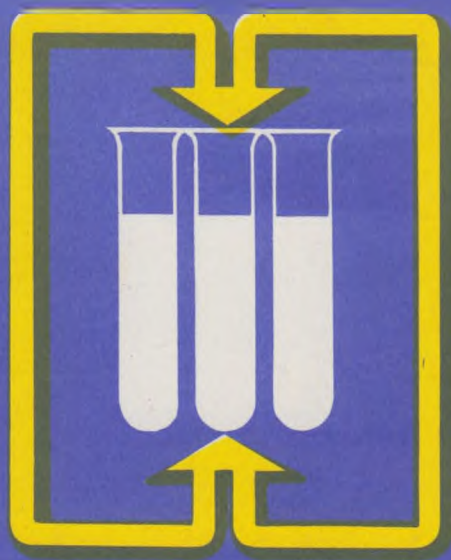


П. Мирҳамидова
С. Холиқов
Л. Рабинович

ҲАЙВОНЛАР БИОХИМИЯСИ

амалий машғулотлар



П. Мирхамидова, С. Холиқов, Л. Рабинович

ТАШВОНЛАР БИОХИМИЯСИ

амалий машғулотлар

Қишлоқ хўжалик институтларининг студент-
лари учун ўқув қулланма сифатида тавсия
этилган

ТОШКЕНТ "МЕХНАТ" 1990

ББК 28.902

М 53

Қишлоқ хўжалик институтларининг зоотехника ва ветеринария факультетлари талабалари учун мулжалланган ушбу қўлланмада биохимия фанидан лаборатория ишлари ўтказиш хусусидаги билимлар жамланган.

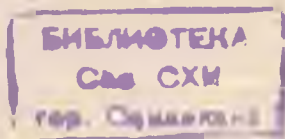
Ушбу қўлланмада физик ва коллоид химия курсидан ҳам бир неча амалий машғулотлар ёритилган. Қўлланмада келтирилган қўпгина методлар чорвачилик комплексларида диагностик мақсадлар учун ҳам қўлланилади.

Такризчи биология фанлари доктори, проф.
А.К. Мираҳмедов

Мухаррир Акбарали Нурматов

М 1910000000 - 293 77-90 © "Меҳнат" нашриёти, 1990.
М 359 /04/ - 90

ISBN 5-8244-0379-1



К И Р И Ш

Биохимиядан амалий машгулотлар утказиш учун мулжалланган бу қўлланма СССР қишлоқ хўжалик министрлиги Олий ва ўрта махсус қишлоқ хўжалик таълими Бош бошқармаси тасдиқлаган программа асосида ёзилган.

Қишлоқ хўжалик институтларининг зоотехника ва ветеринария факультетлари талабалари учун мулжалланган ушбу қўлланмада биохимиядан амалий машгулотлар утказиш борасидаги билимлар жамланган.

Қўлланмада ҳар қайси машгулотга олдиндан назарий тушунчалар берилган, ҳар бир методнинг моҳияти ва қўлланиши кўрсатилган, бу эса машгулотларни юқори савияда ўтказишга ёрдам беради. Шунингдек, ҳар бир лаборатория иши учун керакли асбоблар, идишлар, материаллар ва реактивлар ҳам ёритиб борилган.

Қўлланма 12 бобдан иборат:

1) Буфер эритмалар; водород ионларининг концентрациясини аниқлаш методлари; 2/ Оксиллар; 3/ Мураккаб оксиллар; 4/ Нуклеин кислоталар; 5/ Углеводлар; 6/ Липидлар; 7/ Ферментлар; 8/ Витаминлар; 9/ Гормонлар; 10/ Қон; 11/ Сут; 12/ Мускул туқимаси.

Қўлланмада оксиллар, нуклеин кислоталар, углеводлар, ёғлар, витаминлар, гормонлар ва биологик суяқликларни аниқлашда ишлатиладиган сифат реакциялари билан биргаликда миқдорий анализ қилиш методлари ҳам келтирилган. Миқдорий анализ қилиш учун бир қатор замонавий методлар, яъни электрофорез, спектрофотометрия, хроматография, фотоколориметрия ҳақидаги билимлар ёритилган. Б.ъзи лаборатория ишларидан олинган маълумотлар жадвал ҳолатда тўлдирилади ва хулосалар ёзилади.

Ушбу қўлланмада физикавий ва коллоид химия курсидан бир неча лаборатория ишлари келтирилган ва уларнинг аҳамияти кўрсатилган.

Қўлланмада келтирилган кўпгина методлар чорвачилик комплексларида диагностик мақсадлар учун ҳам қўлланилади.

Лаборатория учун берилган ҳар бир амалий машгулотлар биохимия назарий курсининг тегишли боблари билан узвий боғлиқ бўлиб, шу фанни янада чуқурроқ ўзлаштиришга ёрдам беради.

Қўлланмадаги материаллардан студентлар илмий тадқиқот туғаракларида ҳам фойдаланишлари мумкин.

1 боб. ВОДОРОД КЎРСАТКИЧИ. БУФЕР ЭРИТМАЛАР.
ВОДОРОД ИОНЛАРИНИНГ КОНЦЕНТРАЦИЯСИНИ АНИҚЛАШ
МЕТОДЛАРИ

Водород кўрсаткичи

Ҳамма сувли эритмаларда кислотали ёки ишқорий эритмалар бўлишдан қатъи назар, уларда водород ионлари H^+ ва гидрооксил ионлари OH^- иштирок этади. Сув - қузсиэ электролит бўлиб, унинг молекулаларининг жуда оз қисми H^+ ва OH^- ионларига диссоциланади, бу ионлар диссоциланмаган молекулалар билан мувозанатда бўлади:



Бу тенгламадан кўриниб турибдики, сувда $[H^+]$ ва $[OH^-]$ қийматлари бир хил бўлади. Сувдаги водород ионлари билан гидроксил ионлари концентрацияларининг кўпайтмаси сувнинг ион кўпайтмаси (K_w) дейилади. Муайян температурада K_w - ўзгармас катталиқ. Унинг 22° даги сон қиймати 10^{-14} га тенг.

$$[H^+] [OH^-] = 10^{-7} \cdot 10^{-7}$$

Эритманинг кислотали ёки ишқорийлиги водород ионларининг концентрацияси орқали ифодаланади, нейтрал эритмада $[H^+] = 10^{-7}$, кислотали эритмада $[H^+] < 10^{-7}$ ва ишқорий эритмада $[H^+] > 10^{-7}$. Водород ионларининг концентрацияси водород кўрсаткичи, яъни рН билан белгиланади. Эритмаларнинг муҳитини рН билан аниқлаш мумкин: нейтрал рН = 7, кислотали рН < 7; ишқорий рН > 7. Водород ионлари концентрациясининг тескари ишора билан олинган ўзли логарифми водород кўрсаткичи деб аталади.

$$pH = - \lg [H^+]$$

Бунда $[H^+]$ - водород ионларининг концентрацияси, грамм эквивалент/литрда ифодаланади.

Буфер эритмалар

Буфер эритмаларда водород ионларининг концентрацияси доимий

булади. Буфер эритмалар куйидагича ташкил топган булиши мумкин:

1/ Кучли кислота ва шу кислотани кучли диссоциланадиган тузидан, масалан, ацетат буфери - сирка кислотаси/натрий ацетат / CH_3COOH ва $CH_3COO^- Na^+$ /; гидрокарбонатли буфер/карбонат кислота натрий гидрокарбонат / H_2CO_3 ва Na_2CO_3 /.

2/ кучсиз асос ва шу асоснинг кучли диссоциланадиган тузи, масалан, аммонийли буфер - аммоний гидроксиди/аммоний хлорид / NH_3 ва NH_4Cl /.

3/ бир алмашган ва икки алмашган кўп асосли кислотанинг тузлари, масалан, фосфатли буферлар - NaH_2PO_4 / Na_2HPO_4 /.

Буфер эритмаларнинг pH ундаги кислота ва тузларнинг нисбати-га боғлиқ булади, шу ҳолда эритманинг pH доимо бир хил булади. Буфер эритмаларнинг pH назарий ҳолда куйидаги формула билан ҳисобланади.

$$[H^+] = \frac{C_{\text{кислота}}}{C_{\text{туз}}} \cdot K_{\text{ёки}} \quad [OH^-] = \frac{C_{\text{асос}}}{C_{\text{туз}}} \cdot K$$

Бу ерда: $C_{\text{кислота}}$ — кислотанинг концентрацияси; $C_{\text{туз}}$ — тузнинг концентрацияси, $C_{\text{асос}}$ — асоснинг концентрацияси; K — кислота /асос/нинг электролитик диссоциаланиш нуқтаси.

Водород кўрсаткичини маълум даражада сақланиши физиологик аҳамиятга эга: барча биохимиявий жараёнлар учун реакция муҳити доимий булиши керак, муҳит pH ининг ўзгариши моддалар алмашинуви жараёнининг ўзгаришига олиб келади.

Туқима ва биологик суюқликларнинг буфер системаларини ҳосил қилишда минерал тузлар муҳим роль уйнайди ва pH ини доим бир хил даражада сақлаб туради. Оксиллар, натрий ва калий бикарбонатлар, фосфат буферлари организм учун гоаят зарур моддалардир. Масалан, оксиллар амфотер хоссага эга ва шунинг учун H^+ ионларини ҳам, OH^- ионларини ҳам бириктира олади. Шунинг учун оксиллар муҳим буфер системалар ролини уйнайди ва организмда қандай бўлмасин бирор эркин кислота ёки асос пайдо бўлганида pH нинг ўзгаришига тўсқинлик қилади.

Бикарбонатлар билан фосфатларнинг эритмалари ҳам pH нинг ўзгаришига қарши таъсир кўрсатади. Масалан, натрий бикарбонат ($NaHCO_3$) қандай бўлмасин бирор кислота билан узаро таъсир

қилганда H_2CO_3 ҳосил қилади. Бу кислота карбоангидраза иштирокида H_2O ва CO_2 га парчаланиб кетади, натижада муҳитнинг pH ўзгармайди.

Шундай қилиб, ҳужайраларнинг энг муҳим физиологик функцияси водород ионлари концентрацияси ва уларнинг нисбатига ҳам боғлиқ. Биологик суюқликлардаги бирор туз концентрациясининг ўзгариши бир қанча муҳим физиологик функцияларнинг бузилишига олиб келади.

Буфер сизими. Ҳар бир буфер эритма маълум буфер сизими билан характерланади. Буфер сизими - буфер эритманинг таъсир кучидир. Кислота ва ишқор г·экв (грамм-эквивалент) миқдори билан белгиланади, 1 л буфер аралашманинг водород кўрсаткичи бирлигини ўзгартариш учун қўшилади.

Буфер сизими, буфер аралашмадаги компонентларнинг концентрациясига боғлиқ, одатда буфер эритмалар суюлтирилганда уларнинг концентрацияси камаяди.

• Буфер сизимини ҳисоблаш учун қуйидагиларни билиш керак:

V_c - буфер эритманинг ҳажми; V_1^- - қушилган кислота ёки ишқорнинг ҳажми; N - қушилган ишқор ёки кислотанинг нормаллиги; pH_0 - буфер эритмани дастлабки pH . pH_1 - буфер эритманинг ишқор ёки кислота қушилгандан кейинги pH . Буфер сизими қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$S = \frac{N \cdot V_1^-}{(N + H_c) \cdot V_c}$$

Индикаторлар ёрдамида водород ионларининг концентрациясини аниқлаш

Водород ионларининг концентрациясини pH индикаторлар ёрдамида аниқлаш мумкин. Индикаторлар кучсиз органик кислоталар ёки асослар бўлиб, уларнинг диссоцияланмаган формалари ранги, диссоцияланган формаларидан фарқ қилади. Индикаторларнинг диссоцияланиши реакциясининг муҳитига боғлиқ.

Масалан: фенолфталеин бир хил ранг берувчи индикатор бўлиб, фақат анион сифатида буялади, диссоцияланмаган молекуласи рангсиз буялади:



Икки хил ранг берувчи индикатор, масалан, метилрот, диссоциаланмаган молекуласи ва анионларнинг ранги бир-биридан фарк қилади:



Текширилаётган эритмага индикатор қўшиб, ҳосил бўлган рангга қараб муҳитнинг pH нини аниқлаш мумкин.

Реактивлар: 1. KH_2PO_4 нинг 0,15 М эритмаси. 2. NaHPO_4 нинг 0,15 М эритмаси. 3. Метилрот, бромтимол индикаторлари. 4. Универсал индикатор.

Индикаторлар муҳит pH га қараб турлича ранг ҳосил қила олади. Буни қуйида кўрсатилган мисолдан кўриш мумкин:

т/с:Индикатор	Рангнинг ўзгариш чегараси	Ранги	
		кислотада	ишқорда
1. Туксариқ метил	3,1-4,4	қизил	сарик
2. Метилрот	4,2-6,2	қизил	сарик
3. Бромтимол	6,0 - 7,6	сарик	кўк
4. Фенолфталеин	8,0 - 9,8	рангсиз	бинафша-қизил
5. Тимолфталеин	9,3 - 10,5	рангсиз	тук сарик-жигарранг

Ишнинг бориши. Туртта пробирка олиб, уларга 0,15 М KH_2PO_4 ва NaHPO_4 эритмаларидан қуйида кўрсатилган нисбатларда олиб, турли pH га эга бўлган буфер эритмаларини тайёрлаймиз. Эритмаларни аралаштириб, ҳар бир пробиркадаги буфер иккига бўлинади. Биринчи қатордаги пробиркаларга метилрот индикаторидан қўшилади.

Иккинчи қатордаги пробиркаларга эса бромтимол индикаторидан қушиб, ҳосил бўлган ранглар кузатилади.

Эритмалар	Пробиркаларнинг номери			
	1	2	3	4
0,15 М KH_2PO_4 , мл	9,5	8,0	6,0	3,0
0,15 М MgNHPO_4 , мл	0,5	2,0	4,0	7,0
Тайёрланган эритма рН	5,59	6,24	6,64	7,17

Универсал индикатор ёрдамида рН ини аниқлаш

Универсал индикатор бир неча индикаторларнинг аралашмасидан иборат бўлиб, эритма рН ига қараб ўзининг мос рангини ҳосил қилади. Универсал индикаторнинг таркиби қуйидаги жадвалда кўрсатилган.

I ва II универсалиндикаторлар таркиби

Индикаторлар	Миқдори, граммларда	
	I	2
Тимол	I	-
Бромтимол	0,8	0,4
Диметиламиноазобензол	0,6	-
Метилрот	0,4	0,2
Фенолфталеин	0,2	0,8
Этил спирти	1000,0	1000,0

I=универсал индикатори рангининг ўзгариши рН I-10 оралиғида бўлади; II=универсал индикатори рангининг ўзгариши рН 4-10 оралиғида бўлади. Универсал индикатори рангининг ўзгариши турли рН да қуйидагичадир:

I индикатор		II индикатор	
рН	ранги	рН	ранги
2	қизил	4	қизил
4	тўқ сарик	5	тўқ сарик
6	сарик	6	сарик
8	яшил	7	яшил
10	кўк	8,5	кўк
		10	бинайша

Еттига пробирка олиб, куйида кўрсатилган буфер эритмалар тайёрланади. Тайёрланган буфер эритмаларга 2 томтидан универсал индикатордан қўшилади ва ҳосил бўлган рангга қараб, ҳар бир аралашманинг рН аниқланади:

Эритмалар	Пробиркаларнинг номери						
	1	2	3	4	5	6	7
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 0,1 \text{ M}$	0,40	4,11	7,71	10,30	12,63	15,45	19,45
эритманинг миқдори, мл							
Лимон кислотаси- нинг 0,1 эритмаси миқдори, мл	19,60	15,89	12,29	9,70	7,37	4,55	0,55
Буфер эритмалари- нинг рН	2,2	3,0	4,0	5,0	6,0	6,8	8,0

Потенциометрик усул билан рН ини
аниқлаш

Бу усул махсус электродлар ёрдамида текширилатган эритмалардаги водород ионлари концентрациясининг таъсирида гальваник элементларининг электр юритувчи кучини улчашга асосланган. Бу усул билан ҳар қандай суяқликларнинг рН ини аниқ улчаш мумкин. Махсус асбоблар - турли потенциалметр ёрдамида эритмалардаги рН ни улчаш мумкин. Бу асбобларнинг умумий тузилиши ва эритмаларнинг рН, улчашни бажарадиган барча операциялари потенциалметр-

ларга pH - метрлар/ кўшиб бериладиган паспортида ёзилган.

