning umumiy zaryadi (0) ga teng bo'ladi, oqsillar eritmada tezda cho'kmaga tushadi.

Oqsil eritmasi muhit pH ni, ya'ni eritmada vodород ionlari konsentratsiyasini, o'zgartirish orqali oqsil tarkibidagi (+) va (-) zaryadlar nisbatini o'zgartirish mumkin.

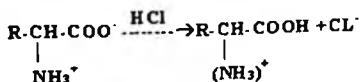
Aminokislotalar muhitining (pH) 4dan - 11 gacha bo'lgan oralig'ida bipolyar ion ko'rinishiga, ya'ni dissotsiyalangan karboksil gruppasi (-) zaryadiga va oksidlangan (+) zaryadli amin gruppasiga ega bo'ladi. Aynan shu oraliklarda oqsillarning izoelektrik no'qtalari namoyon bo'ladi.



Agar aminokislotalarning radikal qismi neytral bo'lsa, aminokislotalarning umumiy zaryadi 0 ga teng bo'ladi.

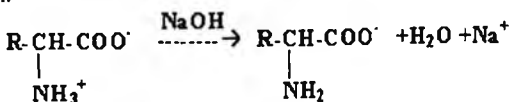
Agar shu muhitni kislotali sharoitga olib kelsak (suyultirilgan xlorid kislota qo'shsak) u holda oqsil eritmasini manfiy zaryadli yoki erkin karboksil gruppalarini neytrallashtirib, oqsil molekulasining umumiy

zaryadi musbat bo'lib kation xususiyatga ega bo'ladi, aminokislota (+) zaryadlanadi.



Bunda eritma muhiti pH-kislotali bo'ladi.

Agar, oqsil eritmasiga ishqor eritmasi qo'shsak, u holda oqsil molekulasining musbat zaryadlari (erkin amin gruppallari) neytrallanib, oqsil molekulasining umumiy zaryadi manfiy, ya'ni anion holatga ega bo'ladi.



Bu eritmada esa muhit pH- ko'rsatkichi ishqoriy muhitni namoyon qiladi.

Demak, aminokislotalar eritmasi muhitini o'zgartirish yo'li bilan kation (+), yoki anion holatlar (-) zaryadini saqlab qolish mumkin.

Aminokislotalarning zaryadi oqsillarning umumiy zaryadini belgilaydi.

Tabiiy oqsillarning hammasi ma'lum bir aniq bo'lgan zaryadga ega bo'ladi. Tabiatda uchraydigan barcha biomateriallardagi oqsillar o'z vaqtida aniq bo'lgan zaryadga ega bo'lib, izoelektroneytral holatlarda uchramaydi.

Aminokislotalar zaryadini ma'lum pH muhitida neytrallash mumkin. Ana shu pH aminokislotalar izoelektrik nuqtasi deyiladi.

Demak, eritma pH ko'rsatkichining muayyan qiymatida oqsil molekulasining umumiy zaryadi neytral bo'lib qolishi ham mumkin. Bu elektroneytral holat oqsilning izoelektrik holati va bu pH ning qiymati oqsilning izoelektrik nuqtasi (IEN) deb ataladi.

Oqsillar izoelektrik nuqtada beqaror bo'lib osonlikcha cho'kmaga tushadi. Lekin oqsil izoelektrik nuqtada o'z-o'zidan cho'kmaga tushmaydi. Buning uchun oqsil molekulasini o'rab turuvchi suv

qobug'ini tortib olish kerak. Shundagina oqsil molekullari bir-biri bilan yopishib, yiriklashadi va asta sekin eritmadan cho'kmaga tushadi.

Oqsillar molekulasi tarkibidagi suv qobug'ini tortib olish uchun spirt yoki atseton kabi kuchli gidrofil organik erituvchilar yoki tuzlar ta'sir ettiriladi.

Cho'kmaga tushgan oqsillardan organik yoki anorganik tuz eritmalari yo'qotilib (*sentrifuga va dializ usuli bilan*), uni yana qaytadan suvda eritish mumkin. Shunga asoslanib turli xildagi biomateriallardan oqsillarni ajratib olish uchun IENda cho'ktirish usulini qo'llash qulaydir.

1 –jadval.

Ba'zi oqsillarning izoelektrik no'qtalari.

Oqsilning nomi	pH ko'r-satkichi	Oqsilning nomi	pH ko'rsatkichi
Pepsin	1	Mioglabin	6,8
Tuxum albumini	4,6	Ximotripsin	8,1
β -laktoglobulini	5,2	Ribonukleaza	9,45
γ - globulin	5,2	Ximotripsinogen	9,5
Fosforilaza	5,8	Lizotsim	10,5
Gemoglabin	6,6	Sitoxrom S	10,7

Tekshiriladigan mahsulotlar; albumin, glubulin, prolamin, glyutelin oqsillari eritmasi.

Reaktiv va asboblari:

1. 0,2 N – li sirka kislotasi,
2. 0,2 N - li natriy atsetat eritmasi,
3. 96% - li etil spirti,
4. Probirkalar,
5. Pipitkalar.

Ishning bajarilishi

Tuxum oqsilining izoelektrik nuqtasini aniqlash uchun 5 ta toza probirka olib, ularning har biriga quyidagi keltirilgan jadvalda ko'rsatilgan miqdorda 0,2 N –li sirka kislotasi hajda 0,2 N-li natriy atsetat eritmasi qo'yiladi va probirkalarda jadvalda ko'rsatilgan pH muhitlari hosil qilinadi. So'ng probirkaga 0,5 ml dan tuxum albumini eritmasi qo'shib, aralashtiriladi.

Nihoyat, har bir probirkaga 2 ml dan etil spirti quyiladi va 20-30 daqiqa tinch saqlanadi. Probirkalarda hosil bo'lgan loyqalanish kuzatiladi.

Qaysi bir probirkada kuchli loyqalanish hosil bo'lgan bo'lsa, o'sha probirkadagi muhitning pH ko'rsatkichi tuxum albumining izoelektrik nuqtasi deb hisoblanadi. Jadvalning oxirgi ustuniga probirkalardagi loyqalanish darajasi (+) yoki (-) ishoralar bilan belgilanadi.

2-jadval

Olingan natija va xulosalar daftarga yozib qo'yiladi.

Probirka	CH ₃ COONa	CH ₃ COOH	pH	Tuxum oqsili	Etil spirti	Loyqalanish darajasi
1	0,1	0,9	3,8	0,5	2	
2	0,2	0,8	4,19	0,5	2	
3	0,5	0,5	4,75	0,5	2	
4	0,8	0,2	5,35	0,5	2	
5	0,9	0,1	5,7	0,5	2	

4-LABORATORIYA ISHI

SUTDAN KAZEIN OQSILINI AJRATISH

Ishning maqsadi.- Sut tarkibidagi murakkab oqsillar sinfiga mansub bo'lgan fosfoproteidlarning vakili kazein oqsilini ajratib olish.

Sut tarkibida oddiy oqsillardan: albumin, globulin uchrasa, murakkab oqsillar sinfiga mansub bo'lgan fosfoproteidlarning vakili kazein oqsili bor. Kazein sut oqsillarining 80% ini tashkil qiladi. Kazein nordon xossaga ega bo'lib, uning izoelektrik nuqtasi pH 6,7 atrofida bo'ladi. Sut tarkibidagi kazein kalsiy tuzlari bilan birikkan bo'lib, erigan holatda bo'ladi. Sut achiganda yoki kislotaga qo'shib nordonlashtirilganda, oqsilli quyqa (tvorog) hosil bo'lib, u cho'kmaga tushadi.

Kerakli biomaterial: sut.

Kerakli jihozlar: 50 ml li kimyoviy stakan, silindrlar, shisha tayoqcha, voronka, filtr qog'ozi.

Kerakli reaktivlar: xlorid kislotaning 1% li eritmasi, distillangan suv, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, nitrat kislotaning konsentrlangan eritmasi, molibden reaktivi (tayyorlash 7.5 g ammoniy molibdat 50 ml kons. nitrat kislotada eritiladi), mis sulfatning 1% li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Hajmi 50 ml bo'lgan kimyoviy stakanga 3 ml sut va 7 ml distillangan suv quyiladi. Suyuqliklar yaxshilab aralashtiriladi va ustiga 10-15 tomchi 1% li xlorid kislotaga eritmasi tomiziladi. Kislotaga juda ehtiyotkorlik bilan tomchilab solinadi, chunki xlorid kislotaning ortiqcha miqdori kazein oqsili cho'kmasini eritib yuborishi mumkin. Oradan 3-5 daqiqa o'tgandan keyin kazein oqsilidan iborat cho'kma hosil bo'ladi.

Cho'kma usti suyuqligi alohida idishga to'kib olinadi. Cho'kma ustiga uni tarkibidagi xlorid kislotadan xoli bo'lish uchun 10 ml distillangan suv solib, 5 daqiqa qoldiriladi. Cho'kmaga qo'shilgan suv oldingi to'kib olingan cho'kma usti suyuqligi quyilgan idishga o'tkaziladi.

Cho'kmaga takroran 10 ml distillangan suv solib, cho'kma tarkibidagi xlorid kislotaning ortiqcha qismi yuviladi va aralashma tingandan so'ng, uni ham cho'kma usti suyuqligi yig' ilgan idishga o'tkaziladi.

Cho'kmani qog'oz filtr orqali filtrlanadi va filtrda 2-3 marta suv yugirtirib yuviladi. Filtrat ilgari cho'kma usti suyuqligi solingan idishga yig' iladi va keyinga ishlarda foydalanish uchun olib qo'yiladi.

Tarkibida kazein (+yog') bo'lgan cho'kmaga 1% natriy ishqori qo'shib eritiladi. Bunda kazein erib ketib yog' eritmada muallaq holda bo'lib qoladi. Suyuqlik namlangan qog'oz filtr orqali filtrlanganda yog' filtr qog'ozda qolib ketib, kazein oqsili esa, filtrat tarkibida bo'ladi.

Bu ajratib olingan aralashmani «kazein oqsili» deb nomlab alohida idishga solinadi va keyingi tajribalarda foydalanish uchun olib qo'yiladi.

Yuqoridagi tajribalar davomida kazeinni ajratib olishda yig' ilgan suyuqliklarni birlashtiriladi va ularning tarkibidagi albumin hamda globulinlarni ajratib olish uchun natriy xloridning to'yingan eritmasidan

yoki tuzning kukunidan barqaror cho'kma hosil bo'lgungacha qo'shib aralashtiriladi.

Cho'kmani filtrlanadi va suv bilan yuvilgandan so'ng fiziologik eritmada eritiladi. Hosil bo'lgan aralashmani» sut albumini va globulini» deb nomlab alohida idishga solinadi va keyingi tajribalarda foydalanish uchun olib qo'yiladi.

5-LABORATORIYA ISHI

TUXUM OQSILIDAN ALBUMIN VA GLOBULINNI AJRATISH

Ishning maqsadi. Tuxum tarkibidagi albumin va globulin oqsillarini ajratib olish.

Tuxum tarkibidagi oqsilning 70% ini albumin tashkil qiladi. Albuminni globulindan ajratish uchun tuxum oqsili olinib, unga distillangan suv qo'shib yo'li bilan 10% li konsentrasiyaga ega bo'lgunga qadar suyultiriladi. Odatda globulinlar kuchsiz tuzli eritmada yaxshi eriydi, suv qo'shib o'ta suyultirilganda esa, ular cho'kmaga tushadi. Albumin va globulinlarning shu xususiyatlaridan foydalanib, ularni bir biridan ajratib olinadi. Buning uchun yuqoridagi tartibda tayyorlangan tuxum oqsilini 10 % li eritmasini sentrifugalanadi yoki filtrlanadi.

Kerakli biomaterial: tuxum oqsili. ***Kerakli jihozlar:*** 100 va 500 ml kimyoviy stakan, 250 va 500 ml silindrlar, kolba, voronka, shisha tayoqcha, filtr qog'ozi, sentrifuga, sentrifuga probirkalari.

Kerakli reaktivlar: distillangan suv, fiziologik eritma (0,9% NaCl).

Ishni bajarish tartibi. Tuxum qobig'ining ikki tomonidan teshikcha ochib, uning oqsili 500 ml li o'lchov silindriga o'tkaziladi va ustiga distillangan suv solib, shisha tayoqcha bilan aralashtirgan holda hajmi 300 ml ga yetkaziladi. Aralashma 30 daqiqa davomida xona xaroratida qoldiriladi. Bu muddat oralig'ida idishning tubida globulinlarning cho'kmasi paydo bo'ladi. Eritma filtr qog'ozidan o'tkazilganda filtr qog'ozda globulin, filtratda esa, albumin bo'ladi.

Aralashmani sentrifugalaganda cho'kmaga globulin tushadi, supernatantga esa, albumin o'tadi. Filtr qog'ozdagi globulinni shpatel bilan boshqa idishga ko'chirib olinadi va fiziologik eritmada eritiladi,

sentrifuga probirkasidagi globulin oqsili cho'kmasini ham fiziologik eritmada eritiladi.

Filtratdagi va sentrifugatdagi aralashmalar tuxum oqsilini albumin fraksiyasi hisoblanadi. Ularni har birini alohida idishlarga solib «Tuxum globulini» va «Tuxum albumini» deb belgilanadi hamda oqsillarga xos keyingi reaksiyalarni o'tkazishda ishlatish uchun olib qo'yiladi.

6-LABORATORIYA ISHI

BUG'DOY (ARPA, SULI) NING UMUMIY OQSILLARINI AJRATIB OLISH

Ishning maqsadi.- bug'doy, arpa, sulining umumiy oqsillarini ajratib olish

O'simlik oqsillarini ajratib olish uchun tadqiq qilinadigan obyekt tarkibidagi oqsil fraksiyasining xossasiga qarab turli erituvchilardan foydalaniladi. Odatda bug'doy, arpa va suli urug'lari tarkibidagi oqsillar NaOH ning 0,2 % li eritmasida yaxshi, NaOH ning shu konsentrasiyadagi 50-60 % li spirtida tayyorlangan eritmasida undan ham yaxshi eriydi.

Shu o'simliklarning unini natriy ishqorini spirtli eritmasi yoki suvdagi eritmasi bilan ishlov berganda eritmaga albumin, globulin, prolamin va glyutelin oqsillarilari o'tadi. Prolamin va glyutelinlar tarkibida ko'p miqdorda prolin va glyutamin aminokislotalari bo'ladi.

Kerakli biomaterial: bug'doy, arpa va suli unlari

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, chinni hovoncha, idishchalar.

Kerakli reaktivlar: NaOH ning 0.2 % li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Chinni hovonchaga 5 g bug'doy (arpa, suli) uni solib, asta-sekin qo'shib va ezib borib, jami 100 ml NaOH ning 0,2 % li suvdagi yoki 50-60% li spirtidagi eritmasi qo'shiladi. Bunda eritmaga albumin, globulin va glyutelinlar o'tadi. Aralashmani eritma qismi alohida toza idishga ko'chirilib, «Bug'doy (arpa, suli) oqsili» deb nomlanadi va keyingi tajribalarda foydalanish uchun olib qo'yiladi.

7-LABORATORIYA ISHI BUG'DOYNING (ARPA, SULI) ALBUMIN OQSILINI AJRATIB OLISH

Ishning maqsadi.- bug'doy, arpa, sulining albumin oqsillarini ajratib olish

Bundan oldingi ishda bug'doy (arpa, suli) larning umumiy oqsillarini ajratib olish amalga oshirilgan bo'lib, ajratib olingan oqsilning tarkibi albumin, globulin, prolamin va glyutelinlardan iborat bo'ladi. Bu biomateriallar tarkibidagi albuminni ozmi-ko'pmi yuqori tozalik darajasida ajratib olish uchun ushbu ishni bajarish lozim bo'ladi.

Kerakli biomaterial: bug'doy, arpa va suli unlari.

Kerakli jihozlar: kolbalar, silkitib - aralashtiruvchi asbob, filtr qog'oz, voronka.

Kerakli reaktivlar: distillangan suv.

Ishni bajarish tartibi. 25 g bug'doy yoki arpa yoki suli uni olib kolbaga solinadi, uni ustiga 100 ml distillangan suv qo'shib 1 soat davomida yaxshilab aralashtiriladi. Aralashtirish jarayonini samarali bo'lishini ta'minlash uchun kolbadagi aralashmani silkitib - aralashtiruvchi asbobga o'tkaziladi.

So'ng aralashmani sentrifugalanadi. Cho'kma tashlab yuboriladi, cho'kma usti suyuqligi esa filtr qog'oz orqali filtrlanadi. Filtrlangan tiniq eritma nisbatan toza holda bo'lgan albumin hisoblanadi. Chunki bunda globulin, prolamin va glutelinlar suvda erimaganligi sababli cho'kmaga tushadi.

8-LABORATORIYA ISHI OQSILLARNI ERUVCHANLIGINI ANIQLASH

Ishning maqsadi - barcha oddiy va murakkab oqsillarni eruvchanligini aniqlash.

Oqsillar har xil eruvchanlikka ega. Ba'zi oqsillar distillangan suvda eriydi, boshqalari unda erimaydi-yu, tuzlarning juda kuchsiz eritmalarida erib, konsentrlangan eritmalarida cho'kmaga tushadi. Uchinchi xil oqsillar, masalan prolaminlar (o'simlik oqsillari), 60-80% li spirt eritmasida eriydi.

Bundan tashqari shunday oqsillar ham bor-ki, ular boshqa oqsillar uchun maxsus erituvchi sifatida xizmat qiladigan eritmalar (distillangan suv, tuzlarning suyultirilgan eritmaları, kuchsiz kilotalar)da erimaydi.

Erimaydigan oqsillar jumlasiga murakkab oqsillar (keratin, elastin, kollagen)lar - hayvonlarning tashqi qoplami, skeleti va biriktiruvchi to'qimalar oqsillari kiradi. Oqsillar suvda kolloid eritma hosil qiladi. Kolloid eritmalar chin eritmalaridan farqli o'laroq, ularning dispersion zarrachalarini kattaligi ancha yirik (1 millimikrondan 0,1 mikrongacha) bo'ladi.

Bu moddalar odatdagi qog'oz filtrlardan o'tib ketadi, lekin yarim o'tkazgich membrana (ho'kizning siydik pufagi, pergament, hayvon va o'simlik membranasi) lardan o'tolmaydi, ularni oddiy mikroskopda ko'rib bo'lmasa-da, ultramikroskopda ko'rish mumkin bo'ladi.

Kerakli biomaterial: mushak oqsili, sut kazeini, sut albumini va globulini, tuxum albumini, tuxum globulini, bug'doy (arpa, sulii) oqsili, bug'doy (arpa, sulii) albumini.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: distillangan suv, NaCl ning 0,9 % li, NaCl ning to'yingan eritmaları, NaOH ning 0.2 % li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. To'rt qatorli shtativga probirkalarni terib joylashtiriladi va birinchi qatordagi sakkizta probirkaga 20 tomchidan distillangan suv, ikkinchi qatordagilariga NaCl ning 0,9 % li eritmasidan, uchinchi qatordagilariga NaCl ning to'yingan eritmasidan va to'rtinchi qatordagilariga NaOH ning 0.2 % li eritmasidan solinadi. So'ng har bir qatorning birinchi probirkasidan sakkizinchi probirkasigacha quyidagi tartibda yuqorida tayyorlangan oqsillar eritmasi:

- sut kazeini; - sut albumini; - sut globulini; -tuxum albumini; - tuxum globulini; - bug'doy (arpa, sulii) oqsili;
-bug'doy (arpa, sulii) albumidan 3 tomchidan tomiziladi. Probirkalardagi aralashmalar yaxshilab aralashtirilgandan keyin biroz tinch qo'yiladi. Tajriba natijalari 3-jadval tarzida rasmiylashtiriladi.

Tajribani nihoyasida 3-jadval to'ldirilib tegishli xulosalar keltirib chiqariladi. Bunda eruvchanlikni ifodalash uchun musbat (+) va manfiy

(-) belgilardan foydalaniladi hamda eruvchanlikning kuchli yoki kuchsizligi haqidagi mulohaza yozma tarzda ham ifodalanadi.

3-jadval

**Oqsillarning bar-xil eritmalardagi eruvchanligini
aniqlashga oid ma'lumotlar**

№	Oqsilning nomi	H ₂ O	0,9% NaCl	NaCl to'yin. eritmasi	0,2 NaOH
1	Sut kazeini				
2	Sut albumini				
3	Sut globulini				
4	Tuxum albumini				
5	Tuxum globulini				
6	Bug'doy (arpa, suli) oqsili				
7	Bug'doy (arpa, suli) albumini				

Yuqorida keltirilgan uslublar yordamida ajratib olingan barcha oqsillar alohida idishlarga solinadi va ancha muddat ichida saqlash hamda keyingi mavzular bo'yicha rejalashtirilgan reaksiyalarni o'tkazish uchun saqlash maqsadida ustiga bir tomchidan toluol tomizilib sovutqichga saqlanadi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

1. Tirik organizmlarda oqsillar qanday funksiyalarni bajaradi?
2. Oqsillar qanday tasniflanadi?
3. Qanday oqsillarga oddiy oqsillar deyiladi?
4. Oddiy oqsillarga qaysi oqsillar kiradi?
5. Sut tarkibida qaysi oqsil eng ko'p uchraydi ?
6. Mushak oqsillarini qanday ajratib olinadi?
7. Sut kazeini, albumini va globulinini qanday ajratiladi?
8. Bug'doy (arpa,suli) oqsillarini qanday ajratiladi?
9. Oqsillarni eruvchanligi qanday?
10. Qanday oqsillarga murakkab oqsillar deyiladi?
11. Murakkab oqsillarni qisqacha tavsiflang?
12. Oqsillarning amfoterligi nima?
13. Oqsillarning izoelektrik nuqtasi nima?
14. Qaysi muskul oqsili suvda erimaydi?

OQSILLARNI CHO'KTIRISH REAKSIYALARI

Oqsil eritmalari yuqorida keltirilganidek kolloid eritma bo'lganligi sababli ularni ma'lum sharoitlarda cho'ktirish yo'li bilan bor-yo'qligini aniqlash va toza holda ajratib olish mumkin bo'ladi. Oqsillarni cho'ktirishning xilma xil reaksiyalari mavjud. Bu reaksiyalarni yuqori haroratda qaynatish yo'li bilan va xona xarorati sharoitida o'tkazish mumkin.

Cho'ktirish reaksiyalari foydalaniladigan cho'ktirish usullariga qarab qaytar va qaytmas reaksiyalar bo'ladi. Qaytar cho'ktirish reaksiyalarida oqsillar tuzilishi jihatidan chuqur o'zgarishlarga duch kelmaydi va hosil bo'lgan cho'kma dastlabki suvli erituvchida eriydi. Oqsillar bunda o'zlarining dastlabki tabiiy tuzilishini saqlaydi va denaturatsiyaga uchramaydi. Qaytmas tavsifli cho'ktirish reaksiyalarida oqsil chuqur o'zgarishlarga duch keladi.

Bunda hosil bo'lgan oqsil cho'kmasi dastlabki erituvchida erish qobiliyatini yo'qotadi, ya'ni denaturatsiyaga uchraydi. Denaturatsiyaga uchragan oqsil shunday o'zgarishlarga duch keladiki, bunda u o'zining biologik va fizik-kimyoviy xossalarni va gidrofilligini yo'qotadi.

Qaytmas cho'ktirish reaksiyalarini qaynatish va har xil cho'ktiruvchi moddalar (anorganik va organik kislotalar va og'ir metal tuzlari) dan foydalanish asosida amalga oshirish mumkin. Oqsillarning qaytar cho'ktirish reaksiyalarini neytral tuzlar: NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 va boshqalardan foydalangan holda amalga oshirish mumkin.

Tuz yordamida oqsillarni cho'ktirishdan juda keng foydalaniladi. Shu yo'l bilan ularni fraksiyalarini bir biridan ajratish imkoniyati mavjud. Xususan, albuminlar va globulinlarni shu yo'l bilan bir biridan ajratiladi.

Darsning maqsadi. Biologik materiallar tarkibidagi oqsilning mavjudligini aniqlash, ularni turli cho'ktiruvchilar yordamida cho'ktirish orqali bir biridan ajratib olish uslublarini o'rganish va shu uslublardan amaliyotda foydalanish ko'nikmalarini shakllantirish.

9-LABORATORIYA ISHI OQSILLARNI QAYNATISH YO'LI BILAN CHO'KTIRISH

Ishning maqsadi- turli xildagi oqsillarni qaynatish yo'li bilan cho'ktirish.

Oqsillarning eritmalari 70°-80°C gacha qizdirilganda oqsil denaturatsiyaga uchrab cho'kmaga tushadi. Kuchli kislotali va ishqorli eritmalarda oqsil cho'kmaga tushmaydi, chunki bunday sharoitda oqsil musbat yoki manfiy zaryadlanib qoladi. Bundan tashqari qisman gidroliz ham ketishi mumkin.

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, filtr qog'oz, voronka, shisha tayoqcha, gaz gorelkasi yoki spirt lampasi.

Kerakli reaktivlar: natriy gidroksidning 10% li eritmasi, sirka kislotaning 1% li eritmasi, sirka kislotaning 10% li eritmasi, natriy xloridning to'yingan eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. 5 ta probirka olib 10 tomchidan 1% li tuxum oqsilidan tomizib chiqiladi. So'ng birinchi probirkaga 1 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 1 tomchi 1% li sirka kislotasi, uchinchisiga 1 tomchi 10% li sirka kislotasi, to'rtinchisiga 1 tomchi 10% li sirka kislotasi eritmasi va 1 tomchi natriy xloridning to'yingan eritmasi, beshinchisiga 1 tomchi 10% li NaOH eritmasi tomizib qaynatiladi. Birinchi, ikkinchi va to'rtinchi probirkalarda neytral kuchsiz kislotali va elektrolitli muhit bo'lganligi uchun cho'kma hosil bo'ladi. Uchinchi va beshinchi probirkalarda cho'kma hosil bo'lmaydi, zero ularning birida oqsil molekulasida musbat, ikkinchisida manfiy zaryadlanib qolgan.

Ish natijalari 4-jadval ko'rinishida izohlanadi:

4-jadval

Reaksiya muhiti har xil bo'lgan oqsil eritmalarini
qaynatganda cho'kishi

Neytral tuzlar	Kuchsiz kislotali muhit	Kuchli kislotali muhit	Elektrolit	Ishqoriy muhit

4-jadval ma'lumotlari asosida tegishli xulosalar keltirib chiqariladi.

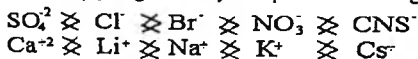
10-LABORATORIYA ISHI

XONA XARORATIDA OQSILLARNI NEYTRAL TUZLAR YORDAMIDA CHO'KTIRISH REAKSIYALARI

Ishning maqsadi.- turli xildagi oqsillarni xona xaroratida neytral tuzlar yordamida cho'ktirish reaksiyalari.

Oqsillarni tuz yordamida cho'ktirish deganda neytral tuzlar: NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 va boshqalarning yuqori konsentratsiyali eritmalaridan foydalanish nazarda tutiladi. Tuz yordamida cho'ktirishda oqsil makromolekulasini degidratatsiyasi va bir yo'la uning elektr zaryadini neytralizatsiyasi yuz beradi

Oqsil zarrachasiga yaqin bo'lgan suv molekularining zaryadi o'zaro mos yo'nalishda joylashgan bo'lsa, keyingilari xaotik tarzda joylashgan bo'ladi. Har xil oqsillarni tuz yordamida cho'ktirishda u yoki bu tuzlarning konsentratsiyalarini har xil bo'lishi talab qilinadi. Globulinlarning molekular massalari yuqori bo'lganligi uchun albuminlarga nisbatan osonroq cho'kmaga tushadi, ya'ni globulinlarni cho'ktirish uchun yarim to'yingan eritmalar kerak bo'lsa, albuminlar uchun o'ta to'yingan eritmalar talab qilinadi. Natriy xlorid ammoniy sulfatga nisbatan oqsillarni cho'kmaga tushirishda sustroq qatnashadi, chunki xlorid ioni sulfat ioniga nisbatan oqsil kolloididagi suv qobig'ini salgina sustroq yemiradi. Tuz eritmaları ionlarining bunday xususiyati to'g'risidagi ma'lumot quyidagi Gofmeyster qatorida keltirilgan:



Oqsillarni cho'ktirishda NaCl, NH_4Cl , Na_2SO_4 yoki MgSO_4 lardan foydalanilsa, globulinlarni cho'ktirish uchun eritmani shu tuzlardan biri bilan to'la to'yintirish kifoya. Cho'kma ajratib olinganidan keyin cho'kma usti suyuqligi tarkibidagi albuminlarni ham cho'ktirish uchun unga sirka kislota qo'shib nordonlashtirish kerak bo'ladi.

Neytral tuzlar eritmaları ta'sirida oqsillarning cho'kmaga tushishi qaytar jarayon bo'lib, bu cho'kmalarni suvda eritganda qaytadan erish qobiliyatiga ega bo'ladi, ya'ni bu oqsillar o'zlarining biologik (fermentativ, antigen, immunologik, gormonal) va fizik-kimyoviy

xususiyatlarini saqlab qoladi. Oqsillarni har xil to'yinish darajasida cho'ktirish fermentlar, oqsil preparatlari, kristall (liofilizatsiyalangan) oqsillarni olishda, shuningdek, ularni boshqa moddalardan ajratish hamda tozalash maqsadida fraksiyalashda keng qo'llaniladi. Bu ishni bajarish uchun ikki xil tajriba o'tkazish tavsiya qilinadi

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, sut oqsili, bug'doy oqsili.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, voronka, filtr qog'oz.

Kerakli reaktivlar: NaCl, Na₂SO₄, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄ larning kukunlari, sirka kislotaning 2 % li eritmasi, (NH₄)₂SO₄ ning to'yingan eritmasi

1-ish. Oqsillarni NaCl, Na₂SO₄, (NH₄)₂SO₄, MgSO₄ ta'sirida cho'ktirish

Ishni bajarish tartibi. To'rtta probirka olib, shtativga joylashtiriladi va hammasiga 10 tomchidan tuxum oqsili tomiziladi. So'ng ularning birinchisiga NaCl, ikkinchisiga Na₂SO₄, uchinchisiga (NH₄)₂SO₄ va to'rtinchisiga MgSO₄ larning kukunlaridan qo'shib aralashtirgan holda eritma to'yintiriladi. Oradan 5-7 daqiqa o'tgach globulinlar cho'kadi. Cho'kmadagi globulinlarni filtrlash yoki sentrifugalash yo'li bilan ajratib olinadi. Filtrat yoki sentrifugat tarkibidagi albuminlarni cho'ktirish uchun ularga 2 tomchidan sirka kislotasi tomizib aralashmalarni nordonlashtiriladi. Albuminlar ham shu yo'sinda globulinlar kabi ajratib olinadi.

2-ish. Oqsillarni (NH₄)₂SO₄ ta'sirida cho'ktirib fraksiyalarga ajratish

Ishni bajarish tartibi. Oltita probirka olib, ikki qator qilib shtativga joylashtiriladi va birinchi qatordagi ikkita probirkaga 10 tomchi tuxum oqsili, ikkinchi qatordagi ikkita probirkaga 10 tomchi sut oqsili va uchinchi qatordagi ikkita probirkaga 10 tomchi bug'doy oqsillari solinadi. So'ng probirkalarning hammasiga 10 tomchidan (NH₄)₂SO₄ ning to'yingan eritmasidan qo'shiladi. Bunda bu tuzning yarim to'yingan eritmasi hosil bo'ladi va globulinlar cho'kmaga tushadi.

Aralashmalar tarkibidagi globulinlar 5 daqiqa o'tgandan so'ng filtrlash yo'li bilan ajratiladi. Filtratlar tarkibidagi albumin oqsilini ularga $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ning kukunidan qo'shib aralashtirish yo'li bilan to'yintirib cho'kmaga tushiriladi. Bunda albuminning zichligi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ning to'yingan eritmasini zichligidan past bo'lganligi sababli cho'kmalar aralashmaning yuza qismiga to'planadi.

Ikkala tajribani natijalari rasmiylashtiriladi va ular bo'yicha tegishli xulosalarga kelinadi.

11-LABORATORIYA ISHI OQSILLARNI OG'IR METALL TUZLARI TA'SIRIDA CHO'KTIRISH

Ishning maasadi.- turli xildagi oqsillarni og'ir metall tuzlari ta'sirida cho'ktirish reaksiyalari.

Oqsillar og'ir metall tuzlari (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ va boshqalar) ta'sirida kompleks birikmalar hosil qilib cho'kadi. Bu vaqtda og'ir metall ioni oqsil makromolekulasiga adsorbsiyalanib zaryadsizlantiriladi. Agar og'ir metall tuzi eritmasidan ortiqcha miqdorda qo'shilsa, kolloid zarracha qayta musbat zaryadlanib, cho'kma qaytadan erib ketadi.

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug'doy oqsili.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, voronka, filtr qog'oz.

Kerakli reaktivlar: FeCl_3 ning 5% li eritmasi, $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ning 5% li eritmasi, CuSO_4 ning 7% li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. 6 ta probirka olib, shtativga uchtadan qilib ikki qatorga joylashtiriladi va birinchi qatordagi uchta probirkaga tuxum oqsili eritmasidan 5 tomchidan, ikkinchi qatordagi uchta probirkaga bug'doy oqsili eritmasidan 5 tomchidan tomiziladi. So'ng birinchi va ikkinchi qatorlarning birinchi o'rinlaridagi ikkala probirkaga 1 tomchidan 5% li FeCl_3 , ikkinchi o'rinlaridagiga 1 tomchidan $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, uchinchi o'rindagilariga 1 tomchi 7% li CuSO_4 eritmasidan tomizib, cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi. So'ngra probirkalarning har biriga tegishli tarzda 5-6 tomchidan yuqoridagi tuz eritmalaridan qo'shiladi va cho'kmalarining qaytadan erib ketishi kuzatiladi.

Tajriba natijalari rasmiylashtiriladi va tegishli xulosalarga kelinadi.

12-LABORATORIYA ISHI

OQSILLARNI ORGANIK VA MINERAL KISLOTALAR TA'SIRIDA CHO'KTIRISH

Ishning maqsadi.- turli xildagi oqsillarni organik va mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish reaksiyalari.

Oqsil organik kislotalar (trixlorsirka kislota, sulfosalitsil kislota) va konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida denaturasiyaga uchraydi, suvsizlanishi va zaryadsizlanishi tufayli cho'kmaga tushadi. Sulfat va xlorid kislotalar uzoq vaqt ta'sir qilsa, oqsil qisman gidrolizga uchrab cho'kma asta-sekin erib ketadi. Nitrat kislotalada cho'kma sekin eriydi. Biomateriallar tarkibidagi oqsillarni cho'ktirish uchun organik kislotalar keng qo'llaniladi. Trixlorsirka kislota miqdoriy biokimyoviy tahlillarda oqsilsiz filtrat olish uchun, sulfosalitsil kislota, nitrat kislota klinik laboratoriyalarda siydik va boshqa biologik suyuqliklardagi oqsilni mavjudligini aniqlash uchun ishlatiladi. Bu ishni bajarish uchun quyidagi ikkita tajribani o'tkazish lozim bo'ladi.

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug'doy oqsili.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: HNO_3 va H_2SO_4 konsentrlangan eritmalari, 10 % li uchxor sirka kislota, 10 % li sulfosalitsil kislota.

1-ish. Oqsillarni anorganik kislotalar yordamida cho'ktirish

Ishni bajarish tartibi. 4 ta probirka olib, ularning ikkitasiga 10-tomchi konsentrlangan nitrat kislota, yana ikkitasiga shuncha miqdorda konsentrlangan sulfat kislota quyiladi. To'rtala probirkani navbatma-navbat 45° li burchak hosil qilib qiyshaytirib, oldingi ikkitasiga 10 tomchi tuxum oqsili eritmasidan, keyingi ikkitasiga bug'doy oqsili eritmasidan ohistalik bilan tomiziladi. Probirkalardagi har ikki qavat suyuqlik chegarasida yupqa oqsil cho'kmasining pardasi hosil bo'ladi.

2-ish. Oqsillarni organik kislotalar yordamida cho'ktirish

Ishni bajarish tartibi. 4 ta probirka olib, ularni juftlab ikkitasiga 2-tomchi 10 % li uchxor sirka kislota, yana ikkitasiga shuncha miqdorda

10 % li sulfosalitsil kislotaga quyiladi. Keyin cho'ktiruvchi eritmalar bo'yicha yuqoridagi tartibda juftlangan probirkalarga o'zaro moslashtirgan holda tuxum va bug'doy oqsili eritmalaridan 5 tomchidan tomiziladi. Bunda hamma probirkalarda oq cho'kmaning hosil bo'lganligi kuzatiladi.

Ikkala tajriba bo'yicha ham tegishli xulosalar keltirib chiqariladi.

13-LABORATORIYA ISHI OQSILLARNI ORGANIK ERITUVCHILAR TA'SIRIDA CHO'KTIRISH.

Ishning maqsadi - turli xildagi oqsillarni organik erituvchilar ta'sirida cho'ktirish reaksiyalari.

Oqsil eritmasiga ko'p miqdorda spirt yoki aseton qo'shilsa, oqsilning loyqasi yoki pag'a-pag'a cho'kmasi hosil bo'ladi.

Bu reaksiya oqsil kolloid zarrachasining suvsizlanishiga asoslangan. Bunda oqsil kolloid zarrachasining gidrat qavatidagi suv molekularini suvi organik erituvchi tomonidan tortib olinadi va oqsil cho'kmaga tushadi. Oqsil neytral yoki kuchsiz kislotali eritmalarda oson cho'kadi. Agar aralashmaga elektrolit qo'shilsa, cho'kish tezlashadi.