Асбобда ишлаш қоидаси. Эритманинг pH ини улчашдан 15-20 минут олдин асбоб ёқиб қўйилади. Электродлар янги тайёрланган дистилланган сув билан 3-4 марта ювилади. Эритмаларнинг pH ини улчашда автоматик температура компенсациясидан фойдаланилади.

Эритманинг pH аввал асбобнинг катта - 2 - +14 диапозонида, кейин кичик диапозонида ўлчанади. Кейин эса асбоб электродлари 7-10 марта сув билан ювилади. Электродлар ювилгач, бошқа эритманинг pH ини улчаш мумкин. Ювилган электродлар сувда қолдирилади.

П б о б . О Қ С И Л Л А Р

Оқсиллар ёки протеинлар - азот тутувчи юқори молекуляр органик бирикмалар бўлиб, молекулалари α - аминокислоталар қолдиқларидан тузилган. Оқсил таркибига қуйидаги элементлар киради (%): углерод - 50,1 - 54,5, кислород - 21,5-23,5, водород - 6,5-7,3, азот - 16,6 - 17,6, олтингугурт - 0,3-2,5, фосфор - 0,1-2. Баъзи бир оқсилларнинг таркибида оз миқдорда йод, темир, мис, бром, марганец, рух, кальций ва бошқа моддалар учрайди.

Оқсиллар ҳужайраларнинг энг муҳим таркибий қисмидир. Организмда оқсиллар турли хил функцияларни бажаради: ҳужайранинг структура материали сифатида хизмат қилади; тўқимадаги моддалар алмашувининг ҳамма реакцияларини катализлайди (ферментлар, гормонлар); химоя функциясини бажаради (антитела); оқсиллар энергия манбаи ҳисобланади, уларнинг оксидланиши натижасида энергия ажратиб чиқади.

Оқсиллар иккита синфга бўлинади: оддий оқсиллар ва мураккаб оқсиллар. Оддий оқсилларга альбуминлар, глобулинлар, гистонлар, протаминлар киради. Мураккаб оқсиллар таркибига фосфопротеинлар, глюкoпротеинлар, хромопротеинлар, нуклеопротеинлар, липопротеинларни киритиш мумкин.

Оқсил эритмаларини тайёрлаш. Рангли реакциялар ва чўкмага тушириш реакциялари учун тухум оқсилининг эритмаси тайёрланади. Битта тухумнинг оқсидан ажратиб олинган сариги 15-20 мл дистилланган сувда эритилади. Эритма 3-4 қават доқа орқали филтрланади. Эритма хол дильникда сақланади.

Диализ учун тухум оқсилининг эритмасини тайёрлаш. Учта товук тухумининг оқсилни саригидан ажратиб, 700 мл дистилланган сувда эритилади, сўнгра 300 мл натрий хлорид тузининг туйинган эритма-

сидан қушилади. Эритма 3-4 қават доқа орқали филтрланади ва холо-дильникда сақланади.

Сут альбумини эритмаси. 200 мл сутга тенг ҳажмда аммоний сульфатнинг туйинган эритмасидан қушилади ва аралаштириб 15-10 минутга қолдирилади, сунгра филтр қогоз орқали филтрланади. Альбуминлар эритмада, глобулинлар ва казеинлар эса чуқмада қолади.

Оқсилларнинг чуқтириш реакциялари. Турли реактивлар оқсил моддаларининг физик = химиявий хоссаларига таъсир этиб, макро-молекула структурасини узғаришга олиб келади. Оқсилларнинг чуқтириш реакцияларини иккита группага булиш мумкин: оқсилларни денатурациясиэ чуқтириш /нейтрал ишқорий металл тузлари/ ва денатурация йули билан чуқтириш /ҳарорат, минерал ва органик кислоталар, огир металл тузлари, алкалоид реактивлари/.

Оқсилни чуқмага тушиши унга боғланган сув пардасининг бузилишига боғлиқ. Гидрофил моддалар, органик эритувчи - ацетон, этил спирти, ишқорий металллар - нейтрал тузларининг концентрланган эритмалари оқсилнинг сув пардасини бузиб, унинг эрувчанлигини камайтиради. Мана шу органик эритувчилар, аммоний сульфат, натрий хлорид, натрий сульфат, натрий фосфат ва бошқа эритмалар оқсилга таъсир эттирилганда, оқсил чуқмага тушади.

Оқсил эритмаларига турли тузлар қўшилганда, унинг чуқмага тушириш реакциялари оқсилларни тузлаш дейилади. Бу жараёнда оқсил молекулалари гидрат пардаларидан ҳоли булиб, бир-бири билан осон қўшилади. Оқсил тузланиш натижасида купинча табиий ҳолатини узгартирмайди. Чуқмадан туз ионларини диализ йули билан четлатилганда оқсил қайтадан эритмага ўтади.

Аммоний сульфат ва натрий сульфат билан тузлаш усули оқсилларни натив ҳолатини бузмай ажратиб олишда қўлланилади. Масалан, қон зардобидаги оқсиллар аммоний сульфат билан чала туйинтирилганда, глобулинлар ажралиб чиқади, глобулинлар чуқмасини филтрлаб, эритмага тула туйингунча туз кристаллидан қўшилса, альбуминлар фракцияси чуқмага тушади.

Огир металл /мис, симоб, рух, кумуш, қўргошин ва ҳоказо/ тузлари оқсил эритмасига таъсир этганда, улар оқсил молекуласидаги сульфгидрил группа - Н билан бирикма ҳосил қилиб, оқсил молекуласининг структурасини узгартиради. Оқсилларни

огир металл тузлари билан чуқтириш, қайтарилмайдиган жараёндир, яъни чуқмага тушган оксилни қайтадан эритма ҳолига келтириб бўлмайди.

Оксилларни аммоний сульфат таъсирида чуқтириш

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив, фильтр қоғоз; воронка; 2, 5 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. Қон зардоби ёки тухум оксилнинг эритмаси.

2. Аммоний сульфатнинг тўйинган эритмаси. 3. Аммоний сульфатнинг кристалл тузи. 4. Натрий ишқорнинг 10% ли эритмаси. 5. Мис сульфатнинг 1% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2-3 мл қон зардобидан ёки суялтирилган тухум оксидан солиб, тенг ҳажмда аммоний сульфатнинг тўйинган эритмасидан қўшилади ва ихшилаб аралаштирилади. Натижада глобулин оксиллари чуқмага тушади, 8-10 минутдан кейин филтрланади. Глобулин оксиллари чуқмада, альбуминлар филтратда қолади. Филтратдаги альбуминларни чуқтириш учун аммоний сульфатнинг кристалларидан тўйингунча қўшилади, натижада альбуминлар чуқмага тушади, сунг чуқма филтрланади.

2-3 мл филтратдан олиб, биурет реакцияси бажарилади. Агар оксиллар тулик чуқмага тушган бўлса, филтрат билан биурет реакцияси ҳссил бўлмайди. Глобулин ва альбумин чуқмалари сувда эригилади ва биурет реакцияси бажарилади.

Оксилларни натрий хлорид таъсирида чуқтириш

Реактивлар. 1. Натрий хлорид тузининг кристали. 2. Сирка кислотасининг 2% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2-3 мл қон зардоби ёки тухум оксидан солиб, натрий хлорид тузининг кристалларидаги тўйингунча қўшилади. 3-5 минутдан кейин пробиркада глобулинлар чуқмаси ҳосил бўлади. Сунгра чуқма филтрланади. Филтратда альбуминлар қолади. Альбуминлар тўйинган нейтрал эритмаларда чуқмага тушмайди. Филтратга 4-6 томчи сирка кислотасининг 2% ли эритмасидан қўшилади, натижада альбуминлар чуқмага тушади, орадан 10 минут ўтгач чуқма филтрланади. Чуқмалар сувда эритилиб, биурет реакцияси бажариб курилади.

Оқсилларни минерал кислоталар таъсирида чуқтириш

Оқсиллар эритмасининг концентрацияси юқори минерал кислоталар (ортофосфат кислотадан ташқари) таъсирида чуқмай тушади. Бу реакция қайтмас реакция ҳисобланади, чунки оқсилнинг коллоид заррачалари дигидратацияланади ва уларнинг зарядлари нейтралланади, натижада комплекс бирикмалар ҳосил булади. Бундай ҳолда оқсиллар қайтмас денатурацияга учрайди. Ортикча минерал кислоталар (нитрат кислотадан ташқари) чуқмага тушган оқсилларни эритиб юборади.

Реактивлар. 1. Концентранган хлорид кислотаси. 2. Концентранган сульфат кислотаси. 3. Тухум оксилининг эритмаси.

Ишнинг бориши. Учта пробиркага эҳтиёткорлик билан 1 мл кислота: биринчисига – хлорид, иккинчисига – сульфат ва учинчисига – нитрат кислотасидан солинади. Сўнг ҳамма пробиркаларга 1 мл дан оқсил эритмасидан қушилади. Шунда оқсил билан кислота чега расида оқ ҳалқа ҳосил булади. Ҳар бир пробирка секин-аста чайқатилади. Ортикча хлорид ва сульфат кислотаси бўлганлиги учун биринчи ва иккинчи пробиркалардаги чуқма эриб кетади, учинчи пробиркадаги нитрат кислотаси билан ҳосил қилинган чуқма эриб кетмайди, чунки ҳосил бўлган чуқма ортикча нитрат кислотасида эримайди.

Оқсилларни органик эритувчилар билан чуқтириш

Органик эритувчилар (спирт, эфир, ацетон ва бошқалар) таъсирида оқсил макромолекулаларининг сувли қобиғи (гидросфералари) бузилади, яъни денатурацияга учрайди, натижада эритмадаги оқсилларнинг эрувчанлиги камаяди ва оқсил чуқмага тушади. Агар оқсил эритмасида туз иштирок этса (*NaCl*), коллоид заррачаларнинг зарядини ўзгартиришга олиб келади, бу ҳол оқсил эритмаларининг чидамлилигини янада камайтиради. Агар чуқтириш спирт (хлороформ) билан совуқ шароитда олиб борилса, ҳосил булган оқсил чуқмаси сувда эрийди, яъни бунда оқсил ҳоссалари ўзгармайди, денатурацияга учрашга улгурмайди. Агар оқсил узоқ вақт спиртда турса денатурацияга учрайди ва ҳосил булган чуқма сувда, нейтрал тузлар эритмасида эримайди.

Реактивлар. 1. Оқсил эритмаси. 2. 96% ли этил спирти.

3. Ацетон. 4. Хлороформ. 5. Натрий хлорид тузининг кристали.

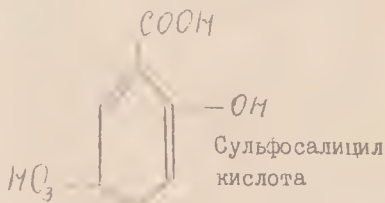
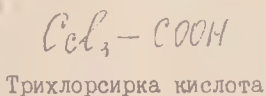
Ишнинг бориши. Учта пробиркага 1-2 мл дан оксил солинади ва 0,2-0,3 г натрий хлорид тузидан қушиб, яхшилаб аралаштирилади.

Биринчи пробиркага томчилаб 2-3 мл спирт, иккинчи пробиркага 2-3 мл ацетон ва учинчи пробиркага 2-3 мл хлороформ солинади. Пробиркалар чайқатилади ва 5-6 минутдан кейин оксил чуқмаси ҳосил булганлигини куриш мумкин.

Оқсилларни органик кислоталар билан чуқтириш

Органик кислоталар оқсилларни эритмадан қайтмас чуқмага туширади. Турли кислоталарнинг таъсир қилиш кучи бир-биридан фарқ қилади.

Энг самарали ва ушга хос таъсир қилувчи сульфосалицил ва трихлорсирка кислотасидир.



Трихлор сирка кислота таъсирида фақат оқсиллар, сульфосалицил кислота таъсирида эса оқсиллардан ташқари, пептонлар ва полипептидлар ҳам чуқмага тушади.

Реактивлар. 1. Тухум оқсилнинг эритмаси. 2. Сульфосалицил кислотасининг 10% ли эритмаси. 3. Трихлорсирка кислотасини 10% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Иккита пробирка олиб 2 мл дан оқсил эритмасидан солинади ва биринчи пробиркага 5-8 томчи сульфосалицил кислотасидан, иккинчи пробиркага 5-8 томчи трихлорсирка кислотасидан қушилади. Пробиркалар чайқатилади ва оқсиллар чуқмага тушганлиги кузатилади.

Оқсилларни огир металл тузлари таъсирида чуқтириш

Оқсиллар мис, қўргошин, симоб, рух, кумуш ва бошқа огир металлларнинг тузлари таъсирида чуқмага тушади.

Оқсиллар билан огир металл ионларининг ўзаро таъсири жуда

мураккеб булади. Аввало сувда эримайдиган комплекс бирикмалар ҳосил булади, ортиқча тузнинг эритмасида *(H₂PO₄, MgCl₂)* эрийди: ортиқча оғир металл ионлари оқсил мицелларига адсорбцияланиб, уларнинг электр зарядларини узгартиради. Оғир металл тузлари таъсирида оқсиллар денатурацияга учрайди. Оқсил макромолекуласининг иккиламчи ва учламчи структураси бузилади, пептид занжирнинг ҳолатлари ўзгаради, улар орасидаги боғларда узилиш ҳоллари руй беради *(дисульфид боғлари)*. Дисульфид боғлар оқсилларнинг иккиламчи ва учламчи структура тузилишида катта роль уйнайди. Занжирлар орасидаги узилиш оқсил структурасини ўзгаришига - оқсилларни кайтмас денатурациясига олиб келади.

Реактивлар. 1. Тухум оқсили. 2. Мис сульфатнинг 5% ли эритмаси. 3. Қургошинни сирка кислотали тузнинг 5% ли эритмаси. 4. Кумуш нитратнинг 3% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Учта пробиркага 1-2 мл дан оқсил эритмаси солинади. Биринчи пробиркага томчилаб мис сульфат эритмасидан, иккинчи пробиркага қургошиннинг сирка кислотали тузи эритмасидан, учинчи пробиркага эса кумуш нитрат эритмасидан қўшилади. Пробиркалар чайқатилганда, ҳамма пробиркаларда оқсил чўкмаси ҳосил булади. Ортиқча реактивдан қўшилса, биринчи ва иккинчи пробиркадаги чўкмалар эриб кетади *(гидролизланади)*. Учинчи пробиркага кумуш нитрат эритмасидан ортиқча қўшилганда ҳам чўкма эримайди.

Оқсилларни алколоидлар реактиви билан чўктириш

Алколоидлар - азот тутувчи моддалар бўлиб, кучли физиологик таъсир қилиш хусусиятига эга. Алколоидларга қуйидагилар: морфин, папаверин, атропин, кофеин, эфедрин ва бошқа бирикмалар кириб, булар даволаш практикасида кўп ишлатилади.

Кўп алколоид реактивлари таъсирида оқсиллар чўкмага тушади. Буларга қуйидагилар киради: танин, йодни калий йоддаги эритмаси *(Бушард реактиви)*, висмут йодни калий йоддаги эритмаси *(Драгендорф реактиви)*, пикрин кислотаси ва бошқалар.

Оқсил моддаларини алколоид реактивлари билан чўкма ҳосил қилишнинг асосий сабаби шундан иборатки, аминокислоталар ва алколоидлар таркибига кирадиган гетероциклик группаларнинг ўхшашлигидир *(индол, имидазол ва бошқалар)*. Алколоид реактивлари оқсиллар

билан эримайдиган бирикмаларни ҳосил қилади. Оксилни алколоид реактивлари билан чуқтиришга кучсиз органик кислоталар /масалан, сирка кислотаси/ яхши таъсир қилади, аксинча кучли кислоталар бу жараёнга қаршилиқ кўрсатади. Чукма ишқорий шароитда эриб кетади.

Реактивлар. 1. Тухум оксили. 2. Пикрин кислотасининг 1% ли эритмаси. 3. Таниннинг 10% ли эритмаси. 4. Бушард реактиви: 1 г йод, 2 г калий йод, 50 мл сув. Бу реактивни тайёрлаш учун калий йоди бир неча мл сувда эритилади. Шу эритмада йод эритилади, сунгра ҳажми дистилланган сув билан 50 мл га етказилади. 5. Драгендорф реактиви/ висмут йодиднинг калий йоддаги эритмаси: 13,5 г калий йоди 20 мл дистилланган сувда эритилади. 2,5 г висмут нитрат 10 мл нитрат кислотасида алоҳида эритилади. Сунгра иккала эритма яхшилаб аралаштирилади ва 2-3 кун қора сўзали идишда/ колдирилади. Бунда идиш тагига калий нитратнинг кристаллари чуқади. Тиник эритма эҳтиётлик билан бошқа идишга қуйилади ва сув билан 50 мл га етказилади.

6. Сирка кислотасининг 1% ли эритмаси.

Ишлар бориши. Турта пробиркага 1-2 мл оксил эритмаси, сунгра ҳар бир пробиркага 3-5 томчи 1% ли сирка кислотасидан солинади. Шундан кейин биринчи пробиркага 4-5 томчи пикрин кислота эритмасидан, иккинчи пробиркага 2-4 томчи танин эритмасидан, учинчи пробиркага 2-4 томчи Бушард реактивидан, туртинчига 2-4 томчи Драгендорф реактивидан қушилади. Натижада оксил чукмаси ҳосил бўлади.

Оксилларни юқори ҳарорат таъсирида чуқмага тушириш

Барча оксиллар юқори ҳарорат таъсирида чуқмага тушади. Оксиллар кучсиз кислотали муҳитда осон чуқади. Кучли ишқорий ва кислотали муҳитда юқори температура таъсирида оксиллар чуқмага тушмайди, чунки оксил молекулалари кучли мусбат ёки кучли манфий зарядга эга бўлади.

Реактивлар. 1. Тухум оксилнинг эритмаси. 2. Сирка кислотасининг 2% ли эритмаси. 3. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси. 4. Натрий хлориднинг туйинган эритмаси.

Ишнинг бориши. 1. Олтита пробирка олиб, 10 томчидан оксил эритмаси солинади. 2-3 - пробиркаларга 2 томчи сирка кислотаси-

нинг 2 % ли эритмаси томизилади. 4-5=пробиркаларга 10 томчи сирка кислотасининг эритмасидан кўшилади. 6-пробиркага 2 томчи натрий ишқорининг 10% ли эритмасидан солинади. Энди 3 ва 5=пробиркаларга 4 томчи натрий хлориднинг тўйинган эритмаси кўшилади. Ҳамма пробиркалар қайнагунча қиздирилади. Пробиркаларда чуқма ҳосил бўлиш тезлиги белгилаб берилади.

Таҷрибада олинган натижалар асосида ҳақвал тулдирилади:

Пробиркаларнинг номери	Пробиркаларга моддалар томчилаб солинади			
	Оқсил	CH_3COOH	NaOH	<i>shar</i>
1	10	-	-	-
2	10	2	-	-
3	10	2	-	4
4	10	10	-	-
5	10	10	-	4
6	10	-	2	-

Олинган натижалар асосида хулосалар ёзилади.

Диализ

Диализ усулида коллоидлар кристаллоидлардан диффузия ёрдамида махсус мембраналар / яъни коллоидларни утказмайдиган / билан ажратилади. Диализ ёрдамида юқори молекулали оқсил эритмалари кичик молекулали бирикмалар / тузлар, қандлар ва бошқалар / дан тозаланади. Оқсиллар юқори молекулали коллоид моддалар бўлиб, махсус мембраналар орқали диффузиялана олмайди. Оқсилларнинг шу хоссасига асосланиб, диализ ёрдамида кичик молекулали органик ва минерал бирикмалардан тозаланади.

Реактивлар. 1. Тухум оқсилининг тўйинган натрий хлориддаги эритмаси. 2. Кумуш нитратнинг 0,5 % ли эритмаси (қора рангга бўялган идишда сақланади). 3. Нитрат кислотасини 10% ли эритмаси. 4. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси. 5. Мис сульфатни 1% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Махсус целлофан халтачанинг ярмигача тухум

оқсилли эритмасидан солинади. Халтачани шisha таёкчага боғлаб, дистилланган сувли стакан ичига олиб куйилади (I-расм)* Диализ хона ҳароратида олиб борилади. 40-60 минутдан кейин иккита пробиркага стакандаги сувдан 2 мл олиб солинади. Биринчи пробиркада хлор иони учун реакция ўтказилади, бунда пробиркага бир неча томчи нитрат кислотасининг 10% ли эритмасидан томизилади ва 2-3 томчи кумуш нитратнинг 0,5 % ли эритмасидан кўпилади. Натрижда, кумуш хлориднинг оқ чўкмаси ҳосил булади. Иккинчи пробиркада эса биурет реакцияси бажарилади. Агар диализ туғри олиб борилаётган бўлса биурет реакцияси ҳосил бўлмайди.

Диализни тезлатиш учун, стакандаги сувни ҳар 15-20 минутда алмаштириб турилади. Диализ хлор ионига салбий реакция ҳосил бўлгунча давом эттирилади. Диализ натижасида целлофан халтачадаги натрий хлорид эритмасининг концентрацияси камайиб, эритмада глобулинлар чўкмага тушади.

Оқсилларнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш

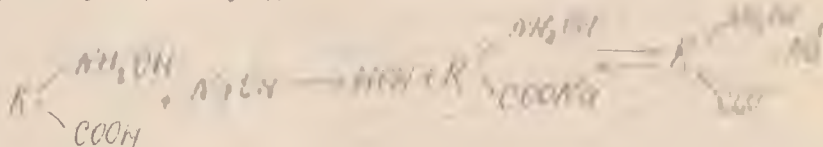
Оқсиллар химиявий хоссаларига кўра амфотер моддалар ҳисобланади, уларнинг молекуласида эркин карбоксил ва амин группалари бор. Оқсилларнинг кислотали хоссалари полипептид занжирлари охиридаги карбоксил группаларига ва дикарбон аминокислоталар ҳисобига намоён бўлади. Кислотали муҳитни ҳосил қилишга таркибидаги фенол гидроксиллини тутувчи тирозин ва сульфгидрил группани тутувчи аминокислоталар таъсир қилади. Оқсилларнинг ишқорий хоссалари амин, имин ва диаминомонокарбон аминокислоталарнинг гуанидин группалари ҳисобига рўй беради.

Ҳам манфий, ҳам мусбат зарядли группалар мавжудлиги туфайли оқсиллар ҳам аминокислоталарга ухшаш амфотерлик хусусиятига эга. Шунинг учун оқсилларни тахминан $(\text{В}_2\text{H}_2\text{N})_n \cdot \text{H}^+ (\text{COOH})_m$ шаклда ёзиш мумкин. Сувли эритмада оқсилларнинг ишқор ва кислота группалари орасида протонларнинг кўчиши туфайли, таркибида кўп $-\text{NH}_3^+$ ва $-\text{COO}^-$ группа тутувчи амфион $(\text{NH}_3^+)_n \cdot \text{H}^+ (\text{COO}^-)_m$ ҳосил булади. Агар манфий ва мусбат зарядларнинг сони тенг бўлса, оқсил молекуласининг заряди амалий жиҳатдан нолга тенг бўлиб, электр майдонида ҳеч қайқа силжмайди.

*Расмлар китобининг охирида берилган.



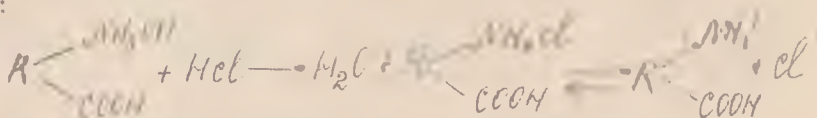
Ишқорий муҳитда оксиллар ортиқча COO^- группаларга эга бўлиб, анион ролини уйнайди. Масалан, натрий ишқори билан оксилларнинг натрийли тузи ҳосил булади:



Оксил биони

Оксил аниони

Аксинча, кислотали муҳитда оксил ортиқча NH_2 группаларига эга булади ва мусбат ион сифатида катодга қараб ҳаракат қилади:



Амфионлар шаклида оксил молекуласи заряддан маҳрум булади ва бундай коллоид заррача эритмада тургунлигини йўқотади. Оксилларнинг мусбат ва манфий зарядлари йиғиндиси нолга тенг бўлиши, электр майдонида на катод ва на анод томонга силжмайдиган эритманинг pH оксилларнинг изоэлектрик нуқтаси деб аталади. Турли оксилларнинг изоэлектрик нуқтаси pH ning ҳар хил улчамига туғри келади, чунки оксил молекулаларида ишқор ва кислота ҳарактерига эга булган группаларнинг сони бир-бирига тенг эмас, pH ning турли курсаткичларида уларнинг диссоциланиш даражаси барабарлашиб, молекула, умуман, электронейтрал ҳолатга келади. Масалан, казеиннинг pH -4,7; тухум альбумининг оксили -4,8; желатинаники -4,9; зеин (ишқори оксили)ники -6,2 га тенг. Протаминлар ва гистонларнинг изоэлектрик нуқтаси кучсиз ишқорий муҳитга туғри келади.

Оксилларнинг изоэлектрик нуқтасида чуқмага туширишни тезлаштириш учун сувий тартиб олувчи моддалар (спирт, ацетон, эфир)

ёки танин қўшилади. Органик эритувчилар оксил макромолекуласининг сув қобигини бузиб юборади, шундан танин билан азотли гетероциклик группалари сувда эримайдиган бирикмаларни ҳосил қилади.

Керакли асбоблар: пробиркалар билан штетив; 2 ва 10 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. Желатинанинг 1% ли эритмаси. 2. Сирка кислотасининг 0,1 н эритмаси. 3. Сирка кислотаси натрийли тузининг 0,1 н эритмаси. 4. 96% ли этил спирти. 5. Таниннинг 0,1 % ли эритмаси.

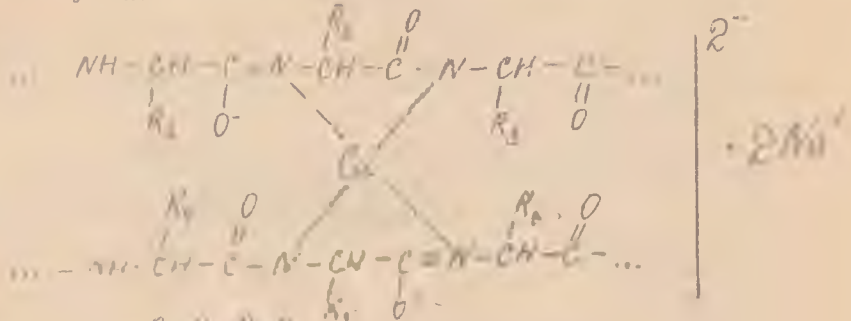
Ишнинг бориши. Бешта пробиркада турли рН ли буфер эритмалар тайёрланади, яъни сирка кислотасининг эритмасидан ва сирка кислотасининг натрийли тузи эритмасидан, жадвалда курсатилган миқдорда солинади. Сунгра ҳар бир пробиркага 1 мл желатина эритмасидан солиб яхшилаб аралаштирилади. Шундан сунг пробиркаларга 4 мл дан спирт қўшилади (ёки 1 мл дан танин эритмасидан) ва аралаштирилади. 15-20 минутдан кейин пробиркаларда лойқа ҳосил бўлади, лойқаланиш даражаси пробиркалардаги буфер аралашмага боғлиқ. Маълумки, рН аралашманинг энг юзори лойқаланиши желатинанинг изоэлектрик нуқтасига тўғри келади. Желатинанинг изоэлектрик нуқтаси рН - 4,7. Жадвалда лойқа ҳосил бўлган пробиркаларга қўйилган + ишораси лойқаланиш даражасини кўрсатади.

Оксилларнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш:

Пробиркалар номери	Буфер аралашмаларнинг миқдори, мл		Аралаш- малар- нинг рН	Желати- нанинг 1% ли эритма- си, мл	Этил спир- ти, мл	Лойқа- ланиш дара- жаси (+)
	1% C_6H_5COOH	0,1% C_6H_5COONa				
1	1,8	0,2	3,8	1	4	
2	1,4	0,6	4,4	1	4	
3	1,0	1,0	4,7	1	4	
4	0,6	1,4	5,1	1	4	
5	0,2	1,8	5,7	1	4	

Оқсиллар ва аминокислоталарнинг рангли реакциялари

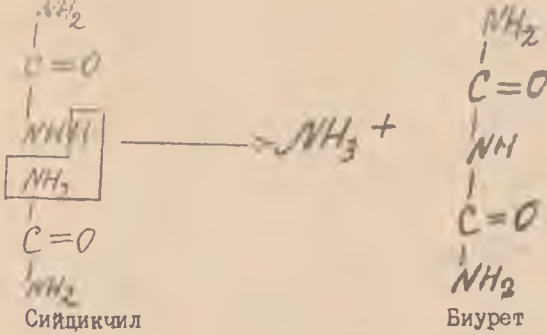
Биурет реакцияси. Оқсиллар ишқорий шароитда мазъ сульфатнинг ритмаси билан мураккаб комплекс бирикма ҳосил қилади. Реакция молекулада 2 та ёки ундан ортиқ пепид боғлар -C-N- гуруппалари бўлишига боғлиқ. Пепидлар ва оқсилларни мис натрийли тузлари билан ҳосил қилган комплексининг тузилишини қуйидагича олиш мумкин.



Бу ерда $-R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, \dots$ - аминокислоталарнинг қолдиқлари.

Реакция натижасида ҳосил бўлган рангнинг интенсивлиги пептидларнинг узунлигига боғлиқ бўлиб, кўк бинафшадан то қизил бинафшарача ва қизил ранг оралигида бўлади.

Сийдикчил (мочевина/ қиздирилганда унинг 2 тки молекуласидан $\cdot 2H_2O$ ажралиб чиқиб реакция натижасида биурет ҳосил бўлади:



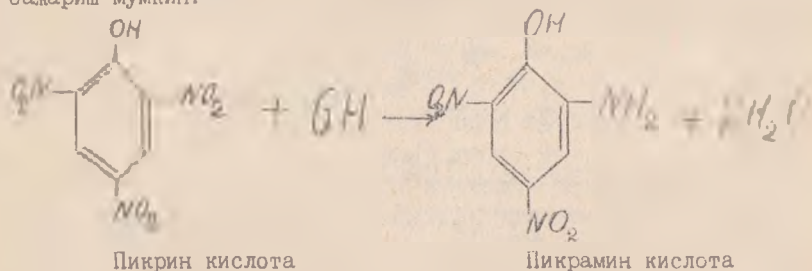
Керакли асбоблар: пробиркалар билан штатив; 1,2 ва 5 мл ли пипеткалар; спирт лампаси.

Реактивлар. 1. Тухум оксилининг эритмаси. 2. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси. 3. Мис сульфатининг 1% ли эритмаси. 4. Сийдикчил.

Ишнинг бориши. 1. Пробиркага 100–200 мг мочефинининг кристаллидан солиб, аммиак ҳиди ҳосил бўлгунча қиздирилади. Ҳосил булган масса совигандан кейин пробиркага 2 мл натрий ишқоридан, 1–2 томчи мис сульфатдан солинади. Реакция натижасида пушти ранг ҳосил бўлади.

2. Пробиркага 2 мл тухум оксидан солиб, кейин шунча ҳажмда натрий ишқоридан, 1–2 томчи мис сульфатнинг эритмасидан қушилади. Реакция натижасида қизил-бинафша ранг ҳосил бўлади.

Пикрин кислота билан реакцияси. Оксиллар ишқорий шароитда пикрин кислотаси билан қиздирилганда пикрамин кислотасигача қайтарилди. Бу реакцияни бошқа қайтарувчилар (масалан, глюкоза) билан бажариш мумкин:

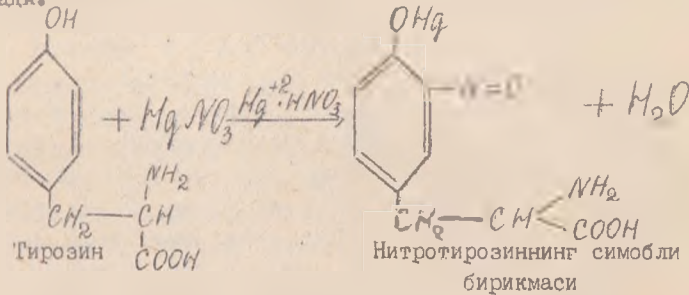


Реактивлар. 1. Пикрин кислотасининг туйинган эритмаси. 2. Глюкозанинг 0,1 % ли эритмаси. 3. Натрий гидрокарбонат тузи.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл оксил эритмасидан солинади ва 0,3 – 0,5 г натрий гидрокарбонат тузини кристаллидан қушилади. Пробиркани чайқатиб аралаштирилади, сунг 1 мл пикрин кислотанинг туйинган эритмасидан қушилади ҳамда бир неча минут қиздирилади. Пикрин кислотаси пикрамин кислотасигача қайтарилди, натижада сариқ рангли эритма аста-секин қизил рангга айланади.

Бошқа пробиркага глюкозанинг 0,1 % ли эритмасидан 2 мл солинади ва юқоридаги реакция бажарилди. Бу реакцияда ҳам оксил билан руй берган натижа қузатилади.