Shu narsa ham e'tiborga molikki, organik erituvchilar past temperaturada 0-15° da qisqa vaqt ichida ta'sir qilsa, oqsil nativ (yani tabiiy) holatini saqlab qoladi, bu erituvchilar ko'proq muddatda ta'sir qilsa, oqsil denaturatsiyaga uchraydi

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug'doy oqsili.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: etanol 96 %yoki atseton

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib ularning har biriga 5 tomchidan 1 % li tuxum oqsili, ikinchisiga bug'doy oqsilidan va ularning har biriga 20-25 tomchidan 96% li spirt yoki aseton qo'shiladi, eritmalar loyqalanadi. Ularning ustiga 1 tomchidan NaOH ning to'yingan eritmasidan qo'shiladi. Biroz turgach oqsil cho'kmaga tushadi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

1. Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari nimaga bog'liq?
2. Oqsillarni cho'kmaga tushirish mexanizmi nimaga bog'liq?
3. Qanday harorat sharoitlarida oqsillarni cho'ktirish mumkin?
4. Oqsillarni cho'ktirish qanday usulda amalga oshiriladi?
5. Oqsillar qanday eritmada cho'kmaga tushmaydi?
6. Oqsillarni alkaloid reaktivlar bilan cho'ktirish qanday guruhlariga asoslangan?
7. Denaturatsiya nima?
8. Renaturatsiyachi?
9. Oqsillarning qaytar va qaytmas cho'ktirilishi nimaga bog'liq?
10. Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalaridan nimada foydalaniladi?
11. Oqsillarni tasniflanishi?
12. Oddiy oqsillarga qaysi oqsillar kiradi?
13. Murakkab oqsillargachi?
14. Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalarida qaysi neytral tuzlardan foydalaniladi?
15. Oqsillarni cho'ktirishda qaysi organik kislotalardan foydalaniladi?

OQSILLARNI DIALIZ QILISH VA ULARNING IZOELEKTIRIK NUQTALARINI ANIQLASH

Dializ. Oqsillarni neytral tuzlar eritmaları va organik moddalar yordamida cho'ktirish, xromatografiya va elektroforez usullarida tozalash jarayonlarida xilma xil anorganik moddalardan foydalanilgani uchun oqsil preparati past molekullari chiqindi moddalar bilan aralashma holda bo'ladi. Oqsillarni bu chiqindilardan, ayniqsa tuzlarning ionlaridan to'liq tozalash uchun kristallizatsiyalash, ultrafiltratsiyalash, dializlash va elektrodializlash usulalaridan foydalanish lozim bo'ladi.

Ma'lumki, oqsil eritmaları kolloid eritmalar jumlasiga kiradi. Yuqori molekular birikmalarining kolloid eritmalarini past molekullari moddalardan tozalash dializ deb ataladi.

Kolloid zarrachalar yarim o'tkazgich parda (hayvon va o'simlik membranaları, kolloidiy, sellofan) orqali o'tmaydi. Tuzlar, qand va boshqa quyi molekulyar birikmalar esa membrana orqali osongina o'ta oladi. Shunga asoslanib yuqori molekular moddalar, xususan oqsil eritmaları kolloidiy yoki sellofan xaltachaga quyilib distillangan suvli idishga solinsa yoki vodoprovod suvi oqimiga joylashtirilsa, eritma tarkibidagi tuz va boshqa past molekullari moddalar yuvilib chiqib ketadi, oqsil esa xaltacha ichida qoladi.

Dializ o'tkaziladigan idishning ikki tomoniga elektrodlar (katod va anod) joylashtirilsa dializ jadallashadi. Dializning shu yo'sinda o'tkazilishi elektrodializ deyiladi. Dializ usuli klinikalarda va ilmiy tadqiqot laboratoriyalarida oqsillarni eritmalaridan ular bilan aralashgan turli kristalloidlardan tozalashda qo'llaniladi.

Oqsillarning izoelektrik nuqtasi. Oqsillar suvli eritmalarda kolloid eritmalar hosil qiladi va ma'lum zaryadga (musbat yoki manfiy) ega bo'ladi. Kolloid zarrachaning zaryadi oqsillarning aminokislota tarkibiga, undagi ionogen guruhlarining miqdori va nisbatiga bog'liq. Izoelektrik nuqtada oqsil kolloidi zarrachalarini musbat va manfiy zaryadlari o'zaro teng, ya'ni elektroneytral bo'lib, amfoterlik xossasini namoyon qiladi, hamda elektr maydonida harakatlanmaydi. Oqsillarning aminokislota tarkibini bilgan holda, ularning izoelektrik nuqtalari (pH

belgilanadi) haqida dastlabki xulosaga kelish mumkin bo'ladi. Oqsillar turli darajadagi pH muhitlarida izoelektrik holatga o'tadi, ya'ni ularning dissotsilangan musbat va manfiy zaryadli funksional guruhlarining soni tenglashib, kolloid zarrachaning umumiy zaryadi nolga teng bo'lib qoladi. Ko'p oqsillarning izoelektrik nuqtalari pH ning 5,5 dan 7,0 gacha chegarasida bo'ladi va bu narsa o'z navbatida tabiiy oqsillar tarkibida nordon amino kislota (asparagin va glutamin) larning ko'proq uchrashidan dalolat beradi. Lekin tabiatda izoelektrik nuqtasi bu pH chegarasidan ancha farqlanuvchi oqsillar ham uchraydi. Bu oqsillar jumlasiga izoelektrik nuqtasi, ya'ni $pH = 1,0$ bo'lgan pepsinni va $pH = 12,0$ bo'lgan salminni misol sifatida keltirish mumkin bo'ladi.

Izoelektrik nuqtada oqsillar eritmadagi barqarorligini yo'qotadi va osongina cho'kmaga tushadi. Ko'p jihatdan oqsillarning izoelektrik nuqtalari eritmada tuz ionlarining mavjudligiga va shu bilan birgalikda uning ko'rsatkichi oqsillarning konsentratsiyasiga ham bog'liq bo'ladi. Izoelektrik nuqtada oqsil eritmasiga ozgina miqdorda suv tortib oluvchi yoki boshqa cho'ktiruvchi modda qo'shilsa, oqsil tezda suv qobig'ini yuqotib eritmada batamom cho'kadi.

Darsning maqsadi. Dializ to'qimalarning yarim o'kazuvchanligiga asoslangan bo'lib, kolloidiy yoki sellofan xaltachadan past molekularli birikmalarni o'tishi, oqsil kabi yuqori molekulyar birikmalarni saqlanib qolishi va oqsillarning izoelektrik nuqtalarini o'rganishga oid bilimlarni tajribalar asosida mustahkamlash.

14-LABORATORIYA ISHI OQSILLARNI DIALIZLASH

Ishning maqsadi.- turli xildagi ajratib olingan oqsillarni dializ qilish orqali tuzlardan tozalash.

Kerakli biomaterial: $(NH_4)_2SO_4$ aralashgan tuxum oqsili eritmasi.

Kerakli jihozlar: uzunligi 4-5 sm, diametri 2,5-3 sm li probirka, sellofan, shisha tayyoqcha, rezina halqa, kimyoviy stakan.

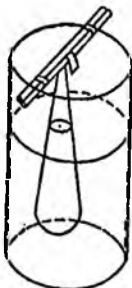
Kerakli reaktivlar: kolloidiyning spirtli eritmasi, bariy xloridning 1 % li eritmasi, NaOH ning 10 % li eritmasi, $CuSO_4$ ning 1 % li eritmasi, $BaCl_2$ ning 1% li eritmasi.

1-ish. Kollodiy xaltacha tayyorlash

Ishni bajarish tartibi. Toza quruq probirka (diametri 2,5-3 sm, uzunligi 4-5 sm) og'zigacha kollodiy eritmasi quyib, qaytadan idishga ag'darib olinadi. Agar kollodiy ozroq bo'lsa, probirkani 1/3 qismiga eritma quyib, probirkani asta-sekin aylantirib devorining hamma tomonini kollodiy xaltacha eritmasi bilan batamom ho'llanadi, probirka devorida qolgan eritma kollodiy xaltacha tayyorlash uchun yetarli bo'ladi. Probirka og'zini kaft bilan berkitilib, asta-sekin aylantiriladi, bunda kollodiyning devor bo'ylab bir xilda tarqalishi ta'minlanadi. Probirka qo'lda isib, spirt bug'lana boshlaydi, kollodiy quriydi. 5 - 10 daqiqadan keyin probirkaga to'latib suv quyiladi. Kollodiy xaltacha devoridan ajralgandan keyin, pinset bilan asta-sekin probirka chekkasidan ajratib olinadi. Kollodiy xaltachaning butunligini tekshirish uchun distillangan suv quyiladi.

2-ish. Oqsilning tuzli eritmasini dializlash

Ishni bajarish tartibi. Kollodiy yoki sellofan xaltacha (dializator) ning 1/3 hajmiga qadar tuxum oqsilining $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bilan aralashgan



Oqsilni dializlash

eritmasidan quyiladi. Xaltacha yuqori qismidan ikkita shisha tayoqchadan rezina halqa yordamida tayyorlangan qisqichga mahkamlanib, distillangan suvli stakanga 1-2 soat davomida solib quyiladi (2-rasm). 1-2 soatdan keyin dializat (tashqaridagi suyuqlik) va dializlanayotgan suyuqliklardan olib oqsil va sulfatlarga xos reaksiyalar qilib ko'riladi. Bunda oqsilning tuzli eritmasidagi ammoniy va sulfat anionlari dissotsiatsiyalanib yarim o'tkazgich pardadan tashqariga chiqqani, oqsil esa, yirik kolloid zarracha bo'lganligi sababli bu pardadan o'tolmasdan xaltachaning ichida qolganiga ishonch hosil qilinadi.

3 - ish. Dializatda sulfatlar borligi va oqsilning yo'qligini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib 10 tomchidan dializat solinadi. So'ng ularning birinchisiga 10 tomchi 1% li BaCl_2 eritmasidan qo'shiladi. Ikkinchi probirkaga 5 tomchi 10 % li NaOH va 1 tomchi 1%li CuSO_4 qo'shib qizdiriladi. Bunda birinchi probirkadagi aralashma oq rangli BaSO_4 loyqasiga aylanishi kuzatiladi. Ikkinchi probirkadagi reaksiya oqsilga xos reaksiya bo'lib rang bo'yicha o'zgarish bo'lmaydi. Demak, dializ natijasida sulfat ionlarining yarim o'tkazgich parda orqali dializatga o'tganligi va oqsil zarrachalari esa o'taolmaganligi o'z isbotini topadi.

4 - ish. Dializlanayotgan suyuqlikda sulfatlarning yo'qligi va oqsilning borligini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib yuqoridagi tartibda tajriba o'tkaziladi, lekin uning farqli jihati shundan iborat bo'ladiki, tajriba uchun olingan dializat o'rniga dializlanayotgan suyuqlikni dializ xaltachasidan olib ishlatiladi. Bunda agar dializ oxiriga yetgan bo'lsa birinchi probirkadagi BaCl_2 bilan bo'lib o'tgan reaksiya natijasida oq loyqa hosil bo'lmaydi. Ikkinchi probirkadagi aralashma esa, qizg'ish-binafsha rangga bo'yaladi. Demak, dializlanayotgan oqsilning tuzli eritmasi tarkibidagi ammoniy sulfat ionlari yarim o'tkazgich orqali stakandagi suvga o'tib ketgan, oqsilning makromolekulalari esa undan o'taolmaganligi tufayli oqsilga xos sifat reaksiyasi ijobiy chiqdi degan xulosaga kelinadi.

OQSILLARNI MIQDORIY KO'RSATKICHLARINI ANIQLASH

Oqsillar tirik organizmlar massasini asosiy qismini tashkil qilganligi sababli biomateriallar tarkibidagi ularning miqdorini aniqlash muhim ahamiyatga ega. Biomateriallar tarkibidagi oqsillarni miqdoriy ko'rsatkichini kolorimetrik, azot miqdorini aniqlash orqali, refraktometrik va spektrofotometrik uslublar asosida aniqlanadi. Oqsillarni miqdoriy ko'rsatkichini kolorimetrik aniqlash biuret reaktivi

yordamida va Louri metodidan foydalangan holda amalga oshirilishi mumkin.

Darsning maqsadi. Biokimyoviy tadqiqotlarda qo'llaniladigan oqsillarni miqdoriy tahlil qilish uslublarini o'rganish va ularni o'tkazish malakalarini shakllantirish.

15-LABORATORIYA ISHI **KOLORIMETRIK USULDA OQSIL MIQDORINI ANIQLASH**

Ishning maqsadi. - turli xildagi ajratib olingan eritmadagi oqsillarni miqdorini kolorimetrik usulda aniqlash.

1-ish. Biuret reaktivi yordamida oqsilni aniqlash

Yuqorida keltirilganidek bu usul oqsil biokimyosida eng ko'p qo'llaniladigan usublardan biri hisoblanadi.

U oqsillarning birlamchi tuzilmasini hosil qiluvchi peptid bog'laming ishqoriy muhitda ikki valentli mis ionlari bilan birikib kompleks birikma hosil qilish orqali binafsha rangga bo'yalishiga asoslangan.

Kerakli biomaterial: oqsilli eritma, ya'ni dorixonada sotuvda bo'lgan albumin oqsili (liofilizatsiyalangan).

Kerakli jihozlar: FEK, shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: 1. Oqsilning standart eritmasi, masalan, 1 ml da 10 mg oqsil tutuvchi zardob albumini.

2. Quyidagi tartibda tayyorlangan biuret reaktivi. 0,15 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ va 0,6 g $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (vino kislotasini natriy - kaliyli tuzi)ni 50 ml distillangan suv solib aralashtirilib eritiladi va uni ustiga 30 ml 10 % li NaOH hamda 0,1g KI qo'shiladi, keyin aralashmaning umumiy hajmi distillangan suv yordamida 100 ml ga yetkaziladi.

Ishni bajarish tartibi. Oldindan albuminning standart eritmasiga asoslangan holda kalibrlangan egri chiziq chiziladi.

Buning uchun 1 ml da 2 mg dan 10 mg gacha oqsil eritmasiga 4 ml biuret reaktivi qo'shib yaxshilab aralashtiriladi va uy havosi haroratida 30 daqiqa saqlanadi, so'ng FEK da 540 nm to'lqin uzunligida kolorimetrlanadi.

Olingan ma'lumotlardan foydalanib kalibrlangan egri chiziq grafigi chiziladi (2-ishda grafik rasm berilgan). Tadqiq qilinuvchi eritmalaridagi oqsilning miqdorini aniqlashda ham kalibrlangan egri chiziq grafigiga asoslangan holda hisoblab topiladi.

Tahlil natijalarini umumlashtirganda shu narsaga e'tiborni qaratish lozimki, aralashmada ammoniy tuzlarining bo'lishi tahlilning aniqligiga halaqit beradi.

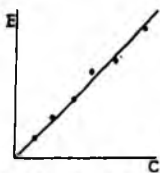
2-ish. Louri-Folin-Chokalteu uslubi yordamida oqsil miqdorini aniqlash

Bu uslub aromatik aminokislotalarning Folin reaktivi yordamida peptid bog'larning biuret reaksiyasi bilan birgalikda bo'yalgan mahsulotlarning hosil qilishiga asoslangan. Louri metodi bo'yicha oqsil miqdorini aniqlashning sezgirlik darajasi juda yuqori bo'lib, namuna tarkibida 10-100 mkg oqsil bo'lganda ham aniqlash imkonini beradi.

Kerakli biomaterial: oqsilli eritma namunasi dorixonalarda sotuvda bo'lgan albumin.

Kerakli jihozlar: FEK, shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: Na_2CO_3 ning 0,1 N NaOH dagi 2 % li eritmasi (1), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ning 1 % li natriy sitratdagi 0,5 % li (2) eritmasi. Ishchi eritmani tayyorlash uchun (2) reaktivini 1 ml ni (1) reaktivning 50 ml bilan aralashtiriladi.



Bunda ordinata o'qida
FEK ko'rsatkichi - E,
absissa o'qiga oqsilning
konsentratsiyasi joylashtiriladi - C.

Folin-Chokalteu reaktivuini quyidagi tarzda (tayyorlash: 10 g $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ va 2,5 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ni 250 ml li yumaloq tubli kolbaga solinadi, uni ustiga 70 ml distillangan suv qo'shib yaxshilab aralashtiriladi. Hosil bo'lgan aralashmaga 5 ml 85% li fosfat kislotasi va 10 ml konsentrlangan xlorid kislotasi qo'shiladi.

Kolbaga teskari sovutkichli moslamaga ulab, asbest qog'ozli elektroplitka ustiga joylashtiriladi va 10 soat davomida qaynatiladi. So'ng aralashmaga 15 g Li_2SO_4 , 5 ml suv va bir

tomchi brom qo'shiladi. Aralashma sovutilib, distillangan suv yordamida hajmi 100 ml ga yetkaziladi.

Hosil bo'lgan eritma 1 N kislotada darajasidagi nordonlikka ega bo'lgunga qadar suv qo'shiladi (ya'ni taxminan ikki marta suv yordamida suyultiriladi). Buning uchun reaktivning nordonligi fenoltalein ishtirokida 10 marta suyultirilgan 0,1 N natriy ishqori bilan titrlanadi. Tayyorlangan Folin-Chokalteu reaktivini yorug'likdan himoyalangan idishda uzoq muddatda saqlash mumkin bo'ladi.

Ishni bajarish tartibi. Dastlab standart tarkibida 10-100 mkg oqsil bo'lgan tadqiq qilinuvchi eritma (0,4 ml) probirkaga solinadi, unga ishchi eritmadan 2 ml qo'shiladi, yaxshilab aralashtiriladi va xona haroratida 10 daqiqa saqlanadi. Aralashmani ustiga 0,2 ml Folin-Chokalteu reaktivi qo'shib yaxshilab aralashtiriladi hamda 30 daqiqa o'tgandan keyin FEK da 750 nm da kolorimetrlanadi. Oldindan oqsilning standart eritmasiga asoslangan tarzda kalibrlangan egri chiziq grafigi chiziladi. Tajriba namunalari tarkibidagi oqsil miqdori xuddi shu yo'sindagi tartibda o'lchovlardan o'tkaziladi va so'ng kalibrlangan egri chiziq grafigiga asoslangan holda hisoblab topiladi.

16-LABORATORIYA ISHI **OQSIL MIQDORINI REFRAKTOMETRIK USULDA ANIQLASH**

Ishning maqsadi. - turli xildagi ajratib olingan eritmadagi oqsillarni miqdorini refraktometr usulda aniqlash.

Refraktometning ishlash tamyili har xil eritmali muhitning yorug'lik nurini o'tkazishi bir xil bo'lmaganligiga asoslanadi. Tushish burchagi sinusini sinish burchagi sinusiga bo'lgan nisbati sinish ko'rsatkichi (koeffitsiyenti) deyiladi:

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = n$$

Eritmaning refraksiya darajasi unda erigan zarrachalarning miqdori, kattaligi va fizik holati, shuningdek tashqi muhit harorati bilan bog'liq. Biologik suyuqliklarda, masalan qon zardobida, refraksiya

darajasi birinchi navbatda oqsillarning miqdori va sifatiga bog'liq, tuzlar va boshqa tarkibiy qism moddalarining roli kam. Sinish ko'rsatkichini aniqlashda maxsus asboblardan refraktometrlardan foydalaniladi.

Bu refraktometr prizma bilan tugaydigan obyektiv va okulyarga ega bo'lgan ko'rish trubasi (A) dan iborat. Asbobda chiziqlar bilan ajratilgan shkala mavjud, ular yordamida ko'rish chegarasidagi yorug' va qorong' i chegarani farqlash mumkin.

Kompensator (K) va mikrometrik buragich (M) yordamida shkalani surib o'zgartirib ko'rish chegarasidagi yorug'lik va qorong'ulik nuqtasi aniq belgilab olinadi. Refraksiya ko'rsatkichini aniqlash maxsus rezervuar- hammom (B) da ma'lum harorat ($17,5^{\circ}\text{C}$) da amalga oshiriladi. Hammomga termometr (T) o'rnatilgan. Qon zardobi tarkibidagi oqsilni mikrometod yordamida qo'shimcha prizmadan foydalangan holda aniqlanadi.

Kerakli biomaterial: oqsilli eritma.

Kerakli jihozlar: refraktometr, shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: 0,9 % li natriy xlor eritmasi, distillangan suv.

Ishni bajarish tartibi. Refraktometrni gorizontal holatga keltirib, asosiy prizmaga bir tomchi qon zardobi yoki oqsilli eritma tomiziladi va uni qo'shimcha yopib mahkamlagich (D) yo'li bilan mahkamlanadi. So'ng refraktometrning pastki uchi mahkamlagichli tomoni bilan suvli hammomga botiriladi.

Ko'zgu (Z) ni prizmadagi yorug'likni qaytaradigan qilib joylashtiriladi. Asbobdagi harorat suv hammomi darajasiga yetgan (taxminan 10 daqiqa) dan keyin hisoblashga kirishiladi.

Buning uchun kompensator K ni burash orqali ko'rish chegarasining yoritilgan va qorong'i qismlarini ravshanlashuviga erishiladi. Mikrometrik vintni burash yo'li bilan uning chizig'ini aniq chegarasi topiladi. Shkaladan mikrometrik vintdagi butun son va uning o'ndan bir ulushi ko'rsatkichlari yozib olinadi.

Olingan natijalarni eksperimental yo'l bilan keltirib chiqarilgan 5-jadval ma'lumotlaridan foydalangan holda oqsilning miqdoriy ko'rsatkichini aniqlash uchun foydalaniladi. Refraktometrning asosiy

prizmasini har gal 0,9% NaCl eritmasi va distillangan suv bilan yuvib so'ng ariladi.

5-jadval quyidagi tartibda tuzilgan. Birinchi vertikal ustun yorug'likning sinish ko'rsatkichini, ikkinchisi uning shkaladagi ko'rsatkichini, uchinchisi - qon zardobi tarkibidagi oqsilning foiz miqdorini, to'rtinchisida oqsil miqdorini o'ndan bir foiz ulushini hisoblash

5-jadval

Oqsilning % miqdorini nur sindirish ko'rsatkichiga binoan hisoblash

Sinish ko'rsatkichi	Qon zardobi				Sinish ko'rsatkichi	Qon zardobi			
	Shkaladagi ko'rsatkich	Oqsul %	Shkaladagi ko'rsatkich			Shkaladagi ko'rsatkich	Oqsul %	Interpolyatsion jadvallar	
1,33705	25	0,63			1,34575	48	5,68	0,8	0,17
1,33743	26	0,86	Int. jad. 20		1,34612	49	5,90	0,9	0,19
1,33781	27	1,08			1,34650	50	6,12		
1,33820	28	1,30	0,1	0,02	1,34687	51	6,34		
1,33858	29	1,52	0,2	0,04	1,34724	52	6,55	Int. jad. 22	
1,33896	30	1,74	0,3	0,06	1,34761	53	6,77		
1,33934	31	1,96	0,4	0,08	1,34798	54	6,98		
1,33972	32	2,18	0,5	0,10	1,34876	55	7,20		
1,34000	33	2,40	0,6	0,12	1,34870	56	7,42	0,1	0,02
1,34048	34	2,62	0,7	0,14	1,34910	57	7,63	0,2	0,04
1,34086	35	2,84	0,8	0,16	1,34947	58	7,85	0,3	0,06
1,34124	36	3,06	0,9	0,18	1,34984	59	8,06	0,4	0,08
1,34162	37	3,28			1,35021	60	8,28	0,5	0,10
1,34199	38	3,50	Int. jad. 21		1,35058	61	8,49	0,6	0,12
1,34237	39	3,72			1,35095	62	8,71	0,7	0,15
1,34275	40	3,94			1,35132	63	8,92	0,8	0,17
1,34313	41	4,16	0,1	0,02	1,35169	64	9,14	0,9	0,120
1,34350	42	4,38	0,2	0,04	1,35205	65	9,35		
1,34388	43	4,60	0,3	0,06	1,35242	66	9,57		
1,34426	44	4,81	0,4	0,08	1,35279	67	9,78		

1,34463	45	5,03	0,5	0,11	1,35316	68	9,99		
1,34500	46	5,25	0,6	0,13	1,35352	69	10,20		
1,34537	47	5,47	0,7	0,15	1,35388	70	10,41		

uchun kerak bo'lgan (mikrometrik buragich yordamida aniqlanadigan) interpolyasion jadval keltirilgan. Masalan, qon zardobi oqsilini miqdorini aniqlashda ko'rish chegarasini ravshanlashuvi shkalada «51» va mikrometrik vint shkalasida «7» ekanligi ma'lum bo'ldi, ya'ni o'lchov natijasi 51,7 ga tengligi aniqlandi. 5-jadvaldan «51» oqsilning miqdori 6,34 % ligi; bir bo'lak (51 va 52 bo'laklardagi farq) 0,21 ekanligi ko'rinib turibdi. Interpolyasion jadval (int.jad.21) dagi 0,7 ko'rsatkich 0,15 ga teng. Demak, 51,7 ko'rsatkich tadqiq qilingan qon zardobi tarkibidagi oqsilning miqdori foiz hisobida: $6,34 + 0,15 = 6,49$ ekanligini ko'rsatadi.

17-LABORATORIYA ISHI OQSIL MIQDORINI SPEKTROFOTOMETRIK USULDA ANIQLASH.

Ishning maqsadi. - turli xildagi ajratib olingan eritmadagi oqsillarni miqdorini spektrofotomer usulda aniqlash.

Kerakli biomaterial: oqsilli eritma, qon zardobi.

Kerakli jihozlar: spektrofotomer, shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: 0,9 % li natriy xlor eritmasi, distillangan suv.

Oqsillar miqdorini spektrofotometrik uslubda aniqlash ularning tarkibida bo'lgan aromatik aminokislotalar (triptofan, tirozin qisman fenilalaninlar)ning 280 nm to'lqin uzunligida ultrabinafsha nurni maksimal yutish qobiliyatiga ega bo'lishiga asoslangan.

Shu to'lqin uzunligida o'lchov o'tkazish orqali eritmadagi oqsil miqdori aniqlanadi. Oqsillarni bir xil miqdorda olinganda ularning tarkibidagi aromatik aminokislotalarning miqdoriy ko'rsatkichlari har xil bo'lganligi sababli nurni yutish ko'rsatkichlari ham bir xil bo'lmaydi.

Lekin bunda konsentrasiyasi shartli ravishda «o'rtacha qiymatga», ya'ni 1 mg/ml ga keltirilgan oqsil eritmasini 280 nm da (suyuqlik qatlamini qalinligi 1 sm bo'lganda) optik zichligini 1,0 deb qabul

qilinadi. Oqsil eritmasi tarkibida nuklein kislotalar yoki nukleotidlarning bo'lishi bu uslub yordamida oqsil miqdorini aniqlashga halaqit beradi. Bir xil oqsil eritmasining optik zichligini 260 nm va 280 nm da o'lchash orqali nomogrammadan foydalanib miqdoriy tahlil o'tkazish mumkin.

Ishni bajarish tartibi. Buning uchun eksperimental yo'l bilan 260 nm va 280 nm to'lqin uzunliklarida aniqlangan optik zichliklar nomogrammaning tegishli ustunchalaridan topiladi va ularni to'g'ri chiziq bilan birlashtiriladi bu chiziqning shkala bilan kesishgan joyiga qarab tatqiq qilinayotgan eritmada oqsilning konsentratsiyasi aniqlanadi.

Shuningdek shu ma'lumotlardan foydalanib 280 nm va 260 nm da optik zichliklarni aniqlash ko'rsatkichlari asosida Kalkar formulasi yordamida oqsil miqdorini aniqlash mumkin. Bu ishni amalga oshirish oqsil miqdorini $=1,45 \cdot D_{280} - 0,74 \cdot D_{260}$ mg/ml hisobida hisoblash imkonini beradi.

QQSILLARNI GIDROLIZLASH

Tabiatda 500 ga yaqin aminokislotalarning uchrashi isbotlangan, ulardan 20 tasi barcha tirikorganizmlarning oqsillari tarkibiga kiradi, shuning uchun ularni proteinogen aminokislotalar deyiladi.

Qolgan tabiiy aminokislotalar oqsillar, Uglevodlar va lipidlarning almashinuvini oraliq mahsulotlari sifatida hosil bo'lishi mumkin.

Yuzlab oqsillarning aminokislota tarkibi batafsil o'rganilgan va har bir oqsil aminokislota tarkibining ham sifat, ham miqdor jihatdan farq qilinishi aniqlangan, quyida misol tariqasida ulardan ba'zilari keltirilgan (6-jadval).

Aminokislotalarni ulardagi radikallarni kimyoviy tuzilishiga asoslangan holda tasniflanadi.

Eng avvalo aromatik va alifatik hamda oltingugurt yoki gidroksil guruhlarini tutuvchi aminokislotalar farqlanadi.

Agar radikal neytral (bir amino - va bir karboksil guruhli) bo'lsa, ularni neytral aminokislotalar deyiladi.

Agar aminokislolaning amino - yoki karboksilguruhi ziyod bo'lsa, unda ularni o'zaro mos holda asosli yoki nordon aminokislotalar deyiladi.

Aminokislotalarni zamonaviy tasniflanishi radikallarning qutbligiga asoslangan, ya'ni ularning suv bilan ta'sirlanish xususiyatiga bog'liq holda amalga oshiriladi.

Shu nuqtai nazardan aminokislotalarni 4 ta sinfga bo'linadi:

- qutbsiz (gidrofob);
- qutbli (gidrofil);
- nordon (manfiy zaryadlangan);
- asosli (musbat zaryadlangan).

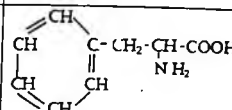
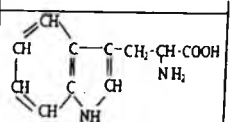
6-jadval

Ba'zi oqsillarning aminokislota tarkiblari haqida ma'lumot
(% hisobida).

Aminokislota	Pepsin	Tuxum albomini	Or mioglobini	Or gemoglobini	Xo'kir mushagi	Kazein	Arpa	Mol ga'ikti
Alanin	4,51	6,72	7,95	7,40	4,0	2,8	0,43	1,432
Glisin	8,10	3,05	5,85	5,60	5,0	0,6	0,33	1,128
Valin	7,09	7,05	4,09	9,10	5,8	6,7	0,41	1,168
Leysin	10,43	9,20	16,80	15,40	7,7	9,9	0,77	2,035
Izoleysin	10,03	7,0	-	-	6,3	6,5	0,35	1,10
Prolin	4,90	3,60	3,84	3,90	6,0	8,0	1,43	1,043
Fenilalanin	6,73	7,66	6,09	7,70	4,9	5,2	0,60	0,96
Tirozin	9,40	3,68	2,40	3,03	3,4	6,9	0,43	0,87
Triptofan	3,50	1,20	2,34	1,70	1,3	1,4	-	0,25
Serin	13,20	8,15	3,46	5,80	5,4	7,5	0,25	2,04
Treonin	9,50	4,03	4,56	4,36	4,6	4,1	0,33	1,09
Sistein	1,45	1,35	-	0,56	2,6	0,6	0,50	0,27

Metionin	2,07	5,20	1,71	1,00	3.3	3.5	0,18	0,66
Arginin	0,97	5,72	2,20	3,65	7.7	4.2	0,80	1,62
Gistidin	0,47	2,35	8,50	8,71	2.9	2.5	0,32	0,86
Lizin	0,43	6,30	15,50	8,51	8.1	7.9	0,44	2,25
Aspartat	16,63	9,30	8,20	10,60	6.0	6.3	0,57	2,87
Glutamat	11,34	16,50	16,68	8,50	15.4	24.2	2.90	3,88

6 - jadval ma'lumotlaridan ko'rinib turibdiki, har xil oqsillarning aminokislota tarkiblari bir biridan ancha farq qiladi.

I. Qutbsiz (gidrofob) aminokislotalar:			
L-alanin	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$	L-Metionin	$\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$ $\text{S}-\text{CH}_3$
L-valin	$\text{CH}_3-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{C}}}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$	L-prolin	CH_2-CH_2 $\text{CH}_2 \quad \text{CH}-\text{COOH}$ $\quad \quad \quad \text{NH}$
L-leysin	$\text{CH}_3-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$	L-Fenilalanin	
L-izoleysin	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{C}}}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$	L-Triptofan	
II. Qutbli (gidrofil) aminokislotalar:			
L-Glisin	$\text{H}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$	L-Tirozin	$\text{HO}-\text{C}=\text{CH}-\text{CH}=\text{C}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$ $\quad \quad \quad \text{CH}=\text{CH}$
L-Serin	$\underset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{C}}}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$	L-Asparagin	$\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$ $\quad \quad \quad \text{NH}_2$

L-Treonin	$\text{CH}_3-\underset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{C}}}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$	L-Glutamin	$\text{O}=\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$
L-Sistein	$\underset{\text{SH}}{\underset{ }{\text{C}}}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$		
III. Nordon (manfiy zaryadlangan) aminokislotalar:			
L-Asparagin kislota	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$	L-Glutamin kislota	$\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$
IV. Asosli (musbat zaryadlangan) aminokislotalar			
L-lizin	$\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$	L-gistidin $\begin{array}{c} \text{CH}=\text{C}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH} \\ \qquad \\ \text{N} \qquad \text{NH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{CH} \end{array}$	
L-arginin	$\text{HN}=\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{COOH}$		

Oqsillarning aminokislota tarkibini miqdoriy va sifatijihatdan o'rganish uchun bu makromolekulyar moddalarni gidrolizlash talab qilinadi. Qo'llaniladigan katalizatorlarga qarab gidroliz kislotali, ishqoriy va fermentativ bo'lishi mumkin.

Odatda laboratoriya sharoitida kislotali gidrolizdan ko'proq foydalaniladi. Ishqoriy gidrolizdan triptofanning miqdorini aniqlashda foydalaniladi.

Chunki triptofan ishqoriy gidrolizda deyarli o'zgarishga duch kelmaydi, qolgan aminokislotalarning ancha qismi parchalanib ketadi. Kislotali gidrolizda triptofan to'liq, serin, treonin, sistein, tirozin va fenilalaninlar qisman parchalanadi.

Darsning maqsadi. Biologik materiallar tarkibidagi oqsillarni gidrolizini laboratoriya sharoitida amalga oshirib, oqsillarni bosqichma bosqich parchalanishini, gidroliz natijasida karboksil va aminoguruhlarining oshaborishini, gidrolizning nihoyasida aminoguruhlar sonini doimiy bo'lib qolishini e'tiborga olib, ularni bilvosita yo'l bilan sarhisob qilish orqali nazariy bilim, ko'nikma va malakalarni shakllantirish.

18-LABORATORIYA ISHI OQSILLARNI KISLOTALI GIDROLIZI

Ishning maqsadi. - turli xildagi ajratib olingan oqsillarni kislotali gidroliz qilish.

Bu ishni bajarishda uch xil tajriba o'tkazish lozim bo'ladi, ya'ni gidrolizni amalga oshirish, oqsillarni gidrolizlanish darajasini Syorensonning formol titrlash uslubida aniqlash va gidroliz natijalariga muvofiq oqsillarni parchalanish darajasini baholash amalga oshiriladi.

Kerakli biomaterial: tuxum oqsili, bug'doy, sut globulini, sut kazeini.

Kerakli jihozlar: 100 ml hajmdagi yumaloq tubli kolba, o'lchagich silindr, yumaloq tubli kolbaga mos bo'lgan havo sovitkichi vazifasini bajaruvchi shisha nay o'rnatilgan tiqin, qisqichlari bilan birgalikdagi shtativ, gaz gorelka yoki spirt lampa, pipetkalar, 5 ml li o'lchov probirkasi, pipetkalar, mikrobyuretkalar.

Kerakli reaktivlar: Konsentrlangan xlorid kislotasi va uning 1 % li eritmasi, 10 % va 0,005 N natriy ishqori eritmasi, mis sulfatning 1 % li eritmasi, pista ko'mir, neytral formalin 20% li, fenolftaleinning 0,1% li spirtidagi eritmasi.

1-ish. Oqsilni kislotali gidrolizlash

Ishni bajarish tartibi. Yumaloq tubli kolbaga oqsil (tuxum, bug'doy, sut) eritmasidan 20 ml va konsentrlangan xlorid kislotadan 5 ml (zichligi 1,19 bo'lgan) qo'shib, kolba sovitgich vazifasini bajaruvchi uzun shisha nay bilan birlashtiriladi va asbest to'rtli shtativga o'rnatiladi (8-rasm).

Kolbadagi aralashma mo'rili shkafga joylashtirilib, qaynatish yo'li bilan gidroliz o'tkaziladi. Gidroliz jarayonini to'liq amalga oshishi uchun yetarlicha vaqt talab qilinadi.

Gidrolizni ketish jadalligini kuzatish uchun oqsilning parchalanish darajasiga mos holda oraliq parchalanish mahsulotlari tarkibidagi karboksil va aminoguruhlarining miqdorini oshishiga e'tiborni qaratiladi.

Bunda kislotali gidroliz natijasida peptid va aminokislota fragmentlari hosil bo'libgina qolmay, balki ulardan tashqari ammiak, vodorod sulfid, gidrolizning bo'yalgan mahsulotlari, gumin moddalar va boshqalar ham hosil bo'ladi.

Shu bois, gidrolizatdan ma'lum vaqt birligida (1,2,5 va x.k. soatlar o'tgandan keyin) 5 ml dan ajratib olib, pista ko'mir bilan ishlov beriladi, keraksiz mahsulotlar adsorbsiyalaniadi va eritma filtrlangandan keyin ishqoriy eritma va indikator (fenolftalein) yordamida neytrallanadi.

Aminokislotalarning karboksil guruhlarini titrlash yo'li bilan aniqlab, bu miqdor aminoguruhlariga ekvivalentligini e'tiborga olib bir yo'la aminoguruhlar miqdorini ham baholash mumkin bo'ladi.

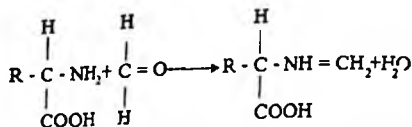
Oqsil gidrolizining nihoyaga yetishi gidrolizatdagi amin va karboksil guruhlar miqdorini oshib borishini to'xtashi va biuret reaksiyasini ijobiy bo'lmay qolganiga qarab aniqlanadi. Gidrolizning har xil bosqichlaridagi jarayonlarni kuzatish va baholash uchun 2- ish o'tkaziladi.

2- ish. Syorenson bo'yicha formol titrlash orqali oqsillarni kislotali gidrolizlanish darajasini aniqlash

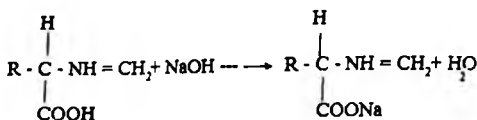
Ma'lumki, oqsillarni gidrolizlaganda peptid bog'larni uzilishi evaziga karboksil va amin guruhlarning gidrolizlanish ko'rsatkichiga mos holda ekvivalent miqdorda ortib borishi kuzatiladi. Karboksil guruhlarning miqdorini aniqlash uchun Syorensonning formol uslubidan foydalaniladi.

Gidroliz natijasida hosil bo'lgan aminokislotalar suvli eritmalarda molekula oraliq tuzlar hosil qiladi, shu sababli ularning aminoguruhlarini formaldegid bilan bog'lab (blokirovka qilib) qo'ygandan keyin karboksil guruhini ishqor yordamida titrlash yo'li bilan aniqlanadi. Jarayon quyidagicha reaksiyalar asosida kechadi, bunda:

1. Aminokislota formaldegid bilan reaksiyaga kirishib o'zining asosli xossasini yo'qotadi va karboksil guruhi saqlanib qoladi.



Hosil bo'lgan metilenli birikma (metilen aminokislota)ni osongina ishqor yordamida titrlash mumkin bo'ladi va bu reaksiyadan foydalanib aralashmadagi karboksil guruhlar miqdorini aniqlash imkoniyati tug'iladi.



Ishni bajarish tartibi. 1. Hidrolizgacha oqsil eritmasidagi karboksil guruhi miqdorini titrlash yo'li bilan aniqlash.

Buning uchun 1 ml oqsil eritmasiga 5 tomchi neytral formalin eritmasi va 3 tomchi fenoltalein qo'shib, 0,005 N natriy ishqori eritmasi solingan mikrobyuretka yordamida och pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi.

2. Hidroliz vaqti har xil bo'lgan muddatlarda oqsil gidrolizatidagi karboksil guruh miqdorini aniqlash.

Oqsillarni gidrolizi bosqichma-bosqich amalga oshishi va gidrolizning to'liq nihoyasiga yetishi erkin aminokislotalar hosil bo'lishi bilan yakunlanishini e'tiborga olib gidroliz o'tkazilayotgan kolbadagi aralashmadan 1, 2, 3 va 5 soat muddatlar oralig'ida 5 ml dan ajratib olib har safar bir chimdim pista ko'mir qo'shiladi va 5 daqiqa davomida qaynatiladi.

Bunda aralashma oqaradi va qaynatish tufayli uning ma'lum miqdori kamayishini e'tiborga olib, uni 5 ml li o'lchov probirkasiga ko'chirib hajmini distillangan suv yordamida o'lchov chizig'igacha yetkaziladi.

So'ng bu aralashmalardan har safar alohida idishga 1,25 ml ajratib olib ustiga 3 tomchidan fenoltalein eritmasi tomiziladi, aralashmani mikro byuretkaga oldindan solib qo'yilgan 10 % li natriy ishqori yordamida och pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi.

Bunda ishqor xlorid kislotani neytrallashtirish uchun ishlatilmaydi va shuning uchun uning miqdoriy ko'rsatkichi e'tiborga olinmaydi.

Agar neytralizatsiya paytida aralashmani rangi ochiq qizil bo'lib qolsa, unda tomchilab rangsizlangincha 1 % xlorid kislotaga qo'shiladi, uning oshiqcha miqdorini esa, 0,005 N natriy ishqori yordamida titrlab rangini och pushti rangacha yetkaziladi.

Bundan keyin formalinning neytral eritmasidan 5 tomchi qo'shiladi. Aralashmaga formaldegid qo'shilgandan keyin, gidrolizat fragmentlaridagi aminoguruhlarining bloklanishi (metilenlanishi) va karbosal guruhlarining bo'shab qolishi yuz beradi va reaksiyon muhitidagi och pushti rang yo'qoladi.

Nihoyat tajribalardagi fragmentlarning erkin karboksil guruhlarini aniqlash uchun har gal aralashmalarni mikrobyuretkaga solib qo'yilgan 0,005 N natriy ishqori eritmasi bilan titrlanadi va sarf bo'lgan ishqor miqdori qayd qilinadi.

Bu xildagi tahlillar gidrolizni boshlamasdan oldingi, gidroliz boshlangandan 1 soatdan keyingi, gidroliz boshlangandan 2 soatdan keyingi, gidroliz boshlangandan 3 soatdan keyingi, gidroliz boshlangandan 5 soatdan keyingi namunalarda o'tkaziladi.

3-ish. Har xil vaqt birliklarida o'tkazilgan gidroliz natijalariga ko'ra oqsillarni parchalanish darajasini aniqlash

Yuqorida keltirilganidek oqsil gidrolizining nihoyasiga yetishi gidrolizat tarkibidagi amin va karboksil guruhlarining oshishini to'xtatishga bog'liq. Buni aniqlashda biuret reaksiyasidan foydalaniladi. Bu reaksiya natijasida oqsil ko'k-binafsha, albumoz-pepton fragmentlar gulobi yoki qizil ranga bo'yalsa, erkin aminokislotalar hech qanday rangga bo'yalmaydi. Demak, yuqoridagi tajribalar namunalari, ya'ni:

- 1) gidrolizni boshlamasdan oldingi;

- 2) gidroliz boshlangandan 1 soat o'tgandan keyingi;
- 3) gidroliz boshlangandan 2 soat o'tgandan keyingi;
- 4) gidroliz boshlangandan 3 soat o'tgandan keyingi;
- 5) gidroliz boshlangandan 5 soat o'tgandan keyingi namunalar bilan biuret reaksiyasi o'tkaziladi.

Bu ishlarni bajargandan keyin 1, 2 va 3 – tajribalar natijalari bilvosita yo'l bilan o'tkazilgan hisob-kitoblar yordamida chuqur tahlil qilinadi, tegishli mulohazalar yuritiladi va rasmiylashtiriladi.

Tajriba natijalarini tahlil qilish va rasmiylashtirish.

Ma'lumki, azotning atom massasi 14 ga teng. Tajriba uchun ishlatilgan ishqorning 1 litri 14 g azotga yoki 1 ml 14 mg (1 molekula aminoguruh 1 molekula ishqorga ekvivalent) azotga mos kelishini e'tiborga olsak, bundan 1 ml 0,005 N ishqor eritmasiga 0,07 mg azotga mos keladi.

Umuman 1, 2 va 3-tajribalar natijalari sarhisob asosida olingan ma'lumotlar 7-jadvalda keltirilgan tarzda umumlashtiriladi va tegishli xulosalarga kelinadi.

Oqsilning parchalanish bosqichlarini kuzatib bo'lgandan keyin, uning to'liq gidrolizlanganligiga ishonch hosil qilinadi va faqat erkin aminokislotalardan tashkil topgan gidrolizatni bundan keyingi tajribalarda qog'oz xromatografiyasi yordamida o'rganish uchun olib qo'yiladi.

7-jadval.

Gidroliz jarayonida oqsillarni parchalanishi darajasini aniqlash

T/r	Tajriba namunalarini	Titrlash uchun sarflangan 0,005 N NaOH miqdori	Titir asosida hisoblab topilgan aminoguruh azoti	Biuret reaksiyasini natijasi
1	Gidrolizni boshlamasdan oldingi			
2	Gidroliz boshlangandan 1 soat keyingi			
3	Gidroliz boshlangandan 2			

	soat keyingi			
4	Gidroliz boshlangandan 3 soat keyingi			
5	Gidroliz boshlangandan 5 soat keyingi			

AMINOKISLOTALARNI QOG'UZ XROMATOGRAFIYASI USULIDA O'RGANISH

Hozirgi vaqtda oqsillar, aminokislotalar, nuklein kislotalar, uglevodlar, lipidlar va ularning metabolitlarini (moddalar almashinuvining oraliq mahsulotlarini) bir-biridan ajratish uchun xromatografik usuldan foydalaniladi.

Moddalarni ajratish mexanizmiga qarab xromatografiyaning bir necha turlari bor chunonchi adsorbsion, taqsimlovchi, diffuzion xromatografiya, ion almashinuv xromatografiyasi, gaz xromatografiyasi, affin xromatografiyasi va boshqalar.

Aminokislotalarni ajratish uchun eng qulayi va nisbatan anig'i qog'ozda taqsimlovchi va yupqa qavatli xromatografiya hisoblanadi. Bu usul turli xildagi aminokislotalarning qisman aralashadigan ikki xil suyuqliklarda, masalan, biri suvda, ikkinchisi suv bilan to'yintirilgan organik erituvchi (fenol, butil spirtini, sirka kislota bilan aralashmasi va boshqalar) kabi erituvchilarning eruvchanligiga asoslangan.

Suv fazasi harakatsiz bo'lib, u inert material sellulozaga xromatografiya kamerasidagi nam bilan, to'yingan atmosferadagi suv bug'lari ko'rinishida shimilgan bo'lib, qog'oz tashqi ko'rinishidan quruq bo'ladi. Erituvchi aralashmaning organik qismi esa, uning harakatdagi fazasi hisoblanadi. Aminokislotalarning eruvchanligi suvda qancha yuqori bo'lsa, organik erituvchida shuncha kam yoki aksincha yuqori bo'lishi mumkin.

Bu usulning mohiyati shundaki, xromatografik qog'ozning bir nuqtasiga yoki bitta chiziq bo'ylab tekshirilayotgan aminokislotalar aralashmasi yoki oqsil gidrolizatini qora qalam bilan belgilangan start chizig'iga Paster

pipetkasi yordamida 1 sm masofaga chizib tomizilib quritiladi, so'ng qog'ozning shu chekkasi erituvchilar aralashmasiga tushiriladi.

Erituvchi kapellyar kuchlar yordamida qog'oz bo'ylab harakatlanadi va o'z yo'lida uchragan moddalarni, xususan aminokislotalarni eritib yuqoriga qarab harakatlanadi. Aminokislotalarning qog'oz bo'ylab harakati ularning eruvchanligi, kimyoviy tuzilishi va xossalariga bog'liq.

Erituvchi qog'ozning ikkinchi chekkasiga yaqinlashganda jarayon to'xtatiladi va erituvchining bosib o'tgan chegarasi qora qalam bilan belgilanadi so'ng xromatografik qog'oz erituvchi to'la bug'lanib ketishi va aminokislotalarning qog'ozda fiksasiyalanishini t'aminlash uchun yaxshilab quritiladi.

Shundan keyin xromatogrammaga aminokislota bilan rang beruvchi reagent ningidrin eritmasiga solib olinadi yoki bu erima bilan pu'rkaladi. Natijada xromatogrammada aminokislotalarning rangli dog'chalari paydo bo'ladi, bu esa aminokislotalarning bir-biridan ajralganidan darak beradi.

Alohida aminokislotalarning siljish tezligi taqsimlanish koeffitsiyenti (R_f) bilan ifodalanishi mumkin. Taqsimlanish koeffitsiyenti deb aminokislotalning qog'ozda chiziq bo'ylab tomizilgan joyidan (start) aminokislota dog'ining markazigacha bo'lgan masofa (millimetrlarda) (a) ning erituvchining start nuqtasidan frontigacha bo'lgan masofa(b)ga nisbatiga aytiladi

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

Taqsimlash koeffitsiyenti har bir aminokislota uchun o'ziga xos kattalik bo'lib, bir xil tajriba sharoitida (erituvchi, temperatura, qog'oz navi va boshqalar) o'zgarmasdir.

Odatda oqsillarning gidrolizatlari tarkibidagi aminokislotalarni ham sifatii, ham miqdoriy jihatdan aniqlashda toza aminokislotalardan tayyorlangan eritmalardan foydalangan holda maxsus tayyorlangan xromatografik kameralarda xromatografiya o'tkaziladi. Bu xil xromatografiyani eni va uzunligi katta bo'lgan qog'ozda o'tkazish mumkin.

Bunda xromatografiya qog'ozini start chizig'i tagiga oddiy qalam bilan aminokislotalarni nomlarini yozgan holda ularning eritmalaridan alohida-alohida tomiziladi va qog'ozning o'rtasiga yoki bir chekkasiga

gidrolizat namunasidan tomiziladi. Shu yo'sinda olingan xromatogrammadagi aminokislotalarning dog'chalari gidrolizatdagi aminokislotalarni aniqlashda «guvoh» vazifasini bajaradi va ularning Rf ko'rsatkichlari yordamida sifati va miqdoriy tahlillar o'tkaziladi.

Xromatografiya jips yopiladigan kameralarda olib borilishi kerak, chunki bu erituvchini bug'lanib ketishdan saqlaydi, kameraning erituvchi bu'g'lari bilan to'yinishini ta'minlaydi.

Xromatografiyani bir o'lchamli va ikki o'lchamli tarzlarda yuqoriga ko'tariluvchi va pastga qarab harakatlanuvchi xillaridan foydalaniladi. Ikki o'lchamli xromatografiyada birinchi bor erituvchi qog'ozning chekkasiga yaqinlashganda jarayonni to'xtatib xromatogramma quritib olinadi. So'ng bu xromatogramma qog'ozini eritmaga botirilgan tomonidan 90° ga orqaga qaratib burib qaytadan kameraga joylashtiriladi va erituvchini yangidan qog'oz bo'ylab harakatlanishiga imkoniyat yaratiladi.

Bundan keyin yana erituvchi qog'ozning chekkasiga yaqinlashganda xromatogramma kameradan chiqarib olib quritilib, termostatda qizdirish yo'li bilan fiksatsiyalanib, ningidrin bilan bo'yaladi. Bo'yalgan aminokislota dog'lari bo'yicha ularning har ikkala o'lchamli xromatografiya uchun umumiy Rf ko'rsatkichlari aniqlanadi.

Biz quyida xromatografiyaning 2 ta oddiy usuliga:

- a) yuqoriga ko'tariluvchi xromatografiya;
- b) radial xromatografiyaga to'xtalib o'tamiz.

Darsning maqsadi. Aminokislotalar aralashmasi, oqsil gidrolizati tarkibidagi aminokislotalarni qog'oz xromatografiyasi usulida sifatiy va miqdoriy aniqlash ko'nikmasini shakllantirish va shu mavzuga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

19-LABORATORIYA ISHI AMINOKISLOTALARNI QOG'OZ XROMATOGRAFIYASI USULIDA AJRATISH

Ishning maqsadi - aminokislotalarni qog'oz xromatografiyasi usulida ajratish.

Kerakli biomaterial: tuxum oqsilini gidrolizati.

Kerakli jihozlar: xromatografiya qog'oz, ip, shisha, qora grafit qalam, Paster pipetkasi, diametri 2-2, 5 sm, uzunligi 18-20 sm li probirka, termostat, (quritkich shkaf), pulverizator, o'lchov probirkasi, filtr qog'oz, qaychi, pinsyet, chizg'ich (lineyka), Petri idishi,

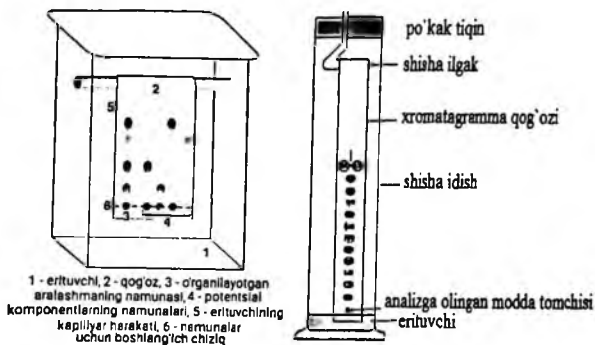
Kerakli reaktivlar: Glyutamin kislota, alanin, leytinlarning 0.001 M eritmali, to'yingan fenol eritmasi yoki butanol:sirka kislota:suv (4:1:1) aralashmali eritmasi.

1 - ish. Yuqoriga ko'tariluvchi xromatografiya

Ishni bajarish tartibi. Eni 1,5 sm, uzunligi 15 sm keladigan ikkita xromatografiya qog'oz kesib olinib, yuqorisiga ip o'tkazib ilib quyiladi. Qog'oz lentalarining pastki chekkasidan 1 sm yuqoriga 3-4 mm diametrdagi qora grafit qalamda doira chizib qo'yiladi. Qog'ozlarning birini doirasi o'rtasiga kapellyar yoki mikropipetka yordamida aminokislota aralashmasi (masalan, glyutamat kislota, alanin va lizin aralashmasi), ikkinchisining gidrolizatdan tomiziladi va quritiladi.

Diametri 2-2,5 sm uzunligi 18-20 sm keladigan ikkita probirka olib, devoriga tegizmasdan 15-20 tomchi (2 ml) suvga to'yingan fenol (yoki butanol: sirka kislota: suv aralashmali eritmasi) quyiladi. Tayyorlangan qog'oz lentalarni bog'langan ipdan shisha ilgakka ilib, 2-3 mm chuqurlikka - erituvchiga botguncha tushirilib, qog'ozlarni probirka devoriga tekkizmay va aniq vertikal holatini saqlab, tiqin (qopqoq) bilan berkitib qo'yiladi.

Probirka 35-40^o C li termostatda 90-120 daqiqa davomida qoldiriladi. Shu vaqt ichida erituvchi fronti 10-12 sm ga ko'tariladi. Ko'rsatilgan vaqt o'tgandan keyin xromatogramma olinib, 25-30 daqiqa davomida to' fenol yoki boshqa erituvchi batomom uchib ketguncha 50-100^o C thermostat (quritgich shkafi) ga osib quyiladi.



Yaqiniga ko'rsatilgan radial xromatografiya

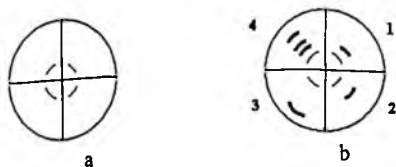
Erituvchi bug'lanib ketgach, qog'oz lentalami olib shtativga ilib quyiladi va unga 0,5% ningidrin eritmasidan pulverzator yordamida purkaladi yoki kristalizatorga ningidrin eritmasi quyib, unga xromatografik qog'oz botiriladi. Yana 100-110⁰ C li quritgich shkafiga 5-6 daqiqa ilib quyiladi.

Natijada qog'ozlarning aminokislota to'xtagan joyi ko'k, ko'kish – binafsha rang bo'yaladi.

Keyin chizg'ich yordamida ikkala namunada ham har bir aminokislotani Rf ko'rsatkichlari aniqlanadi va olingan natijalar bo'yicha mulohaza yuritilib, tegishli xulosalar keltirib chiqariladi

2-tajriba. Radial xromatografiya

Ishni bajarish tartibi. Radial xromatografiya uchun 12 sm diametrlil (Petri idishi diametridan kattaroq) qog'oz diskni qalam bilan to'rtta teng qismga bo'lib, o'rtasida diametri 1 sm li teshik ochiladi va har bir sektorning boshlanishida start chiziq uchun qalam bilan doira chiziladi(10-rasm).



Radial xromatografiya.

Filtr qog'ozdan balandligi 2 sm bo'lgan naycha shaklidagi oyoqcha (pilik) tayyorlab xromatografiya disk o'rtasidagi teshikka o'rnatiladi. So'ngra Petri idisining qopqog'iga qo'yib, xromatografik qog'ozning har bir qismidagi start doiraga Paster pepitkasi yordamida quyidagi aminokislotalar tomiziladi: 1) alanin, 2) glutamin kislota, 3) leysin, 4) aminokislotalar aralashmasi (rasm. b). Shundan keyin 10 daqiqa davomida havoda quritiladi.

Petri idisining tag qismiga 10 ml suvga to'yintirilgan fenol quyib, ohistalik bilan qog'oz pilik entuvchiga tegib turadigan qilib joylashtiriladi va 1 soat davomida xona temperaturasida qoldiriladi. Petri idishini shunday tanlash ma'qulki, ostki va ustki (qopqoq) qismning diametri teng bo'lsin. Natijada jips berkitilgan kamera hosil bo'ladi.

Ko'rsatilgan vaqt ichida erituvchi xromatografik qog'oz chekkasiga borgan bo'lsa, qopqoq ochilib pintset yordamida xromatografik diskni chekkasidan ushlab 10 daqiqa davomida 100-120°C li qurituvchi shkafga yoki termostatga quyiladi.

Bu vaqt ichida erituvchi batamom bug'lanib ketadi va aminokislotalar esa fiksatsiyalanadi. So'ngra xromatogrammani gorizontol holatga qo'yib, pulverizator bilan ningidrin eritmasidan purkaladi va 5-10 daqiqa davomida 100-120°C li termostatga quritiladi.

Xromatogramma daftarga yopishtirib quyiladi yoki rasmi chizib olinadi. Chizg'ich yordamida masofalar o'lchanib, har bir aminokislota uchun R_f aniqlanadi.

Darsning nihoyasida ko'tariluvchi va pastga xarakatlanuvchi, bir va ikki o'lehamli, kamerada va probirkada o'tkaziladigan xromatografiyalar

va radial xromatografiyaga, shuningdek aminokislotalarning ajratilishi, sifatii va miqdoriy tahlillariga oid umumiy xulosalar keltirib chiqariladi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

1. Aminokislotalarning tuzilishi, xossalari?
2. Aminokislotalarning tasniflanishi? Hidrofob aminokislotalar?
3. Hidrofil aminokislotalar? Asosli aminokislotalar?
4. Nordon aminokislotalar? Rfqanday aniqlanadi?
5. Kislorod va oltingugurt tutuvchi aminokislotalar?
6. Oqsillarni qaysi uslublar yordamida gidrolizlanadi?
7. Kislotali gidroliz qanday amalga oshiriladi?
8. Xromatografiyaning qanday xillari mavjud ?
9. Qog'oz xromatografiyasini qaysi xillari bor?
10. Ikki o'lchamli xromatografiya qanday o'tkaziladi?
11. Xromatogrammani qanday bo'yoq bilan bo'yaladi?

FERMENT (ENZIM) LAR BOKIMYOSI

Fermentlar yoki enzimlar oqsil tabiatli moddalar bo'lib, biokatalizatorlik vazifasini bajaradi. Ferment atamasi lotincha «Fermentatio» «achish», «bijg'ish» yoki grekcha «en» - ichida, «zime» achitqi atamalaridan olingan. Ular ta'sirida moddalarning parchalanishi yoki kerakli moddalarning biologik sinteziga oid murakkab kimyoviy reaksiyalar, qisqa vaqt ichida, nisbatan past haroratlarda o'tadi. Ular bunday biokimyoviy reaksiyalarni million, hatto, milliard marta tezlashtiradi, o'zlari esa o'zgarishsiz qoladilar.

Ferment atamasini, birinchi marta, Gollandiyalik tabiatshunos Van-Gelmo tomonidan oziq-ovqat maxsulotlarining hazm bo'lishi uchun zarur bo'lgan maxsus moddalarga nisbatan qo'llanilgan. K. S. Kirxgoff 1814 yili arpa doni maysasidan olingan ekstraktli ta'sirda kraxmalni qandlashib, maltozaga aylanishini ko'rsatgan. 1883 yilda Payon bilan Perso arpa doni maysasi ekstraktidan spirt bilan cho'ktirish orqali kraxmalni qandga aylantiruvchi diastaza fermentini ajratib olishadilar. Keyinchalik diastaza faolligi amilaza ferment eritmasida ham uchrashi aniqlangan.

Fransiyalik Lui Paster (1822-1885) achish jarayonini har tomonlama o'rganib spirtli bijg'ish faqat mikroorganizmlar - achitqilar hayoti bilan bog'liq, ulardagi fermentlar ichki fermentlar ya'ni enzimlardir, ular tashqi fermentlardan farq qiladi, deb tushuntirgan. Nemis olimi Libix (1803-1873) fermentlar to'g'risidagi bunday ikki xil tushunchani e'tiroz bilan qabul qilib, u mikroorganizmlarning hayot - faoliyatiga emas, balki hujayra ichidagi fermentlarga bog'liq deb tushuntiradi.

Bu muammoni 1897 yilda Byuxner tomonidan glukozani etil spirti va CO₂ ga parchalaydigan erkin achitqi ekstraktini ajratib olishi bilan hal etib berdi. Bunday ekstraktni Byuxner zimaza deb atagan. Achish - zimaza ta'sirida hujayradan tashqarida o'tishi isbotlandi.

Keyinchalik spirtli achish bilan mushaklardagi glikoliz bir xil jarayon, ya'ni Uglevodlarning anaerob sharoitda parchalanishi ekanligi isbotlandi.

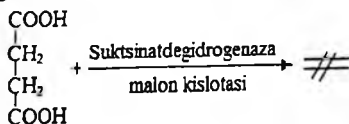
Fermentli moddalarning borligi to'g'risidagi tushunchalar I. P. Pavlovning ilmiy-tadqiqot ishlarida ham ma'lum bo'lgan. U 1892 yili me'da shirasining hosil bo'lishini, itlar ustida o'tkazgan tajribalarida o'rganib, me'da shirasi qancha ko'p miqdorda ishlab chiqilsa, shuncha ko'p miqdorda oqsilni parchalanishini isbotlagan, fermentlar ham oqsil tabiatli moddalar ekan deb xulosaga kelgan. 1926 yilda J. Samner degan olim uryeaza fermentini kristal holatda ajratib olgan. Xuddi shunday, 1930-1936 yillarda Nortrop degan olim pepsin bilan tripsin fermentlarini ajratib olgan va ular oqsil tabiatli moddalar ekanligini isbotlagan.

Shunisi tavsifliki, har bir ferment faqat maxsus bir kimyoviy o'zgarishni katalizlaydi, ya'ni har bir ferment o'ta maxsusligi bilan farqlanadi.

Bunday maxsuslik faqat optimum temperaturani, muhit(pH)ni, maxsus aktivatorlarning ishtirokini talab etadi. Jumladan, pepsin uchun optimum pH 1,5-2,5; tripsin uchun - 8 -11; amilaza uchun - 6,7 - 6,9; lipaza uchun - 8,3 - 8,5; ishqoriy fosfataza uchun - 9,0 bo'lganda ularning ta'sir etishi kuzatiladi.

Ko'pgina fermentlar o'zlarining katalitik faolligini ma'lum bir moddalar, ionlar ishtirokida amalga oshiradi, ularni fermentlarning faollashtiruvchi moddalari(aktivatorlari) deb atashadi. Masalan, amilaza ferment eritmasi amilazasi Cl^- ishtirokida, arginaza - Co^{++} , Ni^{++} , Mn^{++} , ATF-faza - Ca^{++} , membrana ATF-azasi - Na^+ , K^+ ishtirokida faollashadilar.

Ayrim moddalarning ionlari fermentlar faolligini susaytiradi. Aniqrog'i, ferment molekulasining faol markazini chegaralaydi. Masalan, suksinatdehidrogenaza qahrabo kislotasini oksidlaydi. Agar reaksiya paytida malon kislotasi ishtirok etib qolsa, ferment o'z ta'sirini qahrabo kislotasiga o'tkazolmay qoladi:



Bunday moddalarni fermentning ingibitori deb atashadi. Amalda ko'pgina fermentlar uchun Ag^+ , Hg^{++} , Pb^{++} kationlari ana shunday ingibitorlik vazifalarini bajarishadi.

Odatda fermentlarning nomi ular ta'sir qiladigan modda yoki tegishli biokimyoviy jarayonning lotincha nomi oxiriga «-aza» qo'shimchasini qo'shib tuziladi. Masalan, gidroliz jarayonini katalizlaydigan fermentlar gidrolazalar, oksidlanish jarayonini katalizlaydigan fermentlar - oksidazalar deb ataladi. Shuningdek, saxarozaga ta'sir qiladigan ferment - saxaraza, laktozani parchalaydigan ferment - laktaza, kraxmal (lotincha «Amylum») ga ta'sir etadigan ferment - amilaza deb nomlanadi va hokazo.

Tirik mavjudotlarda o'tadigan fermentli reaksiyalar mexanizmi juda murakkab bo'lib, ular tez, sekundning kichik ulushlarida sodir bo'ladi. Shuning uchun ham fermentli reaksiyalarning mexanizmlari to'liq ishlab chiqilmagan. Lekin bu sohada juda ko'p izlanishlar olib borilib, ularning ba'zi bir sohalari hal qilingan.

Fermentli reaksiyalarning mexanizmi, ko'pincha, oraliq moddalar nazariyasi asosida tushuntiriladi va unga muvofiq, oksidlanuvchi substrat avval fermentning faol markaziga birikib, ferment-substrat majmuali birikmasini hosil qiladi. So'ngra bu majmuali birikma o'zgarib, ferment va hosil bo'ladigan mahsulotlarga parchalanadi. Ferment-substrat kompleks birikmalarining hosil bo'lishi tajribalarda o'rganilgan. Hozirgi vaqtda ularni aniqlaydigan maxsus analizatorlar ishlab chiqilgan. Ayrim ferment-substrat kompleks birikmalari kristall modda holda ajratib olingan, ularning tuzilishi ya'ni ferment bilan substratning o'zaro munosabati aniqlangan. Fermentning faol markazi shakllangan joyda maxsus botiqlik, ya'ni «cho'ntak» bo'lib, ularga muayyan fermentning substrati yaqinlashganda, u bilan birga tegishli aminokislota qoldig'i o'rtasida bog'lanish paydo bo'ladi.

«Cho'ntak» - substrat bog' tufayli, qulf-kalit singari komplementar majmuali birikma hosil bo'ladi, «cho'ntak»ning fazoviy tuzilishi(konformatsiyasi) substratning fazoviy qurilishiga mos keladi. Shu sababli qulf-kalit tabiati jihatidan bu bog'lanishlar donor-akseptor, ionli, kovalent va boshqa ko'rinishda bo'lishi mumkin. Agar substrat

ferment yuzasidagi ayni botiqlikka mos kelmasa, bog'lanishlar yuzaga chiqmaydi. Ba'zi fermentlarning aktiv markazi substrat yaqinlashgandagina ma'lum shaklga kelib, molekulaning deyarli hamma qismi harakatga kelib, reaksiya ancha tez va oson borishini ta'minlaydi. «Cho'ntak» substrat yaqinlashganda o'zgarib, hatto, qapqog'i yopiladi, substrat uchun ma'lum muhit yaratadi.

Lekin substrat fermentga mos kelmasa, uning molekulasida tegishli shakliy o'zgarish bo'lmaydi. D. Koshland fikricha qo'lqop panjaga qarab qanday shaklini o'zgartirsa, muayan ferment ham shaklini shunday o'zgartiradi:

Fermentlarni tasniflash (klassifikasiyalash) tomoyillari Xalqaro biokimyogarlarning ittifoqini 1961- yilda Moskva shahrida bo'lib o'tgan V kongressida ishlab chiqildi. Hozirgi kunda barcha organik moddalarni tasniflashni hisobga olganda ular orasida fermentlarning tasniflanishi eng mukammali hisoblanadi. Chunki bu tasniflashni qo'llanilishi fermentlarni nomlash va tartib bo'yicha joylashtirishda ham hisobga olingan bo'lib, hattoki faqat tartib raqamlarini keltirishning o'zi ularning nomlarini keltirmasdan ham olimlar tomonidan qaysi ferment haqida so'z yuritilayotganini bilib olish imkoniyatini yaratadi.

Bunda fermentlarni tartib raqami bilan keltirish uchun dastlabki raqam sinflarning, 1-Oksidoreduktazalar, 2-Transferazalar, 3-Gidrolazalar, 4-Liazalar, 5-Izomerazalar, 6-Ligazalar (yoki Sintetazalar) dan foydalaniladi. Keyingi keltiriladigan uchta raqamlarning birinchisi fermentning kimyoviy tabiatini ifodalovchi (u oddiy yoki murakkab oqsil tabiatlimi?, murakkab oqsil tabiatli bo'lsa, uning nooqsil tabiatli qismi qanday?) tamoyili, ikkinchisi -ferment ta'sir etadigan substratning kimyoviy tabiatini, uchinchisi katalizlovchi reaksiyaning xilini e'tiborga oluvchi tamoillar hisoblanadi.

Demak tasniflash jarayoni fermentlarni sinflarga, sinflarni kenja sinflarga, kenja sinflarni quyi kenja sinflarga bo'lish va nihoyat quyi kenja sinflarni tartib raqami bilan raqamlar asosida belgilashga kelishib olingan. Bunda sinflar oltita ekanligi uchun dastlabki raqam muayan fermentning qaysi sinfga mansubligiga qarab 1 dan 6 gacha tartibda

bo'ladi. To'rt raqamli tartibda keltirilgan raqamlarning ikkinchi raqam kenja sinfga xos tartib raqam, uchinchi raqam quyi kenja sinfga xos bo'ladi va nihoyat quyi kenja sinfdan keyingi ya'ni, to'rtinchi raqam muayyan fermentning katalizlovchi reaksiyani tavsiflovchi tartibraqami hisoblanadi.

I-sinf - Oksidoreduktazalar. Ular oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini katalizlaydi. Bunda «vodorod donori - akseptor oksidoreduktaza» tizimida faoliyat ko'rsatishadi. O'z navbatida «Oksidoreduktazalar» 17 kenja sinfga bo'linadi.

II-sinf - Transferazalar. Bular «donor – akseptor transferaza» tizimida faollik ko'rsatadi. Bu sinfning yettita kenja sinflari mavjud.

III-sinf - Hidrolazalar. Hidroliz reaksiyalarini amalga oshiruvchi fermentlar. Ularning o'n bitta kenja sinfi mavjud.

IV-sinf - Liazalar. Bu sinfga kiruvchi fermentlar molekulararo bog'lanishlarni katalizlovchi fermentlardir, yoki birikishni, yoki ajralish reaksiyalarni katalizlaydi. Bularga karboksilazalar kabi aldegid-keton bog'lanishni tezlashtiruvchi fermentlar kiradi. Ularning yettita kenja sinfi ma'lum.

V-sinf - Izomerazalar. Bu sinfga kiruvchi fermentlar bir xil izomerlarni ikkinchi xil izomerlarga aylanishini katalizlaydi. Ularning oltita kenja sinfi mavjud.

VI-sinf - Ligazalar (sintetazalar). Bu fermentlar fosforli birikmalarni o'zgarishi natijasida hosil bo'ladigan kichik molekulalardan yirik molekulararni sintez qilishini katalizlaydi. Ularning beshta kenja sinfi ma'lum.

Ko'pchilik fermentlar sitoplazmada erigan holda, yadroda va maxsus organellalarda uchraydi. Masalan, mitoxondriylarda oksidlanish, ya'ni nafas olish fermentlari, ribosomalarda oqsil sintezi uchun kerakli fermentlar, yadroda nuklein kislotalarni sintezini amalga oshiruvchi fermentlar bo'ladi. Ularni xuddi oqsillarni ajratib olish kabi usullar bilan ajratib olish mumkin.

Biroq fermentlarni ajratib olishda ma'lum maqsadga yo'naltirilgan ravishda ish yuritish lozim bo'ladi. Buning uchun, eng avvalo, muayyan fermentga boy manba tanlanadi. Agar gidrolitik fermentlarni o'rganish

zarur bo'lsa, ularni hayvonlarning hazm shiralarida mo'l miqdorda ekanligini inobatga olib, osongina ajratib olish mumkin.

Hazm shiralari fermentlarning tayyor tabiiy eritmalari hisoblanadi. Fermentlarni toza holda ajratib olishga oid barcha tahliliy ishlarini past temperaturalarda olib borish talab etiladi. Bunda, albatta, ferment uchun optimal pH ko'rsatgichini inobatga olish va ferment faolligini tekshirib turish lozim. Aks holda ajratib olinayotgan ferment o'z faolligini yuqotib qo'yishi mumkin.

Kofermentlar:- ko'pchilik fermentlarni aktivlashishi uchun zarur bo'lgan quyi molekulyar spetsifik birikmalar kiradi. hozirgi vaqtda kimyoviy tarkibi va tuzilishi har xil 20 tadan ortiq modda topilgan bo'lib, ular fermentlarning prostetik gruppalari yoki *kofermentlar* deb ataladi.

Kofermentlar nisbatan kichik molekulyar massali organik moddalar. Keyingi tekshirishlar natijasidan kelib chiqib, bir qancha kofermentlar tarkibiga *vitaminlar* kirishi aniqlandi. B₁, B₂, B₆, PP, C, biotin, pantotenat kislota, folat kislota, B₁₂, lipoat kislota va boshqalar kiradi. Lekin yog'da eruvchi vitaminlarni kofermentlik hususiyati aniqlanmagan. Yuqorida keltirilgan biologik aktiv moddalar fermentlarni aktivligini oshiruvchi kofermentlardir.

Fermentlarning aktivligiga nihoyatda kuchli ta'sir qiluvchi ma'lum fizik va kimyoviy omillar bo'lib, ular fermentlarning aktivligini oshirsa – *aktivatorlar*. Organizmda boradigan ko'pchilik fermentativ reaksiyalarda metallarning ionlari (K⁺, Na⁺, Mg⁺², Zn⁺², Cu⁺²) va boshqalar aktivator vazifasini bajaradi. Ular, ferment-substrat yoki koferment-apoferment komplekslari hosil bo'lishini osonlashtiradi, natijada reaksiya tez sodir bo'ladi.

Fermentlarning aktivligini pasaytiruvchi kimyoviy va fizikaviy sharoitlar – *ingibitorlar* deyiladi. Ingibirlash 2 xil bo'lib: qaytar va qaytmas ko'rinishga ega (tashqi ta'sir). Ingibitorlar - bu elementlar yoki ma'lum moddalar bo'lib, fermentning katalitik funksiyasini susaytiruvchi oqsil qismini cho'kmaga tushirish natijasida aktivligini susaytiruvchi og'ir metall tuzlari yoki fermentning aktiv qismi bilan kimyoviy bog' hosil qilish hisobiga susaytiruvchi moddalar kirishi

mumkin. Bularga og'ir metallarning ionlari (Hg^{+2} , Pb^{+2} , Ag^+ , Cu^{+2}) va boshqalar ko'pchilik fermentlar uchun ingibitorlik vazifasini o'taydi. Lekin bu moddalarni past konsentratsiyasi aktivatorlik vazifasini o'taydi. Ingibitorlarni eng kuchlisi sianid ioni (CN^-) hisoblanadi.

Fermentlar kimyoviy reaksiyalar tezligini oshiradi, shuning uchun anorganik katalizatorlarni eslatadi. Bu biokatalizatorlar anorganik katalizatorlardan farqi, fermentlar "yumshoq" sharoitda (past temperatura, normal bosim, ma'lum pH qiymatga ega bo'lgan muhit sharoitida) eng yuqori aktivlikka ega. Masalan temir ionlari vodorod peroksidni suv va kislorodgacha parchalaydi. Tarkibida temir tutuvchi katalaza fermenti esa bu substratni 10 milliard marta katta tezlikda parchalay oladi.