Тирозин реакцияси. Реакция оксил молекуласидаги тирозин аминокислотасига ҳос бўлиб, унинг таркибида фенол группаси бор. Унга миллон реактивидан қўшиб қиздирилганда қизил рангли чўкма ҳосил қилади.



Деярли ҳамма оксиллар Миллон реакциясини беради, чунки улар таркибида тирозин аминокислотасини сақлайди. Шунингдек, бу реакция ҳамма феноллар учун ҳам характерлидир.

Керакли асбоблар: пробиркалар билан штатив; пипеткалар.

Реактивлар. 1. Фенолнинг 0,1% ли эритмаси. 2. Миллон реактиви: бу реактивни тайёрлаш учун 40 г симоб олиб, 57 мл концентрланган нитрат кислотасида /хона температурасида / эритилади.

Тайёрланган эритмага икки ҳажмда сув қўшиб суялтирилади ва ҳосил булган чўкма тўқиб юборилади. 3. Оксил эритмаси. 4. Желатинанинг 0,1% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Машгулот аввал фенол билан бажариб курилади. Пробиркага 2 мл фенол эритмасидан ва 1 мл Миллон реактивидан солиб, аста-секин қиздирилади, натижада пушти ранг ҳосил бўлади. Сўнгра оксил билан шу реакция бажарилади. Бошқа пробиркага 2 мл оксил эритмасидан солиб, 6-8 томчи Миллон реактивидан қўшилади, реакция натижасида оқ чўкма ҳосил бўлади, қиздирилганда тўқ қизил рангли чўкмани ҳосил қилади.

Пробиркага 2 мл желатина эритмасидан солиб, 6-8 томчи Миллон реактивидан қўшиб реакция бажариб кўрилганда Миллон реакцияси рўй бермайди.

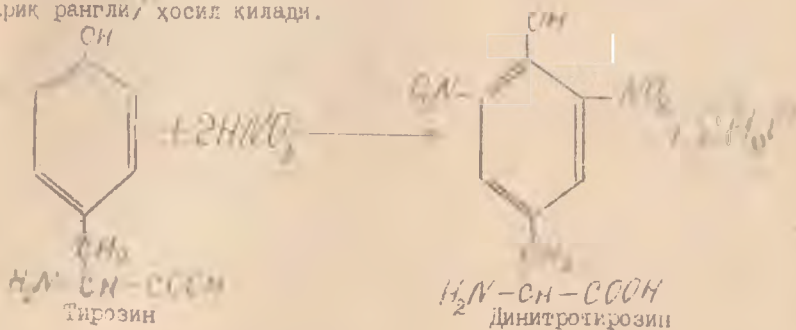
Триптофан реакцияси. Реактивлар. 1. Оксил эритмаси. 2. Сахарозанинг 10% ли эритмаси. 3. Концентрланган сульфат кислота.

Ишнинг бориши. Пробиркага 1 мл оксил эритмаси ва 2 томчи сахарозанинг эритмасидан солинади. Сўнгра 1 мл концентрланган

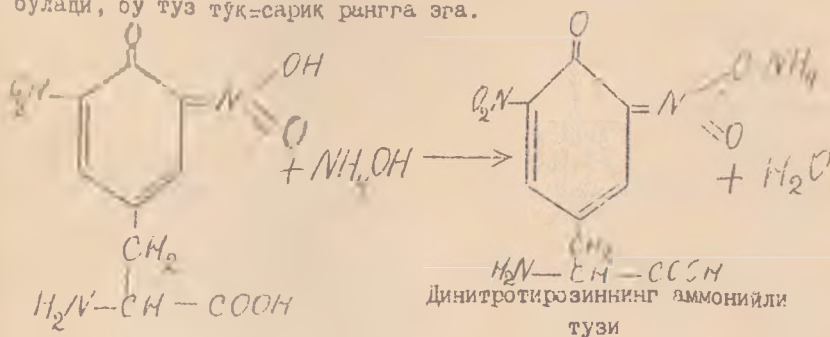
сульфат кислотасидан пробирка девори орқали қуйилади. Суяқликлар чегираси орқалида қизил рангли ҳалқа ҳосил булади. Реакциянинг моҳити шундан иборатки, сульфат кислота таъсирида сахароза моносахаридларга гидролизланади, сувсизланиб оксиметилфурфуролни ҳосил қилади. Триптофан оксиметилфурфурол билан комплекс бирикма ҳосил қилиб, қизил рангни беради.

Ксантопротеин реакцияси. Бу реакция ароматик аминокислоталар учун характерлидир (фенилаланин, тирозин, триптофан). Оксиланган полипептидларни концентрланган нитрат кислотаси билан қиздирилганда, сарик рангли нитробирималар ҳосил булади.

"Ксантос" - бу грекча сўз бўлиб, сарик деган маънони беради. Тирозин концентрланган нитрат кислота таъсирида динитротирозинни (сарик рангли) ҳосил қилади.



Динитротирозинга натрий ишқори ёки аммоний гидроксиди таъсир этирилса, динитротирозиннинг натрийли ёки аммонийли тузи ҳосил булади, бу туз тўқ-сарик рангга эга.



Ксантопротеин реакцияларини оддий ароматик бирикмалар—бензол ва унинг гомологлари, фенол ва бошқалар ҳам беради.

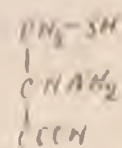
Роктивлар. 1. Тухум оксилининг эритмаси. 2. Желатинанинг 1% ли эритмаси. 3. Концентрланган нитрат кислотаси. 4. Натрий ишқорининг 20% ли эритмаси ёки концентрланган аммиакли эритмаси. 5. Фенолнинг 0,1% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2–3 мл фенол эритмасидан солинадиган 1–2 мл концентрланган нитрат кислотаси пробирка деворлари орқали қуйилади. Эҳтиёткорлик билан қиздирилганда сариқ ранг ҳосил бўлади. Пробиркага 1–2 мл тухум оксиддан солиб, унга 8–10 томчи концентрланган нитрат кислотададан қушиб қиздирилганда чўкма сариқ рангта киради. Совигандан кейин пробиркага эҳтиёткорлик билан аммиак эритмасидан ёки натрий ишқорининг эритмасидан қушилади, натижада тўқ сариқ ранг ҳосил бўлиши кузатилади.

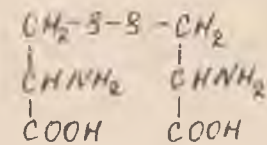
Пробиркага 1–2 мл желатинанинг 1% ли эритмаси, 8–10 томчи концентрланган нитрат кислотаси эритмасидан қушиб қиздирилади. Желатин ароматик аминокислоталарни таркибида сақланмаганлиги учун бундай реакцияни бермайди.

Олтингурут тутувчи аминокислоталар учун реакция. Купгина оксидлар молекулалари таркибида олтингурут тутувчи аминокислоталар цистеин, цистин ва метионин сақлайди.

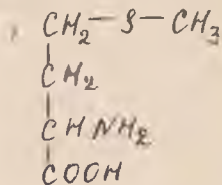
Оксидга ишқор қушиб қиздирилганда, бу аминокислоталардан олтингурут водород сульфид ҳолида ажралиб чиқади. Водород сульфид кургошин ацетати билан қора чўкма – кургошин сульфидни ҳосил қилади.



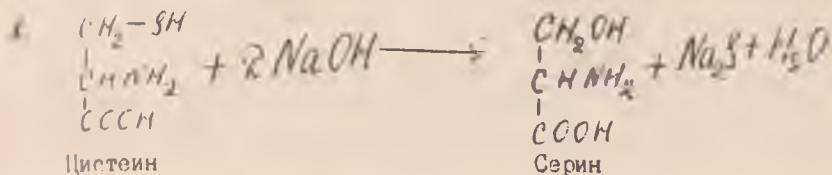
Цистеин



Цистин

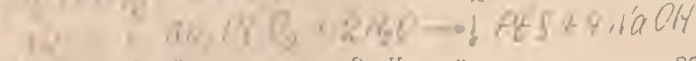
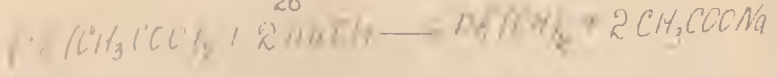


Метионин



Цистеин

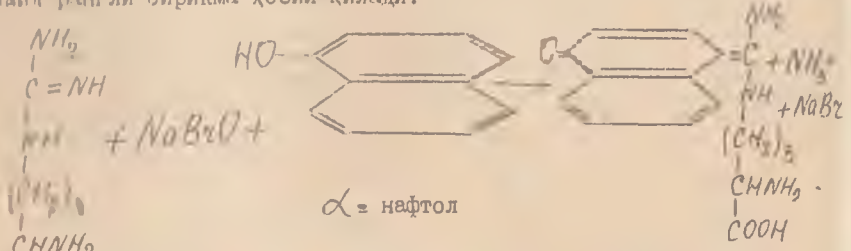
Серин



Реактивлар. 1. Тухум оксиди. 2. Натрий гидроксидининг 20% эритмаси. 3. Курюшини ацетатнинг 0,5 % ли эритмаси. Ишнинг бериши. Пробиркага 1-2 мл оксил эритмасидан солиналди ҳамда натрий ишқоридан қўшилади, қайнагунча қиздирилади шундан кейин курюшини ацетатли тузининг эритмасидан қўшилади. Натрида қорғи чуқма 165 ҳосил бўлади.

Аргинин реакцияси. Гуанидиннинг ҳосилалари масалан, аргинин (гуаницил)аминовалоридан кислота, метилгуанидин, гликоциаминлар натрий гинобромид ($NaBrO$) билан α -нафтол таъсирида қишлоқли маҳсулот ҳосил қилади. Метилгуанидин ва гликоциамин таркибида учрамайди, демак бу реакцияни аргинин аминокислотасини очиш учун қўллаш мумкин.

Гинобромид оксидловчидир. Оксидланган аргинин битта имино-гидролизини йукотиб α -нафтол билан бирикади ва тўқ қишлоқли бирикма ҳосил қилади.



Оксидланган аргининнинг α -нафтол билан ҳосил қилган маҳсулоти.

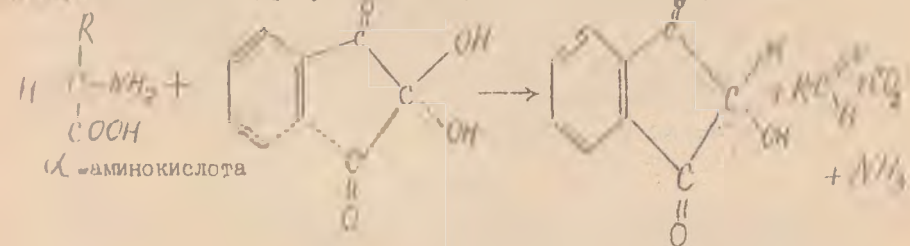


Реактивлар. 1. Тухум оксидининг эритмаси. 2. 1% ли α -нафтолнинг эритмаси (96% ли этил спиртида тайёрланган). Реактивни ишлатишдан олдин 10 мл олиб, 100 мл ҳажмдаги колбада спирт

сукултирилади. 3. 15% ли натрий ишқорининг эритмаси. 4. Натрий гипобромиднинг эритмаси, 150 г натрий ишқори 500 мл сувда эритилади. Эритма совугандан сунг 8 мл бром (мурили шкафта) қувилади. Эритма қоронги жойда қора рангга бўлган идишда сақланади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл оксил эритмасидан солингач, унга 2-3 томчи натрий гидроксидининг эритмасидан ва 2 томчи α -нафтолдан қувилади. Пробиркадаги молдалар яхшилаб аралаштирилади ва бир томчи гипобромид қувилади. Натижада қизил ранг ҳосил бўлади. Аргининнинг эритмаси билан ҳам шу реакция бажарилади. Реакция натижасида туқ қизил ранг ҳосил бўлади.

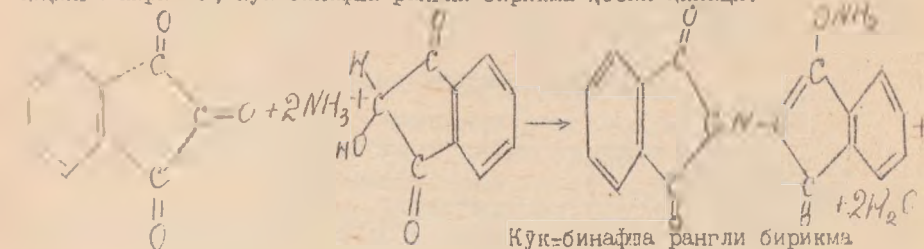
Нингидрин реакцияси. Оксил эритмасини ва полипептидларини нингидрин реактиви билан қиздирилганда кук-бинафша ранг ҳосил қилади. Нингидрин реакцияси аминокислоталарни α -группадаги аминогруппани ҳисобига содир бўлади. Реакциянинг моҳияти шундан



Қайтарилган нингидрин

иборатки, α -аминокислоталар ва пептидлар, нингидрин таъсирида деаминация ва декарбоксилация жараёнлари боради. Реакция натижасида H_2O , NH_3 альдегид ва қайтарилган нингидрин ҳосил бўлади.

Қайтарилган нингидрин, аммиак ва бир молекула нингидрин ўзаро реакцияга киришиб, кук-бинафша рангли бирикма ҳосил қилади.



Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; сув ҳаммоми.

Реактивлар. 1. 0,2 % ли нингидриннинг спиртдаги ёки ацетондаги эритмаси. 2. Оксил эритмаси. 3. 0,1 % ли глициннинг сувдаги эритмаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл глициннинг эритмаси, 5-6 томчи нингидрин эритмаси солиниб, сув ҳаммомида қиздирилади. Натижада бинафша ранг ҳосил бўлади. Бошқа пробиркага 2-3 мл оксил эритмаси ҳамда 10-12 томчи нингидрин эритмаси солинади. Эритмалар аралаштирилгач бир неча минут сув ҳаммомида қиздирилади. Реакция натижасида кўк-бинафша ранг ҳосил бўлади.

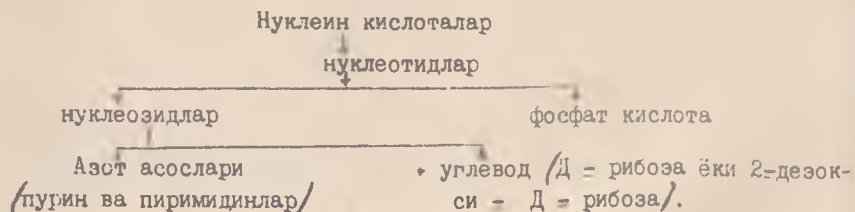
Ш боб. Мураккаб оқсиллар

Мураккаб оқсиллар макромолекуласи таркибига аминокислоталардан ташқари оқсил бўлмаган бошқа компонентлар (простетик гурппа) ҳам киради. Мураккаб оқсиллар простетик гурппаларининг (нуклеин кислоталар, углевод, липид, витамин, металл ва бошқалар) химиявий табиатига кўра қуйидаги гурппаларга бўлинади: нуклеопротеинлар, хромопротеинлар, гликопротеинлар, липопротеинлар, металлопротеинлар ва фосфопротеинлар.

Нуклеопротеинлар

Нуклеопротеинлар простетик гурппалари нуклеин кислоталар - ДНК ёки РНК дан иборат. Нуклеопротеинлар ишқорий шароитда яхши эрийди ва кислоталар таъсирида чўкмага тушади. Дезоксирибонуклеопротеинлар кичик концентрацияли туз эритмасида чўқади, юқори концентрацияли тузлар эритмасида эса эрийди.

Нуклеопротеинлар султирилган кислоталар билан чала гидролиз қилинганда улардан оқсил ва нуклеин кислота ажралиб чиқади. Нуклеин кислоталарнинг ўзи гидролизланганда бирин-кетин қуйидаги парчаланиш маҳсулотлари ҳосил бўлади:



Дезоксирибонуклеопротеинларни жигар ва талоқдан ажратиш олиш.

Нуклеопротеинларнинг бу тури хужайра ядросининг энг муҳим таркибий қисми ҳисобланади. Шунингдек, улар ядросининг оксиллари деб ҳам аталади. Жигар, талоқ, ошқозон ости беши, буйрак нуклеопротеинларча бойдир. Ядро оксилларининг характерли хоссаси - тузларнинг қули эритмаларида (натрий хлорид ва бошқалар) яхши эрийди ва кислотали эритмаларда эса чуқмага тушади.

Керакли асбоблар: центрифуга; қайчи; ҳавонча; 300 ва 400 мл ли стакан; 100 мл ли цилиндр; техник тарози.

Реактивлар: 1. Мол, қуён, чуққанин жигари ёки талоғи, янги-ми ёки музлатилгани. 2. Натрий хлориднинг 5% ли эритмаси. 3. Ёғоч шакли.