Fermentlar aktivligining o'lcham birligi. Fermentlarning kattaligi kattalarda (kat) o'lchanadi. 1- katal bu shunday katalitik aktivlikki, u 1 sekundda 1 mol reaksiyani amalga oshiradi. Undan tashqari solishtirma katalitik aktivlik ko'rsatkichi bo'lib, bu kattalik eng asosiy ko'rsatkichlardan bo'lib, fermentning miqdorini ham hisobga oladi. Har bir katalitik fermentning kataldan o'lchangan aktivligini ko'rsatadi. (kat/kg) Fermentlar nomenklatura buyicha 4 ta raqam bilan kodlanadi. Raqamlarning birinchisi uning qaysi sinfga mansubligini ko'rsatadi. Keyingilari sinf tarkibidagi sinfchalarga ta'luqlidir.

Fermentlar aktivligiga temperaturani ta'siri,- temperatura ko'tarilishi bilan fermentlarning aktivligi ma'lum darajada ortadi. Lekin temperatura $40^{\circ}C$ dan oshganda ferment aktivligi pasayadi. Ba'zi fermentlar $60-80^{\circ}C$ da aktivligini butunlay yo'qotadi. Lekin ayrim fermentlar yuqori temperaturalarda ham aktivligini yo'qotmaydi. Ayrim fermentlar past temperaturada ham, aktivligini ham yo'qotmaydi. Masalan katalaza fermenti uchun $0-10^{\circ}C$ optimal temperatura hisoblanadi.

Vodorod ionlari konsentratsiyasining ta'siri, - organizmdagi ko'pchilik fermentlar pH-7 atrofida yuqori aktivlikka ega bo'ladi. Muhitning kislotali yoki ishqorli tomonga o'zgarishi ular aktivligining pasayishiga olib keladi. Masalan, alfa amilaza fermenti kislotali muhitda

o'z aktivligini yo'qotadi, betta amilaza fermenti 70°C temperaturada o'z aktivligini yo'qotadi.

Ayrim tur kofermentlar vakillari -

1. *Nikatinamidli kofermentlar*, oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarida keng ishtirok etuvchi kofermentlar. Bularning asosiy vakili NAD va NADF.

2. *Flavinli kofermentlar*, flavinmononukleotid - FMN va flavinadenindinukleotid-FAD hisoblanadi. Bular nafas olish zanjirida vodorod va elektron bilan ta'minlash.

3. *Lipoat kislota*, - bular o'simliklar, hayvonlar va mikroorganizmlarda keng tarqalgan bo'lib, asosiy vazifasi ketokislotalarning oksidlanishli dekarboksillanish reaksiyasini katalizlashdan iborat.

4. *Glutation*, - keng tarhalgan tabiiy peptidlardan hisoblanadi. Bunda sisteinning sulfidril (SH) gruppasi katalitik gruppasi rolini o'taydi. U oksidlanish – qaytarilish reaksiyalarini katalizlaydi.

5. *Koferment A*, (KoA) moddalar almashinuvida keng miqyosda ishtirok etadigan kofermentlardan hisoblanadi.

6. *Vitaminli kofermentlar*, - ya'ni fermentlarga ba'zi bir vitaminlarning birikib, shu fermentning katalitik aktivligini oshishiga xizmat qiladi.

Fermentlarni ajratib olishda ham xuddi oqsillarni ajratib olishdagiga o'xshash usullar, qo'llaniladi. (bu usullar oqsillar temasida bayon etilgan). Fermentlarni ajratib olishda va ularni boshqa fermentlardan tozalashda juda ehtiyot bo'lish kerak. Ko'pincha toza holda ferment olish mumkin, lekin qisman yoki butunlay aktivligini yo'qotgan bo'ladi. Shuning uchun barcha qilinadigan ishlar past temperaturada va optimal pH da olib borilishi kerak. Ularning aktivligini *spektrofotometrik*, *kolorimetrik* va boshqa usullar bilan oson aniqlash mumkin.

Fermentni maxsus adsorbentlarga bog'lash katta ahamiyatga ega, bu esa ferment uzoq vaqt aktivligini yo'qotmasligiga, reaksiya maxsulotini oson ajratib olishga imkon beradi. Bunday bog'langan ferment *immobilizatsiya* qilingan ferment deb ataladi. Bunda fermentlar sanoatning ayrim tarmog'larini rivojlantirishda alohida - ahamiyatga ega

bo'lib, ulardan qayta-qayta foydalanish imkonini beradi. Ko'pincha fermentlarni *immobilizatsiya* qilishda selluloza va dekstrin hosilalari, agaroz, poliakrilamid gellar, oddiy kvarts va boshqalar ishlatiladi.

Fermentlar molekulasi bitta, ikkita yoki undan ortiq polipeptid zanjiridan tashkil topgan bo'ladi. Ulardagi har bir polipeptid zanjir o'ziga xos birlamchi, ikkilamchi va uchlamchi strukturaga ega bo'ladi.

FERMENTLARNING XOSSALARINI O'RGANISH

Darsning maqsadi. Fermentlarning termolabiligi, maxsusligi va ularning faolligiga muhit pH ning, substrat, ferment konsentratsiyalari hamda faollovchi va ingirlovchi moddalarning ta'sirlariga oid bilim malaka va ko'nikmalarni shakllantirish va mustahkamlash.

20-LABORATORIYA ISHI

FERMENTLAR AKTIVLIGIGA HARORATNING TA'SIRI

Ishning maqsadi: Turli xildagi fermentlar aktivligiga haroratning ta'sirini organish.

Kerakli biomaterial: amilaza ferment eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, muzli stakan, suv xammomi yoki termostat, pipetkalar,

Kerakli reaktivlar: kraxmalning 1%li eritmasi, amilaza ferment eritmasi, yodning 0,1% li eritmasi.

Fermentlarning aktivligiga ferment va substratning konsentratsiyasidan tashqari enzimatik reaksiyaning ishtirokchilari, temperatura, vodorod ionlari konsentratsiyasi, aktivligiga va paralizatorlar ham asosiy ta'sir qiluvchi omillar hisobdanadi.

Bu omillarning ferment katalitik aktivligiga ta'sir qilish mexanizmi enzimning faol markazi shakllanishiga, fermentativ reaksiyaning asosiy sharti bo'lgan ferment bilan substratning kompleks hosil qilishi uchun sharoit yaratilishiga bog'liq

Har qanday katalitik reaksiyalar singari fermentativ reaksiyaning tezligi harorat oshishi bilan oshib boradi. Lekin fermentlar anorganik katalizatorlardan farq qilib, ularning faolligini oshishi 40-45°C gacha davom etadi, 50-60°C dan boshlab faollik birdaniga pasaya boshlaydi,

70-75°C ga yetganda esa, ferment denaturatsiyalanib, faoliyatini umuman to'xtatadi.

Ishni bajarish tartibi. 4 ta probirka olib, ularning har biriga 10 tomchidan 1%li kraxmal eritmasidan quyiladi, birinchi probirkani muzli stakanga, ikkinchisini xona temperaturasiga, uchinchisini 45°C li suv hammomiga, to'rtinchisini 75°C li suv hammomi yoki termostatga quyiladi, 5 daqiqa o'tgandan keyin probirkalarning hammasiga shu turgan holatida 10 marta suyultirilgan amilaza ferment eritmasidan 10 tomchidan qo'shib, yana 5 daqiqaga dastlabki holatdagi sharoitda qoldiriladi. Bu muddat o'tgandan so'ng probirkalardagi aralashmalardan alohida probirkalarga 1-2 tomchidan olib, ustiga 1 tomchidan 0,1% li yod eritmasidan tomiziladi.

Agar hamma probirkalardagi suyuqliklar ko'k rangga kirs, inkubatsiya yana 5 daqiqa davomida qoldiriladi va yod bilan reaksiya qaytadan qilib ko'riladi. Yod bilan kraxmal ko'k rang hosil qilsa, amilodekstrin bilan (mol. og'.=10000 Da) ko'k-binafsha, eritrodekstrin bilan (mol.og'.=4000-6000 Da) bilan to'q qizil ranga bo'yaladi, axrodekstrin bilan (3700 Da atrofida) deyarli bo'yalmaydi, maltodekstrin bilan (1000 Da) bilan ham hechqanday rang hosil qilmaydi.

Turli xil probirkalardagi suyuqliklar yod bilan har xil rangga kirishi kraxmalning har xil darajada gidrolizlanganidan darak beradi.

Fermentativ reaksiyaning eng yuqori tezligiga 45°C ga ketadi. Gidrolizning eng sekin ketishi yoki amalda ketmasligi 1- va 4-probirkalarda, ya'ni 0° va 75°C da kuzatiladi. Tajriba natijalari jadvalda (8-jadval) qayd qilinadi.

8-jadval

Ferment aktivligiga haroratning ta'siri

	0°C	20°C	45°C	75°C
Tekshirilayotgan eritmaning yod bilan bergan rangi.				
Rangli mahsulotning nomi				

21-LABORATORIYA ISHI

FERMENTLAR AKTIVLIGIGA PH NING TA'SIRI

Ishning maqsadi: Turli xildagi fermentlar aktivligiga pH ta'sirini organish.

Fermentlar muhit reaksiyasiga nisbatan o'ta sezgirlikni namoyon qiladigan biofaol moddalar hisoblanadi. Ko'p fermentlar pH ning ma'lum bir tor chegarasidagina o'z faolligini namoyon qiladi. Ferment faolligini maksimum darajada bo'lgan pH chegarasi, shu fermentning "pH optimumi" deb yuritiladi. Ferment faktivligini pH ga bog'liqligi:

-fermentning faktiv markazidagi ionlangan guruhlarning;

-substrat molekulasining ferment bilan bog'lanishiga aloqador funksional guruhlarning;

-ferment molekulasining katalitik ta'siriga bog'liq bo'lgan funksional guruhlarning dissosiyalanish konstantalarining;

-ferment faolligiga ta'sir qiluvchi boshqa ferment guruhlarning ionlanish darajalarini muhitdagi vodorod ionlari konsentratsiyasiga aloqadorligidan kelib chiqadi.

Kerakli biomaterial: amilaza ferment eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: natriy gidrofosfatning 0,2 M eritmasi, limon kislotaning 0,1M eritmasi, 100 marta suyultirilgan amilaza ferment eritmasi, 0,25% li kraxmalning 1% li natriy xloriddagi eritmasi, 0,1% li Lyugol eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Bu ishni bajarishda fosfat – sitrat buferidan foydalanish maqsadga muvofiq. Bufer eritmani tayyorlashda Na_2HPO_4 ning 0,2 M eritmasi va limon kislotasining 0,1 M eritmalaridan foydalaniladi va tegishli pH ko'rsatkichiga ega bo'lgan aralashma hosil qilish uchun ularni quyidagi tartibdagi nisbatlarda olinadi (9-jadval).

Bundan keyin amilaza ferment eritmasi bezi amilazasini pH optimumini aniqlashga kirishiladi. Tajriba uchun amilaza ferment eritmasi amilazasidan foydalanilgani uchun dastlab uni shirasi na'munasini tayyorlanadi. Shu maqsadda oldin og'iz bo'shlig'iga distillangan suv olib bir daqiqa davomida ushlab turiladi va chayqab

tashlanadi. Jarayonni takrorlab, yana og'iz bo'shlig'ida ikkinchi marta distillangan suv olib, bir daqiqa ushlab turgandan so'ng uni alohida idishga to'kib olinadi va filtrlanadi.

9-jadval

Fosfat-sitrat bufer aralashmalari tayyorlash

Aralashani tartib raqami	Aralashmaning pH ko'rsatkichi	Na ₂ HPO ₄ ning 0,2M eritmasi ml	Limon kislotasini 0,1 M eritmasi, ml
1	2,2	0,40	19,60
2	2,4	1,24	18,76
3	2,6	2,18	17,82
4	2,8	3,17	16,83
5	3,0	4,11	15,89
6	3,2	4,94	15,06
7	3,4	5,70	14,30
8	3,6	6,44	13,56
9	3,8	7,10	12,90
10	4,0	7,71	12,29
11	4,2	8,28	11,72
12	4,4	8,82	11,18
13	4,6	9,35	10,65
14	4,8	9,86	10,14
15	5,0	10,30	9,70
16	5,2	10,72	9,28
17	5,4	11,15	8,85
18	5,6	11,60	8,40
19	5,8	12,09	7,91
20	6,0	12,63	7,37
21	6,2	13,22	6,78
22	6,4	13,85	6,15
23	6,6	14,55	5,45
24	6,8	15,454	4,55
25	7,0	16,47	3,53
26	7,2	17,39	2,61
27	7,4	18,17	1,83

28	7,6	18,73	1,27
29	7,8	19,15	0,85
30	8,0	19,45	0,55

Filtratdagi amilaza ferment eritmasi shirasi 100 marta suyultiriladi va undan tajribaning keyingi bosqichlarida foydalaniladi.

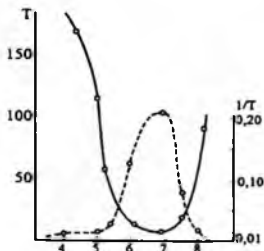
Shtativga yettita probirkani joylashtirib ularga 5 ml dan birinchisiga 10-jadvaldagi № 10 dagi pH=4,0; ikkinchisiga № 15 dagi pH=5,0; uchinchisiga № 17 dagi pH=5,4; to'rtinchisiga № 21 dagi pH=6,2; beshinchisiga № 24 dagi pH=6,8; oltinchisiga №27 dagi pH=7,4 va yettinchisiga № 30 dagi pH=8,0 ga teng bo'lgan fosfat-sitrat bufer aralashmalardan solinadi. So'ng har bir probirkaga 4 ml dan 0,25 % li kraxmal eritmasi va 1 ml suyultirilgan amilaza ferment eritmasi eritmasi qo'shiladi. Hamma probirkalar 38⁰C li termostatga o'tkaziladi va vaqti – vaqti bilan ularning har biridan 2-3 tomchidan olib boshqa probirkaga ko'chiriladi va ustiga suyultirilgan Lyugol eritmasi qo'shib aralashtiriladi. Bunda dastlab barcha probirkalarda dastlab ko'k rang hosil bo'lsa, ma'lum vaqt o'tishi bilanqizg' ich-binafsha yoki qizil ranga bo'yaladi va nihoyat eng so'ngida Lyugol eritmasi bilan hechqanday rang hosil qilmaydi. Yettita probirkaning har biri uchun rang hosil bo'lishi sodir bo'lmaydigan vaqt (0,5 daqiqa aniqligida) qayd qilinadi. Bu vaqt amilolitik faollikning nihoyasiga yetganidan dalolat beradi. Olingan ma'lumotlar 10-jadval va grafik tarzidagi egri chiziq sifatida rasmiylashtiriladi.

10-jadval

Amilaza fermentini pH optimumini aniqlash natijalari.

Namunani pH	Aktivlikni namoyon bo'lish vaqti(daqiqa hisobida)	I: Aktivlikni namoyon bo'lish vaqti (daqiqa hisobida)
4,0	160	0,006
5,0	110	0,009
5,4	60	0,017
6,2	8	0,125
6,8	5	0,200
7,4	14	0,071
8,0	85	0,011

10 - jadval ma'lumotlari asosida amilaza fermenti aktivligini pH ga to'g'ri va teskari bog'lanishni ifodalovchi egri chiziq chiziladi. Bunda grafikning absissa o'qiga pH ko'rsatkichlari, ordinata o'qlarini birinchisiga amilolitik aktivlikning nihoyasiga yetgan vaqt birligi daqiqa hisobida va ikkinchi ordinata o'qiga 1 ni shu daqiqa hisobidagi ko'rsatkichga nisbatiga oid ma'lumotlar joylashtiriladi. Namunalarga oid ma'lumotlar chapdan o'nga qarab nuqtalar tarzida belgilanadi va bu nuqtalar bir-biri bilan tutashtiriladi.



Amilaza fermenti aktivligini pH ga to'g'ri va teskari bog'lanishini ifodalovchi egri chiziq

10-jadval va rasmdan ko'rinib turibdiki, eng qisqa vaqtda kraxmalning parchalanishi sodir bo'lgan tajribada amilaza maksimal aktivlikka ega bo'lgan ko'rsatkich pH=6,8 hisoblanadi va bu ko'rsatkich amilaza fermenti aktivligining "pH optimumi" deb hisoblash kerak.

22 – LABORATORIYA ISHI

α - AMILAZA FERMENTINING DEKSTIRLANISH QOBILIYATINI ANIQLASH.

Ishning maqsadi – Amilaza fermentlarini ajratib olish. α - amilaza fermentining dekstirlanish va bu jarayonga ta'sir kiluvchi omillarni ko'rib chiqish.

Amilazalar – kraxmalni gidrolizlovchi, gidrolizlar sinfining glyukozid gidrolizlar sinfchasiga kiruvchi fermentlardir. Amilazalar tabiatda juda keng tarqalgan fermentlar hisoblanadi:

1. α -amilazalar (K.F.3.2.1.1)

2. β -amilazalar (K.F.3.2.1.2)

3. – glyukoamilazalar (K.F.3.2.1.3)

α - amilaza odam va hayvon organizmida (sulak va oshkozon osti bezi shirasida), undirilgan boshloqlarda (solod) ko'p miqdorda bo'ladi.

α - amilaza kraxmal va unga o'xshash polisaxaridlarda – glikozid 1:4 bog'larni tartibsiz ravishda gidrolizlaydi. Bunda dekstrinlar va ozroq miqdorda maltoza hosil bo'ladi. α - amilazani dekstrinlovchi fermentlar deb ataydilar.

Shu fermentlar ishtirokidagi kraxmal gidrolizining oralik maxsulotlari dekstrinlar turt xil buladi:

1. Amilodikstrinlar (o'rtacha molekular massasi 10000 uglerod birligi atrofida) – yod ta'sirida ko'k-binafsha rangga bo'yaladi. Feling reaktivini maltozalarga nisbatan 1% ga qaytaradi.

2. Eritrodekstrinlar (o'rtacha molekulyar massasi 6000-4000 u.b) – yod ta'sirida qizil-qo'ng'ir rangga bo'yaladi, Feling reaktivini maltozaga nisbatan 2-3% ga qaytaradi.

3. Axrodekstrinlar (urtacha molekulyar massasi 3700 u.b) – yod ta'sirida deyarli bo'yalmaydi, 70%-li spirtida eriydi, Feling reaktivini maltozaga nisbatan 10% ga qaytaradi.

4. Maltodekstrinlar (urtacha molekulyar massasi 1000 u.b) – yod ta'sirida deyarli bo'yalmaydi, Feling reaktivini maltozaga nisbatan 30-40% ga qaytaradi.

α - ammilaza unayotgan donli urug'lar, soya urug'larida va kartoshka mevasida ko'proq uchraydi.

β - amilaza fermenti kraxmaldagi α –glikozid 1:4 bog'larini tartibli ravishda, bir chetdan ketma-ket maltoza qoldiqlarini polisaxaridlar zanjiridan gidrolizlaydi. β – amilazani qandlovchi ferment deb ataydilar.

Glyukoamilaza fermenti kuprok mogor zamburuglarida uchraydi. Glyukoamilaza fermenti ta'sirida kraxmalning -1:6 va 1:4 glyukozid gidrosil bog'lari gidrolizlanib glyukoza molekulari hosil bo'ladi.

Amilaza fermentlari preparatlari oziq-ovqat sanoatida keng qo'llaniladi. Spirt sanoatida kraxmalni qandlashda, non tayyorlashda xamir tarkibidagi bijg'iydigan qandlar miqdorini oshirishda ishlatiladi.

Undirilgan bug'doy va arpa aktiv holatdagi α - va β - amilazalar bo'lib, ular suvda yaxshi eriganligi uchun, suvli eritma holida ajratib olinadi. α - va β - amilaza fermentlari har xil temperaturada va muhitlarda o'z aktivligini namoyon qiladi. Ularning shu xususiyatlaridan foydalanib bir-biridan ajratish mumkin. **β -amilaza** 70°C gacha qizdirilganda parchalansa, **α -amilaza** aktiv holda saqlanib qoladi. **β - amilaza** muhitning pH 4,8 qiymatida optimal aktivlikka ega bo'lsa, α -amilaza aktivligini yuqotadi. Tekshiriladigan mahsulotlar: kraxmal eritmasi, undirilgan arpa

Reaktiv va asboblari:

1. 0,1 N HCl eritmasi.
2. 0,15M Na₂HPO₄ eritmasi,
3. pN 5,6 bufer eritmasi,
4. 1/4000 N yod eritmasi,
5. 20%-li HCl eritmasi

Isbning bajarilishi.

I. α - va β - amilazalar eritmalarini tayyorlash.

Amilaza fermentlarini undirilgan arpadan ajratib olish uchun, sopolxavonchaga 20 g undirilgan arpa solinadi. Ustiga 100 ml suv quyib, 15 minut davomida aralashtirilib eziladi.

Aralashma 2 soatga sovutgichga kuyiladi. Sungra aralashma mato filtdan sikib, suyuqlik kogoz filtdan Yfna bir marta utkaziladi.

Filtrat α - va β -amilaza fermentlari eritmasidir.

Fakat α -amilazali eritma tayyorlash uchun, yuqorida tayyorlangan eritmaning yarmi olinadi va 70°C li (bu temperatura anik saklanishi shart) suv xammomida 15 minut ushlab turiladi. So'ngra eritma sovutilib, kraxmalni dekstrinlashda ishlatiladi.

Fakat **β - amilazali** eritma tayyorlash uchun, fermentlar aralashmasi eritmasidan 15 ml olib, ustiga 3 ml 0,1 N HCl eritmasi va 12 ml distillangan suv quyiladi (bunda eritmaning muhiti pH 3,3 bo'ladi). Stakan 15 minutga sovutgichga quyiladi.

So'ngra eritmaga 6 ml 0,15 M Na₂HPO₄ eritmasi ko'shib, pH 6 ga etkaziladi. Eritma kraxmalni maltozalarga parchalashda ishlatilishi mumkin.

II. α -amilazaning dekstrinlanish qobiliyatini aniqlash.

α -amilazaning kraxmalni dekstrinlarga gidrolizlash qobiliyatini aniqlash ularning yod bilan sifat reaksiyasini kuzatishga asoslangan. Tajribani bajarish uchun 5 ta toza probirka olib, xar biriga jadvalda ko'rsatilgan miqdorda kraxmal eritmasi, pH 5,6 bufer sistemasi, α -amilaza eritmasi va distillangan suv quyilib, probirkalarga umumiy suyuqlik hajmi 10 ml ga etkaziladi.

Probirkalar 40°C li suv hammomida ushlanadi. Kraxmalning gidrolizlanish darajasi, 4-probirkadan har 10 minutda shisha tayoqchasi yordamida bir tomchi suyuqlik olib oq chinni yuzasida bir tomchi yodidan qo'shish va hosil bo'lgan rangni kuzatish orqali aniqlaniladi.

Rang qizil-qo'ng'ir bo'lganda (bu probirkada eritrodikstrinlarning hosil bo'lganini bildiradi) probirkalar suv hammomidan olinib, har biriga 2-3 tomchi HCl eritmasi qo'shilib, gidroliz jarayoni to'xtatiladi.

So'ngra har bir probirkaga bir necha tomchidan yod eritmasi ko'shib chiqiladi. Probirkalardagi suyuqlik tartib soniga muvofiq kul rangdan boshlab, siyoxrang orqali qo'ng'ir rang va sariq ranglarga bo'yaladi. Probirkalarda hosil bo'lgan ranglar 11 - jadvalini oxirgi ustuniga yozib olinadi.

11 -jadval.

Probirka №	Kraxmal eritmasi ml	Bufer eritmasi	α -amilaza eritmasi ml	Distil. suv ml	Hosil bo'lgan rang
1	5	1	-	4,0	
2	5	1	0,2	3,8	
3	5	1	0,4	3,6	
4	5	1	0,6	3,4	
5	5	1	0,8	3,2	
6	5	1	1,0	3,0	

Probirkalardagi gidroliz mahsulotlari nomlanib, ularning hosil bo'lishiga ta'sir qilgan omillar haqida xulosa yoziladi.

23 - LABARATORIYA ISHI

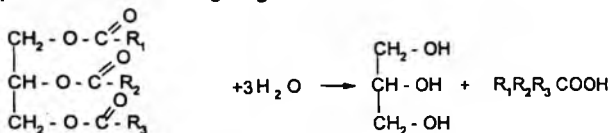
LIPAZA FERMENTINING AKTIVLIGINI ANIQLASH

Ishning maqsadi: moyli urug'lar tarkibida lipaza fermentini ajratish va o'simlik moyining fermentativ gidrolizini amalga oshirish.

Tekshiriladigan mahsulotlar: undirilgan moyli urug'

- Reaktiv va asboblari:**
1. 2-3 kunlik unayotgan paxta chigiti
 2. paxta moyi, 3. atsetat buferi pH=4,7
 4. 96%li etil spirti, 5. efir
 6. 0,1% fenolftalen yoki timolftalein,
 7. toluol, 8. 0,1 N natriy gidroksid
 9. chinni hovoncha, 10. byuretkalar
 11. har-xil hajimdagi kolbalar, 12. pipetkalar

Lipaza fermenti esterazalar guruhiga mansub bo'lib, moyli o'simliklar urug'ida ko'p uchraydi. Lipaza moylarni glitserin va yog' kislotalarigacha parchalaydi. Moylarning lipaza fermenti bilan parchalanishini tubandagi tenglama bilan ko'rsatish mumkin.



Uch glitserid

Lipaza

Glitserin

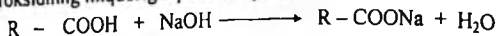
Yog' kislotalar

Bu erda R_1 , R_2 va R_3 yuqori molekulyar yog' kislotalarining radikallari – palmitin, stearinat, oleinat va boshqalar bo'lishi mumkin.

Lipaza fermenti ta'sirida erkin yog' kislotalarning miqdori oshadi. Erkin yog' kislotalari miqdorini keskin oshishini unayotgan urug'lardan aniq ko'rish mumkin.

Oziq-ovqat mahsulotlarining (un, yorma, ayniqsa yog' sintez qiluvchi urug'lar - kunjut, kungaboqar, chigit kabilari) sifatini bir me'yorda saqlab turishda bu fermentning roli kattadir. Oziq-ovqat mahsulotlari saqlanayotgan sharoitda namlik va haroratning ko'tarilishi zahiradagi moylarning parchalanishiga sabab bo'ladi. Natijada, ular tarkibidagi erkin yog' kislotalarning miqdori keskin ortadi. Bu esa oziq-ovqat mahsulotlarining buzilishiga va tahirlanishiga olib keladi.

Lipaza fermentining aktivligini, moylarning parchalanishidan hosil bo'lgan erkin yog' kislotalarini neytrallashtirish uchun ketgan natriy gidroksidning miqdoriga qarab aniqlash mumkin.



Ishning bajarilishi

Lipaza fermentining aktivligini aniqlash uchun 2-3 kunlik unayotgan chigit mag'zidan 3 g olib, chinni hovonchada pH=4,7 ga teng bo'lgan atsetat buferida yaxshilab yanchiladi va 100 ml hajimdagi o'lchov kolbaga qo'yiladi. Chinni idishni 2-2,5ml distillangan suv bilan 2-3 marta yuvib, uni ham kolbaga solinadi.

Ko'pchilik o'simliklar tarkibidagi lipazaning optimal pH=4,5-5,0 bo'lganligi uchun unga yana 5 ml atsetat buferi qo'shiladi. So'ngra ferment shirasi ustiga 1 ml toza pahta yoki kungaboqar moyidan solinadi, uning ustiga esa 1-2 tomchi toluol tomchilatib, kolbadagi aralashma yaxshilab chayqatiladi va 20-24 soat oddiy xona haroratida yoki termostatda 30°C da qoldiriladi.

Mana shu davr ichida moy lipaza fermenti ta'sirida parchalanadi. Kontrol kolbalarda ham xuddi yuqoridagi tajribalardagi ishlar olib boriladi, ammo kolbalarni inkubatsiyaga qo'yishdan oldin aralashma 3-5 daqiqa qaynatiladi. Inkubatsiya vaqti tugashi bilan kolbalarning har biriga 20 ml 96% -li spirt, 20 ml efir solinib ular ustiga 2-3 tomchi fenoltalein tomizilib, 0,1N natriy gidroksid eritmasi bilan titirlanadi. Agar kolbadagi aralashma rangli bo'lsa, timoftaleindan foydalaniladi.

Olingan natijani hisoblash. Lipaza aktivligi 10 g urug'ga nisbatan quyidagi formula yordamida hisoblanadi:

$$X = \frac{(A \times T) - (b \times T) \times 10}{H}$$

X- izlanayotgan lipaza aktivligi ;

A –titirlash uchun ketgan 0,1N natriy gidroksid eritmaning hajmi (ml hisobida)

T-0,1 N natriy gidroksidning titri;

b - kontrol titirlash uchun sarf bo'lgan 0,1 N natriy gidrooksidning hajmi (ml hisobida);
N- tajriba uchun olingan urug'ning massasi (g hisobida).

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Fermentlar qanday vazifani bajaradi?
2. Fermentlarni o'rganish tarixi?
3. Fermentlar biokatalizatorlar sifatida?
4. Fermentlarning kimyoviy tuzilishi?
5. Apoferment, koferment, kofaktor, xolof ferment nima?
6. Oddiy oqsil tabiatli va murakkab oqsil tabiatli fermentlar?
7. Kofermentlarning xillari? 8. Koferment nima? Kofaktorchi?
9. Fermentlarning termolabilligi? 10. Fermentlarning maxsusligi?
11. Fermentativ reaksiyaning pH ga bog'liqligi. pH optimumi nima?
12. Fermentlarning tasniflanishi va nomenklaturasi?
13. Fermentativ reaksiyaning ferment va substrat konsentrsiyalariga bog'liqligi?
14. Fermentativ reaksiyaga faollovchi va ingibitor moddalarning ta'siri?

FERMENTLARNI BIOMATERIALLARDAN AJRATIB OLIISH VA AKTIVLIGINI ANIQLASH

Ma'lumki, barcha tirik organizmlarda kechadigan barcha reaksiyalar fermentlar ishtirokida bo'lib o'tadi. Hayotiy jarayonlar hamda o'simliklarda modda va energiya almashinuvi asosida sodir bo'lib, organizmning to'qima va organlari bu jarayonlarda o'ziga xos xilma xil funksiyalarni bajarish orqali ishtirok etadi. Bu jarayonlarning barchasi kimyoviy jarayon bo'lib, ularda xilma xil fermentlar qatnashadi va bu fermentlarning tegishli organ va to'qimalarning hujayralari organellalarida lokalizatsiyalangan bo'ladi. Shu sababli bu fermentlarni biomateriallardan ularni ajratib olish va faolligini aniqlashga oid ishlarni bajarish muhim ahamiyatga egadir.

Darsning maqsadi: Fermentlarni biomaterialdan (undirilgan boshqilardan) ularni ajratib olish va ularning aktivligini aniqlashga oid bilim, malaka va ko'nikmalarni shakllantirish hamda mustahkamlash

24-LABARATORIYA ISHI

AYRIM FERMENTLARNI BIOMATERIALLARDAN AJRATIB OLIISH

Ishning maqsadi: fermentlarni biomaterialdan (undirilgan boshqilardan) ularni ajratib olish va ularning faolligini aniqlashga oid bilim, malaka va ko'nikmalarni shakllantirish hamda mustahkamlash.

Kerakli biomateriallar: undirilgan boshqili donlari.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, kristallizator, voronka, filtr qog'oz, sentrifuga probirkalari bilan, doka, shisha tayoqcha, vakum eksikator quritish moslamali moddasi bilan, suv hammomi.

Kerakli reaktivlar: 0,5% li xlorid kislota eritmasi, natriy xlor tuzi kukuni.

1- ish. Pepsinni qoramol (qo'y) me'dasidan ajratib olish

Ishni bajarish tartibi. Bir bo'lak qoramol me'dasi yaxshilab maydalanadi va uni ustiga 10 hajmda 0,5% xlorid kislota qo'shib 20-

30°C li sharoitda 3-5 soatga tinch qo'yib qo'yiladi. So'ng 4 qavatli doka orqali filtrlanadi, bunda qolgan qoldiq ustiga 5 hajmda 0,5 % li xlorid kislotada qo'shib yana 3-5 soatga ekstraktsiya uchun qo'yiladi. Ekstrakt 4 qavatli doka orqali filtrlanib, filtrat oldingi filtrat bilan birlashtiriladi. Filtratni natriy xloridning kukuni yordamida 15 % gacha to'yintiriladi.

Hosil bo'lgan cho'kma sentrifugalash asosida cho'ktiriladi. Cho'kmani yana 0,5 % li xlorid kislotada eritilib, qaytadan natriy xlorid yordamida cho'ktiriladi va sentrifugalanadi. Cho'kmani vakuum eksikatorga joylashtirib namini so'rib olish yo'li bilan quritiladi va keyingi tajribalarda foydalanish uchun olib qo'yiladi.

2- ish. Oshqozon osti bezidan lipazali ekstrakt ajratib olish

Ishning maqsadi: Oshqozon osti bezidan lipazali ekstrakt ajratib olish.

Kerakli biomateriallar: qo'y yoki qoramolning oshqozon osti bezi.

Kerakli jihozlar: hovoncha, shisha maydachalari, doka, qaychi, voronka, tarozi

Kerakli reaktivlar: distillangan suv

Ishni bajarish tartibi. Qo'y yoki qoramolning oshqozon osti bezini yog'dan xolis qilib, qaychi yordamida maydalanadi. Qaychilangan to'qimani har 20 g ga 60 ml suv va shisha bo'lakchalari qo'shib chinni hovonchada yaxshilab yanchiladi. Aralashma 3-4 qavatli doka orqali filtrlanadi. Filtratni lipaza fermentini manbaysifatida ishlatish mumkin bo'ladi.

3- ish. Saxoroza fermenti preparatini achitqidan ajratib olish

Ishning maqsadi: Saxoroza fermenti preparatini achitqidan ajratib olish.

Kerakli biomateriallar: achitqi.

Kerakli jihozlar: sentrifuga probirkalari bilan, termostat, suv hammomi, chinni hovoncha, shisha plastinka, probirkalar, shisha maydasi, vakuum eksikator quritish moslamali quritish moddasi bilan, sovitgich(xolodilnik).

Kerakli reaktivlar: distillangan suv, aseton.

Ishni bajarish tartibi. Achitqidan 20 g olib chinni hovonchaga solinadi va shisha bo'lakchalari qo'shib yanchiladi. Aralashmaga doimo aralashtirgan holda kam kamdan qo'shib borib jami 40 ml distillangan suv qo'shiladi va yana shisha hovonchada yanchiladi.

Hosil bo'lgan massa 10 daqiqa davomida 3000 g/min tezlikda sentrifugalanadi (yoki filtrlanadi). Filtrat yoki sentrafugat vakum eksikatorga o'tkazilib, 35°C da bug'lantirilib hajmi kamaytiriladi va sovitgichda -20°C gacha sovitilgan atseton ustiga qo'shib aralashtirgandan so'ng sentrifugalanadi.

Cho'kma shisha plastinkaga ko'chirilib, 38°C da quritiladi. Shu yo'sinda ajratib olingan saxoroza preparatini yaxshi berkitiladigan idishga solib sovitqichda saqlaganda uzoq muddat davomida o'z faolligini yo'qotmaydi.

4-ish. Loviya o'simligi urug'idan ureaza preparatini ajratib olish

Ishning maqsadi: loviya o'simligi urug'idan ureaza preparatini ajratib olish

Kerakli biomateriallar: loviya o'simligi urug'i.

Kerakli jihozlar: sentrifuga probirkalari bilan birga, vakum-eksikator quritish moslamali moddasi bilan, tarozi, chinni hovoncha, kolbachalar, stakanchalar, filtr qog'oz, sovitqich.

Kerakli reaktivlar: petroley efiri, distillangan suv.

Ishni bajarish tartibi. Loviya o'simligi urug'idan 50 g olib chinni hovonchada yaxshilab maydalanadi va un holatiga keltiriladi, uni ustiga petroley efiri qo'shib yog'sizlantiriladi. Yog'sizlantirilgan loviya uni filtr qog'ozda ochiq havoda quritiladi va +5°C gacha sovitilgan 10 ml suv qo'shib aralashtirib sovitqichning pastki qismiga 1 soatga qo'yiladi. Aralashma sentrifugalanadi va sentrifugatni 35-40°C li vakum eksikatorga ko'chirilib suvi bug'lantiriladi. Shu yo'sinda ajratib olingan kukun ureaza preparati bo'lib, sovitgichda saqlaganda o'z faolligini ancha muddatda saqlashi mumkin.

UGLEVODLAR BOKIMYOSI

Molekulasining tarkibi C, H va O dan tarkib topgan va uglerodning CH_2O holatidagi gidratlarini o'zaro fazoviy tuzilmalaridan hosil bo'lgan murakkab moddalar Uglevodlar (uglevodlar) deb ataladi. Ular tabiatda keng tarqalgan moddalar bo'lib, tirik organizmlarda muhim biologik vazifalarni bajaradi. Ayniqsa, ular o'simliklarda ko'p miqdorlarda uchraydi, ularning quruq vaznini 70-80% ini tashkil etadi. Odam va hayvonlar organizmida ularning miqdori 2% atrofida bo'ladi.

Kimyoviy tuzilishi jihatidan Uglevodlar ko'p atomli spirtlarning aldegidlari va ketonlari hisoblanadi. Tirik organizmlardagi Uglevodlarning bajarayotgan vazifalari turli-tuman. Eng avvalo, Uglevodlar biokimyoviy ahamiyatga ega, ular nafas olish jarayoni bilan biologik oksidlanishga uchrab, o'zlarida jamg'arilgan energiyani ajratadi. Hisoblashlarga ko'ra, 1 g karbonsuv oksidlanganda 4,1 kkal yoki 16,9 kDj energiya hosil bo'ladi. Tirik organizmlarda Uglevodlar quyidagi funksiyalarni bajaradi.

1. Uglevodlar tuzilmaviy quruvchi modda sifatida ham ahamiyatga ega. Ular nuklein kislotalari, karbonkislotalar, aminokislotalar, huddi shunday oqsillar, lipidlar bilan birikib, muhim biogen ahamiyatli birikmalarni hosil qiladi.

2. Uglevodlar himoya vazifasini ham o'taydi. Ular o'simlik to'qimalarining qobig'ini hosil qilishda, hasharotlar, qisqichbaqasimonlarning tashqi qurilmasini, bakteriyalarning hujayra devorlarini va barcha tirik organizmlarning hujayrasi membrana (qobiq) larini tashkil etishda qatnashadi.

3. Uglevodlar tayanch vazifasini ham bajaradi. Kletchatka va boshqa murakkab Uglevodlar hujayra qobig'ini tashkil etishda ishtirok etib, mexanik vazifani bajaradi va to'qimalarning tayanch xususiyatlarini yuzaga chiqaradi. Ular odam va hayvonlarning tog'ay to'qimalari tarkibiga xondroitinsulfatlar holida qatnashib, oqsillar bilan hamkorlikda tayanch vazifasini bajaradi.

4. Uglevodlar boshqaruv vazifasini ham bajaradi. Masalan, oziq moddalar bilan qabul qilingan kletchatka (sellyuloza) ichak ximusi

tarkibida bo'lganida, ichak vorsinkalarini mexanik qo'zg'atib, ichak peristaltikasini faollashtiradi. Bu esa ichakda ovqat hazm bo'lishini tezlashtiradi. Xuddi shunday, monosaxaridlar ichki muhit barqarorligini - gomeostazni saqlashda ham qatnashib, osmotik bosim hosil qilishda faollik ko'rsatadi.

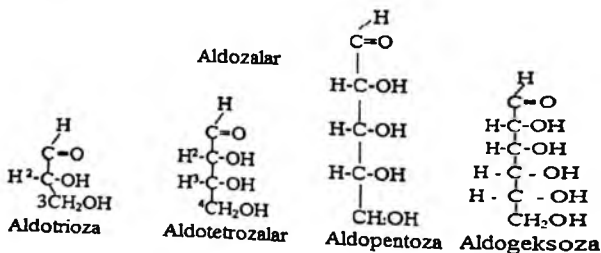
Eng muhimi, Uglevodlar maxsus vazifalarni ham bajarishda ishtirok etadi. Jumladan, glikoprotein tabiatli murakkab moddalar har xil guruhdagi qonning antigenli xususiyatini oshiradi, ular asab hujayrasiga ko'p miqdorda uchrab, asab impulsini o'tkazishda ham qatnashadi. Ayrim glikoproteinli fermentlar qonning sovutgichi, baliqlarda esa antikoagulyant vazifasini bajaradi.

5. Uglevodlar zahira oziq modda vazifasini ham o'taydi. Odam va hayvon to'qimalarida glikogen, o'simliklarda - kraxmal holda to'planib, zarur bo'lganda bioenergiya uchun sarflanishi kuzatiladi.

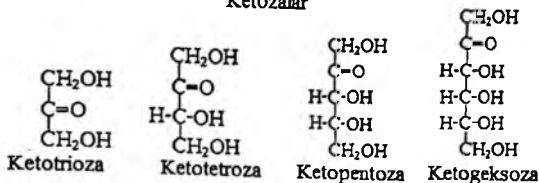
Uglevodlar tarkibi va xossalari qaraib uch guruhga bo'linadi: monosaxaridlar, oligosaxaridlar va polisaxaridlar (glikanlar).

MONOSAXARIDLAR

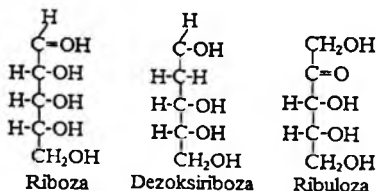
Monosaxaridlar yoki oddiy Uglevodlar. Ularning umumiy tarkibi $(CH_2O)_n$ bo'lib, n - ning soni 3 dan 9 gacha bo'ladi. Ular o'z navbatida tarkibidagi uglerod atomining soniga qaraib, trioza $[C_3H_6O_3]$, tetроза $[C_4H_8O_4]$, pentoza $[C_5H_{10}O_5]$, geksoza $[C_6H_{12}O_6]$, geptoza $[C_7H_{14}O_7]$ kabi guruhlarga bo'linadi. Tuzilishiga ko'ra barcha monosaxaridlar aldegid va keton guruhlarni saqlagani uchun aldozalar va ketozalarga bo'linadi:



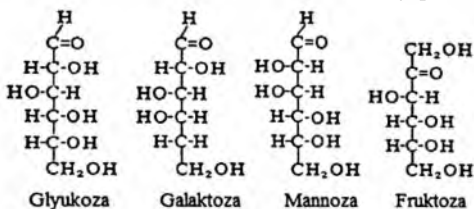
Ketozalar



Monosaxaridlardan tabiatda pentozalar, geksozalar keng tarqalgan bo'lib, muhim biologik vazifalarni bajaradi. Jumladan, pentozalar riboza, dezoksiriboza va ribuloza holida uchraydi, riboza RNK, dezoksiriboza DNK tarkibiga kiradi:

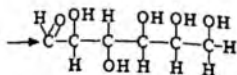
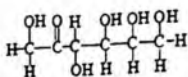


Geksozalar glukoza, galaktoza, mannoza kabi aldogeksozalar tarzida hamda fruktoza kabi ketogeksoza tarzida keng tarqalgan:

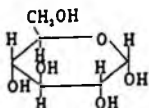


Ulardan, glukoza yoki uzum shakari tabiatda uzum shirasida (15%), mevalarda, barglarda, ildizlarda, gullarda hamda qonda (0,08-0,12%), mushaklarda (0,01%), miokardda (0,03), miyada (0,06%) uchraydi.

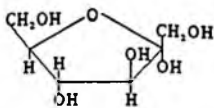
Fruktoza ham mevalarda, gulshira (nektar) da, asalda (60%gacha), uchraydi, u saxaroza va boshqa oligosaxaridlarning tarkibiga kiradi. U organizmda osonlik bilan glukozaga izomerlanadi:



Molekulasi tarkibida aldegid ($-\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{H}$) va keton ($>\overset{\text{O}}{\text{C}}-\text{OH}$) guruhlarini bo'lganligi uchun suvdagi eritmalarda, ayniqsa, kristall holda aldegid holda ham, zanjir holda ham bo'la oladi:



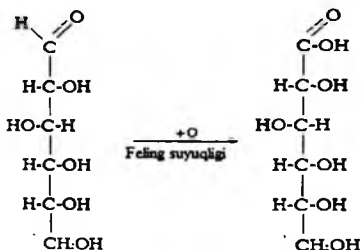
Glyukoza



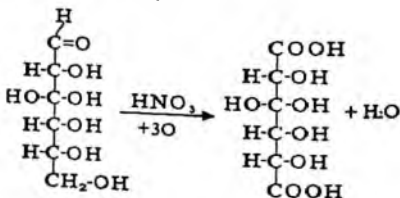
Fruktoza

Kimyoviy xossalari bo'yicha monosaxaridlar uchun quyidagi reaksiyalar tavsiflidir:

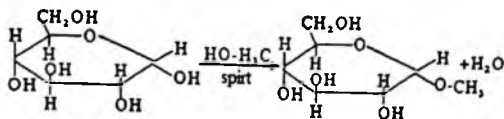
1). Feling suyuqligi ta'sirida oksidlanib glyukonat kislotasiga aylanadi:



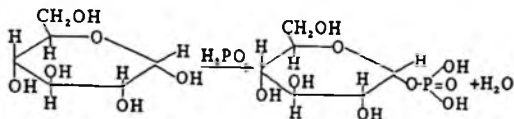
2). Oksidlovchilar ta'sirida 1- va 6 - uglerod atomlari oksidlanib, ikki asosli qand kislotasini hosil qiladi:



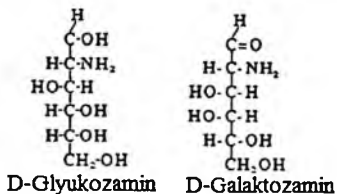
3). Zanjirli shakldagi monosaxaridlar spirtlar bilan ta'sirlashib, oddiy efir - glikozidlar hosil qiladi:



4). To'qimalarda biologik oksidlanish jarayonida murakkab efirlar hosil qiladi:

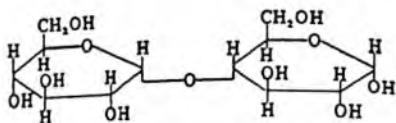


5). Aldozalar molekulasining 2- uglerod atomidagi gidroksil guruhini aminoguruhga almashtirish hisobidan aminoshakarlarga aylanadi, tabiatda ana shunday aminoshakarlardan D - glukozamin bilan D - galaktozamin, xitin, geparin, mukopolisaxaridlar va bakteriyalarning polisaxaridlari tarkibida uchraydi:



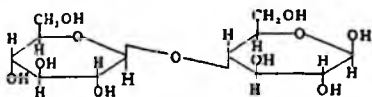
Oligosaxaridlar tarkibi bo'yicha monosaxaridlarning angidridlaridir. Tarkibiga qarab di-, tri-, tetra- va boshqa saxaridlarga bo'linadi. Ulardan biologik ahamiyatga ega bo'lganlari disaxaridlar va trisaxaridlardir.

Tarkiblariga ko'ra disaxaridlar glyukozid harakteriga ega, faqat ularda gidroksilning vodorodi o'miga joylashgan radikal monosaxarid qoldig'idir, ularning eng ahamiyatli vakillari:



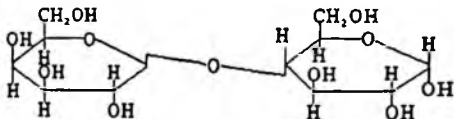
Maltoza

Tuzilishidan ko'rinib turibdiki, maltoza glukozido-glukoza tarkibli disaxarid, undagi bog'lanish 1:4 glukozid bog' dan iborat. U tabiatda erkin holda uchramaydi, faqat, odam va hayvonlarda kraxmal bilan glikogenning parchalanishidan, o'simliklarda ham kraxmalni, donlarni o'sishi davrida, gidrolizlanishidan hosil bo'ladi. Maltozagidrolizlansa ikki molekula glukoza hosil bo'ladi.



Sellobioza

Sellobiozadagi glukozid bog' - D-glukopiranozaning β -shaklidan hosil bo'lgan, u selluloza(kletchatka)ning fermentli bijg'ishidan hosil bo'ladi, suvda yaxshi eriydi.



Laktoza-sut shakari

Tarkibi D - glukopiranoza bilan D - galaktopiranozadan tuzilgan. Faqat sut tarkibida uchraydi, uning sutdagi miqdori 5-8% ni tashkil etadi. Laktozaning gidrolizatidan bir molekula glukoza bilan bir molekula galaktozani ajratib olish mumkin.

Trisaxaridlar ham tabiatda erkin holda uchraydi. Eng muhim vakili rafinozadir, u chigit, qand lavlagisi tarkibida uchraydi.

Agar rafinoza gidrolizlansa galaktoza, glukoza va fruktoza hosil bo'ladi. Yana bir vakili melisitozadir, u ayrim nina bargli daraxtlarning shirasi tarkibida uchraydi, agar gidrolizlansa, ikki molekula glukoza bilan bir molekula fruktoza ajraladi.

MONOSAXARIDLARGA XOS SIFAT REAKSIYALARI

Monosaxaridlarga xos reaksiyalarni aldozalarga va ketozalarga xos reaksiyalarga bo'lish mumkin. O'z navbatida aldozalarga xos reaksiyalarni sifat reaksiyalari va qaytaruvchanlik reaksiyalariga ajratish mumkin. Bu o'rinda shu narsani ham e'tirof etish lozimki, qaytaruvchanlik reaksiyalariga monosaxaridlarning aldozalari qatori qaytaruvchi disaxarid (maltoza, laktoza, sellobioza) lar ham kirishadi. Ketozalar esa, aldozalarga xos reaksiyalarga kirishmay, balki ularni tavsiflovchi Selivanov reaksiyasiga kirishadi.

Darsning maqsadi. Aldozalarga xos sifat reaksiyalari, aldozalar va qaytaruvchi disaxaridlarga xos qaytaruvchanlik reaksiyalari, shuningdek ketozalarga xos Selivanov reaksiyalarini o'tkazish orqali ularning kimyoviy xossalari bilan tanishish va shu mavzuga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

25-I.LABARATORIYA ISHI

ALDOZALARGA XOS AYRIM SIFAT REAKSIYALARI

Ishning maqsadi: aldozalarga xos ayrim sifat reaksiyalari laboratoriya sharoitida amalga oshirish.

Biomaterial: uzum yoki olma shirasi

Kerakli jihozlar: probirkalar, suv hammomi (80°C li), pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: karbonsuvli modda, α -naftolning spirtidagi 10% li eritmasi, konsentrlangan sulfat kislota, Selivanov reaktivi (tayyorlash; rezorsindan 0,5 g tarozida tortib olib, xlorid kislota bilan hajmini 100 ml ga etkaziladi), fruktozaning 1% li eritmasi, ribozaning 1% li eritmasi, orsin reaktivi, difenilamin eritmasi (tayyorlash; 10 ml muz sirka kislotada 100 mg difenilamin eritilib ustiga 0,28 ml konsentrlangan sulfat kislota qo'shiladi), dezoksiribozaning 1% li eritmasi, konsentrlangan H_2SO_4 .

1-ish. Uglevodlarni α -naftol yordamida aniqlash

Ishning maqsadi: uglevodlarni α -naftol yordamida aniqlash.

Biomaterial: uzum yoki olma shirasi

Kerakli jihozlar: probirkalar, suv hammomi (80°C li), pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: karbonsuvli modda, α -naftolning spirtidagi 10% li eritmasi, konsentrlangan sulfat kislotasi, Selivanov reaktivi (tayyorlash; rezorsindan 0,5 g tarozida tortib olib, xlorid kislotasi bilan hajmini 100 ml ga etkaziladi), fruktozaning 1% li eritmasi, ribozaning 1% li eritmasi, orsin reaktivi, difenilamin eritmasi (tayyorlash; 10 ml muz sirka kislotada 100 mg difenilamin eritilib ustiga 0,28 ml konsentrlangan sulfat kislotasi qo'shiladi), dezoksiribozaning 1% li eritmasi, konsentrlangan H_2SO_4 .

Bu reaksiya hamma Uglevodlar uchun xosdir. Uglevodlar konsentrlangan sulfat kislotasi ta'sirida furfural yoki uning hosilalariga aylanadi. Hosil bo'lgan mahsulot 2 mol α -naftol bilan kondensasiyalanib binafsha rangli kompleks hosil qiladi.

Ishni bajarish tartibi. Tekshirilayotgan eritmada 2 ml yoki tarkibi karbonsuvli 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 qo'shiladi. Sulfat kislotaning zichligi katta bo'lgani uchun probirka tagiga cho'kib, suyuqlik ikki qavatga bo'linadi. Xuddi shu ikki qavat chegarasida binafsha rang (halqa) hosil bo'ladi.

2-ish. Pentozalarni orsin reaktivi yordamida anqlash

Ishning maqsadi: pentozalarni orsin reaktivi yordamida anqlash.

Biomaterial: riboza yoki tarkibida pentoza bo'lgan tekshiriluvchi eritma.

Kerakli jihozlar: probirkalar, pipetkalar.

Pentozalar kislotali muhitda temir (III)-xlorid ishtirokida Orsin reaktivi bilan yashil rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiya pentozalarning kislotasi ta'sirida furfuralga aylanishini tasdiqlaydi.

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 ml riboza yoki tarkibida pentoza bo'lgan tekshiriluvchi eritma quyilib, unga teng hajmda orsin reaktividan qo'shiladi. Aralashma qaynayotgan suv hammomida 20 daqiqa qizdiriladi.

Agar tekshirilayotgan suyuqlikda pentoza yoki uning hosilasi bo'lsa, probirkadagi eritma yashil rangga kiradi.

3-ish. Dezoksiribozani difenilamin yordamida aniqlash

Ishning maqsadi: dezoksiribozani difenilamin yordamida aniqlash

Biomaterial: dezoksiriboza yoki tarkibida DNK bo'lgan eritma.

Kerakli jihozlar: probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: difenilamin eritmasi (tayyorlash; 10 ml muz sirka kislotada 100 mg difenilamin eritilib ustiga 0,28 ml konsentrlangan sulfat kislotaga qo'shiladi), dezoksiribozaning 1% li eritmasi, konsentrlangan H_2SO_4 .

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

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.

Ishni bajarish tartibi 1 ml dezoksiriboza yoki tarkibida DNK bo'lgan eritmaga 2 ml difenilamin eritmasi qo'shiladi, so'ngra 10 daqiqa qaynatiladi. Bu vaqtda reaksiya aralashma barqaror ko'k rangga kiradi.

POLISAXARIDLAR

Polisaxaridlarning umumiy formulasi $(C_6H_{10}O_5)_n$ bo'lsa ham tuzilishi bo'yicha bir - biridan farqlanadi. Shuning uchun ularni gomopolisaxaridlar va geteropolisaxaridlarga bo'lishadi ularning monomerlari orasidagi glikozid bog'larning tabiatiga qarab ham farqlanishini yaqqol ko'rish mumkin.

Ayrim polisaxaridlar o'simlik va hayvon organizmlarida, ularning tana tuzilishini hosil qilishda qatnashadi va mexanik mustahkamligini ta'minlaydi. Ularga kletchatka (o'simliklarda), xitin (hasharotlarda) moddalari kiradi.

Polisaxaridlarning o'simliklardagi kraxmal va inulin, hayvonlardagi glikogen kabi vakillari oziq mahsulotidir. Bulardan tashqari bakteriyalar va zamburug'lar tarkibida ham geteropolisaxaridlar uchraydi.

Polisaxaridlarning ko'pchiligi oqsillar bilan murakkab birikmalar hosil qiladi, glukoproteinlar, mukoproteinlar shular jumlasidandir.

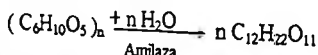
Kraxmal. U o'simliklarda fotosintez jarayonida hosil bo'lib, o'simliklarning donida, ildizmevalarida, tuganak mevalarida va boshqa qismlarida zahira oziq modda sifatida (kraxmal donachalari holida) jamg'ariladi. Uning miqdori bug'doyda 75%, guruchda 80%, kartoshka to'ganaklarida 12-24%, o'simlik barglarida 4% atrofida bo'ladi.

Kraxmal sovuq suvda erimaydi, lekin 60-80°C gacha isitilgan suvda bo'kadi va kraxmal kleystri deb ataladigan kolloid eritmaga aylanadi. Kraxmal molekulasi kimyoviy sof modda emas, uning 96-97% ini amiloza va amilopektin kabi polisaxaridlar, qolgan qismini mineral moddalar (asosan, fosfat kislotasi), yuqori yog' kislotalari (stearinat, palmitat va boshqalar) tashkil etadi.

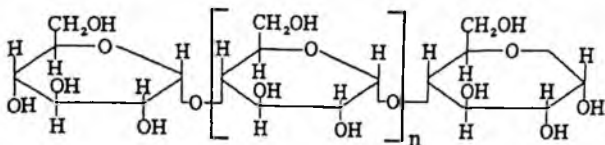
Kartoshka kraxmali tarkibida amiloza polisaxaridi 19-22%ni, amilopektin esa 78-81%ni tashkil etadi. Bundan tashqari amilozaga nisbatan amilopektin yuqori molekulari polimerdir. Agar amilozaning molekulyar massasi $2 \cdot 10^4 - 2 \cdot 10^5$ atrofida bo'lsa, ya'ni million u.b. atrofida bo'lsa, amilopektinning mol massasi $1 \cdot 10^5 - 2 \cdot 10^6$, ya'ni yuz million u.b. atrofida bo'ladi. Agar har ikkala polisaxarid ham gidrolizlansa D - glukoza molekulari ajralib chiqadi.

Amiloza suvda eriydi va yod ta'sirida to'q ko'k rang hosil qiladi, amilopektin esa suvda erimaydi, yod ta'sirida binafsha rang hosil qiladi. Kraxmal kleysterining yopishqoqligi amilopektin hususiyatidan kelib chiqadi.

Agar amiloza polisaxaridi amilaza fermenti ta'sirida gidrolizlansa, disaxaridlardan maltoza hosil bo'ladi:

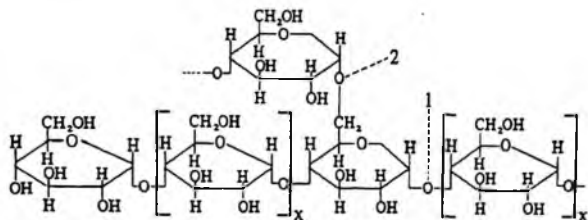


Disaxarid maltozaning tuzilishida 1,4 bog'i bilan birikkan D - glukoza bo'lganidan, polisaxarid amilozaning tuzilishini ham shunday izohlash mumkin:



Amiuloza molekulası, ko'pincha, 200-300 glukoza birligidan tuzilgan. Shoqlanmagan uzun polimer zanjirdir.

Amilopektinning molekulası ham D - glukopiranoza qoldiqlaridan tashkil topgan, lekin uning polimer zanjiri shoqlangan ya'ni 1 --> 4 (1) bog' lardan tashqari 1,6 (2) bog'lar ham mavjud:



Shunisi tavsifliki, agar kraxmal kislotada ishtirokida asta-sekin qizdirilsa, u gidrolizga uchraydi va molekular massalari bir-biridan farq qiladigan polisaxaridlar – dekstrinlarvaengso'ngidamaltozavaglukoza hosil bo'ladi:

Kraxmal → Amilodekstrin → Eritrodekstrin → Axpodekstrin

Maltodekstrin → Maltoza → Glyukoza

Reaksiyaning o'tishini yod ta'sirida aniqlash mumkin. Kraxmal yod ta'sirida ko'k rangga bo'yaladi, gidroliz davom etishi bilan, aralashmaning rangi dastlab binafsha, qizgish binafsha, amilodekstrin qizil eritrodekstrin va nihoyat rangsizlanib axrodekstrin qoladi va keyin yod bilan rangli birikma hosil qilmaydi.

Kraxmal oziq-ovqat sanoatida, spirt, kley ishlab chiqarishda keng qo'llaniladi.

Glikogen yoki hayvon kraxmali ham $(C_6H_{10}O_5)_n$ tarkibli murakkab polisaxariddir. U odam va hayvonlarda eng muhim vazifa - uglevodlar

zaxirasini tashkil etadi. Ayniqsa, u jigarda 10% gacha, mushaklarda – $(C_{12}H_{22}O_{11})_n$ 4,0-4,5% gacha jamg'ariladi. Tuzilishi jihatidan glikogen tarmoqlangan polimerdir, u D - glikopiranozalardan, uzun zanjirlarda 1,4, tarmoqlangan zanjirlarda 1,6-bog'lar bilan birikkan. Har bir 1,6-bog'lanishlarga D - glyukopiranozaning 8-12 ta qoldig'i birikkan bo'ladi. Uning molekular massasi $3 \cdot 10^5$ dan $1 \cdot 10^8$ gacha. Kislotali gidrolizida α - glukoza, α - maltoza va α - izomaltoza ajraladi.

Jigardagi glikogen miqdori ovqatlanishga, fiziologik holatga qarab keskin o'zgarib turadi. Erkin ajratib olish va xossalarini o'rganish uchun, uni hayvonlarning jigaridan o'yuvchi ishqor (NaOH) ning ta'sirida gidrolizlab, spirt bilan cho'ktilib olinadi.

Kletchatka o'simliklar dunyosida keng tarqalgan polisaxariddir. Uning hisobiga biosferadagi organik birikmalarning 50% i to'g'ri keladi. O'simliklarning yog'ochligi 50%, paxta tolasini - 96-100% kletchatkadan tashkil topgan.

Molekulasining tuzilishi bo'yicha, xuddi glikogendagiga o'xshab, 1,4- bog'lardan D - glyukopiranozaning ketma-ket birikishidan hosil bo'lgan, bu uzun zanjirlar bir-biriga nisbatan yonma-yon (paralell) joylashgan bo'lib, ular o'rtasida vodorod bog'lari yotadi. U suvda erimaydi, biroq misning ammiakli tuzlarida yaxshi eriydi, molekulyar massasi taxminan $2 \cdot 10^3$ - $2 \cdot 10^6$ atrofida.

Uning molekulasida vodorod bog'lari bilan hosil bo'lgan ipchalar ya'ni mikrofibrillalar lignin, gemiselluloza, pektin kabi moddalar bilan birgalikda o'simlik hujayrasining devorini tuzadilar, bu tuzilma ko'p qavatlidir. Shuning uchun o'simlik hujayralarining devori mustahkam bo'ladi, bu mustahkamlik o'simlik yog' ochligining mustahkamligini ham ta'minlaydi.

Kletchatka muhim amaliy ahamiyatga ega, u paxta - qog'oz to'qimalarni, qog'oz, sun'iy ipak, himoyalovchi moddalarni ishlab chiqarishda keng qo'llaniladi.

Xitin geteropolisaxaridlar jumlasiga kirib tabiatda keng tarqalgan, tuzilma xususiyatli, polisaxariddir. U hashoratlar va qisqichbaqasimonlarning qattiq po'stining asosiy qismini tashkil etadi. Uning tuzilishi kletchatkaning tuzilishiga o'xshaydi, biroq uning

molekulasi tarkibida kletchatkadagi glukozaqoldig'i o'rniga N - asetil - β - glukozamin keladi.

Xitin erkin holda uchramaydi, faqat u oqsillar, anorganik tuzlar bilan birikkan holda uchraydi. Anorganik tuzlardan uning tarkibida karbonat (CaCO_3 va boshqalar)lar, lipidlar, pigmentlar bilan birikkan holda uchraydi. Molekulasi 1,4 glikozid bog'lari bilan birikkan N - atsetilglukozaminlardan hosil bo'lgan deb qaraladi. Xitin tayanch, himoya va mexanik vazifalarni bajaradi. U chumoli kislotada yaxshi eriydi.

Eng muhim geteropolisaxaridlarning, vakillari bo'lib **gialuronat kislotasi**, **xondroitinsulfatkislotasi** misol bo'la oladi. Gialuronat kislotasi ko'zning shishasimon moddasida, paylarda, bakteriyalarning kapsulalarida ko'p uchraydi.

Molekulasi tarkibida N - atsetil - D - glukozamin va D - glyukuronat kislota qoldiqlaridan tashkil topib, ular 1:1 nisbatda 1, 3 va 1,4 - glikozid bog'lar orqali birikkan bo'ladi. Uning moll massasi $1 \cdot 10^5$ - $1 \cdot 10^6$ atrofida bo'ladi.

Xondroitinsulfat kislota ham hujayralararo shilimshiq moddalarni hosil qilishda ishtirok etadi. U tog'ayda, paylarda, ko'zning muguz pardasida ko'p miqdorda uchraydi. U oqsil kollogen bilan mustahkam majmualari birikma hosil qiladi. Molekulyar massasi 50 000 D atrofida.

POLISAXARIDLARNI AJRATIB OLISH VA ULARGA XOS AYRIM REAKSIYLAR

Darsning maqsadi. Polisaxaridlarni biomateriallardan ajratib olish, gidrolizlash va ularga oraliq mahsulotlariga xos reaksiyalarni o'tkazish yo'li bilan ularning kimyoviy xossalari o'rganish va nazariy bilimlarni mustahkamlash.

26-LABARATORIYA ISHI

POLISAXARIDLARNI AJRATIB OLISH

Ishning maqsadi: polisaxaridlarni ajratib olish

Kerakli biomaterial: Kartoshka tuganagi, yangi suyilgan quyonning jigari, mushagi

Kerakli jihozlar: suv hammomi, probirkalar uchun shtativ, pipetkalar, probirkalar, o'lchov silindri, gaz gorelka yoki spirt lampa, termostat, olovga chidamli kolba, chinni hovoncha, shisha maydachalari, analitik tarozi, sovitgich, mikroskop

Kerakli reaktivlar: 1 % li kraxmal eritmasi, 10 % li Na_2SO_4 eritmasi, Lyugol eritmasi (tayyorlash: 500 ml li o'lchov kolbasi 20 g kaliy yodid va 10 g yod kristali solib, 200 ml suvda eritiladi, so'ng hajmi distillangan suv yordamida 500 ml ga yetkaziladi), Feling reaktivi, KOHning 30 % li eritmasi, 10 % li natriy sulfat eritmasi, trixlorosirka kislotaning 5 va 10 % li eritmasi, etil spirti, fiziologik eritma.

1-ish. Kraxmalni ajratib olish

Ishni bajarish tartibi. Ikki dona kartoshka tuganagidan olib po'chog' i archiladi va qirg'ichdan o'tkazib maydalanadi. Siqib suvi ajratib olinib, filtrlanadi va so'ng quritiladi. Kraxmal donachalarini mikroskop ostida bir tomchi Lyugol eritmasi qo'shib bo'yash asosida kuzatiladi. Ajratib olingan kraxmalni sovuq va issiq suvlarda eruvchanligini tadqiq qilinadi. Sovuq suvda u erimaydi, issiq suvda esa eriydi.

Eriydigan kraxmal dastlabki kraxmalga nisbatan destruksiyalangan (uni polimerizatsiya darajasi dastlabki kraxmaldan pastroq bo'ladi).

Dastlabki (odatdagi) kraxmal eruvchi kraxmal (amidulin) ga aylanishini sovuq sharoitda uzoq muddat suyultirilgan kislotalarda saqlash yoki oz muddatda kislota tutib turib keyin qizdirish yo'li bilan ta'minlash mumkin.

Qurilgan kraxmal keyingi reaksiyalarda ishlatish uchun olib qo'yiladi. Tajriba uchun ishlatishda iliq suvdagi eritmasi tayyorlanadi.

2-ish. Hayvon to'qimalaridan glikogen ajratib olish

Ishni bajarish tartibi. Jigar yupqa qilib kesiladi va uni qon elementlaridan xolis qilish uchun 2 daqiqaga sovitilgan fiziologik eritmaga solib qo'yiladi. So'ng jigar namunalari filtr qog'ozlar o'rtasiga joylashtirilib, ulardagi qon elementlari va fiziologik eritma qoldiqlari shimib olinadi.

Shu jigar namunasidan tarozida 1 g o'lchab olinib hovonchaga ko'chirilib, uni ustiga mayda shisha bo'lakchalari va teng miqdorda 10%li trixlorosirka kislota qo'shiladi va yaxshilab yanchiladi.

Aralashmaga teng hajmda 5% li trixlorosirka kislota qo'shib yana yanchiladi. Bundan keyin aralashmani suyuqligini so'rib olish yo'li bilan ajratiladi. Qolgan qoldiqqa yana teng hajmda 5% li trixlorosirka kislota qo'shib yana yanchiladi va suyuqligini yana so'rib olinib oldingisiga qo'shiladi.

Qo'shilgan ekstraktlarga konsentratsiyasi 50% ga yetgancha spirt qo'shib cho'kma hosil qilinadi. Cho'kma sentrifugalash yo'li bilan ajratiladi va ikki marta 50% li spirt yordamida yuvilib qaytadan sentrifugalanadi.

Shu yo'sinda ajratib olingan glikogen quritiladi va tarozida o'lchash hamda hisoblash yo'li bilan uning jigardagi miqdoriy ko'rsatkichi keltirib chiqariladi.

Qurilgan glikogen keyingi reaksiyalarda ishlatish uchun olib qo'yiladi.

27-LABARATORIYA ISHI
POLISAXARIDLARGA XOS RANGLI SIFAT
REAKSIYALAR VA ULARNI GIDROLIZLASH

Ishning maqsadi: polisaxaridlarga xos rangli sifat reaksiyalar va ularni gidrolizlash ishlari.

Kerakli biomaterial: 5 marta suyultirilgan amilaza ferment eritmasi, paxta.

Kerakli jihozlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar, o'lchov silindri, qaytar sovitgich, gaz gorelkasi yoki spirt lampa, termostat, olovga chidamli kolba,

Reaktivlar: 1% - kraxmal eritmasi, glikogen eritmasi, Feling eritmasi, Barfed eritmasi, distillangan suv, 10% natriy ishqori, etil spirti, natriy xlor kristallari, 3 va 80 % sulfat kislota eritmalari.

1- ish. Polisaxaridlarga xos sifat reaksiyalari

Ishni bajarish tartibi.

A. Probirkaga 3 ml kraxmal eritmasidan solib unga 1-2 tomchi Lyugol eritmasi tomiziladi. Yodning kraxmal bilan o'zaro ta'sirida hosil bo'lgan mahsulotni ko'k rangga bo'yalishi kuzatiladi.

Probirkadagi aralashmani uch qismga bo'lib (1 ml dan) alohida probirkalarga ko'chiriladi. Ulardan biriga 1-2 ml 10 % li natriy ishqori, ikkinchisiga 2-3 ml etil spirti qo'shiladi, uchinchisiga 2 ml suv qo'shib spirt lampada biroz qizdiriladi.

Bunda hamma probirkalardagi ko'k rang yo'qoladi, lekin uchinchi probirkadagi aralashmani rangi sovigandan keyin tiklanadi.

Reaksiya amilozaning yod bilan uncha barqaror bo'lmagan birikmasini hosil bo'lishi bilan bog'liq bo'lib, birinchi probirkadagi yod NaI, ikkinchi probirkadagisi etil yodid hosil qilgani uchun rang tiklanmaydi, uchinchi probirkadagi yod amilaza bilan qayta birikadi.

B. Probirkaga 2-3 ml glikogen eritmasini quyib, unga 1-2 tomchi Lyugol eritmasi tomiziladi va yaxshilab aralashtiriladi bunda qizg'ich-qo'ng'ir rang paydo bo'ladi. Rang natriy xlorning birnecha mayda kristallarini solganda kuchayadi, lekin natriy ishqori qo'shilsa yoki

qizdirilsa rang yo'qoladi. Kraxmal va glikogen bilan yodli reaksiyadagi ranglarning har xil bo'lishi bu moddalarning kimyoviy tuzilishida farqli jihatning mavjudligidan dalolat beradi.

1- ish. Kraxmalni gidrolizlash

Ishning maqsadi: Yuqorida keltirilganidek laboratoriya sharoitida kraxmalni ikki xil yo'l bilan (kislotali va fermentativ) gidrolizlash mumkin.

Ishni bajarish tartibi. Kislotali va fermentativ gidrolizni amalga oshirish maqsadida 20 dona toza probirka olib shtativga ikki qator qilib terib qo'yiladi. Ularning hammasiga 10 ml dan distillangan suvva 2 tomchidan Lyugol eritmasi solinadi.

Keyin ikkita yumaloq tubli 100 ml li kolba olib ikkalasiga ham 20 ml dan 1% kraxmal eritmasi solinadi va ularning birinchisiga 5 ml 10% li sulfat kislota, ikkinchisiga 5 ml 5 marta suyultirilgan amilaza ferment eritmasi qo'shiladi.

Birinchi kolbani og'ziga qaytar sovitqich o'rnatib aralashmani qaynatishga qo'yiladi. Ikkinchi kolbadagi aralashmani 40°C li termostatga ko'chiriladi.

Har 2-3 daqiqao'tgandan keyin oldindan yod solib tayyorlab shtativga joylashtirilgan probirkalarning birinchi qatoriga birinchi kolbadagi aralashmadan, ikkinchi qatoridagisiga ikkinchi kolbadagi aralashmadan 0,5 ml dan solib aralashtiriladi.

Reksion aralashmalarining rangini birin-ketin o'zgarishi kuzatib boriladi, ya'ni bunda dastlab amilodekstrin hosil bo'lganda aralashma yod bilan ko'k ranga bo'yalsa, eritrodekstrin hosil bo'lganda qizil ranga bo'yaladi, axrodekstrin bilan esa, hechqanday ranga bo'yalmaydi. Gidrolizning bu bosqichidan keyin gidrolizat bilan Feling reaksiyasi qilib ko'riladi. Kislotali gidrolizat bilan Feling reaksiyasini o'tkazishdan oldin uni neytrallashtirish talab qilinadi.

2- ish. Selluloza (kletchatka)ni girolizlash

Ishning maqsadi: Sellulozani kislotali gidrolizi kraxmal va glikogennikidan qiyinroq ketadi, ya'ni suyultirilgan sulfat kislota bilan uzoqroq muddatda gidrolizlanadi.

Ishni bajarish tartibi. Dastlab kichkina uvada bo'lagini probirkaga solib 2-3 % li sulfat kislotaga qo'shib 10 daqiqa davomida qaynatiladi va aralashmani sovitib, neytrallagandan keyin Feling reaksiyasi qilib qo'riladi. Bunda reaksiya salbiy natijaga ega bo'ladi. Boshqa probirka olib uvada bo'lagini solgandan keyin unga 2 ml 80 % sulfat kislotaga qo'shib 3-4 daqiqa ushlab turiladi va distillangan suv bilan suyultirilib, so'ng 5 daqiqa davomida qaynatiladi. Hidrolizatni sovitib neytrallagandan keyin u bilan Feling va Barfed reaksiyalari o'tkaziladi. Bu reaksiyalarning ijobiy chiqishi sellyulozaning gidrolizlanib β -D-glukozaga aylanganidan dalolat beradi.

28 – LABORATORIYA ISHI

QAYTARUVCHI QANGLARNI BERTRAN USULIDA ANIQLASH

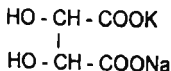
Ishning maksadi – bug'doy, makkajo'kori, boshqa turdagi biomateriallar uni tarkibidagi glyukoza miqdorini aniqlash.

Yuqorida erkin aldegid va keton gruppalari bo'lgan kandlar qaytarish xususiyatiga ega ekanligi tasdiqlanadi. Bunday qandlarga barcha monosaxaridlar va ayrim disaxaridlar kiradi. Qandlarni Bertran usulida aniqlash ularning ishqoriy muhitda ikki valentli misni bir valentli mis oksidigacha qaytarishiga aniqlangan.

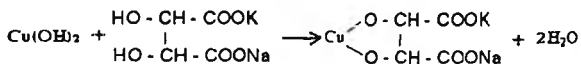
Bu usulda Feleng-1 va Feleng-2 eritmalaridan foydalanib, Feleng reaktivi tayyorlanadi.