Ишнинг бориши. 2-2,5 г жигар ёки талоқ олиб, қайчи билан яхши-ла майдаланади, сунгра ҳавончага 5% ли натрий хлорид эритмасидан оғина солиб эзилади. Шундан кейин ҳавончага оз-оздан 70-80 мл ош тули эритмасидан солиб, 10-15 минут давомида эзилади. Ҳавончадаги гомогенат центрифуга стаканларига солинади ва 10-15 минут 2500 об/минут тезликда центрифугаланади, сунгра чуқмаси ташлаб юбори-лади ва суюқлик қисмининг ҳажми цилиндр билан улчанади. Суюқлик қисмидан олти марта кўп сув улчаб стаканга солинади ва уни ёғоч таёқча билан айлантириш давомида сувга суюқлик қуйилади. Дезок-сирибонуклеопротеинлар ипсимон ҳолатда чуқмага туша бошлайди, уларни ёғоч таёқча билан ураб олинади ва пробиркага солинади.

Нуклеопротеинлар билан олиб бориладиган сифат реакциялари учун ишлатилади.

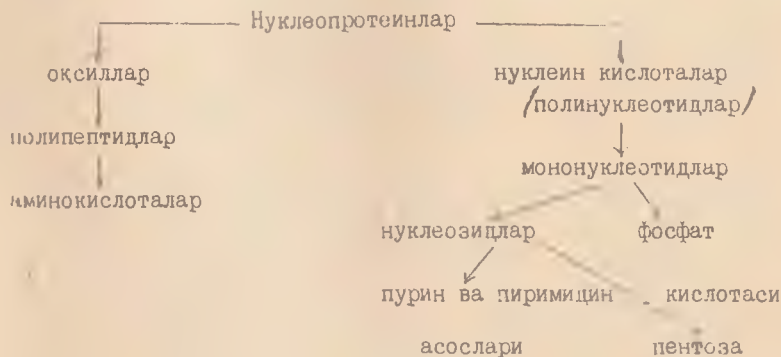
Нуклеопротеинларни ачитқидан ажратиш. Керакли асбоблар: 50 ва 100 мл ли стакан ёки қолба; 100 мл ли цилиндр; ҳавонча; центрифуга; 10 мл ли пипетка; пиша таёқча.

Реактивлар. 1. Натрий ишқорининг 0,4 % ли эритмаси. 2. Диэтил эфири. 3. Сирка кислотасининг 5% ли эритмаси. 4. Прессланган ачитқис. 5. Дистилланган сув.

Ишнинг бориши. Ҳавончага 5 г ачитқи солиб, 1 мл диэтил эфири ва 1 мл сув қушиб эзилади. Ҳосил бўлган гомогенатга 30 мл натрий ишқоридан қушилади ва 15-20 минут давомида эзилади. Сунгра гомогенат фильтр қоғоз орқали филтрланади ёки 10 минут давомида 2500 об/мин тезлигида центрифугаланади. Филтрат ёки суюқлик қисми стаканга солинади ва томчилаб сирка кислотасининг 5% ли эритмаси-

ичи нуклеопротеинларнинг тулик чўкмаси ҳосил булгунча қушилади. Чўкма ажратиб олинади ва нуклеопротеинларни гидролизи учун ишлатилади.

Нуклеопротеинларнинг гидролизи. Нуклеопротеинларнинг гидролизи 5% ли сульфат кислотасининг эритмаси билан қайнатиш натижасида боради. Бу жараён қуйидаги схема билан ифодаланади:



Керакли асбоблар: пробиркалар билан штатив; пипеткалар; сув ҷиммоми.

Реактивлар. 1. Нуклеопротеинларнинг чўкмаси (олдинги ишда олинган). 2. Сульфат кислотасининг 5% ли эритмаси. 3. Концентрацияланган сульфат кислотаси. 4. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси. 5. Аммиакнинг концентранган эритмаси. 6. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси. 7. Мис сульфатнинг 1% ли эритмаси. 8. Қумуш нитратни аммиакли эритмаси: қумуш нитратнинг 1-2% ли эритмасига аммиак эритмасидан қўшилади, натижада чўкма ҳосил булади, сунгра ҳосил булган чўкма эригунча аммиак эритмасидан қўшилади. 9. Молибден реактиви: 3,75 г аммоний молибдат 50 мл сувда эритилади ва 50 мл 32% ли нитрат кислота қўшилади.

Ишнинг бориши. Нуклеопротеинлар гидролиз қилиш учун колбага солинади ва 15-20 мл 5% ли сульфат кислотасининг эритмасидан қўшилади. Колба тиқин билан беркитилади ва 1-1,5 соат қайнатилади. Сунгра совутилади ва гидролизат филтрланади. Филтрат полипептидлар, пурин асослари, пентоза ва фосфат кислоталари реакцияси учун ишлатилади.

Эслатма. Нуклеопротеинларни ачитқилардан ажратиб олмасдан, уларни гидролитик парчалаш мумкин. Бунинг учун 1 г пресланган

чирик калбага солиниб, унга 30-40 мл 5% ли сульфат кислота эритмидан кўшилади ва калба шиша трубка урнатилган тикин билан боғлиқлиги, 1-1,5 соат қайнатилади. Шундан сунг калба совутилиб фильтрланади. Филтрат билан юкорида кўрсатилган реакциялар ба-

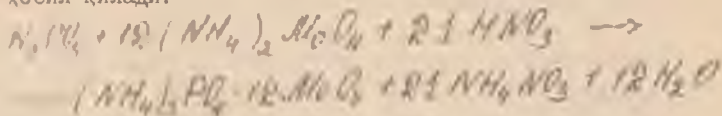
1. Полипептидлар учун филтрат билан биурет реакцияси бажарилади. Пробиркага 1-2 мл филтрат, 1-2 мл натрий ишқорининг 10% ли эритмаси солинади ва аралаштирилади, натижада оксилнинг таркибидagi пептид боги учун хос бинафша ранг ҳосил булади.

2. Пурин асосларини билиш учун пробиркага 2 мл филтратдан солинади, 5-6 томчи концентрланган аммиак томизилади, сунгра 0,5 мл кумуш нитратнинг аммиакли эритмасидан кўшилади. Бир неча минутдан сунг, пурин асосларини кумушли тузининг чўкмасы ҳосил булади.

3. Пентозалар учун Троммер реакцияси бажарилади. Рибоза ишқорий шариқта мис сульфатни мис гидроксидигача (CuOH) қайтади. Пробиркага 1-2 мл филтратдан ва шунга тенг ҳажмда натрий ишқоридан солиб аралаштирилади, 2-3 томчи мис сульфатдан кўшиб қайнатилади.

Реакция натижасида мис гидроксиднинг (CuOH) қизил чўкмаси ҳосил булади.

4. Фосфат кислотаси учун реакция. Фосфат кислота молибдат реактив билан сариқ кристалл фосформолибдат кислотасининг аммонийли тузини ҳосил қилади:



Пробиркага 1-2 мл филтратдан солиб, тенг ҳажмда молибдат реактивини қўшилади ва 2-3 минут қайнатилади. Натижада фосформолибдат кислотасининг аммонийли тузи сариқ чўкма ҳосил булади.

Хромопротеинлар

Хромопротеинлар /хромо - грекча ранг, буюк/ мураккаб оксил олиб, оддий оксил глобулинлар, простетик группа /оксил бўлмаган қисм/ на рангли бирикма /пигмент/дан тузилган. Турли хромопротеинларнинг оксил билан боғланган рангли группаси ҳар хил органик

бирикмалар синфига киради ҳамда таркиби турли металллар - темир, мис, магний, молибден ёки рух, кобальт ва бошқаларга бой. Шунинг учун улар металлопротеинлар ҳам деб аталади. Хромопротеинларнинг энг муҳим вакили - протетик группаси пиррол ҳалқаларининг қўшилишидан ташкил топган порфирин структурали мураккаб оксиллардир. Бу қаторга ўсимликларнинг яшил пигменти, хлорофилл билан оксил бирикмаси, ҳайвон ва одам қони таркибидаги гемоглобин, мускул нафас олиш пигменти - миоглобин ва бир қатор нафас олиш ферментлари киради.

Гемоглобин, оксил - глобин (гистон) ва протетик группаси гем деб аталадиган темир протопорфириндан иборат бўлган металлопротеин бўлиб, қизил қон ташмачлари - эритроцитлар таркибида булади. Унинг физиологик функцияси кислородни ўпкадан тўқималарга ташишдан иборат. Деярли барча умуртқалилар эритроцитларида гемоглобиннинг молекула оғирлиги таъминан 66000 га тенг. Гемоглобин тўртта айнан ухшаш туфт суббирликлардан ташкил топган. Катта ёшдаги одамларда асосан гемоглобин HbA структура тузилишига эга, суббирликлар α ва β деб белгиланади ва қуйидагича ёзиш мумкин.

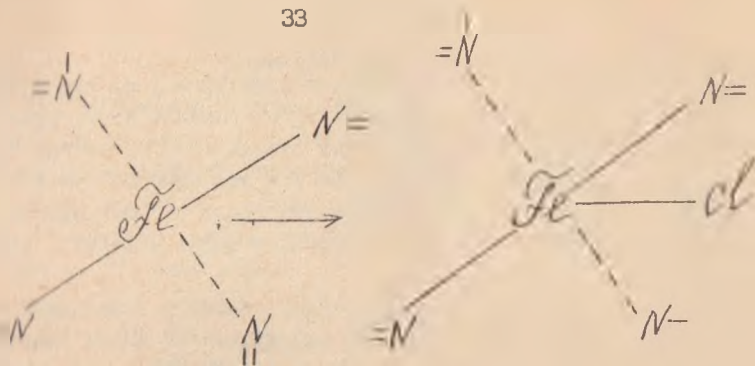


α - суббирликлар I41 та, β - суббирликлар эса I46 та аминокислоталар қолдигидан иборат.

Шу занжирларнинг ҳар бири гем деб аталувчи протетик группага боғланган. Гем - мураккаб молекула бўлиб, тўртта азот тугувчи гетероциклик пиррол ҳалқасидан тузилган. Пиррол ҳалқалари бири бири билан метин (-CH) туркумлари орқали боғланган, порфирин склети гем таркибида икки валентли темир атоми билан координацияловчи алоқада булади. Шунингдек, темир атоми гистидин қолдигидаги азот билан боғланган. Бундан ташқари пропионил қолдиқлари ёлтиростатик кучлари ҳисобига асосий аминокислоталар қолдиқларидан кўпинча лизин қолдиқлари боғланади.

Шундай қилиб, гем билан глобин орасидаги боғ етарли даражада мустақкамдир.

Уни фақат ацетон ва хлорид кислотаси аралашмаси таъсирида ўзини мумкин. Натижада гем ўзининг оксидланган шакли (оксидлаш натижасида уч валентли ҳолатга ўтади) - гемин ҳолида ажралади.



Тикриба микроскопик ойна устида утказилади, ҳосил бўлган гемин кристаллари жуда характерли кўринишда бўлганлигидан, бу реакция юқини тоқширувчилар учун қулай ҳисобланади.

Химий тузилишига кўра гемоглобинга яқин яна бир қатор темир-протеинли протеинлар мавжуд. Улар қаторига умуртқалилар ва умуртқасизларнинг мускулларидаги нафас олиш пигменти – миоглобин кирилади. Бу металлопротеиннинг молекула оғирлиги 17000 га тенг, у ягона полипептид занжиридан иборат бўлиб, темир атоми тутади. Миоглобин ҳам гемоглобинга ухшаш кислород билан қайталама бирикш шартисига эга. Бу қатордаги бошқа муҳим темир протеинлар ҳужайранинг цитохромлар деб аталадиган нафас олиш пигментлари группасидан иборат.

Цитохромларнинг тула урганилган вакили – цитохром С нинг молекула оғирлиги 13000 га тенг бўлиб, у таркибида битта темир тутади. Организмда кенг тарқалган ферментлар – масалан, каталаза таркибида тўртта темир атоми, пероксидазанинг таркибида бир атом темир бор.

Оксигемоглобин кристалларини ажратиб олиш. Керакли асбослар: шприцлар билан штатив; пипеткалар; микроскоп; центрифуга; 100 мл ли стаканлар; диаметри 6–8 см ли воронка; предмет ва қоплогич ойна.

Рективлар. 1. Янги суйилган қуён, от ёки бошқа турдаги қайвон қони. 2. Диэтил эфири. 3. Аммоний сульфатнинг туйинган эритмаси. 4. Натрий хлориднинг 0,9 % ли эритмаси. 5. 96% ли этанол. 6. 0,1% ли натрий хлориднинг сирка кислотасидаги эритмаси. /0,1 г натрий

хлориднинг 100 мл кислотада эритилади/.

Ишнинг бориши. Пробиркага 5 мл қон олиб унга 1 мл суз билан эфир (1:1) аралашмасидан солинади ва тўлиқ гемолиз ҳосил бўлгунча аралаштирилади. Ҳосил бўлган қизил суюқлик гемолизланган қон деб аталади. Шу суюқликка тенг ~~суз~~ (6 мл) аммоний сульфатнинг тўйинган эритмасидан солиб аралаштирилади ва центрифугаланади ёки филтрланади. Филтратни пробкали қолбага солиб 1 соатга ёки 1 сутка совуқда қолдирилади.

Сўнгра бир томчи филтратдан предмет ойнасига томизилади ва қоплагич ойна билан ёпилгач микроскопда кўрилади. Қизил рангда оксигемоглобин кристаллари призма ёки турли формадаги пластинка шаклида кўринади (бу шакл ҳайвонларнинг турига боғлиқ/).

Геминни олиш реакцияси. Гемоглобин кислотали шароитда киздирилганда парчеланади ва натрий хлорид таъсирида гем геминга айланади, яъни темир атоми билан хлор боғланади. Бунда икки валентли темир уч валентлига айланади.

Керакли асбоблар: предмет ва қоплагич ойнаси; микроскоп.

Реактивлар. 1. Натрий хлориднинг кристали. 2. Сирка кислота.

Ишнинг бориши. Предмет ойнасига бир неча томчи қон томизилади ва 60°C дан юқори бўлмаган ҳароратда қуритилади. Қуритилган қонга бир неча натрий хлориднинг кристалидан, 1-2 томчи сирка кислотасидан қўшиб аралаштирилади, сўнгра қоплагич ойна билан ёпилади ҳамда қайнагунча эҳтиёткорлик билан киздирилади.

Совигандан сўнг микроскопда кўрилади, бунда гемин кристаллари ромбик шаклда (жигар рангли) кўринади.

Геминни амидоприн билан аниқлаш. Керакли асбоблар: пипеткалар, пробиркалари билан штатив.

Реактивлар. 1. Дефибринланган қон.

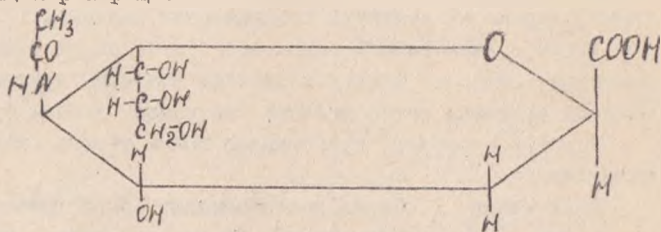
2. Амидопирин (пирамидон)нинг 5% ли спиртдаги эритмаси.

3. Сирка кислотасини 30% ли эритмаси. 4. Водород пероксидининг сувдаги 3% ли эритмаси ишлатишдан олдин тайёрланади.

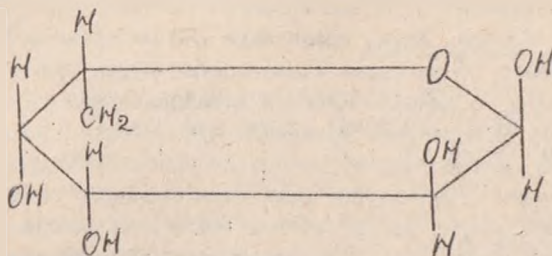
Ишнинг бориши. Пробиркага суюлтирилган дефибринланган қоннинг эритмасидан 1-2 мл солинади ва тенг ҳажмда амидопириннинг спиртдаги эритмасидан, 10-15 томчи сирка кислотаси ва водород пероксидининг эритмасидан қўшилади. Натижада кўк-бинафша ранг ҳосил бўлади.

Гликопротеинлар

Гликопротеинлар - мураккаб оқсил булиб, протетик группаси углеводлар ва уларнинг ҳосилаларидир. Гликопротеинларнинг оқсил бўлишган қисмларининг таркибига моносахаридлардан - глюкоза, галактоза, фруктоза; аминокандлардан - глюкозамин, галактозамин, ацетилглюкозамин; кислоталардан - глюкурон, сирка, нейрамин, сульфат ва бошқалар киради.