Feleng-1 eritmasi: $\text{CuSO}_4 + 2\text{NaOH} \rightarrow \text{Cu}(\text{OH})_2 + \text{Na}_2\text{SO}_4$

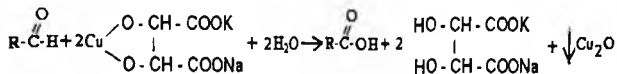
Feleng-1 eritmasi: (signet tuzi vino kislotaning natriy va kaliy tuzi eritmasi)



Felening reaktivi Felening-1 va Felening-2 eritmalarini bir xil hajmdagi aralashmasidan hosil qilinadi. Bunda hosil bo'lgan mis(II)-gidroksid signet tuzi bilan reaksiyaga kirishib kompleks birikma hosil qiladi:

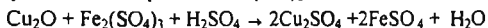


Feling reaktivi qand tarkibidagi aldegid va keton gruppalarini oksidlaydi, reaktiv tarkibidagi ikki valentli mis esa mis (I)-oksid (Cu_2O) ga qadar qaytariladi va qizil cho'kma hosil bo'ladi:

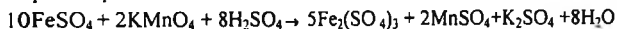


Reaksiya natijasida hosil bo'ladigan qizil rangli cho'kma (Cu_2O) aniqlanmoqchi bo'lgan mahsulot tarkibidagi qand miqdoriga proporsional ravishda tushadi.

Hosil bo'ladigan cho'kma miqdorini aniqlash uchun, unga kislota muhitida temir (III)-sulfat $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ yoki temir(III)-sulfatning ammoniyli tuzi—achchiqtoş $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ta'sir ettiriladi.



Bu reaksiyada ikki molekula misga ikki molekula temir to'g'ri kelishini ko'rish mumkin. Shuning uchun qaytarilgan ikki valentli temir mikdorini, kislotali muhitda kaliy permanganat eritmasi bilan titrlash orqali aniqlanadi:



Titrlash uchun ketgan kaliy permanganatning millilitr hajmi ekvivalent mikdoridagi mis (I)-oksidning milligramm miqdoriga hisoblanadi.

Tekshiriladigan mahsulotlar: bug'doy uni

Reaktiv va asboblari 1. 6%-li mis sulfat, 2. 1,25%-li nitrat gidroksid, 3. 4%li mis sulfat, 4. Feling reaktivi. Kuyidagicha tayorlanadi: Feling-1 uchun, 4g mis sulfat 100 ml suvda eritiladi. Feling-2 uchun, 100 g segnet tuzi 250 ml suvda eritilib, ustiga 75 g natriy gidroksid kushib, eritma xajmi suv bilan 0,5 l ga etkaziladi. Tajribadan oldin Feleng-1 va Feleng-2 teng hajmda aralashtiriladi. 5. Pipetkalar, 6. Elektr plitka, 7. Bunzen kolbasi, 8. Shote voronkasi, 9. Vakum nasos

Ishning bajarilishi

Bug'doy uni tarkibidagi glyukozaning miqdorini aniqlash uchun, 150 ml li stakanga 10 g un olib Barnshteyn reaktivi bilan ishlanadi.

Buning uchun uning ustiga 15ml 6%-li mis sulfat quyib, shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi va yana 15 ml, 1,25%-li natriy gidroksid qo'shib aralashtiriladi. So'ngra stakanga yana 70 ml distillangan suv quyib, aralashtirilib, 30 minutga 45-35°C – li suv hammomiga qo'yiladi. Bunda un tarkibidagi oqsillar cho'kmaga tushiriladi. 39 minutdan keyin stakanga aralashma kog'oz filtr yordamida filtrlanadi. Ajratib olingan tiniq filtrdagi glyukoza miqdori Bertrat usulida aniqlanadi.

Buning uchun 100 ml – li kolbaga pipetka bilan 20 ml filtrdan olib, ustiga feling reaktivi qo'yiladi. Kolba elektr plitkada qaynaguncha qizdiriladiva keyin 3 minutda qaytariladi. 3 minutdan keyin kolbada hosil bo'lgan cho'kma suvi bilan, Bunzen kolbasiga o'rnatilgan, Shote varonkasiga ag'dariladi. Shote varonkasidagi suyuqlik vakuum nasos yordamida Bunzen kolbasiga o'tkaziladi.

Lekin cho'kma havo kislorodi ta'sirida oksidlanmasligi uchun, ustida suv qatlami qolishi shart. Failtrli varonkada qolgan cho'kma qaynoq suv bilan 2-3 marta chayiladi. So'ngra varonka toza Bunzen kolbasiga o'tkaziladi. Varonkadagi cho'kma 5-10 ml achchiq tosh eritmasi quyib, cho'kma eritiladi va vakuum yordamida Bunzen kolbasiga tushiriladi. Kolbadagi eritma 0,1 N $KMnO_4$ doimiy och pushti rang xosil bo'lguncha tindiriladi. Titrlash uchun ketgan kaliy permanganat hajmidan (V ml) un tarkibidagi glyukoza mikdorini hisoblashda quyidagi proporsiyalarda foydalaniladi:

(1 ml 0,1N $KMnO_4$ 6,36 mis oksidi cho'kmasiga to'g'ri keladi).

1. Yml 0,1 N $KMnO_4$ necha mg mis (I)-oksidiga to'g'ri keladi?

1 ml 0,1 N $KMnO_4$ ————— 6,36 mg Cu_2O

Yml 0,1 N $KMnO_4$ ————— X mg Cu_2O

2. Tajriba uchun olingan 10 g undan 100 g glyukoza eritmasi tayorlangan edi, shunda 20 ml-dagi glyukoza miqdori aniqlash uchun ishlatiladi. 100 ml glyukoza eritmasi (yoki 10 g un): $W = 5 x \cdot Y$ /mg Cu_2O /

3. Jadvaldan Wmg Cu_2O – F mg glyukozaga mos kelishi aniqlaniladi

4. F mg glyukoza tajriba uchun olingan 10 g unning necha %-ni tashkil qiladi? 10 g = 10000 mg — 100%

Fmg ————— Z %

Shunday qilib bug'doy uni tarkibida Z% glyukoza borligi hisoblanadi.

12-jadval.

Mis milligramlariga teng bo'lgan eruvchan qaid (glyukoza) miqdori
(Bertran buyicha)

Mis	Glyukoza	Mis	Glyukoza	Mis	Glyukoza	Mis	Glyukoza
8,0	3,75	11,5	5,50	15,0	7,25	18,5	9,00
8,1	3,80	11,6	5,55	15,1	7,30	18,6	9,05
8,2	3,85	11,7	5,60	15,2	7,35	18,7	9,10
8,3	3,90	11,8	5,65	15,3	7,40	18,8	9,15
8,4	3,95	11,9	5,70	15,4	7,45	18,9	9,20
8,5	4,00	12,0	5,75	15,5	7,50	19,0	9,25
8,6	4,05	12,1	5,80	15,6	7,55	19,1	9,30
8,7	4,10	12,2	5,85	15,7	7,60	19,2	9,35
8,8	4,15	12,3	5,90	15,8	7,65	19,3	9,40
8,9	4,20	12,4	5,95	15,9	7,70	19,4	9,50
9,0	4,25	12,5	6,00	16,0	7,75	19,5	9,55
9,1	4,30	12,6	6,05	16,1	7,80	19,6	9,60
9,2	4,35	12,7	6,10	16,2	7,85	19,7	9,65
9,3	4,40	12,8	6,15	16,3	7,90	19,8	9,70
9,4	4,45	12,9	6,20	16,4	7,95	19,9	9,75
9,5	4,50	13,0	6,25	16,5	8,00	20,0	9,80
9,6	4,55	13,1	6,30	16,6	8,05	20,1	9,85
9,7	4,60	13,2	6,35	16,7	8,10	20,2	9,90
9,8	4,65	13,3	6,40	16,8	8,15	20,3	9,95
9,9	4,70	13,4	6,45	16,9	8,20	20,4	10,0
10,0	4,75	13,5	6,50	17,0	8,25	20,5	10,05
10,1	4,80	13,6	6,55	17,1	8,30	20,6	10,10
10,2	4,85	13,7	6,60	17,2	8,35	20,7	10,15
10,3	4,90	13,8	6,65	17,3	8,40	20,8	10,20
10,4	4,95	13,9	6,70	17,4	8,45	20,9	10,25
10,5	5,00	14,0	6,75	17,5	8,50	21,0	10,30
10,6	5,05	14,1	6,80	17,6	8,55	21,1	10,35
10,7	5,10	14,2	6,85	17,7	8,60	21,2	10,40

10,8	5,15	14,3	6,90	17,8	8,65	21,3	10,45
10,9	5,20	14,4	6,95	17,9	8,70	21,4	10,50
11,0	5,25	14,5	7,00	18,0	8,75	21,5	10,55
11,1	5,30	14,6	7,05	18,1	8,80	21,6	10,60
11,2	5,35	14,7	7,10	18,2	8,85	21,7	10,65
11,3	5,40	14,8	7,15	18,3	8,90	21,8	10,70
11,4	5,45	14,9	7,20	18,4	8,95	21,9	10,75

29-LABARATORIYA ISHI.

KRAXMAL MIQDORINI ANIQLASH

Ishning maqsadi - guruch, bug'doy yoki makkajo'xori tarkibidagi kraxmal miqdorini aniqlash.

Kraxmal o'simliklar dunyosida eng ko'p tarqalgan muhim polisaxaridlar hisoblanadi. Kraxmal asosiy oziq-ovqat manbai bo'lib, o'simlik donlaridan – arpa, makkajo'xori va guruchda 60-80 %, kartoshkada 12-24% ni tashkil qiladi. Kraxmal o'simliklardan fotosintez jarayonida sintezlanadi. O'simlik hujayrasida mayda donachalar holida bo'ladi.

Kimyoviy strukturasi α - glyukoza monomeridan hosil bo'lgan biopolimerdir. Kraxmal molekullari ikki xil kichik zanjirli polisaxarid *amiloza* va *amilopektin*dan iborat.

Amiloza α -glyukoza molekullarining 1:4 glikozid bog'lari hisobiga birikishdan hosil bo'lgan yuqori molekulyar birikma.

Amilopektin alfa glyukoza molekullarining 1:4 glikozid bog'lanishlardan tashqari, 1:4 bog'lari hisobiga hosil bo'lgan yuqorimolekulyar tarmoqlangan birikma. Demak, glyukoza ning to'liq gidroliz mahsuloti α -glyukoza.

Kraxmalni aniqlash, uning yod bilan bergan rangli reaksiyasiga asoslangan. Kraxmalning miqdorini aniqlash esa ancha murakkab bo'lib, uning kislotali yoki fermentli gidroliz mahsulotlari miqdorini aniqlashdan iborat. Ammo, bu usulning o'ziga yarasha kamchiliklari bor. Masalan, kislotali gidroliz vaqtida boshqa polisaxaridlar ham gidrolizlanishi mumkin. Shuning uchun gidrolizlashdan oldin kraxmalni

o'simlik to'qimasidan ajratib olib kraxmalni o'simlik to'qimasidan ajratib olib, gidolldizlash kerak.

Gidoliz mahsuloti glyukoza miqdorini bilish uchun Bertran usulini Yoki eritmadagi quruq modda smiqdorini aniqlashning refraktometrik usulini qo'llash mumkin.

Reaktiv va asboblari:

1. 72%-li perexlorat kislota (HClO_4)
2. 20%-li NaCl ning spirtli eritmasi
3. 0,7 N xlorid kislota
4. 0,25 N NaOH ning spirtli eritmasi
5. Yod eritmasi,
6. Sentrifuga,
7. Chinni havoncha,
8. Probirka
9. Kolba

Ishning bajarilishi

Guruch chinni havonchada maydalanadi. Maydalangan guruch analitik tarozida 200-500 mg tortib olinadi, probirkaga solinib, 4ml distillangan sub bilan aralashtiriladi va 30 minutga qaynab turgan suv hammomiga qo'yiladi.

Kleystrlash jarayoni tugashi bilan probirka xona temperaturasigacha sovitilib, 15 minut 25°C li suv hammomida ushlanadi. So'ng probirkaga 3 ml 72%-li xlorat kislotadan solib, eritma 1 minut davomida shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi va yana suv hammomiga 30 minutga qo'yiladi. Keyin probirkaga suv hammomidan olinib, undagi aralashma ustiga 10 ml suv qo'shib yaxshilab chayqatiladi va sentrifugalanadi. Hosil bo'lgan cho'kma ustidagi eritma ehtiyotkorlik bilan 50 ml li kolbaga olinadi. Eritma hajmi kolbaning o'lchov chizig'igacha distillangan suv bilan to'lg'aziladi.

Kraxmal – yod kompleksi holidagi cho'kma hosil qilish uchun 10 ml eritma sentrifuga probirkasiga solinib, ustiga 10 ml distillangan suv, 5 ml 20%-li natriy xlorid eritmasi va 2 ml yod eritmasidan solinib 20 minut tinch qoldiriladi. So'ngra aralashma sentrifugalanadi. Probirka tagiga tushgan cho'kma ustidagi eritma ehtiyotkorlik bilan boshqa idishga quyib olinadi. Probirkadagi cho'kmaga 5 ml natriy xloritning spirtli eritmasidan solib aralashtiriladi va 10 minutdan keyin sentrifugalanadi. Sentrifugalash natijasida hosil bo'lgan cho'kma – kraxmal – yod kompleksini parchalash uchun probirkaga 2 ml 0,25N natriy gidroksid eritmasi solib aralashtiriladi.

Probirkadagi cho'kmaning erishi natijasida ajralib chiqqan kraxmal eritmasi sentrifugalash yo'li bilan ajratib olinadi.

Kraxmal eritmasiga xlorid kislotasi bilan gidrolizlash uchun 2 ml 0,7N xlorid kislotadan solinadi. Probirka og'izi shisha tiqin bilan berkitiladi va 3 soat davomida qaynayotgan suv hammomida saqlanadi. Gidroliz jarayoni tamom bo'lishi bilan probirka suvi hammomidan olinib sovutiladi. Umumiy hajmi 50 ml ga etkaziladi. Eritmadagi kraxmal gidrolizining mahsuloti bo'lgan glyukozani miqdori Bertran usulida aniqlanadi.

Natijani hisoblash. Avval olingan 10 ml kraxmal gidrolizati tarkibidagi glyukoza miqdori aniqlanadi, so'ngra olingan o'simlik materiali tarkibidagi kraxmal miqdori tubandagi formula yordamida

$$X = \frac{A \times B \times 10 \times 0,9 \times 100}{H \times 50 \times 25}$$

topiladi:

X – izlanayotgan kraxmal miqdori (5 hisobida);

A – olingan 10 ml gidrolizat tarkibidagi glyukoza miqdori (mg);

V – kraxmal-yod kompleks cho'kmasini hosil qilish uchun olingan ekstrakt miqdori (ml. hisobida);

0,9 – glyukozani kraxmalga aylantirish uchun berilgan koeffitsient;

50 – kraxmalni ekstraksiya qilishdagi xlorid ekstraktining hajmi (ml hisobida); 25 – kraxmalni gidroliz qilgandan keyingi eritma miqdori (ml);

N – o'simlik to'qimasidan olingan quruq modda miqdori (ml);

100% ga o'tish koeffitsienti.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Polisaxaridlarga qaysi birikmalar kiradi?
2. Kraxmal qanday tuzilishga ega?
3. Glikogen haqida nimalarni bilasiz?
4. Sellulozaning kimyoviy tuzilishi va xossalari?
5. Xitin qanday tuzilishga ega?
6. Xondriatinsulfat qanday tuzilgan?
7. Polisaxaridlarga xos rangli reaksiyalar?
8. Kraxmalning bosqichma bosqich gidrolizlanishidan qanday oraliq moddalar hosil bo'ladi?

LIPIDLAR BIOKIMYOSI

Lipidlar deb, kimyoviy jihatdan turli tarkibga ega bo'lgan, umumiy hossalari bo'yicha efir, atseton, xloroform, benzol kabi organik erituvchilarda eriydigan, murakkab moddalarga aytiladi.

Lipid atamasi grekcha «Lipos - yog'» so'zidan olingan. Aksariyat holda lipidlar yuqori mollekular yog' kislotalarining glitserin bilan hosil qilgan murakkab efiri deb qaraladi. Ayrim lipidlarning tarkibida, bu moddalardan tashqari, azotli asoslar, fosfat kislotalari, uglevodlar ham brikma holatda uchraydi. Lipidlar muhim hayotiy jarayonlarning idora etilishida qatnashadi. Ular oqsillar bilan majmuyi birikmalar hosil qilib hujayra qobig'ini, organoidlarining tuzilmalarini hosil qilishlari bilan biofaol moddalarni tashish, ajratish kabi vazifalarni boshqaradi.

Lipidlar energiya manbasi sifatida ham xizmat qiladi. Ayniqsa, lipidlar glikolipidlar holida asab tizimi to'qimalarining muhim tarkibiy qismi bo'lib, asab tizimi faoliyatini yuzaga chiqarishda faol qatnashadi.

Barcha lipidlarni tarkibi va biokimyoviy tavsiflariga ko'ra oddiy va murakkab lipidlarga bo'lib o'rganadilar.

Oddiy lipidlar yuqori molekular yog' kislotalarining spirtlar bilan hosil qilgan murakkab efirlaridir. O'z navbatida ular yog'larga, mumlarga va steridlarga bo'linadi.

Murakkab lipidlar ko'p tarkibli birikmalar bo'lib, yog' kislotalari va spirtlardan tashqari ularning molekulasini hosil qilishda azotli asoslar, fosfat kislota kabi moddalar qatnashadi. Tarkibiga ko'ra, fosfolipidlar, glikolipidlar, sfingolipidlar tarzida ham uchraydi.

Lipid tarkibining asosiy qismini yog' kislotalari tashkil etadi. Ularning gidrolizatidan uglerod atomi C_4 dan C_{26} gacha bo'lgan to'yingan, to'yinmagan, ochiq va tarmoqlangan zanjirli hamda halqali organik kislotalarning borligi aniqlangan.

Ko'rsatilgan yog' kislotalaridan, tabiiy yog'lar tarkibida, eng ko'p tarqalganlari oleinat, palmitat va stearat yog' kislotalaridir. Ulardan oleinat 30% gacha, palmitat 15% dan 50% gacha, stearat esa 25% gacha

uchraydi. Hayvon yog'larida ko'proq to'yingan yog' kislotalari uchraydi, ular qattiq yog'lardir. O'simlik yog'larida esa to'yinmagan yog' kislotalari ko'proq uchraydi, ular suyuq yog'lar yoki moylardir. Misollar bilan izohlansa, dumba va charvi yog'lari tarkibida 25% gacha stearat kislotalasi uchrasa, o'simlik moylarida 90% gacha to'yinmagan yog' kislotalari, ayniqsa, oleinat ko'proq miqdorlarda uchraydi.

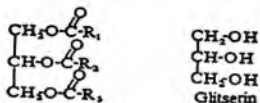
To'yinmagan yog' kislotalardan linolat, linolenat va lipoat kislotalari odam va hayvon organizmida sintezlanmaydi, faqat oziq moddalar bilan kirib turishi kerak. Shuning uchun ularni almashinmaydigan yog' kislotalari deb ataydilar.

Lipidlarga organik moddalarning juda katta guruhi kiradi. Ular: neytral yog'lar, mumlar, sterin va steridlar, fosfogliseridlar, sfingolipidlardan tashkil topgan. Ilmiy adabiyotda neytral yog'larni lipidlar, mo'mlar, sterin va steridlar, fosfogliseridlar, sfingolipidlarni lipidlar deb nomlanadi.

Neytral yog'lar. Tabiatda yog'lar keng tarqalgan bo'lib odam, hayvon, o'simlik va mikroorganizmlarning hatto viruslar tanasida ham uchraydi. Ularning miqdori ayrim organizmlarda, to'qima va ichki a'zolarda 90% gacha yetadi. Fanda 600 dan ortiq yog' xillari mavjudligi ma'lum, ulardan 420 xili o'simliklarda, 80 xili quruqlikda yashovchi hayvonlarda va 100 dan oshig'i - suvda yashovchi hayvonlarda uchraydi.

Kimyoviy tarkibi jihatidan yog'larni yog' kislotalari bilan uch atomli spirt - glitserinning murakkab efiri deb qaraladi, uni triglitseridlar ham deb atashadi.

Yog'larning umumiy kimyoviy formulasi quyidagicha ifodalanadi:



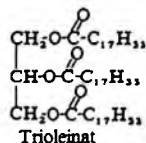
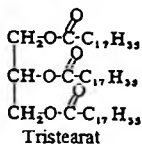
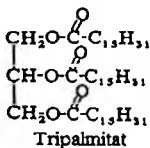
Bu erda

$\text{R}-\text{COOH}$ - yog' kislotalasi

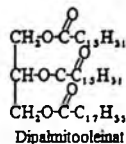
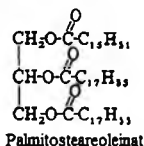
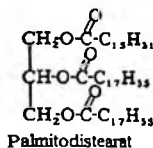
$\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ - yog' kislotalarining uglevodorod radikali

Yog'lar (triglitsid) lar, tarkibiga ko'ra, oddiy gliseridlarga va aralash triglitsidlarga bo'linadi. Agar oddiy glitsidlar bir xil yog' kislotalaridan tarkib topgan bo'lsa, aralash triglitsidlar tarkibida har xil yog' kislotalarining qoldiqlari uchrashi mumkin, masalan:

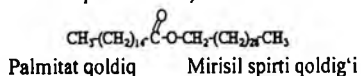
Oddiy triglitsidlar:



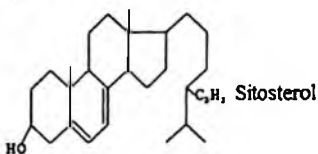
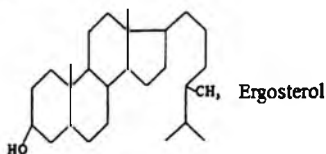
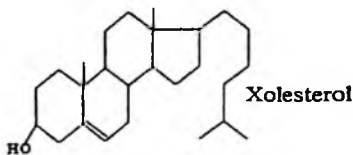
Aralash triglitsidlar:



Mumlar ham yuqori molekularli monokarbon kislotalarining yuqori molekularli spirtlar bilan hosilqilgan murakkab efirlardir. Vakil sifatida asalari mumi (yoki miritsil palmitat efiri) ni keltirish mumkin:

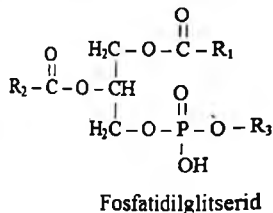
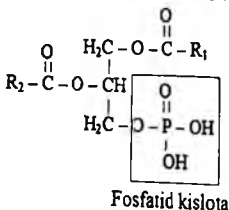


Steridlar. Oddiy lipidlarning tabiatda keng tarqalgan guruhi steridlardir. Ular siklik spirt - sterollar bilan yuqori molekularli yog' kislotalaridan hosil bo'lgan murakkab efirlardir. Siklik spirtlar - sterollar juda murakkab tuzilgan moddalardir. Ularni fenantren bilan siklopentanning hosilalari deb qaraladi. Ular tabiatda juda keng tarqalgan biofaol moddalarni o'z ichiga oladi. Vakil sifatida o't suyuqligi tarkibida uchrovchi xolesterol, zamburug'lardan ajratib olingan ergosterol va o'simlik moylaridan ajratib olingan sitosterollarni misol keltirish mumkin:



Shu xildagi *siklopentanpergidrofenantren* halqali tuzilishga ega bo'lgan biofaol moddalar jumlasiga: o't kislotalari, ayol va erkak jinsi gormonlari, buyrak usti bezi gormonlari, D guruhi vitaminlari, yurak glukozidlari va boshqalar kiradi

Fosfolitseridlar bu lipidlar fosfatid kislotasini hosilalari hisoblanadi. Ularning tarkibiga glitserin, yog' kislotalari, fosfat kislota qoldig'i va odatda tarkibida azot tutuvchi yoki boshqa birikma tutuvchi birikmalar kiradi. Kimyoviy tarkibi jihatidan fosfatid kislota va fosfatidil litseridning umumiy formulasi quyidagicha tuzilishga ega:



Gangliozidlar - sfingozin spirti, geteroooligosaxaridlardan tashkil topgan. Ular tarkibiga galaktoza, glukoza, N-asetil-galaktozamin, N-asetilneyroamin kislota, yuqori molekulyar yog' kislotalari kiradigan murakkab organik birikmalar hisoblanadi.

Bosh miyani kulrang qismida 6 % ga yaqinimembrana lipidlarini gangliozidlar tashkil qiladi.

Gangliozidlar hujayraga yetib kelayotgan signallarni qabul qilishda ishtirok etadi.

Ular hujayralararo aloqalarni boshqarishda, peptid gormonlar, serotonin, ba'zi viruslar, bakterial toksinlarning resepsiyasida ishtirok etadi.

NEYTRAL YOG'LARNI TUZILISHI, XOSSALARINI O'RGANISHGA OID REAKSIYALAR

Neytral yog'larning molekulasida to'yingan va to'yinmagan yog' kislotalari uchraganligiga qarab fizik va kimyoviy xossalari bir biridan tubdan farq qiladi. Odatdagi (xona) haroratda suyuq yoki yarimsuyuq holatda bo'ladigan yog'larning tarkibida to'yinmagan yog' kislotalari ko'proq uchraydi.

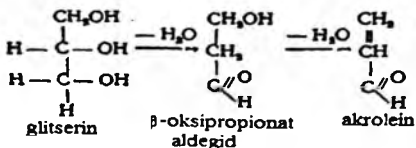
To'yinmagan yog' kislotalariga boy yog'lar va to'yinmagan yog' kislotalarini o'zi-o'ziga galoidlarni (galogenlanish), vodorodni (gidrogenlanish) va kislorodni (oksikislotalarni hosil qilish) birlashtirish xossasiga ega.

Yog'lar gidrolizlanishdan oldin emulsiyalanishga duch kelishi lozim. O'simlik moyiga suv qo'shib yaxshilab aralashtirganda uncha barqaror bo'lmagan emulsiya hosil bo'ladi.

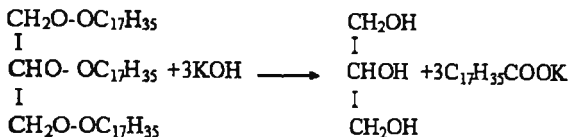
Lekin birozdan so'ng aralashma ikkita qatlam hosil qiladi. Unga bir necha tomchi 10 % li Na_2CO_3 tomizganda va yana aralashtirganda ancha barqaror emulsiya hosil bo'ladi. Buning sababi yog' tarkibida ozgina miqdorda bo'lsada, erkin yog' kislotalari qoldiqlari bo'ladi va soda bilan reaksiyaga kirib sovunga aylanadi, u esa yog' zarrachasining dispers fazasiga stabillovchi ta'sir ko'rsatadi.

Eskirgan (achigan) moyga soda qo'shganda, uning tarkibida erkin yog' kislotalari yanada ko'p bo'lganligi sababli sovun ham ko'proq hosil bo'ladi hamda emulsiya ham yanada barqarorroq bo'ladi. Emulsiyaning barqarorlik darajasi sirt tarangligini pasaytiruvchi moddalar: sovun, oqsil eritmasi, o't kislotalari ta'sirida kuchayadi. Biomaterial tarkibida yog'larning mavjudligini aniqlashda akrolein sinovi xizmat qilishi mumkin.

Tabiiy yog'lar tarkibida ma'lum miqdorda erkin glitserin bo'ladi, uni aniqlash uchun ma'lum miqdorda yog' yoki moy olib, suv tortib oluvchi modda kaliy bisulfat ishtirokida qizdirilsa, o'tkir hidli akril aldegid (akrolein) ajraladi:



Tarkibida glitserin bo'lmagan lipidlar bu reaksiyani bermaydi. Yog'larni gidrolizini uch xil: fermentativ, kislotali, ishqoriy yo'llar bilan amalga oshirish mumkin. Fermentativ va kislotali gidroliz natijasida glitserin va yuqori molekular yog' kislotalari, ishqoriy gidroliz natijasida esa, glitserin va sovun hosil bo'ladi. Yuqori molekular yog' kislotalari kaliy ishqori bilan suyuq sovun, natriy ishqori bilan kattiq sovun hosil qiladi. Ishqoriy metallarning yog' kislotalari bilan hosil qilgan tuzlari suvda yaxshi eriydi, ishqoriy-yer metallarining va og'ir metallarning tuzlari suvda erimaydi (erimaydigan sovun). Reaksiya quyidagicha yuz beradi:



Yog'lar tarkibida to'yinmagan yog' kislotalarning miqdori har xil bo'ladi. To'yinmagan yog' kislotalar molekulasida tarkibida qo'shbog' bo'lganligi sababli o'ziga galogenlarni osongina biriktirib olish qobiliyatiga ega bo'ladi. Odatda yog'larning to'yinmaganlik darajasi yod soni bilan belgilanadi. 100 g yog' biriktirib olgan yod miqdori "yod soni" deb yuritiladi. Yog'larning yod sonini aniqlash ularni tavsiflashda muhim ahamiyatga ega.

Tabiiy yog'lar trigliseridlar bo'lishi bilan birga, ularning tarkibida kam miqdorda bo'lsada erkin yog' kislotalari bo'ladi. Bu kislotalarning miqdorini "kislota soni" deb yuritiladi va uni ishqorlar yordamida titrlash yo'li bilan aniqlanadi. Yog'larni havoda va yorug'da ancha muddatda saqlaganda erkin yog' kislotalarning miqdori oshadi. Yog'larning 1 grami tarkibidagi erkin va bog'langan yog' kislotalarini

neytrallash uchun sarflangan o'yuvchi kaliyning mg hisobidagi miqdoriga sovunlanish soni deyiladi. Sovunlanish soni bilan kislota soni o'rtasidagi farqli ko'rsatkich efir soni hisoblanadi.

To'yingan yog' kislotalar

Moy kislota	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_2 - \text{COOH}$	C - 4 : 0
Miristin	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{12} - \text{COOH}$	C - 14 : 0
Palmitin	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{COOH}$	C - 16 : 0
Stearin	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{16} - \text{COOH}$	C - 18 : 0
Araxin	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{18} - \text{COOH}$	C - 20 : 0

O'simlik moylari tarkibiga kiruvchi to'yinmagan yog' kislotalar qo'sh bog' tutganligi sababli, ular barchasi, ya'ni o'simlik moylari suyuq bo'ladi. Moylar tarkibiga kiruvchi asosiy to'yinmagan yog' kislotalar quyidagilardir:

To'yinmagan yog' kislotalar

Palmitolein	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_5 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$	C - 16 : 1(9)
Olein	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_7 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$	C - 18 : 1(9)
Linol	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_4 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$	C - 18 : 2(9,12)
Linolen	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - (\text{CH}_2)_7 - \text{COOH}$	C - 18 : 3(9,12,15)

Demak, yog'larning va moylarning fizik ko'rsatkichlariga (qattiqlik, erish temperaturasi, qotish temperaturasi) ta'sir qiluvchi asosiy faktor bu ularning yog' kislota tarkibidir.

Turli xil o'simlik moylari ham bir-biridan yog' kislota va glitserid tarkibi hamda yo'ldosh moddalari bilan farq qiladi.

Yog'lar va moylar sifati bir qancha sifat ko'rsatkichlari bilan xarakterlanadi. Bu ko'rsatkichlar asosiy ikki guruhga bo'linadi: fizik ko'rsatkichlar (qattiqlik, erish va qotish temperaturalari, chaqnash va alanganlanish temperaturalari) va kimyoviy ko'rsatkichlar (kislota soni, yod soni, perekis soni, efir soni, sovunlanish soni, gener soni va x.k.z.). Shu sonlarning ta'rifi va mohiyati quyidagicha.

Sovunlanish soni – 1 g. yog' (yoki moydan)dan ajraladigan va neytrallash uchun sarf bo'ladigan KOH ning milligramm miqdoriga aytiladi. Sovunlanish soni triglitserid tarkibidagi yog' kislotalar zanjirining uzunligiga hamda ularning molekulyar og'irligiga bo'liq.

30-LABARATORIYA ISHI. YOG'LARNING ERUVCHANLIGINI ANIQLASH

Ishning maqsadi: turli xildagi kattiq va suyuq yog'larning eruvchanligini aniqlash.

Kerakli biomaterial: paxta moyi, margarin, hayvon yog'i.

Kerakli jihozlar: probirkalar, shtativ

Kerakli reaktivlar: distillangan suv, etil spirt, efir, xloroform.

Ishni bajarish tartibi. Shtativga 4 tadan uch qator qilib probirkalar joylashtiriladi. Birinchi qatordagi probirkalar (№ 1-4) ga qo'y yog'idan, ikkinchi qatordagi probirkalar (№ 5-8) ga margarindan moshday kattalikda solinadi, uchinchi qatordagi probirkalar (9-12) ga 3 - 4 tomchidan paxta moyi tomiziladi. So'ng har bir qatordagi probirkalarning birinчисiga distillangan suv, ikkinчисiga-efir, uchinчисiga-xloroform va to'rtinчисiga etil spirtidan 3 ml dan solinadi. Hamma probirkalardagi aralashmalar yaxshilab aralashtiriladi. Tajriba natijalari 13 - jadval tarzida rasmiylashtiriladi.

13-jadval

Yog'larning eruvchanligini aniqlash natijalari

T/R	Yog'larning xili	Suv	Efir	Xloroform	Spirit
1	Hayvon yog'i				
2	Margarin				
3	Paxta yog'i				
Xulosa					

31-LABARATORIYA ISHI.

YOG'LARNING EMULSIYALANISHI ANIQLASH.

Ishning maqsadi: Har – xil moylarning emulsiyalanishi aniqlash.

Kerakli biomaterial: yangi paxta moyi, eskirgan(achigan) moy.

Kerakli jihozlar: probirkalar, shtativ.

Kerakli reaktivlar: 10 % li Na_2CO_3 , o't suyuqligi, oqsil eritmasi, 10 % li HCl.

Ishni bajarish tartibi. Shtativga 8 ta probirka joylashtirilib raqamlab chiqiladi va ularning har biriga 3 ml dan distillangan suv solinadi. Dastlabki beshta probirkaga yangi paxta moyidan, № 6,7,8 probirkalarga eskirgan paxta moyidan 0,5 ml dan tomizib chiqiladi. So'ng № 2 va 7 probirkalarga 10% soda eritmasi, № 3 probirkaga o't suyuqligi, №4 probirkaga oqsil eritmasi №5 va 8 probirkalarga 10% li xlorid kislotasi eritmasidan 2-3 tomchidan tomizib chiqiladi. Bunda № 1 va 6 probirkalarda yog' va suv bo'ladi. Hamma probirkalarning og'zi berkitilib yaxshilab aralashiriladi. Aralashmalar 5 daqiqa tinch qo'yib qo'yiladi va keyin emulsiyaning barqarorligi kuzatilib, natijalar jadvalga kiritiladi.

14-jadval

Har xil suyuqliklar ta'sirida yog'larning emulsiyalanish

T/r	Probirkadagi aralashmalar	Xulosalar
1	Yangi paxta yog'i + Suv	
2	Yangi paxta yog'i + Soda	
3	Yangi paxta yog'i + O't suyuqligi	
4	Yangi paxta yog'i + Oqsil erit.	
5	Yangi paxta yog'i + Kislota	
6	Eskirgan paxta yog'i + Suv	
7	Eskirgan paxta yog'i + Soda	
8	Eskirgan paxta yog'i + Kislota	

32-LABARATORIYA ISHI.

YOG'LAR TARKIBIDAGI GLITSERINGA XOS - AKROLEIN REAKSIYA

Ishning maqsad: yog'lar va moylar tarkibidagi glitseringa xos - akrolein reaksiyasini amalga oshirish.

Kerakli biomateriallar: paxta moyi, margarin, hayvon yog' i.

Kerakli jihozlar: probirkalar, shtativ, elektroplitka

Kerakli reaktivlar: KHSO_4 tuzi kukuni, kumush nitrat tuzini ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz.

Ishning bajarilishi. Uchta probirka olib biriga 1ml paxta moyi, ikkichisiga no'xatday kattalikda margarin, uchinchisiga no'xatday kattalikdagi qo'y yog'i solinadi. So'ng uchchala probirkaga ham kaliy bisulfatning kukunidan 1g dan qo'shiladi va mo'rili shkafda elektroplitka ustida qizdiriladi.

Bunda o'tkir hidli oq rangli akrolein bug'lari ajraladi. Probirkalardan ajralgan akrolein bug'larini kumush nitrat tuzining ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'ozga tutiladi va qog'ozning qorayishi kuzatiladi. Bu probirkalardagi aralashmalarda bo'lib o'tgan reaksiya natijasida akrolein hosil bo'lganidan dalolat beradi. Tajriba natijalari asosida tegishli xulosalar chiqariladi.

33-LABARATORIYA ISHI.

YOG'LARNING GIDROLIZI, ERKIN YOG' KISLOTALARINI AJRATISH, SOVUNNI TUZ YORDAMIDA CHO'KTIRISH HAR XIL SOVUNLARNING ERUVCHANLIGI

Ishning maqsad: yog'lar va moylar gidrolizi. erkin yog' kislotalarini ajratish, sovunni tuz yordamida cho'ktirish har xil sovunlarning eruvchanligi.

Kerakli biomaterial: o'simlik yoki hayvon yog'i

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan, tiqiniga havo sovutgichi o'ratilgan probirka, bug'latgich idishcha, suv hammomi, voronka filtri bilan.

Kerakli reaktivlar: ishqorning spirtli eritmasi, xlorid kislota, spirt, 10 % li soda eritmasi, 0,01% li fenolftaleinning spirtidagi eritmasi, natriy xlor kukuni, 10 % li kalsiy sulfat, 10 % li mis sulfat, 10% li qo'rg'oshin atsetat.

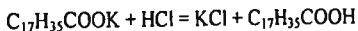
1 - isha. Yog'larni gidrolizlash

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1g o'simlik yoki hayvon yog'idan solinadi va uni ustiga 10 ml ishqorning (NaOH yoki KOH) spirtli eritmasidan qo'shiladi. So'ng probirkani havo sovutgichi o'rnatilgan tiqin bilan berkitiladi va suv hammomida 20-30 daqiqa davomida qizdiriladi. Qizdirishni gidrolizatdan bir tomchisini olib suvli probirkaga tomizganda hosil bo'lgan aralashmani yuza qismida yog' dog'chasi yo'qolguncha davom ettiriladi.

Gidroliz tugagandan keyin aralashmaga 20 ml distillangan suv qo'shiladi va uni bug'latkich idishchaga ko'chirib tarkibidagi spirtni bug'lanib ketishini ta'minlash uchun, suv hammomida qizdiriladi. Bunda hosil bo'lgan suyuq sovun eritmasi uch qismga bo'linadi va keyingi tajribalarda ulardan foydalaniladi.

2 -ish. Erkin yog' kislotalarini ajratish, sinab ko'rish va qaytadan sovunga aylantirish

Hosil bo'lgan suyuq sovun aralashmasiga xlorid kislota(suv: kislota 1:1 nisbatda) qo'shiladi. Bunda erkin yog' kislotalarini cho'kmasi hosil bo'ladi:



Cho'kma voronkaga filtr qog'oz joylashtirib filtrlanadi va lakmus qog'ozi yordamida nazorat qilib nordon reaksiya yo'qolgunga qadar distillangan suv bilan yuviladi.

Cho'kmani bir qismini efirda eritib, 1-2 ml spirt qo'shib qo'yilgan boshqa probirkaga ko'chiriladi. Uni ustiga 1 tomchi 10 % li soda va 2 tomchi fenolftalein tomiziladi.

Bunda dastlab paydo bo'lgan gulobi rang yo'qoladi, chunki soda yog' kislotasi ta'sirida neytrallanadi.

Birinchi tajribada ajratib olingan suyuq sovunning ikkinchi qismi probirkaga ko'chirilib, natriy xlor kukuni bilan to'yintiriladi, va kattiq

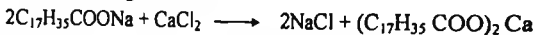
sovun hosil bo'lishi kuzatiladi. Probirkani hidlaganda sovunning hidi seziladi.

3-ish. Har xil sovunlarning eruvchanligini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Birinchi tajribada ajratib olingan suyuq sovunning uchinchi qismi 5 ta probirkalarga teng miqdorda solib chiqiladi. So'ng birinchi probirkaga 1-2 ml distillangan suv, ikkinchi probirkaga birnecha tomchi 10 % li CaCl_2 eritmasidan, uchinchi probirkaga birnecha tomchi 10 % li CuSO_4 eritmasidan, to'rtinchi probirkaga birnecha tomchi 10 % li AgNO_3 eritmasidan, beshinchi probirkaga birnecha tomchi 10 % li $(\text{CH}_3 \text{COO})_2\text{Zn}$ eritmasidan tomiziladi. Bunda:

- birinchi probirkada - sirt tarangligini oshishi natijasida ko'pik hosil bo'ladi;
- ikkinchi probirkada erimaydigan ohakli sovun hosil bo'ladi;
- uchinchi probirkada- misli sovunning cho'kmasi hosil bo'ladi;
- to'rtinchi probirkada-kumushli sovunning cho'kmasi hosil bo'ladi;
- beshinchi probirkada - qo'rg'oshinli sovun (qo'rg' oshinli plastir) ning cho'kmasi hosil bo'ladi.

Ishqoriy-yer metallari va og'ir metallarning hosil qilgan sovunlari suvda erimay cho'kmaga tushadi:



Qattiq suvning yomon sovunlanishi kalsiyli va magniyli sovunlamingsuvda erimasligi bilan bog'liq. Qo'rg'oshinli sovunni qizdirganda qayishqoq, yopishqoq plastirga aylanishi tibbiyotda va veterinariyada katta ahamiyatga ega bo'ladi.

34-LABARATORIYA ISHI.

YOG'LAR TARKIBIDAGI TO'YINMAGAN YOG' KISLOTALARINI ANIQLASH

Ishning maqsadi: yog'lar va moylar tarkibidagi to'yinmagan yog' kislotalarini aniqlash.

Kerakli biomateriallar: hayvon yog'i, qoramol yog'i, margarin, paxta moyi.

Kerakli jihozlar: stakanlar, kolbalar, analitik tarozi, suv hammomi, qaytar sovutqichli tiqinli kolba, shlifli tiqinli kolba, mikrobyuretka, o'lchov silindri, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: xloroform, yodning 0,001 N, 0,2 N va 0,1 N eritmalari va 0,5 N spirtli eritmasi, natriy tiosulfatning 0,1 N eritmasi, natriy giposulfatning 0,1 N eritmasi, kraxmalning 1% li eritmasi, efir va spirt aralashmasi (1:1), fenolftaleinning spirtidagi 0,1 % li eritmasi, konsentrlangan va 0,1 N xlorid kislota, kaliy ishqorining 0,1 N eritmasi.

1- ish. Yog'larning to'yinmaganlik darajasini qiyoslash

Ishning maqsadi: Yog'larning to'yinmaganlik darajasini qiyoslash.

Ishni bajarish. To'rtta probirka olib shtativga joylashtiriladi. Birinchi probirkaga qo'y yog'idan, ikkinchisiga-qoramol yog'idan, uchinchisiga-margarindan 1 g dan va to'rtinchisiga paxta moyidan 1ml dan solinadi va ularning hammasi 3 ml dan xloroformda eritiladi. Aralashmalar mikrobyuretkagi yodning 0,001 N eritmasi yordamida alohida- alohida titrlanadi. Yod eritmasini titri uchun sarflangan miqdoriga qarab sinovda bo'lgan yog'larning to'yinmaganlik darajasi aniqlanadi. Tahlil natijalari 15 - jadval tarzida rasmiylashtiriladi.

15-jadval

Har xil yog'larning to'yinmaganlik darajasiga oid ma'lumotlar

Probirka №	Yog'ning xili	Erituvchi	Titrlash uchun sarf bo'lgan 0,001 N yod eritmasi
1	Qo'y yog'i	Xloroform	
2	Qoramol yog'i	Xloroform	
3	Margarin	Xloroform	
4	Paxta moyi	Xloroform	
Xulosa			

2- ish. Yog'larning yod sonini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Konussimon kolbaga 0,1 ml paxta moyi solib, 10 ml xloroformda eritiladi va ustiga 25 ml 0,1 N yodning spirtli eritmasi qo'shiladi. Kolbani shlifli tiqin bilan yopib yaxshilab

aralashtiriladi va qorong'u joyda 2 soat tinch qo'yiladi. Bundan keyin oldin reaksiyaga kirmay qolgan yodni 0,1 N natriy tiosulfid eritmasi bilan och sariq rang hosil bo'lgunga qadar, so'ng esa aralashmaga 1 ml 1 % li kraxmal eritmasi qo'shib ko'k rang hosil bo'lgunga qadar titrlanadi.

Yod sonini quyidagi sarhisob qilish tamoyili asosida hisoblab topiladi. Bunda 1 ml 0,1 N natriy giposulfitiga 1 ml 0,1 N yod eritmasi (ya'ni 0,01272 g) ekvivalentligini inobatga olinadi. Kolbaga qancha ml yod (a) eritmasi solinganligi va teskari (ikkinchi) titrlashda sarflangan natriy giposulfit (v)ning miqdorini bilgan xolda yog' bilan bog'langan yod (a-b)ni aniqlanadi. Bu farqli ko'rsatkichni 0,0127 ga ko'paytirib tajriba uchun olingan, yog' bilan birikkan yodning gramm miqdori (C) ni keltirib chiqariladi. Demak yod soni:

$$x = \frac{(a-b) \cdot 0,0127 \cdot 100}{c}$$

formula asosida hisoblab topiladi.

3- ish. Yog'larning kislota sonini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Kolbaga 1 ml paxta yog'i solib, 10 ml efiming spirtli (1:1) aralashmasidan qo'shiladi. Yog' erib ketgandan keyin 2 tomchi fenoltaleinni spirtidagi 0,01% li eritmasidan tomizib, 0,1 N kaliy ishqori bilan och pushti rang hosil bo'lgunga qadar titrlanadi. Titrlash 0,5-1 daqiqa davomida och pushti rang yo'qolmaydigan bo'lguncha davom ettiriladi. Yog'larning kislota soni quyidagi formula yordamida sarhisob qilinadi:

$$K = V \cdot T$$

Bu yerda: K-kislota soni;

V-titrlash uchun sarflangan 0,1 n KON eritmasi;

T-0,1 N KOH eritmasining titri (11 – 5,6 g).

4- ish. Yog'larning sovunlanish sonini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Ikkita 50 ml li kolba olib, birinchisiga analitik tarozida tortilgan 0,5 g qo'yyog'i solinadi va ikkinchisiga 0,5 ml distillangan suv quyiladi. Har ikkala kolbaga mikrobyuretkadan 15 ml

dan 0,5 N KOH ning spirtli eritmasidan quyiladi. Kolbalarining og'zini qaytar sovutqichli shisha nay o'rnatilgan tiqin bilan berkitib, qaynayotgan suv hammomiga qo'yiladi, vaqti-vaqti bilan chayqatib turiladi. Kolbadagi suyuqlik qaynab turishi va nayning ustki qismiga bug'langan suyuqlik sovib qaytadan kolbaga qaytib tushishi lozim. Sovunlanish nihoyasiga yetgach, kolbalarga 20 ml dan distillangan suv qo'shiladi va 3-4 tomchi fenolftaleinning spirtidagi 0,01% li eritmasi tomiziladi. So'ng aralashmalar alohida-alohida 0,5 N xlorid kislotasi bilan pushti rang hosil bo'gunga qadar titrlanadi. Sovunlanish soni (S.s) quyidagi formula yordamida hisoblab topiladi:

$$S.s = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 28}{a}$$

Bu yerda: V_1 - nazorat kolbasidagi suyuqlikni titrlash uchun sarflangan 0,5 N KOH miqdori (ml),

V_2 - tajriba kolbasidagi suyuqlikni titrlash uchun sarflangan 0,5 N KOH miqdori (ml), 28 - 0,5 N KOH ning titri;

A - tajriba uchun olingan yog' ning miqdori (g).

LIPIDLARNI BIOMATERIALLARDAN AJRATIB OLISH VA XOSSALARINI O'RGANISHGA OID REAKSIYALAR

Lipidlar boshqachasiga yog'simon moddalarga: mumlar, fosfatidilglitseridlar, sfingolipidlar, sterin va steridlar kiradi. Bu moddalar tirik organizm tarkibida uchrovchi eng labil lipidlar jumlasiga kiradi.

Lipoidlar neytral yog'lar kabi organik erituvchilarda yaxshi eriydi, ulardan farqli o'laroq gidrolizlanganda glitserin va yog' kislotalaridan tashqari boshqa birikmalar- fosfat kislota, azotli asoslar, siklik va asiklik spirtlar, uglevodlar hosil bo'ladi.

Bu guruhga kiradigan moddalarning ko'pchiligini tarkibida gliserin bo'lmaydi. Lipoidlarga sterin va steridlar ham kiradi. Ular o'simlik va hayvon organizmlarida keng tarqalgan organik moddalar hisoblanadi.

Darsning maqsadi. Biomateriallar tarkibidagi fosfoglitsridlar, sterin va steridlarni ajratib olish uslublari, ularning xossalari, tarkiblari bilan tanishish, vashu mavzuga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

35-LABARATORIYA ISHI.

HAYVON TO'QIMASIDAN LESITINNI AJRATIB OLISH, GIDROLIZLASH VA TARKIBINI O'RGANISHGA OID REAKSIYALAR

Ishning maqsadi: tuxum sarig'i, miya to'qimasi lesitinni ajratib olish, gidrolizlash va tarkibini o'rganishga oid reaksiyalar.

Kerakli biomateriallar: tuxum sarig'i, miya to'qimasi

Kerakli jihozlar: suv hammomi, stakan, shisha tayoqcha, voronka, kolba, o'lchov silindri, chinni kosacha, filtr qog'oz, probirkalar, pipetkalar, shtativ, asbest to'ri, tigel, shpatel, gaz gorelkasi yoki spirt lampa.

Kerakli reaktivlar: 10% li natriy ishqori, 10 % li xlorid kislota eritmasi, kaliy gidrosulfat kukuni, kaliy nitrat kukuni, natriy karbonat kukuni, konsentrlangan nitrat kislota, molibdat reaktivi (tayyorlash: 18,75 g ammoniy molibdat 250 ml distillangan suvda eritilib, uning

ustiga 250 ml 32 % li nitrat kislota (sol. og' 1,2) qo'shiladi va cho'kma erib ketguncha aralashtiriladi).

1- ish. Tuxum sarig'idan lesitinni ajratib olish

Ishning maqsadi: tuxum sarig'i lesitinni ajratib olish.

Ishni bajarish tartibi. Bitta tuxumni sarig'ini yarmini stakanga solib uni ustiga doimo aralashtirib turgan tarzda 35 - 40 ml biroz isitilgan spirt qo'shiladi. Aralashma sovigach quruq probirkaga filtrlanadi. Agar filtratda loyqa hosil bo'lsa, tiniq filtrat hosil bo'lgunga qadar takror- takror filtrlanadi. Filtratdan 2 ml ajratib olib qo'yiladi. So'ng stakan yoki kolbaga 30 ml aseton solib uni ustiga filtratni tomchilab qo'shiladi. Aralashmaning loyqalanishi lesitinning atsetonda erimaganligi sababli cho'kmaga tushganani bildiradi. Cho'kmadagi lesitin filtr qog'ozustida namini qochirish uchun chinni kosacha ustida gaz gorelkasi yoki spirt lampasi yordamida qizdirilib quritiladi va keyingi reaksiyalarni o'tkazish uchun olib qo'yiladi.

2- ish. Lesitinni emulsiyasini hosil qilish

Ishning maqsadi: tuxum sarig'idan lesitinni ajratib olish va uning emulsiyasini hosil qilish.

Ishni bajarish tartibi. Ajratib olib qo'yilgan 1- tajribadagi filtrat 2 ml ni tarkibidagi lesitin emulsiyasini hosil qilish uchun ajratib olib qo'yilgan filtratni (2 ml) tarkibidagi lesitinni emulsiyasini hosil qilish uchun ustiga birnecha tomchi distillangan suv tomiziladi va yaxshilab chayqatiladi, bunda lesitinning emulsiyasini hosil bo'ganligi kuzatiladi.

3- ish. Lesitinni gidrolizlash

Ishning maqsadi: tuxum sarig'idan lesitinni ajratib olish, gidrolizlash va tarkibini o'rganishga oid reaksiyalar.

Ishni bajarish tartibi. Ajratib olingan lesitin cho'kmasidan (1- tajriba) probirkaga ozgina solib, ustiga 3 - 4 ml 10 % li natriy ishqori

eritmasidan qo'shiladi va 15 daqiqa davomida suv hammomida qizdiriladi. Natijada lesitin gidrolizlanib tarkibiy qismlarga parchalanadi.

4-ish. Lesitin gidrolizati tarkibini o'rganishga xos reaksiyalar

Ishning maqsadi: tuxum sarig'idan lesitinni ajratib olish, gidrolizlash va tarkibini o'rganish.

Ishni bajarish tartibi. Lesitin gidrolizatidan 1 ml olib probirkaga solinadi va gaz alangasida qizdirilganda aralashmadan «tuzlangan baliq hidi» keladi. Bu reaksiya lesitin gidrolizati tarkibida xolin borligidan dalolat beradi.

Gidrolizatning qolgan qismini kolbachaga ko'chirib 10 % HCl yordamida nordonlashtiriladi. Bunda lesitin gidrolizati tarkibidagi yog' kislotalari cho'kadi. Cho'kma filtrlanadi va chinni kosachaga ko'chirib suv hammomida quritiladi, filtrat bilan esa, gliseringa xos reaksiya o'tkaziladi.

Buning uchun filtrat fenolftalein ishtirokida 10 % li natriy ishqori bilan neytrallanadi. Neytrallangan aralashma suv hammomida quritiladi. Quritilgan massa ustiga ozgina KHSO_4 kukuni sepib, aralashma suyuqlanguncha gaz alangasida qizdiriladi. Bunda akroleinga xos «oshqozon hidi» keladi.

5-ish. Lesitin tarkibida fosfat kislota borligini aniqlash

Ishning maqsadi: tuxum sarig'idan lesitinni ajratib olish, tarkibida fosfat kislota borligini aniqlash reaksiyalari.

Ishni bajarish tartibi. Birinchi tajriba asosida ajratib olib qo'yilgan lesitindan ozginasini tigelga solinadi va uni ustiga 2:1 nisbatda Na_2CO_3 va KNO_3 kukuni aralashmasi qo'shiladi hamda shisha tayoqcha yordamida aralashtirilib gaz gorelkasi yoki spirt lampasida suyuqlantiriladi.

So'ngra tigel sovutilgandan keyin unga 10-15 tomchi 32 % linitrat kislota tomizib, yana aralashtiriladi. Aralashma tigeldan probirkaga

ko'chiriladi va unga molibdat reaktivi qo'shilgandan keyin qizdiriladi. Sariq rangli loyqaning hosil bo'lishi lesitinning parchalanishi natijasida fosfat kislota ajralib chiqqanidan dalolat beradi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Lipidlarning tabiiy manbalari va energetik ahamiyati?
2. Lipidlarning tasniflanishi?
3. Neytral yog'lar va ularning tuzilishi?
4. Hayvon va o'simlik yog'larini farqli jihatlari?
5. Yog'larga xos sifat reaksiyalari?
6. Yog'larning eruvchanligi va emulsiyalanishi?
7. Yog'larning gidrolizi?
8. Yog'larning kislota, yod, sovunlanish sonlari?
9. Fosfatidilglitseridlar qanday tuzilishga ega?
10. Plazmogenlar va kardiolipinlar?
11. Sfingolipidlar, serebrozidlar va gangliozidlar?
12. Lesitinni ajratib olish?
13. Lesitinga xos sifat reaksiyalari?
14. Xolesterinni biomateriallardan ajratib olish?
15. Xolesteringa xos sifat reaksiyalari?

VITAMINLAR BIOKIMYOSI

Vitaminlar oziq-ovqat tarkibida uchraydigan oziqa omillari jumlasiga kirib, organizmda sodir bo'ladigan moddalar almashinuvining boshqarilishida ishtirok etish orqali biokimyoviy va fiziologik jarayonlarni me'yoriy chegarada kechishini ta'minlaydigan moddalardir.

Bu moddalar organizm uchun juda ham oz miqdorda talab qilinishi bilan birga, organizmning ular bilan ta'minlanishiga bevosita bog'liq bo'lgan avitaminoz, gipovitaminoz va gipervitaminoz holatlari ham uchrab turadi. Hozirgi kunda bu guruhga mansub moddalarni o'rganish bo'yicha alohida vitaminologiya deb nomlangan fan shakllangan.

Vitaminlar to'g'risidagi ta'limotning rivojlanishida N.I. Luninning (1880-y) xizmati katta. U hayvon organizmi oziqa tarkibida oqsil, karbonsuv, yog', mineral moddalar va suvdan tashqari hozirgacha ma'lum bo'lmagan, lekin ularning o'rini bosa olmaydigan qandaydir moddalar bo'lishi zarurligini isbotladi.

Bu ilmiy xulosa F.Xopkins va K.Funk (1912-y) lar tomonidan keyinchalik yanada to'liqroq isbotlandi. Ayniqsa, shu yili K.Funk guruch kepagi ekstraktidan «beri-beri» ning oldini oladigan kristall moddani ajratib oldi. Bu modda tarkibida amin guruh bo'lganligi uchun uni vitamin- «hayot amini» (Vita-hayot) deb nom berdi.

Agar, 1912 yili K.Funk vitamin atamasini fanga kiritib, avitaminoz kasalliklarning biokimyoviy sababini ko'rsatgan bo'lsa, keyinchalik vitaminlarni ajratib olish va hossalarni o'rganish tartibi bo'yicha lotin alfabitining bosh harflari bilan atashni taklif etildi va ularni A, B, C va h.k. deb nomlana boshlandi. 1956 yilda xalqaro nomenklatura qabul qilinib, unda fanda ma'lum bo'lgan 20 dan ortiq vitaminlarni uch guruhga bo'lib o'rganish tavsiya qilingan: 1) suvda eriydigan vitaminlar, 2) yog' da eriydigan vitaminlar, 3) vitaminga o'xshash birikmalar.

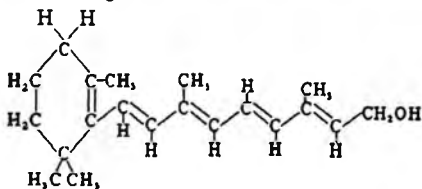
Yog' da eriydigan vitaminlarga - A, D, E va K kabi vitaminlar qatori, suvda eruvchi vitaminlarga - B₁, B₂, B₆, B₁₂, PP, B₈, B₃, H, C, P, pantoten kislota, folat kislota va boshqalar, vitaminsimon moddalarga - xolin, lipoy kislota, pantagam kislota, orot kislota, inozit, ubixinon, paraaminobenzoy kislota, karnitin, linol, linolen, araxidon kislotalar va boshqalar kiradi.

YOG'DA VA SUVDA ERUVCHI VITAMINLARGA XOS REAKSIYALAR

Darsning maqsadi. Yog'da va suvda eruvchi vitaminlarga xos reaksiyalarni o'tkazish ko'nikmalarini egallash va ularni o'tkazish orqali vitaminlarning biologik ahamiyatiga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

36-LABARATORIYA ISHI. A VITAMINGA XOS REAKSIYALAR

A vitamini bir atomli birlamchi spirt bo'lib, tuzilishi jihatidan β -ionon xalqasiga kondensatlangan ikkita izopren qoldig'i va birlamchi spirt guruhidan hosil bo'lgan:



A vitamini hayvon yog'larida, jigarida, tuxum sarig'ida ko'p miqdorda uchraydi. O'simliklarda uning provitamini- karotinlar uchrab, ular α -, β - va γ -karotinlar izomerlari holatida bo'ladi. O'simlik tarkibidagi karotinlar hayvon organizmida A vitamininga aylanadi. Bunda α - va γ -karotindan bir molekula A vitamin hosil bo'lsa, β - karotindan bir yo'la ikki molekula hosil bo'ladi. Odamlarning A vitaminiga bo'lgan ehtiyoji 2,7 mg ni tashkil qiladi.

Ishning maqsadi: A vitamininga xos reaksiyalarni amalga oshirish.

Kerakli biomaterial: baliq moyi, A vitaminining xloroformdagi 0,05 % li eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: Surma (III) - xloridning xloroformdagi to'yingan eritmasi (tayyorlash: surma III-xlorid kristallarini xloroform bilan rangsizlanguncha yuviladi. Uni xloroformdagi to'yingan eritmasini

tayyorlash uchun ishlatiladigan xloroformli kalsiy xlor solingan eksikatorida saqlanganidan xaydalaniladi va yu haroratida 6 soat qoldiriladi shunda bu tuzning 23% li eritmasi hosil bo'ladi.),sirka anhidrid, xloroform, konsentrlangan sulfat kislota, temir (II) - sulfatning muz sirka kislodatdagi to'yingan eritmasi.

1- ish. A vitaminining surma (III) - xlorid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarishtartibi.Ikkita probirka olib, ularning biriga baliq yog'idan, ikkinchisiga A vitaminning xloroformdagi 0,05 % li eritmasidan 3 tomchidan tomiziladi va ularning har ikkalasiga 5 tomchidan $SbCl_3$ ning xloroformdagi eritmasidan qo'shiladi. Aralashmalar avval ko'k rangga bo'yaladi, sekin-asta ular pushti-binafsha rangga o'tadi.

2- ish. A vitaminining sulfat kislota bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi.Ikkita probirka olib, ularning birinchisiga baliq yog'idan 2 tomchi va 1 ml xloroform, ikkinchisiga A vitaminning xloroformdagi 0,05 % li eritmasidan 1 ml tomiziladi. So'ng har ikkala probirkaga 2 tomchidan konsentrlangan sulfat kislota qo'shiladi. Bunda har ikkala probirkada sulfat kislota ta'sirida A vitamindan suv tortib olinganligi sababli oldin ko'k rang, keyinchalik qoramtir-qizil rang hosil bo'ladi.

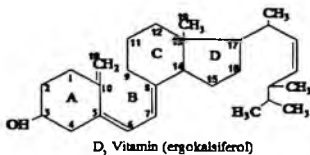
3- ish. A vitaminining temir (II)- sulfat bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ularning biriga baliq yog'idan, ikkinchisiga A vitaminning xloroformdagi 0,05 % li eritmasidan 2 tomchidan tomiziladi va ularning har ikkalasiga 8 tomchidan temir (II) - sulfatning muzsirka kislodatdagi to'yingan eritmasidan, hamda 2 tomchi konsentrlangan sulfat kislotadan qo'shiladi. Aralashmalar dastlab ko'k, keyinchalik pushti - qizil rangga bo'yaladi.

37-LABARATORIYA ISHI.

D VITAMINIGA XOS REAKSIYALAR

Kimyoviy nuqtayi nazardan D vitamini bir atomli to'yinmagan siklik spirt bo'lib, uning tuzilmasida siklopentanopergidrofenantrenning kondensirlangan xalqasi mavjud. D vitaminini kimyoviy tuzilishi quyidagicha:



D₂ Vitamin (ergokalsiferol)

D vitamin o'simliklarda sintezlanmaydi, balki o'simlik sterini-ergosterindan ultrabinafsha nur ta'sirida odam va hayvon organizmida D₂ vitamin-ergokalsiferolga aylanadi. Shuningdek 7 - degidroxolesterindan ultrabinafsha nur ta'sirida D₃ vitamin - xolekalsiferol hosil bo'ladi. Bir kech-kunduzda odamga 10-25 mkg D – vitamin talab qilinadi. Bu vitaminlar kalsiy va fosfor almashinuvida ishtirok etadi.

Ishning maqsadi: D vitamiga xos reaksiyalarni amalga oshirish.

Kerakli biomaterial. Baliq moyi, dorixonadan olingan D vitaminini xloroformda eritilgan konsentrati.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, gaz gorelkasi yoki spirt lampa.

Kerakli reaktivlar: surma (III)- xloridning xloroformdagi to'yingan eritmasi, (48-ishdagi reaktiv) bromning xloroformdagi eritmasi, anilinning xlorid kislotada (15:1 nisbatda) gi eritmasi, sirka angidrid.

1- ish. D vitaminining surma (III)- xlorid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ulaming biriga baliq yog'idan, ikkinchisiga D vitaminining xloroformda eritilgan konsentratidan 3 tomchidan, har ikkalasiga sirka aldegididan 10 tomchidan tomzib aralashtirgandan keyin 5 tomchidan SbCl₃ ning xloroformdagi eritmasidan

qo'shiladi. Aralashmalarning sariq rangga bo'yalishi namunalar tarkibida D vitamini borligidan dalolat beradi.

2- ish. D vitaminini brom bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ularning biriga baliq yog'ining xloroformdagi eritmasidan, ikkinchisiga D vitaminining xloroformda eritilgan konsentratidan 3 tomchidan tomizib, har ikkalasiga 3-4 tomchidan bromning xloroformdagi eritmasidan qo'shiladi. Suyuqliklarning yashil-havo rang tusga kirishi na'muna tarkibida D vitamini borligini isbotlaydi.

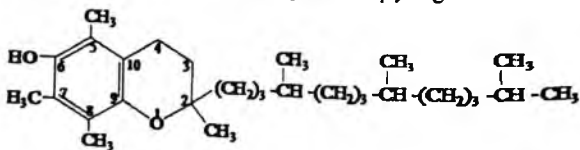
3- ish. D vitaminining anilin bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ularning biriga baliq yog'ining xloroformdagi eritmasidan, ikkinchisiga D vitaminining xloroformda eritilgan konsentratidan 2 ml dan solinadi, har ikkalasiga 2 ml dan anilinning xlorid kislotadagi eritmasidan qo'shiladi va qaynaguncha qizdiriladi. Namunalar tarkibida D vitamini borligi sababli oldin sariq emulsiya paydo bo'ladi, keyin aralashmalar yashil va nihoyat qizil rangga o'tadi. 2 daqiqadan keyin esa aralashmalardagi emulsiya ikki qavat hosil qilib, ochiq qizil rangli bo'lib qoladi.

38-LABARATORIYA ISHI.

E VITAMINIGA XOS REAKSIYALAR

E vitamini (tokoferol) benzopiren va geksadekan qoldiqlardan tashkil topgan bo'lib, α , β va γ -tokoferollar shaklida uchraydi. Kimyoviy tuzilishi jihatidan trimetilgidroksinonning geksadekan bilan hosil qilgan mahsuloti hisoblanadi. α - tokoferolning tuzilishi quyidagicha:



α — Tokoferol

E vitamin antioksidant hisoblanib biologik faol moddalarni parchalanib ketishdan, kaliy ionini yuvilib ketishdan saqlaydi. Tokoferollar hayvon va o'simlik mahsulotlarida, ayniqsa o'simlik moylari, tuxum, sariyog', go'sht va boshqa mahsulotlarda ko'p uchraydi. Odamlarning E vitamining bo'lgan ehtiyoji bir kecha-kunduzda 5-20 mg ni tashkil etadi.

Ishning maqsadi: E vitamining xos reaksiyalarni amalga oshirish

Kerakli biomaterial: dorixonalarda sotuvda bo'lgan α -tokoferolning 0,1 % li spirtli eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, shisha tayoqcha

Kerakli reaktivlar: temir (III) xloridning 1% li eritmasi, konsentrlangan nitrat kislotasi.

1-tajriba. E vitaminini temir (III) xlorid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi Probirkaga 5 tomchi α -tokoferolning 0,1 % li spirtli eritmasi va 0,5 ml 1 % li temir (III) xloridning eritmasi solinadi hamda yaxshilab aralashtiriladi. Reaksiya natijasida E vitamini qizil rangli tokoferilxinonga aylanishi kuzatiladi.

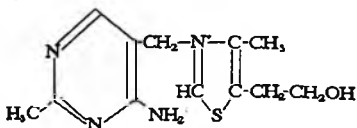
2- tajriba E vitaminini konsentrlangan nitrat kislotasi bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5 tomchi α -tokoferolning 0,1 % li spirtli eritmasi va 10 tomchi konsentrlangan nitrat kislotasi solib, yaxshilab aralashtiriladi. Reaksiya natijasida emulsiya hosil bo'ladi va ikki qatlamga ajraladikyeyinchalik uning yuqori qismi moysimon qizil rangga kiradi.

39-LABARATORIYA ISHI.

B₁ VITAMINGA XOS REAKSIYALAR

B₁ vitamini geterosiklik pirimidin va tiazol halqalaridan tashkil topgan bo'lib, ular bir biri bilan metilen guruhi yordamida bog'langan bo'ladi. Uning kimyoviy tuzilishi quyidagicha:



B₁ - Vitamin (Tiamin)

B₁-vitamin (tiamin) oksidlovchilar ta'sirida ko'k fluoressensiyaga ega bo'lgan tioxromga aylanadi. Bu reaksiyadan biomateriallar tarkibidagi B₁ vitaminini miqdoriy ko'rsatkichini aniqlashda foydalaniladi. Tiamin achitqi, turli donlarning tarkibida, sabzavotlarda, jigarda ko'p uchraydi. Odamlarning B₁-vitaminga bo'lgan ehtiyoji 1,2-2,2 mg ni tashkil qiladi.

Ishning maqsadi: B₁ vitaminga xos reaksiyalarni amalga oshirish

Kerakli biomaterial: tiaminning 5 % li eritmasi, tiamin kukuni.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, gaz gorelka yoki spirt lampa, flyurametr.

Kerakli reaktivlar: sulfat kislotaning 1 % li eritmasi, natriy nitritning 5 % li eritmasi, natriy gidrokarbonatning 10 % li eritmasi, kaliy ishqorining 10 % li eritmasi qizil qon tuzini 5 % li eritmasi.

1-ish. B₁ vitamini temir (III) - xlorid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 % li sulfat kislota eritmasidan 5 tomchi va 5 % li natriy nitrit eritmasidan 5 tomchi tomizib, ozgina tiamin kukunidan qo'shiladi. Shundan keyin probirka devoribo'ylab 10 % li natriy bikarbonat eritmasidan 6 tomchi tomiziladi. Ikki qavat suyuqlik chegarasida to'q sariq halqa hosil bo'ladi.

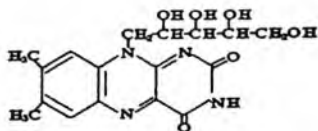
2-ish. Tiaminning tioxromgacha oksidlanish reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga tiaminning 5 % li eritmasidan 3 tomchi, 10 % li kaliy ishqori eritmasidan 5-6 tomchi solinadi, uni ustiga 5 % li qizil qon tuzi ($K_4[Fe(CN)_6]$) dan 2 tomchi tomiziladi va yaxshilab aralashtirganda aralashma sariq rangga bo'yaladi. Bu eritmani ultrabinafsha nur bilan nurlantirilganda ravshan ko'k fluoressensiyaga ega bo'ladi.

40-LABARATORIYA ISHI.

B₂ VITAMINGA XOS QAYTARUVCHANLIK REAKSIYASI

B₂ vitamini (riboflavin) kimyoviy jihatdan izoalloksazinning hosilasi hisoblanib, uning ilmiy nomlanishi 6-7-dimetil-9-ribitil-izoalloksazindir:



Riboflavinning to'yingan eritmasi sarg'ish-yashil rangga bo'yalgan bo'ladi. U ultrabinafsha nurda ham o'ziga xos tavsifli tarzda sarg'ish - yashil rangga ega bo'lib fluoressensiyalanadi. Riboflavin oksidlovchi-qaytaruvchi fermentlarning tarkibiga FMN va FAD tarzidagi koferment sifatida kiradi. Riboflavin hayvon mahsulotlari: go'sht, baliq, tuxum, sutlarda va achitqida ko'proq, sabzavotlarda kamroq uchraydi.

Odamlarning B₂-vitaminga bo'lgan ehtiyoji 2,0-2,5 mg ni tashkil qiladi.

Ishning maqsadi: B₂ vitamininga xos reaksiyalarni amalga oshirish

Kerakli biomaterial: dorixonalarda sotuvda bo'lgan B₂ vitaminini suvdagi 0,025 % li eritmasi.

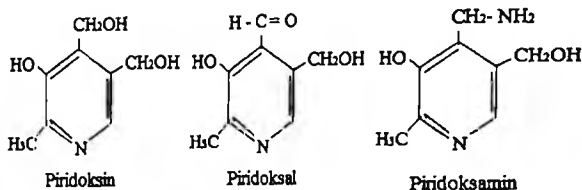
Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: konsentrlangan xlorid kislota, rux metali.

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 10 tomchi B₂ vitaminini 0,025 % li eritmasi va 5 tomchi konsentrlangan xlorid kislota tomizilgandan keyin aralashmaga mosh kattaligidagi rux metali solinadi. Bunda jadal ravishda vodorod ajralaboshlaydi, dastlab aralashma qizil rangga bo'yaladi, chunki qaytarilishning oraliq mahsuloti – rodoflavin hosil bo'ladi. Rodoflavinning qaytarilishi nihoyasigay etgandan keyin qaytadan rangsizlanish yuz beradi.

41-LABARATORIYA ISHI. B₆ VITAMINIGA XOS SIFAT REAKSIYALARI

B₆ vitamini (piridoksin, piridoksal, piridoksamin) piridinning hosilalari hisoblanadi:



Bu moddalar aminokislotalarning almashinuvida ishtirok etadigan eng muhim fermentlar- aminotransferazalar - dekarboksilazalar- sisteindesulforaza - va boshqalarning kofermentlari vazifasini bajaradi. Shu bois, bu vitaminning tanqisligi aminokislotalarning almashinuvini izdan chiqarish orqali oqsillar, Uglevodlar va yog'larning umumiy almashinuvini izdan chiqishiga sababchi bo'ladi. Bu vitamin o'simlik va hayvon mahsulotlarida keng tarqalgan. Odamning bu vitamining bo'lgan ehtiyoji bir kunda 2 mgni tashkil qiladi. Moddalar almashinuvini so'ngi mahsulotlari sifatida organizmdan ajratiladigan piridoksinli birikmalar siydik tarkibida piridoksilat kislotaning tuzlari tarzida chiqariladi.

Ishning maqsadi: B₆ vitamining xos reaksiyalarni amalga oshirish

Kerakli biomaterial: dorixonalarda sotuvda bo'lgan piridoksin, siydik.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar, gaz gorelkasi, suv hammomi.

Kerakli reaktivlar: temir (III) xloridning 5 % li eritmasi, xlorid kislota ning 10 % li eritmasi, natriy ishqorining 10 % li eritmasi, natriy tetraboratning 1 % eritmasi.

1- ish. Piridoksinning ferrixlorid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5 tomchi piridoksin eritmasi solib, ustiga $FeCl_3$ ning 5 % li eritmasidan 1 tomchi tomiziladi. Aralashma yaxshilab aralastirgandan so'ng qizil rangga bo'yaladi.

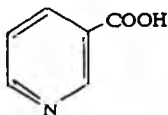
2- ish. Siydik tarkibidagi piridoksilat kislotaga xos rangli reaksiya

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 3 tomchi siydik va 3 tomchi 10 % li xlorid kislota eritmasidan tomizib, qaynab turgan suv hammomida 20 daqiqa qizdiriladi. Probirkadagi aralashma sovigandan keyin unga 10 % li natriy ishqoridan 3 tomchi, 10 tomchi 1 % li natriy tetraborat solinadi. Bunda aralashmaning rangi ko'k bo'lib qoladi.

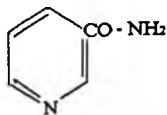
42-LABARATORIYA ISHI.

PP VITAMINI (NIKOTIN KISLOTA, NIKOTINAMID)GA XOS SIFAT REAKSIYALARI

PP vitamini kimyoviy jihatdan piridinning hosilasi bo'lib, nikotin kislota va uning amidi hisoblanadi:



Nikotin kislota



Nikotin amid

Bu PP vitamini deb atalishiga sabab, pellagrani oldini olishi (pellagra preventing-so'zlarining bosh harflari) bilan bog'liq. Nikotin kislota oksireduktazalarning katta guruhini kofermenti hisoblanib, ularning tarkibida nikotinadenin dinukleotid (NAD) va

nikotinadenin dinukleotid fosfat (NADF) tarzida uchraydi. Uning tanqisligida terining quyoshdan himoyalalmagan joylari, oshqozon-ichak yo'llari jarohatlanadi, psixika izdan chiqadi. Boshqoli o'simliklarning donida ancha ko'p bo'ladi. Odamning 1kunlik ehtiyoji 15-25 mg ni tashkil qiladi.

Ishning maqsadi: PP vitamiga xos reaksiyalarni amalga oshirish

Kerakli biomaterial: nikotin kislotasi.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar, gaz gorelkasi, yoki spirt lampasi.