N - Ацетилнейрамин кислота



X - Фруктоза

Гликопротеинлар ҳайвон организмда кенг тарқалган. Улар деярли ҳамма туқималарда учрайди. Уларнинг бир қисми механик функцияларни бажаришда иштирок этади, бошқалари овқатнинг ошқозонга сирганиб тушишини ва овқат ҳазм қилишни енгиллаштиради. Шунингдек, гликопротеинларга қондаги бир группа моддалар, ферментлар, масалан, холинэстераза ва бошқалар киради. Гликопротеинлар бир қатор витаминлар (арпа, бугдой ва бошқалар)нинг уруғларида ҳам учрайди. Бир қатор гликопротеинларнинг протетик группаси мукополисахаридлардир иборат ва улар мукопротеинлар деб аталади.

Бу группанинг асосий вакиллари барча туқималарда ҳам учрайди. Улар сунк, тоғай, кўзнинг мугуз пардаси ва шпашимон танасида,

сулакда куп учрайдиган муцинлар ва мукоидлардир. Бир қатор мукополисахаридлар/ гиалурон кислота, хондритинсульфат кислота, гепарин/ организмда катта роль уйнайди.

Сулакдан муцинни ажратиб олиш. Сулакда ва турли шилимшик безларнинг секретлари таркибида учрайдиган муцин – суюқлик юкори даражада ёғишқоқлик хусусиятига эга бўлиб, овқатнинг ошқозонга тушишини енгиллаштиради, оғизнинг шилимшик пардасини зарарли ханик, термик ва химиявий таъсирлардан сақлайди.

Муцин – кислотали хоссага эга бўлган оксил бўлиб, сувда яхши эримайди, ишқор ва хлорид кислотада эса осон эрийди. Муциннинг ишқорий эритмаси сирка кислота таъсирида чўкмага тушади.

Керкли асбоблар: пробиркалар билан штатив; шаша таёқча; пипеткалар.

Реактивлар. 1. Сирка кислотасининг 1% ли эритмаси. 2. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси. 3. Хлорид кислотасининг 0,1% ли эритмаси. 4. Мис сульфатнинг 1% ли эритмаси. 5. Альфа – нафтолнинг 0,2% ли эритмаси. 6. Концентрланган сульфат кислотаси.

Ишнинг бориши. Учта пробиркага 2-3 мл сулак суюқлиги ва ҳар бир пробиркага 1% ли сирка кислотасидан муцин чўкмаси ҳосил бўлгунча томчилаб солинади. Кейинги жаръанда чўкма сув билан ювилади.

Биринчи пробиркадаги муциннинг чўкмасига 1 мл натрий ишқорининг 10% ли эритмасидан қўшиб аралаштирилади ва чўкма бутунлай эриб кетгандан сўнг, биурет реакцияси бажарилади. Бунинг учун яна 10 томчи натрий ишқори ва 1-2 томчи мис сульфатнинг эритмасидан қўшилади ҳамда пробирка чайқатилади. Реакция натижасида пушти ёки бинафша ранг ҳосил бўлади.

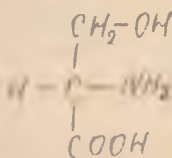
Иккинчи пробиркага 1 мл хлорид кислотасининг 0,1% ли эритмасидан қўшилса чўкма эриб кетади.

Учинчи пробиркадаги муциннинг чўкмасига 6-8 томчи альфа – нафтол қўшиб аралаштирилади ва эҳтиётлик билан 1-2 мл концентрланган сульфат кислотаси қўшилади. Иккала суюқликнинг chegarасида бинафша ранг ҳосил бўлади. Бу реакция муциннинг протетик группаси моносахаридлар ва уларнинг ҳосиласи ҳисобига ҳосил булади, яъни сульфат кислотаси таъсирида фурфурол ва оксиметилфурфурол ҳосил бўлиб, альфа – нафтол билан бинафша рангли бирикмени беради.

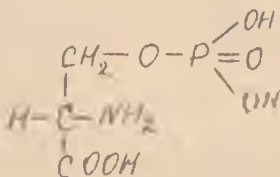
Фосфопротеинлар

Бу оксиллар таркибида фосфат кислота (0,40-0,88%) қолдигини

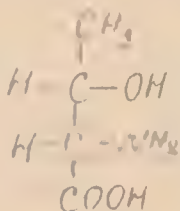
мақдиди. Оксиаминокислоталар (серин, треонин) фосфат кислота
 эркин амин бог орқали боғланиб, фосфорли бирикмаларни ҳосил ки-
 лани.



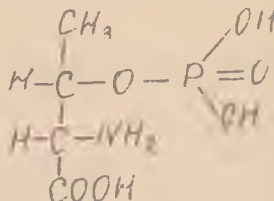
Серин



Серинфосфат



Треонин



Треонинфосфат

Фосфопротеинларга муҳим биологик роль ўйнайдиган қуйидаги
 белоклар кирди: сутдаги казеиноген (казеин), тухум сариғи оксил-
 лари вителлин, вителлинин ва витин, икра оксиллари, ферментлар,
 энзим, фосфорилаза, фосфоглюкомутаза ва бошқалар.

Ҳужайра ядроси фосфопротеинлари: гистонлар ва гистон булмаган
 гистон оксиллари протеинкиназа ферменти ва АТФ иштирокида фос-
 фосфорланиб. Бу фосфорланиш хроматин регуляциясида катта роль
 ўйнайди.

Фосфопротеинлар кислотали эритмаларда чуқмага тушади, сувда
 эримайди, суэртирилган ишқор эритмаларида эрийди.

Казеин таркибидаги фосфатни аниқлаш. Казеин - фосфопротеин-
 ларнинг вакили бўлиб, сутдан ажратиб олинади. Казеин ишқорий гид-
 роланиш қилинганда оксилга ва фосфат кислотасининг қолдигига парчала-
 нади.

Керакли асбоблар: пипеткалар, пробиркалар билан штатив.

Реактивлар. 1. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси. 2. Сульфат
 кислотасининг 10% ли эритмаси. 3. Молибден реактиви: 3,75 г
 аммоний молибдат 50 мл сувда эритилади ва 50 мл нитрат кислота

қўшилади. 4. Мис сульфатнинг 1 % ли эритмаси. 5. Казеин (янчилгани).

Ишнинг бориши. Казеиннинг гидролизи. Пробиркага 0,1 г казеин солиб, 10 мл натрий ишқорининг 10 % ли эритмасидан қўшилади ва ҳаво холодильникли пробка билан беркитилади. Кейин 10–15 минут қайнатилади ва совитилгач гидролиз маҳсулотлари учун реакция ба-
жарилади.

1. Оксилларни аниқлаш. Оксилларни аниқлаш учун биурет реакцияси амалга оширилади. Бунинг учун пробиркага 1–2 мл гидролизат 1–2 мл натрий ишқорининг эритмаси ва 2–3 томчи мис сульфатнинг эритмасидан солинади. Реакция натижасида бинафша ранг ҳосил бўлади.

2. Фосфат кислота қолдигини аниқлаш. Пробиркага 1–2 мл гидролизатдан ва 8–10 томчи сульфат кислота эритмасидан солиб аралаштирилади, сунгра унга 10 томчи молибден реактивидан қўшиб, қайнагунча қиздирилади. Суюқлик сариқ рангга киради – аммоний фосфолибдатнинг сариқ чуқмаси ҳосил бўлади, бу ҳол гидролизатда фосфат кислотасининг қолдиги борлигидан далолат беради.

Туқималардаги оксил миқдорини аниқлаш методлари ва оксиллар алмашинуви

Оксиллар миқдорини аниқлаш методлари туқималардаги азотни текширишга асосланган. Ҳайвон туқималари ва органлари оксилларининг таркибидаги умумий азотнинг миқдори уртача 16 % ни ташкил қилади, яъни 100 г оксилнинг таркибида 16 г азот бор. Бунда оксиллар таркибида азот ўрта ҳисобда 16% бўлганида озик модда ва маҳсулотлардаги азот миқдори 6,25 ($100 : 16 = 6,25\%$)га кўпайтирилса, қабул қилинган ҳамда парчаланган оксиллар маълум бўлади.

Оксиллар миқдори бир неча методлар билан аниқланади. Қуйида шу методлар билан танишиб чиқамиз.

Оксил миқдорини азот бўйича аниқлаш. Туқималарда, органларда, биологик суюқликларда ва сувли экстрактларда азотни аниқлашда Кьелдаль методининг уч хил модификацияси қўлланилади: макрометод, ярим макрометод ва микрометод.

Методнинг принципи. Туқима ёки оксил концентрланган сульфат кислотаси ва катализатор иштирокида қуйдирилганда (минерализация/

унинг таркибидаги амин, амид, имин ҳамда бошқа турлардаги азотлар аммиакка айланади. Реакция охирида эса аммоний сульфат ҳосил бўлади ва унинг миқдори аниқланади.

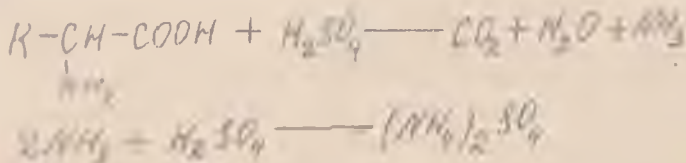
Қўриқли асбоблар: қайчи; скальпель; 1 ва 2 мл ли пипеткалар; 10 мл ли Кьелдаль колбаси (минерализация қилиш учун); ҳайдаш учун 100-200 мл ли Кьелдаль колбаси; 20 мл ли бюретка.

Солитивлар. 1. Концентрланган сульфат кислотаси. 2. Сульфат кислотасининг 0,1 н эритмаси. 3. Натрий гидроксидининг 0,1 н эритмаси. 4. Натрий гидроксидининг 33-40 % ли эритмаси. 5. Катализатор (пергидрол). 6. Индикатор - метилрот.

Ишнинг бориши. Тўқималарда умумий азотни аниқлаш уч босқичда олиб борилади. Биринчи босқич оқсилни минерализация қилишдан иборат. 50 мл ҳажмдаги Кьелдаль колбасига 0,2 мл қон захдоби ёки 100 мг тўқиме (жигар, мускул, буйрак ва бошқалар) солинади. Кейин эса унга 1-2 мл концентрланган сульфат кислотаси қўшилади ва колба оловда қиздирилади.

Тўқиме булакчалари гидролизланиб, парчаланади. Аралашма жигар рангга кирганда колбани алаётганда олиб, бир оз совутилади ва 1-4 томчи пергидрол қўшиб колбадаги моддалар чайқатилгач яна оловда қўзилади. Пергидролдан яна 1-2 марта то рангсиз минерализат ҳосил бўлгунча қўзилади.

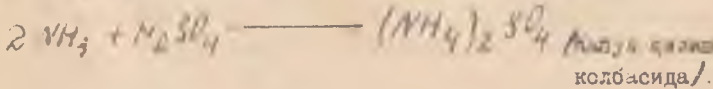
Биринчи босқичнинг химиявий схемаси қуйидагича бўлади:



Иккинчи босқич - аммиакни ҳайдаш. Ишнинг иккинчи қисми 2-курсатилган ҳайдаш аппаратида олиб борилади. Кьелдаль колбасидаги қўзидрилган тўқиманинг массаси сув билан сулфитрилади ва 1 ҳайдаш колбасига солинади. Сўнгра умумий ҳажми сув билан колбанинги ярмигача етказилади. Колбага 2-4 томчи метилрот индикаторидан солиб, тешикли пробка билан беркитилади. Кейин унга пергидрол ва совитгич билан уланадиган томчиларни тутувчи колба уриштирилади. 5-номери қабул қилиш колбасига 20 мл 0,1 н сульфат кислотасининг эритмасидан солинади ва унга 2-4 томчи метилрот

индикаторидан қушилади сунгра, бу колба узайтиргич орқали совут-гичнинг бошқа учига уланади. Воронка орқали ҳайдаш колбасига 33-40 % ли натрий ишқорининг эритмасидан то суюклик сариқ рангга киргунча қушилади (ишқорий реакция). Советгич улангач колба қиздирилади ва аммиакни ҳайдаш бошланади. Ҳайдаш колбасидаги суюклик то тўлиқ аммиак ҳайдагунча қайнатилади, аммиак тамом булганлиги лакмус коғози рангининг узгариши орқали билинади.

Иккинчи босқичнинг химиявий схемаси қуйидагича:



Учинчи босқич. Титрлаш ва ҳисоблаш. Ҳайдаш жараёни тамом булгандан сунг, ҳайдаш колбасини 2-3 мл дистилланган сув билан ювиб қабул қилиш колбасига қушилади. Қабул қилиш колбасидаги аммиак билан боғланмай қолган сульфат кислотаси натрий ишқорининг 0,1 н эритмаси билан титрланади. Азот қутидаги формула билан ҳисобланади.

$$X = \frac{(a - b) \cdot 1,4 \cdot 100}{C}$$

Бу эрда: X - текширилатган объектдаги азотнинг миқдори, мг % ҳисобида; a - қабул қилиш колбасидаги 0,1 н сульфат кислотаси эритмасининг миқдори, b - аммиак билан боғланган сульфат кислотасини нейтраллаш учун сарф бўлган 0,1 н натрий гидроксиди эритмасига тўғри келади; C - гортиб олинган туқиманинг оғирлиги, мг; 100 - азотни мг % да ҳисоблаш учун умумий купайтирувчи.

Қондаги қолдиқ азот миқдорини аниқлаш. Керакли асбоблар: пробиркалар билан татив; 25 мл ли Кьелдаль колбаси; фотокалориметр ёки спектрофотометр; фильтр қоғоз билан воронка; 0,2 мл микропипетка; 1, 2, 5 мл ли пипеткалар; 25, 50, 100 мл ли колбалар, қайчи.

Реактивлар. 1. Кон /қоннинг цитратли ёки оксалатли аралашмаси/. 2. 96 % ли этил спирти. 3. Трихлоруксус кислотасининг 20% ли эритмаси. 4. Концентранган сульфат кислотаси. 5. Пергидрол. 6. Аммоний сульфатнинг стандарт эритмаси: 0,2357 г туз 1 л су да эритилади, 1 мл бундай эритмада 0,05 мг азот бор. 7. Несслер реактиви:

биринчи стаканга 15 г симобнинг йодли тузидан солинади, иккинчи стаканга 10 г калий йодни 20 мл сувда эритилади ва уни биринчи стаканга қуйилади, шиша таёқча билан то симобнинг йодли тузи эригунча аралаштирилади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 1,8 мл дистилланган сув ва 0,2 мл калий солиниди, сўнгра 2 мл 20% ли трихлорсирка кислотасидан қуйиб шиша таёқча билан яхшилаб аралаштирилгач, 5 минут тиндирилади. Суюқлик жигар рангга киради. Пробиркалардаги суюқлик филтър қоғоз билан филтърланади. 2 мл филтратдан олиб /яъни 0,1 мл конгратдан/ колбада /Кьелдаль колбасига солинади ва 2 томчи концентрланган сульфат кислота қушилгач то оқ тутун ҳосил бўлгунча киздирилади. Сўнгра колбани киздиришдан тухтаб, совуғач 2 томчи пергидрол қушилади ва колбадаги суюқлик рангсизлангунча киздирилади. Кейин беш колбадаги суюқлик совутилади ва 2-3 мл сув қушиб суюқликнинг ҳажмини улчаб колбага солинади /колбанинг дөворлари маълум ҳажмдаги сув билан ювилади/. 25 мл ли колба ҳажмининг 2/3 қисмига сув қушилади, 3 мл Несслер реактивидан солиб, сўнгра колбадаги белгигача сув қушилади.

Бешинчи колбага 1 мл аммоний сульфатнинг стандарт эритмаси ва 1 томчи концентрланган сульфат кислотаси солинади ҳамда колба ҳажмининг 2/3 қисмигача сув қушилади. Сўнгра 3 мл Несслер реактивидан қушилади ва колбадаги белгигача сув қуйилади. Колбалардаги суюқлик чайқатилгач, спектрофотометрда ўлчанади ва қуйидаги формула ёрдамида ҳисобланади:

$$X = \frac{0,05 \cdot h_1 \cdot 100}{h_2}$$

Бу ерда: X - азот қолдиги, мг %, 0,05 - 1 мл аммоний сульфатнинг стандарт эритмасидаги азотнинг миқдори; h - стандарт суюқликнинг оптик зичлиги экстинкцияси; h_2 - текшириляётган суюқликнинг оптик зичлиги экстинкцияси; 100 - азотни мг да ҳисоблаш үчүн умумий кўпайтирувчи.

Тўқималардаги оксиллар таркибига кирмаган азотни аниқлаш. Бир булчак жигар ёк мускул тўқималари қайчи билан майдалангач, селинганда яхшилаб эзилади. Сўнгра ҳосил бўлган массададан 500 ёки 1000 мг улчаб олиниб, 50 мл ҳажмли колбага солинади. Унга 20 мл дистилланган сув қушиб аралаштирилади ва 26-30 минутга қолдирилади.

Шундан кейин 5 мл 20% ли трихлорсирка кислотасидан қўшилади ва 5-10 минутга тиндирилади, сунгра фўльтрланади. Кейинги жараён-да 2 мл фўльтратдан олиб Кьелдаль колбасига солинади, унга 0,1 мл концентранган сульфат кислотасидан қўшилади ва қумли ҳаммомда минерализация қилинади. Сунгра, оғир оқ тутун ҳосил булиши билан колбани оловдан олиб, бир оз совутилгач, 1-2 томчи пергидрол қў-пилади. Яна колбани қумли ҳаммомда то рангсиз тиниқ суяқлик ҳосил бўлгунича қиздирилади. Минерализация қилиш тамом бўлгандан кейин колбага 2-3 мл сув қўшиб 25 мл ли колбага солинади, бир неча мар-та сув билан юшиб, колбага жойлаштирилади, яъни умумий ҳажмининг $2/3$ қисмига сув қўшилади. Кейин 5 мл Несслер реактиви солинади ва колбадаги белгигача сув қўйилади.

Худди шундай шароитда контрол намуна ҳам минерализация қилина-ди, яъни колбага 0,1 мл сульфат кислота ва 2 мл сув солинади. Со-вutilгандан кейин 2 мл аммоний сульфатнинг стандарт эритмасидан ва 5 мл Несслер реактивидан қўшилади ҳамда ҳажми сув билан колба-даги белгигача оширилади. Иккала колбадаги суяқликлар яхшилаб ара-лаштирилади ва $1/2$ спектрофотометр билан уларнинг оптик зичлиги аниқланади.

Азот миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$X = \frac{0,10 \cdot k_1 \cdot 25 \cdot 100}{C \cdot k \cdot 2}$$

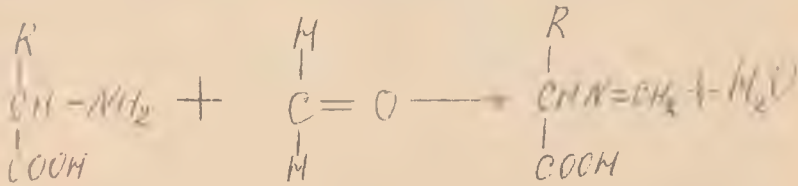
Бу ерда: X - оқсил сўставига кирмаган азотнинг миқдори, мг %
 0,10 - азотнинг миқдори мг/л, яъни 2 мл стандарт эритманинг кон-
 центрациясига тугри келади; k_1 - контрол намунанинг оптик зичлиги-
 нинг экстинкцияси; k_2 - текширилаётган суяқликнинг оптик зичлиги-
 нинг экстинкцияси; 25 - тўқима экстрактининг умумий миқдори;
 100 - мг % ҳисоблаш учун; C - экстракция учун олинган тўқиманинг
 оғирлиги, мг; 2 - минерализация қилиш учун олинган фўльтратнинг
 миқдори.

Тўқимадаги умумий азотнинг ва оқсил сўставига кирмаган азот-
 нинг миқдорини билиб, оқсиллар сўставига кирган азотнинг миқдори
 аниқланади.

Умумий азот - оқсиллар сўставига кирмаган азот - оқсиллар
 сўставига кирган азот.

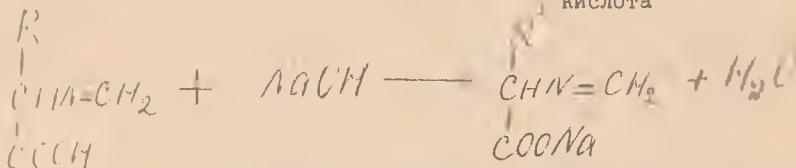
Аминогруппалардаги азотни формальдегид билан титрлаб аниқлаш. Полипептидлар, оксиллар ва аминокислоталардаги эркин аминогруппаларнинг азоти амин азоти деб аталади. Оксил молекулаларининг структурасини ва таркибини, шунингдек, уларнинг гидролизланиш шартлари ҳосил булган маҳсулотларини урганишда, аминогруппа азотларининг миқдори катта аҳамиятга эга. Амин азотларининг миқдорини қараб протеолитик фермент /катепсин/ларнинг активлигини ва оксилларнинг гидролизланиш тезлигини урганиш мумкин. Биологик материалларда аминогруппаларни аниқлаш организмда аминокислоталар ва оксиллар алмашинувига қўшимча характеристика беради.

Оксиллар ферментлар ёки кислоталар таъсирида парчаланганда аминокислоталар ҳосил булади, аминокислоталар таркибида эркин ҳолда аминогруппалар ва карбоксил группаларни сақлайди. Аминогруппаларнинг миқдорини аниқлаш учун, формальдегид билан аминокислоталардаги эркин аминогруппалар метилинли ҳосиласини пайдо қилиб боғланади, шундан кейин карбоксил группалар ишқор эригмаси билан титрланади:



Аминокислота

Формальдегид

Метилинамино-
кислота

Ишқор билан нейтралланган карбоксил группаларнинг миқдорига қараб, эритмадаги аминокислоталарда қанча миқдорда эркин ҳолда аминогруппалар борлиги ҳисобланади. Кўпчилик аминокислоталарнинг молекуласи эквивалент миқдорда амина ва карбоксил группаларни сақлайди.

Керакли асбоблар: 50 мл ли колбалар; 5, 10, 20 мл ли пипеткалар; 10 мл ли бюретка.

Реактивлар. 1. Глициннинг 0,25 % ли эритмаси. 2. Фенолфталеиннинг 0,1% ли эритмаси. 3. Натрий ишқорининг 0,1 н эритмаси.

4. Формол аралашмаси, бу реактив анализ қилишдан олдин тайёрланади, 6 мл 20% ли формальдегиднинг эритмасига 1-2 томчи фенолфталеин солинади ва 0,1 н натрий ишқорини эритмасидан бюретка орқали томчилаб, аралашма пушти ранг ҳосил қилгунча қўшилади.

Ишнинг бориши. Колбага 3 мл 25% ли глицин эритмаси солиб, 1-2 томчи фенолфталеин қўшилади ва 0,1% ли натрий ишқори эритмаси билан бюретка орқали то пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади. Сўнгра нейтралланган глицин эритмасига пипетка билан 2 мл формол аралашмадан қўшилади (эритманинг пушти ранги йўқолади). 0,1 н натрий ишқорининг эритмаси билан пушти ранг ҳосил булгунча титрланади. Титрлаш учун сарф булган 0,1 н натрий ишқори эритмасининг миқдори белгилаб олинади.

Ҳисоблаш. Мисол учун 3 мл 0,25% ли нейтралланган глицинни титрлаш учун 0,1 н ишқор эритмасидан 0,88 мл сарф булган, ваҳоманки, 1 мл 0,1 н ишқор эритмасига 1,4 мг азот тўғри келади. Шунинг учун титрлаш учун сарф булган 0,1 н ишқор эритмасы миқдорини 1,4 га кўпайтириб, 3 мл 0,25% ли глицин эритмасида қанча миқдор амин азоти борлиги топилади.

$$0,88 \cdot 1,4 = 1,232 \text{ мг ёки } 0,001232 \text{ г}$$

Демак, 3 мл 0,25% ли глицин эритмасида ёки 0,0075 г аминокислотада шунча азот бор. Агар 0,0075 г глицин таркибида 0,001232 г азот бор бўлса, унда 100 г глицинда X г азот бор.

$$\begin{array}{l} \text{Бундан } 0,0075 \text{ г} \text{ ————— } 0,001232 \text{ г} \\ \quad \quad \quad 100 \text{ г} \text{ ————— } X \end{array}$$

$$X = \frac{100 \cdot 0,001232}{0,0075} \cdot 16,4 \text{ г азот}$$

Демак, глицин таркибида 16,4% амин азоти бор.

Шунга ухлаган текширишларни гидролизланган оқсиллар билан ҳам олиб бориш мумкин. Бунинг учун колбага 3 мл 0,25% ли гидролизатдан солиб, юқорида глицин учун ёзилган вариантда иш олиб

бирлади.

Оқсил миқдорини биурет методи билан аниқлаш. Бу метод оқсил-ларни ишқорий шароитда мис сульфат эритмаси билан бинафша ранг қилишга асосланган бўлиб, бу рангнинг интенсивлиги текширилган оқсил таркибидagi пептид боғларнинг миқдорига боғлиқ.

Керакли асбоблар: штатив; пробиркалар; 1, 2, 5, 10 мл ли пипеткалар; спектрофотометр.

Реактивлар. 1. Альбумин оксидининг стандарт эритмаси, бу эритманинг 1 мл да 10 мг альбумин оқсили бор. 2. Биурет реактиви, 0,15 г $\text{H}_2\text{NCO}_2\text{Na}$ ва 0,6 г Na_2CO_3 $4\frac{1}{2}$ O /натрий таърирлат-калий ёки сегнет тузи / тузидан олиб, 50 мл сувда эритилади. Шу эритмага 30 мл 10% ли натрий ишқори эритмасидан солиб яраштирилади ва эритмада қайтар реакциялар кетмаслиги учун 0,1 г H_2O нинг тузидан қўшиб, эритма ҳамми сув қўшиб 100 мл га оқсидилади.

Ишнинг бориши. Калибирланган график тузиш учун альбумин оксидининг стандарт эритмасидан фойдаланилади, бу эритманинг 1 мл 10 мг альбумин оқсилени саклайди. Намуналар қуйидагича тайёрланади.

Пробиркалар номери	Оқсил миқдори, мг	Оқсил эритмасининг ҳажми, мл	H ₂ O, мл
1	2	0,2	1,8
2	4	0,4	1,6
3	6	0,6	1,4
4	8	0,8	1,2
5	10	1,0	1,0
6	12	1,2	0,8
7	16	1,6	0,4
8	20	2,0	-
9	0	-	2,0

Ҳамма пробиркаларга 8 мл дан биурет реактивидан қўшилади ва ҳона ҳароратида қолдирилади. Ўлчашни тўққизинчи пробиркадаги сулга солиштирган ҳолда олиб борилади, бу пробирка оқсиддан бошқа қимми компонентларни саклайди. 30 минутдан кейин спектрофотометр-ца 540 нм тулқин узунлигида ўлчанади. Олинган натижалар

калибирланган график тузишда ишлатилади. График тузиш учун ордината ўқига оптик зичлик катталиги, абцисса ўқига – шу оптик зичликка мос оқсил миқдори қўйилади.

Текширилаётган эритмада оқсил миқдорини аниқлаш учун юқорида курсатилган шароитда иш олиб борилади. Бунинг учун текширилаётган оқсил суултириб, ундан 2 мл олинади, сунгра 8 мл биурет реактивидан қушилади.

Текширилаётган оқсилнинг оптик зичлигига қараб, графикдан оқсил миқдори аниқланади. Оқсил миқдори мг% да ҳисобланади.

Оқсил миқдорини микробиурет методи билан аниқлаш. Реактивлар.

1. $1.1 \cdot 10^{-2} \cdot 5 \text{ мг\%}$ — 2,1% ли эритмаси.

2. КОН — 30% ли эритмаси.

3. А эритма. Бу эритмани тайёрлаш учун $2.1 \cdot 10^{-2} \cdot 5 \text{ мг\%}$ — 2,1%

ли эритмасидан I қисм, 9 қисм КОН – 30% ли эритмасидан олиб араштирилади. Бу эритма фойдаланишдан олдин тайёрланади.

Ишнинг бориши. Текширилаётган объектда оқсил миқдорини аниқлаш учун альбумин оқсилнинг стандарт эритмасидан калибирланган график тузилади. Графикни тузиш учун таркибида 5 мкг – 120 мг оқсил сақлаган – намуналар тайёрланади. Бу намуналарга 2,5 мл дан А эритма қушилади, 30 минутдан кейин спектрофотометрда 310 нм тўлқин узунлигида улчанади.

Текширилаётган эритмада оқсил миқдорини аниқлаш учун шу эритмадан 0,5 мл олиб, унга 2,5 мл А эритмадан қушилади ва юқорида баён қилинган шароитда улчанади.

Оқсил миқдорини Лоури усули билан аниқлаш. Оқсил миқдорини аниқлашда бу метод жуда кенг қулланилади. Бу метод юқори сезгирликка эга бўлиб, намуналардаги 10–100 мкг булган оқсил миқдорини аниқлаш мумкин. Метод ароматик аминокислоталарни Фолин реактиви билан биргаликда биурет реакциясининг пептид боғлари ҳисобига ҳосил қилган рангларга асосланган.

Оқсил миқдорини аниқлаш учун калибирланган график тузилади. Бу графикни тузиш учун альбуминнинг стандарт эритмаларидан фойдаланилади.

Керакли асбоблар: штатив; пробиркалар; 0,1. 1,5 ча 10 мл ли пипеткалар; спектрофотометр.

Реактивлар. 1. Натрий ишқорининг 0,1 н эритмаси. 2. А эритма:

3. 2 мл натрий карбонатнинг 0,1 н ли натрий ишқоридаги эритмаси. 4. 2 мл натрий сульфатнинг 1% ли натрий тартаратдаги эритмаси. Эритмаси тайёрлаш учун 10 г натрий тартарат тузи 300 мл сувда эритилади. Сунгра эритмага 5 г мис сульфат қушилади, бу эритма 1 литрга етказилади. 4. С эритмаси: бу эритмани тайёрлаш учун 40 мл А эритмага 1 мл В эритмадан қушилади. Бу эритма 1 литрга етказилиши олдин тайёрланади. 5. Фолин реактиви ёки Е эритмаси: эритмани тайёрлаш учун 2 литрли колбага 100 г $\text{H}_2\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ тузидан олиб, 700 мл сувда қушилади. Сунгра эритмага 50 мл 85% ли H_3PO_4 кислота ва 100 мл H_2SO_4 кислотадан қушилади. Кейин эса шу аралашма колбада қолгани қайтарувчи совитгичга улаб, 10–12 соат қайнатилади. Қайнатилган булғач 150 г литий сульфат, 50 мл сув, бир неча грамм орми сув қушилади. Ормича бромни чиқариб юбориш учун бу эритма совитгичсиз қайнатилади. Аралашма хона ҳароратигача совиқитиб, филтрланади ва ҳажми сув билан 1 литрга етказилади. Бу эритма реактивининг кислоталиги фенолфалеин ишгирокида 0,1 н эритма ишқори билан титрланиб аниқланади. Реактив қоронги идиш-саноқда сақланади. Оксилни аниқлашда кислоталиги 1 н булган фолин реактиви ишлатилади.

Ишнинг бориши. Калибирланган график тузиш учун альбуминнинг эритмаси тайёрланади. Бунинг учун 4 мг альбуминни 10 мл сувда эритилади, бу эритманинг 0,1 мл 40 мкг оксил миқдорини сақтайди. Пробиргаларга 10–120 мкг альбумин оксили эритмаси солинади. Буни тайёрлаш қуйидаги жадвалда курсатилган.

Милли	Оксил миқдори, мкг	Оксил эритмаси, мл	Дистилланган сув, мл
1	120	0,3	0,1
2	110	0,275	0,125
3	100	0,250	0,150
4	90	0,225	0,175
5	80	0,2	0,2
6	70	0,175	0,225
7	60	0,150	0,250
8	50	0,125	0,275

9	40	0,1	0,3
10	30	0,075	0,325
11	20	0,05	0,35
12	10	0,025	0,375
13	-	-	0,4

Ҳар бир пробиркага 2 мл С эритмасидан солиб, яхшилаб аралаштирилади ва ҳона ҳароратида 10 минут қолдирилади. Сунгра 0,2 мл болич реактивидан қўшилади, пробиркаларни чайқатиб, 30 минут хонада қолдирилади. Кейин спектрофотометрда 750 нм тулқин узунлигида оқсилсиз пробага қарши улчанади. Олинган маълумотлардан график тузилади. Зунинг учун орднат ўқида оптик зичлик катталиги, абсциссе ўқида - оқсил миқдори қўйилади (3-рдем/).

Қон зардобида оқсил миқдорини аниқлаш учун, пробиркага 0,4 мл қон зардобидан (50 эки 100 марта суялтирилган) солиб, юқорида ёзилган шароитда им олиб борилади. Оптик зичлигига қараб графикдан оқсил миқдори аниқланади, кейин суялтирилмаган қон зардобидани оқсил миқдори мр да ҳисобланади.