Kerakli reaktivlar: sirka kislotaning 10 % li eritmasi, mis asetatning 5 % li eritmasi, natriy bikarbonatning 10 % li eritmasi, natriy gidrosulfidning 5 % li eritmasi.

1- ish. Nikotin kislotaning mis atsetati bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5-10 mg nikotin kislotasi, 10-20 tomchi 10 % li sirka kislotasi solib qizdiriladi, aralashma qaynash darajasiga yetganda 20 tomchi 5 % li mis atsetati eritmasi qo'shiladi. Bunda aralashma dastlab havorang loyqaga aylanadi, so'ng ko'k rangli cho'kma hosil bo'ladi.

2- ish. Nikotin kislotaning natriy gidrosulfat ta'siridagi rangli reaksiyasi

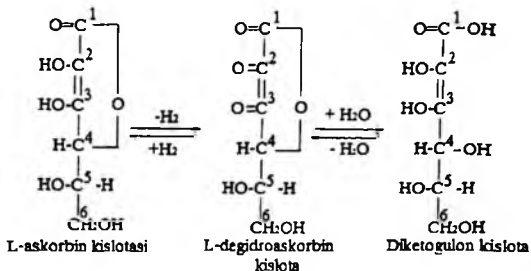
Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5-10 mg nikotin kislotasi solib, ustiga 15 tomchi 10 % li natriy bikarbonat tomiziladi va uni aralastirilgandan so'ng 15 tomchi yangi tayyorlangan 5 % li natriy gidrosulfid qo'shiladi. Bunda aralashma sariq rangga bo'yaladi.

43-LABARATORIYA ISHI.

C VITAMINIGA XOS REAKSIYALAR

Kimyoviy tabiati jihatidan C vitamini L- glukoza tuzilmasiga yaqin tuzilishga ega bo'lgan kislotaning laktoni hisoblanadi. C vitamini

oksidlanish darajasiga bog'liqligida askorbin kislota, degidroaskorbin kislota va diketogulon kislota holatida bo'lishi mumkin:



Bu ko'rinishlarning hammasida askorbin kislota vitaminlik faollikka ega bo'ladi. C vitamini to'qimalardagi oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarida karbonsuv, yog' va oqsillar almashinuvida muhim ahamiyatga ega. Bu vitamin namatak, sitrus o'simliklari, mevalar va sabzavotlarda, shuningdek ko'k piyoz va ko'katlar tarkibida ko'p bo'ladi. Odamning bu vitamanga bo'lgan bir kunlik ehtiyoji 75-100 mg ni tashkil qiladi.

Ishning maqsadi: C vitamanga xos reaksiyalarni amalga oshirish

Kerakli biomaterial: na'matak, olma, karam ekstraktlari.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar.

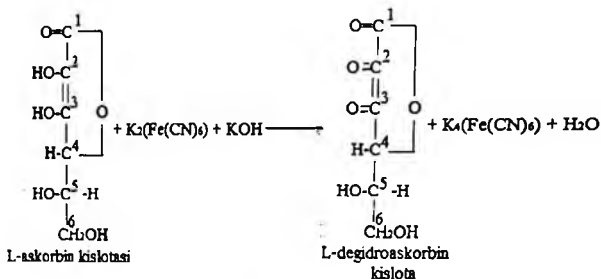
Kerakli reaktivlar: kaliy ferrosianidning 5 % li eritmasi, temir (III) xloridning 1% li eritmasi, distillangan suv, metilen ko'kning 0,01 % li eritmasi, natriy karbonatning 10 % li eritmasi, 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 N eritmasi, xlorid kislotalarning 2 % li eritmasi.

1-ish. C vitaminining kaliy ferrosianid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. To'rtta probirka olib, ularning hammasiga 2-3 tomchidan 5 % li kaliy ferrosianid va 1 tomchidan temir (III) xloridning 1 % li eritmasidan tomiziladi. So'ng birinchi probirkaga na'matak

ekstraktidan 6 tomchi, ikkinchisigaolma ekstraktidan 6 tomchi, uchinchisiga karam ekstraktidan 6 tomchi va to'rtinchisiga-distillangan suvdan 6 tomchi tomziladi.

Bunda birinchi, ikkinchi, uchinchi probirkalardagi reaksiyon muhitlarda C vitamini mavjudligi tufayli aralashmalardagi qizil qon tuzi qaytarilib, sariq qon tuziga aylanadi hamda temir (III) xlorid ishtirokidasuvda yomon eruvchi Berlin zangorisi hosil bo'ladi. Reaksiya aralashmalaridagi Berlin zangorisi rangining jadalligi bu biomaterial tarkibidagi C vitaminining miqdoriga bog'liq bo'ladi. To'rtinchi probirkadagi aralashmani rangi esa o'zgarishsiz qoladi, chunki unda C vitaminni o'miga distillangan suv qo'shilgan. Reaksiya tenglamasini quyidagicha ifodalash mumkin.



1 - ish. C vitaminining metilen ko'ki bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. To'rtta probirka olib, ularning hammasiga 2 tomchidan 0,01 % li metilen ko'ki eritmasi va 2 tomchidan 10 % li natriy karbonat eritmasi tomziladi. So'ng birinchi probirkaga na'matak ekstraktidan 10 tomchi, ikkinchisigaolma ekstraktidan 10 tomchi, uchinchisiga karam ekstraktidan 10 tomchi va to'rtinchisigadistillangan suvdan 10 tomchi tomziladi. Bunda birinchi, ikkinchi, uchinchi probirkalarda C vitamini ta'sirida metilen ko'ki rangsizlanadi, to'rtinchi probirkadagi aralashma tarkibida C vitamini yo'qligi sababli rangsizlanmaydi.

3 - ish. C vitaminining 2,6 - dixlorfenolindofenol bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Oltita probirka olib, shtativga ikki qator qilib joylashtirib 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b tartibda raqamlanadi. So'ng 1a va 1b ga na'matak ekstraktidan, 2a va 2b ga olma ekstraktidan, 3a va 3b ga karam ekstraktidan 3 tomchidan tomiziladi. So'ng 1a, 2a, 3a dagi probirkalardagi C vitaminini qaynatish yoki vodorod peroksidi qo'shish yo'li bilan parchalanadi.

Bundan keyin hamma probirkalarga 1 tomchidan xlorid kislotaning 2 % li eritmasidan qo'shiladi va birin-ketin tomchilab avval 1b, 2b va 3b probirkalarga 2,6 - dixlorfenolindofenolning 0,001 N eritmasidan tomiziladi. Bu probirkalarda C vitamini mavjudligi tufayli dastlabki qo'shilgan indikatorning gulobi rangi yo'qoladi.

Keyinchalik esa namuna tarkibidagi askorbin kislota oksidlanib ketganligi tufayli gulobi rang saqlanib qoladi. Nazorat vazifasini bajargan 1a, 2a, 3a probirkalarda esa askorbin kislota qaynatish yoki vodorod peroksidi ta'sirida oksidlangan holatga o'tganligi sababli gulobi rangning rangsizlanishi umuman kuzatilmaydi.

Bu o'rinda C vitamini to'g'risidagi fikri davom ettirib aytish mumkinki, biomateriallar tarkibidagi bu vitamini miqdorini aniqlashda aynan shu 2,6-dixlorfenolindofenol bilan bo'lib o'tadigan rangli reaksiyadan foydalaniladi.

Mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Vitaminlar qanday moddalar?
2. Vitaminlarning tasniflanishi?
3. Yog' da eruvchi vitaminlarni tavsiflang?
4. Suvda eruvchi vitaminlar va ularning umumiy tavsifi?
5. Vitaminsimon moddalar va ularning tavsifi?
6. Gipo-, a- va gipervitaminoz holatlarining kelib chiqish sabablari?
7. A vitaminini uning fiziologik ahamiyati?
8. D vitamini, tuzilishi va ahamiyati?
9. K vitaminini tuzilishi, xossalari va ahamiyati?
10. E vitaminini kimyoviy tuzilishi, xossalari?
11. B guruhi vitaminlari, ularning xossalari?
12. Vitaminsimon moddalar, ularning tuzilishi va fiziologik ahamiyati?
13. Vitaminlarning tabiiy manbalari?
14. Odam organizmining yog' da eruvchi vitaminlarga bo'lgan ehtiyojlari?
15. Odamning suvda eruvchi vitaminlarga bo'lgan kunlik etiyodlari?
17. Koferment vazifasini bajaruvchi suvda eruvchi vitaminlar?
18. Koferment vazifasini bajaruvchi vitaminsimon moddalar?

BIOKIMYO IZOHLI LUG'AT (GLOSSARIY)

Biokimyo (biologik yoki fiziologik kimyo) - tirik hujayralar va organizmlarning kimyoviy tarkibi, shuningdek, ularning hayotiy faoliyati asosidagi kimyoviy jarayonlar haqidagi fan.

Reaktiv moddalar - kimyoviy reaksiyaga sabab bo'lish yoki agar sodir bo'ladigan bo'lsa, sinab ko'rish uchun ishlatiladigan modda yoki birikmadir. **Reaktiv moddalar kimyoviy reaksiya jarayonida foydalaniladigan moddani bildiradi.**

Biologik faol moddalar (BFM) - bu past konsentratsiyalarda tirik organizmlarning ayrim guruhlariga (birinchi navbatda, odamlarga, shuningdek, o'simliklar, hayvonlar, zamburug'lar va boshqalarga nisbatan) nisbatan yuqori fiziologik faollikka ega bo'lgan kimyoviy moddalar.

Fermentlar kimyoviy reaksiyalarni tezlashtiruvchi biologik katalizatorlar bo'lib, tabiatiga ko'ra eng yuqori darajada takomillashgan ohsil moddalardir. Ular xujayra, to'qima va turli organizmlarning hayotiy jarayonlarining asosi bo'lgan minglab kimyoviy reaksiyalarni tezlashtiradi. Bu guruh moddalarga, ya'ni biologik katalizatorlarga ferment nomi berilishi yoki ularni ikkinchi nomi enzim deb atalishi bijg'ish jarayonlarining ochilishi bilan bog'liq. Hozirgi vaqtda fermentlarni 3000 dan ziyod turlari borligini aniqlangan.

Kataliz - tezlashtiruvchi yoki musbat (tezlashtiruvchi) va salbiy (sekinlashtiruvchi) bo'ladi. Undan tashqari gomogen yoki geterogen katalizlar bo'ladi, ya'ni reaksiyalarda, reaksiyaga kirishuvchi moddalar biokatalizator bir fazada bo'lsa gomogen kataliz, turli fazada bo'lsa, geterogen kataliz deyiladi.

Bir komponentli fermentlar, ya'ni katalitik xususiyatga ega bo'lgan oqsil molekulasi uchun hosil topgan fermentlar. Bir komponentli fermentlarda aktiv markaz rolini bajarishda ayrim aminokislotalar qoldiqi ishtirok etadi.

Ikki komponentli fermentlar, ya'ni oqsil kismidan (apofermentdan) va oqsil bulmagan (prostetik gruppadan) qismidan tashkil topgan fermentlar ishtirok etadi.

Fermentlarning aktivligining o'lcham birligi - fermentlarning kattaligi kattalarda (kat) o'lchanadi. I - katal bu shunday katalitik aktivlikki, u 1 sekundda 1 mol reaksiyani amalga oshiradi. Undan tashqari solishtirma katalitik aktivlik ko'rsatkichi bo'lib, bu kattalik eng asosiy ko'rsatkichlardan bo'lib, fermentning miqdorini ham hisobga oladi.

Normal eritma - 1 litr eritmada erigan moddaning ekvivalentlar soni.

Molyar eritma - erituvchi moddaning bir litr hajmida molyar massa hisobiga erigan moddaning miqdoriy ko'rsatkichi molyar (M) eritma.

Foizli eritma - har qanday erituvchi moddaning 100 ml hajmida erigan modda miqdoriga foiz(%)li eritma.

Oqsillar – yuqori molekular, azot tutuvchi organik moddalar, ular aminokislotalardan tashkil topgan makromolekulalardir.

Globulyar oqsillar, bular suvda va tuzlarning kuchsiz eritmalarida yaxshi eriydi. Ular dumaloq – sharsimon shaklda bo'lib, zarracha kichik o'qining uzunligi 20-60, uzun o'qining o'lchami 40-200 Å ga teng.

Fibrilyar oqsillar, suvda erimaydigan uzun, ipsimon, yassi, katlamli shaklga ega bo'lib, juda nozik ipchalar (tolalar) shaklida bo'lib, bular asosan struktura, harakatlantiruvchi, funksiyalarni bajaradilar. Bu gruppaga muskul oqsili – miozin, soch va muguz oqsili keratin, teri va paylar oqsili-kollogen va elastin, ipak oqsili – keratin kiradi.

Oqsillarning denaturasiyasi - turli fizik va kimyoviy ta'sirlar ostida nativ (tabiiy) xususiyatlarini yo'qotish laridir. Oqsil eritmaları qizdirilganda, uning ivib, cho'kma holiga kelishi denaturasiyadir, ammo oqsil ishqoriy metall tuzlari, ammoniy sulfat bilan tuzlanganda cho'kma ham denaturasiyalanmaydi, u qaytadan erib, nativ holatga o'tadi.

Oqsillarning elementar tarkibi - oqsillar yuqori polimer moddalar bo'lib, o'ziga xos elementlar tarkibi bilan xarakterlanadi. Ularning tarkibiy elementlari asosan uglerod, kislorod, azot, vodorod va oltingugurtdan iborat bo'lib, bu 5 ta kimyoviy elementlarning birortasi (masalan, organizmda azot) etishmasa, oqsillar mutlaqo sintezlanmaydi.

Aminokislotalar - molekulasida amin va karboksil guruhi bo'lgan organik birikmalar, o'simlik hamda hayvon oqsilining asosiy elementi hisoblanadi.

Monoaminomonokarbon aminokislotalar- bunday aminokislotalar tarkibida amino gruppasi va karboksil gruppasi bittadan bo'ladi - bularga glisin, alanin, valin, leysin, izoleysin, serin, trionin kiradi.

Monoaminodikarbon aminokislotalar - bunday aminokislotalar tarkibida amino gruppasi va karboksil gruppasi ikkitani tashkil topgan bo'ladi - bularga asparagin, glutamin kiradi.

Diaminomonokarbon aminokislotalar - bunday aminokislotalar tarkibida ikkita amino gruppasi va bitta karboksil gruppadan tashkil topgan bo'ladi - bularga lizin, arginin kiradi.

Oltinugurt tutuvchi aminokislotalar - bunday aminokislotalar tarkibida oltinugurt kimyoviy moddasi bog'langan bo'ladi- bularga metionin, sistein, sistin kiradi.

Aromatik aminokislotalar - (tirozin, triptofan va fenilalanin) aromatik siklik guruhlarni o'z ichiga oladi.

Geterosiklik aminokislotalar - tarkibida yopiq zanjirli birikmalar tutuvchi aminokislotalar - bularga gistidin, prolin, oksiprolin kiradi.

Albuminlar - distillangan suvda eruvchi oqsillar bo'lib, qizdirilganda cho'kmaga tushadi. Ular barcha hujayralar tarkibida uchraydigan eng ko'p tarqalgan oqsillardir. Eritma ammoniy sulfat tuzini to'yingan eritmasi bilan to'yintirilganda cho'kmaga tushadi. Bunday oqsillar boshqolilar, dukkakililar unidan, sut, go'sht, tuxum, zardob va boshqa biomateriallardan ajratib olinadi.

Globulinlar - tuzlarning 10% li eritmalarida eriydi, hujayra va to'qimalar tarkibida doim albuminlar bilan birgalikda uchraydi, suvda erimaydi, qizdirilganda koagulyasiyalanadi, suyultirilgan tuz eritmalarida eriydi, tuz konsentratsiyasi ortishi bilan darhol cho'kmaga tushadi.

Glyutelinlar - kuchsiz ishqoriy muhitda eruvchi oqsillar bo'lib, neytral erituvchilarda erimaydi, ammo suyultirilgan ishqorlar va kislotalarda eriydi. Ular donlar (bug'doy, arpa, qora bug'doy, sholi va

boshqalar) tarkibida uchraydi. Guruchdan olinadigan orizenin, bug'doydan olinadigan glyutenin shu gruppaga kiradi.

Prolaiminlar va gliadinlar - bular 70-80% etil spirtida eruvchi oqsillar bo'lib, suvda, tuz eritmalarida va mutloq spirtlarda erimaydi. Ularning asosiy vakili – gliadin bug'doy donining endospermasida uchraydi. Prolaminlar qatoriga yana arpa tarkibidagi gordein va makkajuhori doni tarkibidagi zein oqsillari kiradi. Ular tarkibida nisbatan ko'p miqdorda prolin aminokislotalari bo'ladi.

Gistonlar - suvda eriydi, lekin suyultirilgan ammiakda erimaydi. Boshqa oqsillar eritmasi gistonlarni cho'ktiradi. Ular qizdirilganda paydo bo'lgan cho'kmalar suyultirilgan kislotalarda eriydi. Gistonlar kuchsiz ishqor tabiatiga ega ekanligi bilan boshqa oqsillardan keskin farq qiladi. Bu hususiyat gistonlar tarkibida diaminomonokarbon aminokislotalarning haddan tashqari ko'p ekanligini bildiradi. Ularning izoelektirik no'qtalari ham ishqoriy muhitga to'g'ri keladi.

Protaminlar - oqsillarning eng soddasi bo'lib, ishqoriy oqsillar qatoriga kiradi. Bu oqsillar tarkibida arginin va lizin miqdori ko'proq (80% gacha) bo'lib, kuchli ishqoriy xossaga ega. Protaminlar suvda eriydi, qizdirilganda cho'kmaydi, Lekin boshqa oqsillar ta'sirida cho'kmaga tushadi.

Tabiiy peptidlar - keyingi paytda qator maxsus funksiyalarni bajaruvchi past molekullari peptidlar o'rganildi. Ular o'zlarining biologik faolliklari, ta'sir etish tavsiflari va kelib chiqishiga bog'liqlikda to'rt guruhga bo'linadi:

Xromoproteinlar - tarkibida aminokislotalardan tashqari nooqsil tabiatli modda sifatida bo'yoq moddalarini tutuvchi murakkab oqsillar hisoblanib, ular gemprotein (nooqsil guruh sifatida tarkibida temir tutuvchi)lar, magniy-porfirinlar va flavoprotein (izoalloksazin hosilalari tutuvchi)larga bo'linadi. Xromoproteinlarning vakili sifatida hayvonlarda gemoglobin, mioglobinni, o'simliklarda-xlorofillni keltirib o'tish mumkin. Murakkab oqsillarning bu vakillarini nafas olish va fotosintez jarayonlaridagi ahamiyati ma'lum.

Nukleoproteinlar - oqsillar va nuklein kislota qoldiqlaridan tashkil topgan makromolekulalar hisoblanadi. Bu murakkab oqsillar tarkibiga

kirgan nuklein kislotalarning xiliga qarab dezoksiribonukleoprotein (DNP) lar va ribonukleoprotein (RNP) larga bo'linadi. Bu oqsillar hujayraning yadrosi va protoplazmasida mavjud bo'lib, irsiy axborotni saqlanishi ko'chirilish va realizatsiyasi, o'sish, rivojlanish, ko'payish jarayonlarini sodir bo'lishi shu oqsillar funksiyalari bilan bog'liqdir.

Lipoproteinlar - oqsillar va lipidlarning kompleksidan hosil bo'lgan makromolekulalar hisoblanadi. Ular tirik organizmning barcha to'qima va hujayralarida uchraydi, ayniqsa nerv to'qimasida ko'p bo'ladi. Bu oqsillarning funksiyalari ham xilma xil bo'lib, lipidlarni organizm bo'ylab tashilishidan tortib, to hujayralar va ularning organellalarini membranalari tuzilmasini hosil qilishgacha bo'lgan funksiyalarni bajaradi.

Glikoproteinlar - oqsillarning Uglevodlar va ularning hosilalari bilan birikishidan hosil bo'lgan makromolekulalar hisoblanadi. Ular jumlasiga biriktiruvchi to'qimani asosi hisoblangan- xondroitin sulfat kislota, gialuron kislota, interferonlar va qon zardobi tarkibida uchrovchi glikoproteintlarni kiritish mumkin. Bu murakkab oqsillarning funksiyalari ham xilma xildir.

Fosfoproteinlar - oqsil molekulasidagi β - oksid aminokislota(asosan serin, kamdan kam holatlarda treonin) larga fosfat kislota qoldig'i birikishidan hosil bo'lgan murakkab oqsillar hisoblanadi. Bu oqsillar o'suvchi organizmlar uchun zahira oziqa vazifasini bajaradi. Ularning vakillari sifatida kazeinogen (sut), ovovitellin (tuxum), ixtullin (baliq)larni keltirish mumkin.

Metalloproteinlar - oqsillarga bir yoki bir necha metall ionlarini birikishidan hosil bo'lgan biopolimerlardir. Bu oqsillar jumlasiga: ferritin, transferrin va gemosederinlarni kiritish mumkin. Shuningdek ko'p fermentlarning tarkibiga xilma xil metallar kiradi. Masalan: Alkololdehidrogenaza,

Biuret reaksiyasi - oqsillarga xos universal rangli sifat reaksiyasi deyiladi.

Ningidrin reaksiyasi - aminokislotalarning va oqsillarning erkin amin kruppalari ningidrin ta'sirida ko'k-binafsha rang hosil qiladi.

Ksantaprotein reaksiyasi - aromatik aminokislota tirozin, fenilalaninni aniqlashga asoslangan.

Uglevodlar tarkibida - aldegid yoki keton gruppasi bo'lgan poligidroksil birikmalar yoki gidrolizlanish natijasida shunday birikmalar hosil qiluvchi moddalar uglevodlar deb ataladi.

Monosaxaridlar - (monomer birliklar), ularni sodda qandli deb ham ataladi. Bular kimyoviy strukturaga ko'ra, aldegid yoki ketonspirtlardan tashkil topgan.

Oligosaxaridlar - ikki yoki bir nechta monomerlarning birikib hosil qilgan zanjirlari – disaxaridlar, trisaxaridlar va boshqalar. Bular orasida eng muhimlari: disaxaridlardan qamish shakari – saxaroza, sut shakari – laktoza, kraxmalning parchalanish mahsuloti – maltoza, trisaxarid – rafinozadir.

Polisaxaridlar - yuksak molekulyar massaga ega 100 va mingdan ortiq monomerlar tutadilar. Bularning eng ko'p vakillari kraxmal, selluloza, glikogen, inulin, xitin va boshqalardir.

Monosaxaridlar - tarkibida aldegid yoki keton gruppasi bo'lishiga qarab aldozalar va ketozalarga bo'linadi. Ularning umumiy formulasi quyidagicha ifodalanadi.

Maltoza - (undirilgan arpa qandi) o'z nomi bilan undirilgan boshqalilar va ularning suvli ekstraksiyalari tarkibida uchraydi. Kraxmalning vetta-amilaza fermenti ishtirokida parchalanishi yoki gidrolizlanishi hisobiga hosil bo'ladi va kraxmal gidrolizining oraliq mahsuloti xisoblanadi. Tarkibi-1-alfa-glyukopiranoza va 4-alfa-glyukopiranoza.

Saxaroza - (shakarqamish yoki lavlagi qandi) o'simliklarda eng ko'p tarqalgan bo'lib, odam ozuqasi uchun muhim ahamiyatga ega. Suvda juda yaxshi eriydi. qaytaruvchanlik hususiyati yo'q (Feling reakti vini qaytarmaydi). Achitqilar bilan biyg'itiladi. Tarkibi glikozid gidroksillari bilan birikkan bir molekula 1-alfa - glyukopiranoza va bir molekula 2-beta - fruktofuranoza.

Sellobioza - yuqori tartibli polisaxarid kletchatkaning (selluloza) asosi bo'lib, erkin holda ayrim daraxtlar sharbatida uchraydi. Erkin

glikozit gidroksili bo'lganligi uchun qaytaruvchanlik hususiyatiga ega. Tarkibi – 1-betta-glyukopiranoza va 4-betta-glyukopiranoza.

Kraxmal miqdori - bug'doyda 75%, guruchda 80%, kartoshkada 12-24%, kartoshka barglarida 4% atrofida bo'ladi. Kraxmalning uglevod qismi, bir-biridan fizik va kimyoviy xossalari bilan farq qiluvchi, 2 xil turdagi polisaxaridlar – amiloza va amilopektindan tashkil topgan.

Amiloza - iliq suvda eriydi. Molekulyar massasi 1×10^6 - 1×10^7 . Suvdagi eritmaları beqaror bo'lib, uzoq turganda kristall holatda cho'kmaga tushadi. Amiloza molekulasida alfa-glyukoza molekulalari 1- va 4- uqlerodlar orasida glikozid bog'i bilan bog'lanib, uzun zanjir hosil qiladi.

α -amilaza fermenti - kraxmal va unga o'xshash polisaxaridlarda glikozid 1:4 bog'larni tartibsiz ravishda gidrolizlaydi. Bunda dekstrinlar va ozroq miqdorda maltoza hosil bo'ladi. α -amilazani dekstrinlovchi fermentlar deb ataydilar.

Fermentlar ishtirokidagi kraxmal gidrolizining oralik maxsulotlari dekstrinlar turt xil buladi: - Amilodikstrinlar (o'rtacha molekulalar massasi 10000 u.b atrofida) – yod ta'sirida ko'k-binafsha rangga bo'yaladi. Feling reaktivini maltozalarga nisbatan 1% ga qaytaradi. - Eritrodekstrinlar (o'rtacha molekulyar massasi 6000-4000 u.b) – yod ta'sirida qizil-qo'ng'ir rangga bo'yaladi, Feling reaktivini maltozaga nisbatan 2-3% ga qaytaradi. - Axrodekstrinlar (urtacha molekulyar massasi 3700 u.b) – yod ta'sirida deyarli bo'yalmaydi, 70%-li spirtida eriydi, Feling reaktivini maltozaga nisbatan 10% ga qaytaradi. - Maltodekstrinlar (urtacha molekulyar massasi 1000 u.b) – yod ta'sirida deyarli bo'yalmaydi, Feling reaktivini maltozaga nisbatan 30-40% ga qaytaradi.

Glyukoamilaza fermenti kuprok mogor zamburuglarida uchraydi. Glyukoamilaza fermenti ta'sirida kraxmalning 1:6 va 1:4 glyukozid gidroksil bog'lari gidrolizlanib glyukoza molekulalari hosil bo'ladi.

β – amilaza fermenti kraxmaldagi α – glikozid 1:4 bog'larini tartibli ravishda, bir chetdan ketma-ket maltoza qoldiqlarini

polisaxaridlar zanjiridan gidrolizlaydi. β – amilazani qandlovchi ferment deb ataydilar.

Oddiy lipidlarning ko'pchilligi ikki komponentli bo'lib, kimyoviy jihatidan spirtlarning yog' kislotalar bilan hosil qilgan murakkab efilrlaridir. Ularga yog'lar, mumlar, steroidlar, oddiy diollipidlar va boshqalarni kiritish mumkin.

Murakkab lipidlar ko'p komponentli birikmalar bo'lib, ularning tarkibida yog' kislotalar va spirtlardan tashqari azot asoslari, fosfat kislota, uglevod va boshqalar qoldig'i uchraydi. Ularga fosfolipidlar, sfingolipidlar, glyukolipidlar, murakkab diollipidlar va boshqalarni kiritish mumkin.

Sovunlanish soni - 1 g. yog' (yoki moydan)dan ajraladigan va neytrallash uchun sarf bo'ladigan KOH ning milligramm miqdoriga aytiladi. Bu son yog'larning ishqor gidrolizida hosil bo'ladigan yog' kislotalar miqdorini ko'rsatadi. Sovunlanish soni trigliserid tarkibidagi yog' kislotalar zanjirining uzunligiga hamda ularning molekulyar og'irligiga boqliq.

Kislota soni - 5 g tirgilisieridlar aralashmasidagi erkin yog' kislotalarni neytrallash uchun sarf bo'ladigan 0,1 n KOH ning ml. soni bo'lib, yog'lar tarkibidag erkin yog' kislotalar miqdorini bildiradi.

Yod soni - 100 g yog' aralashmasi biriktirib oladigan J_2 ning gramm miqdori. Bu konstanta tekshirilayotgan moddadagi to'yinmagan yog' kislotalar miqdorini ko'rsatadi, chunki J_2 molekuladigi qo'sh bog' hisobiga birika oladi. Trigliseridlar tarkibida to'yinmagan yog' kislotalar qoldig'ining miqdorini aniqlash uchun yod sonidan foydalaniladi.

ADABIYOTLAR

1. Сафин М.Г., Каршиев Т.О.. Биохимия: Учебник 2023. – Т.: “Chinor Fayzi Baland”, 2023. – 412 с.
2. Safin M.G., Qarshiyev T.O., Xo'jamshukurov N.A., Hayitov D.G'. "Biokimyodan laboratoriya mashg'ulotlari" o'quv qo'llanma. Toshkent-2023. - 212 bet.
3. Rahmatov N.A., Maxmudov T.M., Mirzayev S. Biokimyo. Darslik-T.:Ta'lim, 2009. - 528 b.
4. Туракулов Ё.Х. Биохимия. Тошкент «Ўзбекистон». 1996 й.
5. Валиханов М.Н. Биокимё. Тошкент. Университет. 2009 й.
6. Березов Т. Биологическая химия. Москва. 2000 г.
7. Кольман Я., Рём К. Наглядная биохимия. Москва. 2000 г
8. Северина Е. С. Биохимия: учеб. под ред.– 5-е изд., испр. и доп. – М: ГЭОТАР-Медиа, 2011.
9. Қосимов А.Қ., Қўчқоров Қ.Қ., Муборақова Д.Х. Биохимиядан амалий машгулотлар. Тошкент. «Ўқитувчи». 1989.
10. Қаршиев Т.О. Биокимё //130 бет. Тошкент 2013. ул. А. Навои 32.
11. Қаршиев Т.О. Биокимё лаборатория машгулотлари. 80 бет. Тошкент 2006. ул. А. Навои 32.
12. Қаршиев Т.О. Биокимё электрон мажмуа //168 бет. Тошкент 2011. ул. А. Навои 32.
13. Султонов Р.Ф., Холмухамедова Н.М. Биохимиядан амалий машгулотлар. Тошкент. «Меҳнат». 1992.
14. Шапиро Д.К. «Практикум по биологической химии», М., Высшая школа. 2004.
15. Игамназаров Р.П., Абдуллаева М.М. Биокимёдан кичик амалий машгулотлар. Тошкент. 2007 йил.
16. Цылко. Т. Ф. Диагностика заболеваний по анализу крови и мочи. Ростов-на-Дону. «Фенкс». 2005.
17. Шпатовая Е.Ю., Ростовка Л.О. Лабораторные методы диагностики. Учебное пособие. Ростов-на-Дону. «Фенкс». 2007.

18. Основы биохимии: учебник / Г.М. Сулянок. – 2-е изд., испр. – Москва: ИНФРА-М, 2021.–400с.– (Высшее образование: Бакалавриат). – DOI
19. Игамназаров Р.П., Абдуллаева М.М., Умарова Г.Б. Биохимёвий тадқиқот услублари. Тошкент. 2003 й.
20. Северин Е. С. Биохимия с упражнениями и задачами: учеб. для вузов / под ред.–М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
21. Биохимия человека в 2-х томах т.1 и т.2 / Р. Марри. - М.: Мир, 2009. - 795 с.
22. Чиркин А.А. Биохимия: учебное руководство / - Витебск: Медицинская литература, 2010. - 624 с.
23. Richard Harwood / Biochemistry (Cambridge Advanced Sciences) 2015. 208.
24. Ершов Ю.А. Биохимия человека: Учебник для академического бакалавриата / - Люберцы: Юрайт, 2016. - 374 с.
25. www.ziyonet.uz
26. www.bioxim.ru

MUNDARIJA

So'z boshi.....	3
Laboratoriya mashg'ulotlari jarayonidagi tartib - qoidalar.	4
Eritmalarni tayyorlash.....	8
Oqsillar biokimyosi	12
1-laboratoriya ishi. Oddiy oqsillarni maxsulotlardan ajratib olish va ularga xos rangli sifat reaksiyalar.....	19
2-laboratoriya ishi. Oqsillarga xos rangli sifat reaksiyalar.....	22
3-laboratoriya ishi oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash.....	28
4-laboratoriya ishi. Sutdan kazein oqsilini ajratish.....	32
5-laboratoriya ishi. Tuxum oqsilidan albumin va glabulinni ajratish.....	34
6-laboratoriya ishi. Bug'doy (arpa, suli) ning umumiy oqsillarini ajratib olish.....	35
7-laboratoriya ishi. Bug'doyning (arpa, suli) albumin oqsilini ajratib olish.....	36
8-laboratoriya ishi. Oqsillarni eruvchanligini aniqlash.....	36
Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari.....	40
9-laboratoriya ishi. Oqsillarni qaynatish yo'li bilan cho'ktirish.....	41
10-laboratoriya ishi. Xona xaroratida oqsillarni neytral tuzlar yordamida cho'ktirish reaksiyalari.....	42
11-laboratoriya ishi. Oqsillarni og'ir metall tuzlari ta'sirida cho'ktirish.....	44
12-laboratoriya ishi. Oqsillarni organik va mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish.....	45
13-laboratoriya ishi. Oqsillarni organik erituvchilar ta'sirida cho'ktirish.....	46
Oqsillarni dializ qilish va ularning izoelektirik nuqtalarini aniqlash.....	48
14-laboratoriya ishi. Oqsillarni dializlash.....	49
Oqsillarni miqdoriy ko'rsatkichlarini aniqlash.....	51

15-laboratoriya ishi. Kolorimetrik usulda oqsil miqdorini aniqlash.....	52
16-laboratoriya ishi. Oqsil miqdorini refraktometrik usulda aniqlash.....	54
17-laboratoriya ishi. Oqsil miqdorini spektrofotometrik usuldaaniqlash.....	57
Oqsillarni gidrolizlash.....	58
18-laboratoriya ishi. Oqsillarni kislotali gidrolizi.....	62
Aminokislotalarni qog'oz xromatografiyasi usulida o'rganish....	67
19-laboratoriya ishi. Aminokislotalarni qog'oz xromatografiyasi usulida ajratish.....	69
Fermentlar biokimyosi.....	74
20-laboratoriya ishi. Fermentlar aktivligiga haroratning ta'siri.....	82
21-laboratoriya ishi. Fermentlar aktivligiga Ph ning ta'siri....	84
22-laboratoriya ishi. α -amilaza fermenti ning dekstirlanish qobiliyatini aniqlash.....	87
23-laboratoriya ishi. Lipaza fermentining aktivligini aniqlash.....	91
Fermentlarni biomateriallardan ajratib olish va faolligini aniqlash.....	94
24-laboratoriya ishi. Ayrim fermentlarni biomateriallardan ajratib olish.....	94
Uglevodlar biokimyosi.....	97
Monosaxaridlar.....	98
Monosaxaridlarga xos sifat reaksiyalari.....	103
25-laboratoriya ishi. Aldozalarga xos ayrim sifat reaksiyalari....	103
Polisaxaridlar.....	105
26-laboratoriya ishi. Polisaxaridlarni ajratib olish.....	110
27-laboratoriya ishi. Polisaxaridlarga xos rangli sifat reaksiyalar va ularni gidrolizlash.....	112
28 - laboratoriya ishi. Qaytaruvchi qandlarni bertran usulida aniqlash.....	114
29-laboratoriya ishi. Kraxmal miqdorini aniqlash.....	118

Lipidlar biokimyosi.....	121
Neytral yog'larni tuzilishi, xossalarini o'rganishga oid reaksiyalar.....	128
30-laboratoriya ishi. Yog'larning eruvchanligini aniqlash.....	132
31-laboratoriya ishi. Yog'larning emulsiyalanishi.....	133
32-laboratoriya ishi. Yog'lar tarkibidagi glitseringa xos - akrolein reaksiya.....	134
33-laboratoriya ishi. Yog'larning gidrolizi, erkin yog' kislotalarini ajratish, sovunni tuz yordamida cho'ktirish har xil sovunlarning eruvchanligi.....	134
34-laboratoriya ishi. Yog'lar tarkibidagi to'yinmagan yog' kislotalarini aniqlash.....	136
Lipidlarni biomateriallardan ajratib olish va xossalarini o'rganishga oid reaksiyalar.....	140
35-laboratoriya ishi. Hayvon to'qimasidan lesitinni ajratib olish, gidrolizlash va tarkibini o'rganishga oid reaksiyalar.....	140
Vitaminlar biokimyosi.....	144
Yog'da va suvda eruvchi vitaminlarga xos reaksiyalar.....	145
36-laboratoriya ishi. A vitamining xos reaksiyalar.....	145
37-laboratoriya ishi. D vitaminiga xos reaksiyalar.....	147
38-laboratoriya ishi. E vitaminiga xos reaksiyalar.....	148
39-laboratoriya ishi. B ₁ vitamining xos reaksiyalar.....	150
40-laboratoriya ishi. B ₂ vitamining xos qaytaruvchanlik reaksiyasi.....	151
41-laboratoriya ishi. B ₆ vitaminiga xos sifat reaksiyalari.....	152
42-laboratoriya ishi. PP vitamini (nikotin kislota, nikotinamid)ga xos sifat reaksiyalari.....	153
43-laboratoriya ishi. C vitaminiga xos reaksiyalar.....	154
Biokimyo izohli lug'at (glossariy).....	159
Adabiyotlar.....	167

T.O. QARSHIYEV

**BIOKIMYO LABORATORIYA
MASHG'ULOTLARI**

**Muharrir
Qarshiyev Tolib**

**Badiiy muharrir
Anvarova Hilolaxon**

**Sahifalovchi
Anvarov Avazjon**

Nashriyot litsenziyasi AI № X-25113 2023-yil 5-yanvar sanasida berilgan.

Original maket "AFZALZODA BOOKS" nashriyoti
Tahririyatida tayyorlandi, matbaa bo'limida ofset usulida
Chop etildi va muqovalandi.

Bosishga 22.07.2025-yilda ruxsat etildi.
Qog'oz bichimi 60x84 1/16. Naslir tobog'i 10,5.
Shartli bosma taboq 10.0 Sharmoma asosida. Adadi 100.
Buyurtma № 30

« AFZALZODA BOOKS » OK nashriyoti.
Toshkent shahar, Uchtepa tumani,
Durbek 6-uy. Tel: (99894) 647-32-33

ISBN 978-9910-8071-2-1



9 789910 807121