Аминокислоталарни хроматография методи билан "Силуфол 111/254" пластинкасида аниқлаш. Оқсилларни аминокислота таркибини аниқлаш учун улар аввало гидролизланиши керак. Шундан сунг оқсилларни гидролизатлари хроматография методи билан "Силуфол 11/254" пластинкасида аминокислоталарнинг булинигини урганиб, оқсил таркибида қандай аминкислоталар борлигини билиш мумкин.

Бу метод иккита аралашмайдиган суюқликлар фазасида (ҳаракат қилмайдиган сув фазаси ва ҳаракатланувчи органик эритувчи фазаси) аминокислоталарнинг турлича булиниш даражасига асосланган. Аминокислоталар сувли фазада куп эрса, органик эритувчиларнинг фронтида сезин ҳаракатланади. Барча аминокислоталарнинг силжиш тезлиги турличадир. Силжиш тезлигининг коэффициенти қўйидагича ҳисобланади.

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

Бу ерда: a - аминокислота томизилган жойидан то шу аминокислота ҳосил қилган доғнинг ўртасигача бўлган масофа, см; b - эритманинг фронти, см.

Аминокислоталар бўлингандан кейин пластинка қуритилади ва

нингидрин эритмасидан пуркалади. α - аминокислоталар нингидрин билан ўзаро таъсир этиб оксидлангач, аммиак, альдегид ва карбонил кислотага парчаланadi, нингидрин қайтарилadi. Қайтарилган нингидрин ҳамда нингидриннинг бошқа молекуласи аммиак билан реакцияга киришиб, кук-бинафша рангни берувчи мураккаб муносиқ бирикмасини ҳосил қилади.

Қиракчи асбоблар: хроматография камераси; термостат; 0,1 мл ли нишотка.

Реактивлар. 1. 0,1 М цитрат буфери, pH-5,3 2. 0,1% ли нингидриннинг ацетондаги эритмаси. Хроматография пластинкаларидаги рангнинг тургун булиши учун нингидринчи реактивга қўшим қўйилadi, бу эритма 5 : 1 нисбатда тайёрланади:

1. 1 % ли нингидриннинг ацетондаги эритмасидан - 5 қисм.

2. Кадмий ацетатнинг аралашмаси; бу аралашмани тайёрлаш учун 100 мл сирка кислота ва 100 мл сув олиб аралаштирилади ҳамда бу эритмада 1 г кадмий ацетат эритилади. Сунг ушбу эритмадан - 1 қисм олинади. 3. Оксил гидролизати, 4. "Силуфоль - 254" пластинкаси.

Ишнинг бориши. "Силуфол - 254" пластинкасини пастки қисмидан 2-2,5 см улчаб олиб, оддий қалам билан старт изиғи қилиди. Текширилайётган оксил гидролизатлари бир-биридан 1,5-2 см оралиқ масофада томизилади. Сунг бу оксил гидролизатларидан 10-20 мкл олиб, томчилаб томизилади ва доғ иссиқ ҳаво билан қуритилди - хроматография камерасига вертикал ҳолатда қўйилади. Хроматографияланиш махсус камераларда олиб борилади, эритувчи буферида 0,1 М цитрат буфери pH-5,3 ишлатилади. Эритувчи камераси 1-1,5 см қалинликда қўйилади.

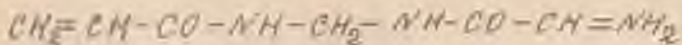
Эритувчи пластинка баланглиғи $4/5$ қисмига кутарилганда, пластинка камерадан олинади ва иссиқ ҳавода қуритилади. Шундан сунг пластинкага эҳтиёткорлик билан 0,1% ли нингидринни ацетондаги эритмасидан пуркалади. Пластинкани 105°C да термостатда 10 минут цивомида қиздирилади. Натижада аминокислоталар кук-бинафша рангида ҳолида қуринади. Сунгра ҳар бир аминокислотани юқорида келтирилган формула ёрдамида силжиш тезлиғи коэффициентини ҳисобланади.

Оксилларни фракцияларини полиакриламид гелида электрофорез усули билан аниқлаш. Оксилларни электрофорези аналитик мақсад-

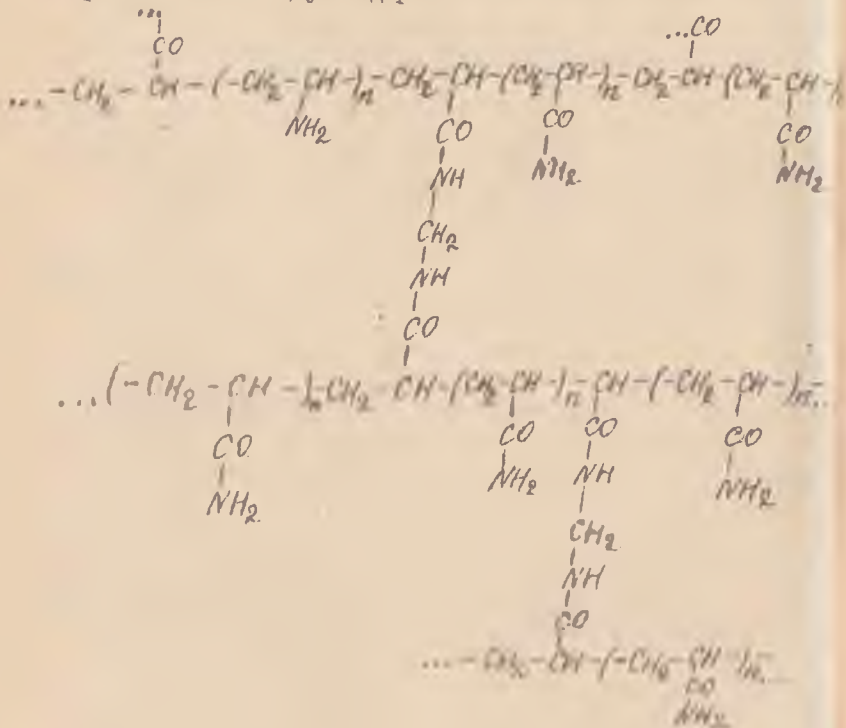
ларда қўлланади. Диск-электрофорез усули - оксилларни маълум концентрацияли ва маълум молекуляр ғалвирли гелдаги булинишидир. Диск-электрофорезни амалга оширишда полиакриламид гели қўлланилади. Полиакриламид гели уч хил қисмдан ташкил топган:

1/ катта ғалвирли гелнинг старт қисми; 2/ катта ғалвирли концентрловчи гел; 3/ кичик ғалвирли бўлувчи гел.

Полиакриламид гели - акриламид $\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CO} - \text{NH}_2$ ва N, N' метиленбисакриламиднинг

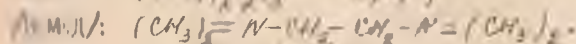


сополимеризацияланиш маҳсулотидир.



Гелнинг ёпишқоқлиги, мустаҳкамлиги ва эластиклиги полиакриламидни полимеризацияланиш ва тикилиш даражасига, шунингдек тикилишда иштирок этган N, N' - метиленбисакриламиднинг миқдорига

лилик. Гел устунча шаклида маҳкамланган шиша трубкаларда полимеризация қилинади. Сополимеризацияланиш реакциясини катализаторнинг сифатида оксидловчи - қайтарилувчи системалар ишлатилади, ҳар бири эркин радикаллар манбаи ҳисобланади, масалан: персульфат аммоний $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ва N,N,N',N' -тетраметилэтилендиамин



Электрод эритмалари, яъни буфер эритмалари, электродлар билан гелларнинг сиртки қисмларида ток утказувчи вазифасини бажарилади, бундай ҳолатларда буферларнинг рН ва таркиби турлича бўлади. Электрофорез усули жуда юқори сезгирликка эга. Бу усул билан қон зардоби оксилларининг 30 дан ортиқ фракцияларини аниқлаш мумкин.

Керакли асбоблар. Электрофорез учун аппарат, электрофорез камераси бориш учун "Реанал" (Венгрия) фирмасини аппаратидан фойдаланилади. Аппарат органик ойнадан ясалган бўлиб, иккита электроднинг резервуарлардан иборат, юқори ва пастки, ҳар бирининг ҳажми 1 л. Иккала резервуарларнинг кўмир электродлари бўлиб, бу электродларга доимий ток уланади. Узгармас ток манбаи сифатида электр прибори ишлатилади.

Резервуарлар. 1. А - эритмаси: 100 мл колбага 48 мл I н HCl, 0,1 г трис ва 0,46 мл ТЕМЕД солинади, эриб булгандан кейин колбага белгисигача сув солинади. Эритма рН 8,9 га тенг бўлиши керак. 2. Б - эритмаси: 100 мл колбага 30,0 г акриламид ва 0,8 г метиленисакриламид солиб, 70-80 мл дистилланган сувда эритилади ва филтрланади, сунгра эритманинг ҳажми дистилланган сув қўшиб 100 мл га етказилади, сўнг яхшилаб аралаштирилади. 3. С-эритмаси: 0,11 г аммоний персульфат 100 мл дистилланган сувда эритилиши, бу эритмани ишлатишдан аввал тайёрланади. 4. Электрод буфер эритмаси: 0,0 г трис ва 28,8 г глицин дистилланган сувда эритилади ва сўнг сув қўшиб 100 мл га етказилади, рН-8,3. Фойдаланишдан олдин 10 марта суулгирилади. 5. Еўёқ - индикаторнинг эритмаси: 0,001 г Еўёқ кўкнинг 0,001% ли дистилланган сувдаги эритмаси. 6. Оксидловчи вазифаларини бажариш учун амидо-шварц реактиви ишлатилади. Амидо-шварц 10 В ни 1% ли эритмаси 0,1 ли сирка кислотасининг эритмасида тайёрланади. 7. Сирка кислотасининг 1% ли эритмаси. 8. Фон зардоби.

Ишнинг бориши. Гелни тайёрлаш. Тоза ва қуруқ трубкаларнинг бир учини лейкопластир ёпиштириб беркитилади ва резинали ҳалқачалар кийгизилади, сунгра штативга урнатилади.

Алоҳида колбага ёки стаканга I қисм А эритмадан, 2 қисм B эритмадан, 4 қисм C эритмадан ва I қисм дистилланган сув олиб аралаштирилади. Тайёрланган аралашмадан ҳар-бир трубкаларга пипетка билан 2,5 мл дан солинади. Гелнинг усти бир хил текис бўлиши ва кислород ўтишининг олдини олиш учун капилляр ёрдамида 0,2-0,3 мл дистилланган сувни аралашма устига қават қилиб қуйилади. Трубкалардаги гелларни полимеризацияланиши учун 30 минут хона ҳароратида ёки термостатда 30°C да 15-20 минут сақланади. Полимеризацияланиш тамом бўлгандан кейин, гел билан қават қилиб қуйилган сув ўртасидаги чегара яхши куринади. Гелнинг юқори қисмидаги сув филтёр коғоздан қирқиб тайёрланган лентачалар билан олинади ва гелнинг юқори қисми электрод буфери билан ювилади.

Анализ қилишга ишлатиладиган оксил эритмаси гел тайёрлаш учун қўлланиладиган буфер эритмасида тайёрланади. Оксил эритмасининг концентрацияси 1-5 мкг/мкл бўлиши керак. Масалан: қон зардобини текшириш учун 3 мкл қон зардоби /оксил миқдори тахминан 200 мкг/ 0,15 мл гел тайёрлаш учун ишлатиладиган буфер эритмаси билан аралаштирилади ва зичлигини ошириш учун концентрацияси 20-25% булғунча сгхароза ёки глицерин қўшилади - ҳар бир трубкага 10-100 мкл тайёрланган оксил эритмасидан солинади. Шундан сунгра трубкалар схиригача электрод буфери билан тўлдирилади.

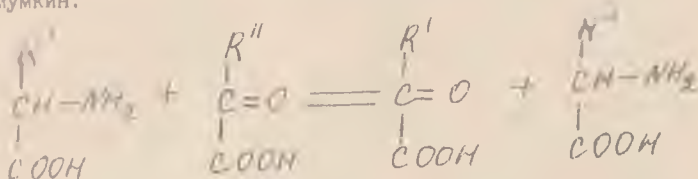
Электрофорезни олиб бориш. Электрофорез ҳолодильникда олиб борилади. Электрод буферлари ишлатишдан аввал + 4°C гача совутилади. Электрофорез аппарати ҳам совутилади. Юқориги идишдаги буфер эритмасининг 500 мл га 1 мл бўёқ-индикатор, 0,001% ли бромфенол кўк эритмасидан қўшилади. Аппаратнинг қопқогини ёпиб, электродлар ўзгармас ток манбаи билан уланади, пастки электрод анод (+), юқори электрод катод (-) бўлиб хизмат қилади.

Ҳар бир трубкага 0,5-1,0 мА ток берилади (20-30 минут) кейин уни ҳар трубка учун 2-5 мА га етказилади. Оксил фракцияларининг булиниши 2-3 соат давом этади, яъни бўёқ трубканинг пастки учига 3 мм қолганда ток манбаи ўчирилади. Электрод буферлари аппарат идишларидан босқича идишларга қуйиб олинади ва трубкалар бураб чиқарилади.

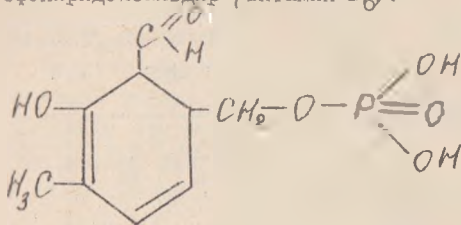
Трубкалардан гелни чиқариш учун шприцга дистилланган сув олиб, шундан билан трубка деворлари ҳамда гел орасига юборилади ва аста-asten гел чиқариб олинади. Геллардаги оксил эсналарини бўяш учун шприцга шприц 10 В эритмаси пробиркаларга солинади ва 10-15 минутга қўйиб қўйилади. Шундан кейин бошқа идишга қўйилади. Геллар 7% ли сирка кислотасининг эритмаси билан ювилади. Гелнинг оксилсиз қисмларини рангсизлантириш учун кўп марта шу эритма билан ювиш лозим. Рангсизлантириш жараёни 10-12 соат давом этади. Сўнгра оксил фракцияларда бор зоналар рангининг интенсивлигига ва уларнинг жойланишига қараб электрофореграммалар чизилади ($A=расм$).

Переаминланиш реакцияси

Аминогруппани аминокислоталардан эркин аммиак шаклида ажратиб олишдан α - кетокислотага қўчирилиши переаминланиш ёки трансаминланиш деб аталади. Реакцияни умумий шаклда қуйидагича кўрсатиш мумкин.



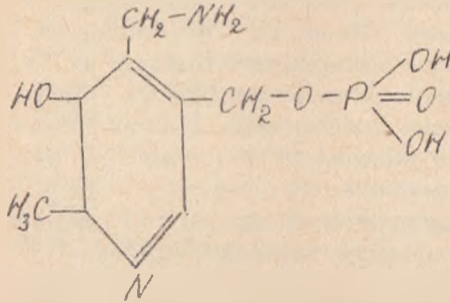
Переаминланиш жараёни барча тўқималарда кенг тарқалган ферментлар - аминотрансферазалар иштирокида боради. Аминотрансферазалар пиридоксальфосфат протеинлар бўлиб, уларнинг коферменти оралиқ реакцияда аминокислотадан аминогруппани кетокислотага қўчираётган фосфопиридоксальдир (витамин В₆).



Пиридоксальфосфат

Переаминланиш реакцияси давомида пиридоксальфосфат пиридоксальфосфатга айланади, сўнгра аминогруппа α - кетокислотага

кучирилади ва яна пиридоксальфосфатга айланади.



Пиридоксаминфосфат

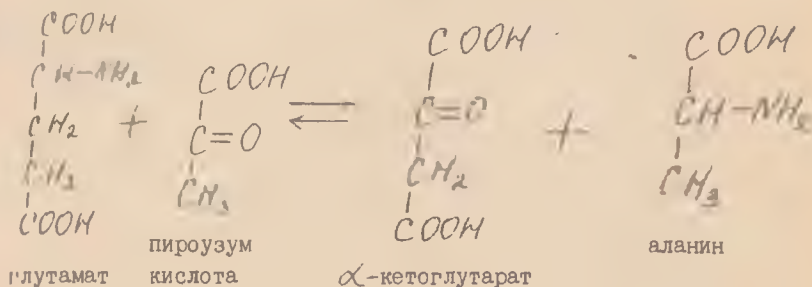
Переаминланиш реакцияси туқималарда кенг тарқалган. Барча аминокислоталар переаминланиш реакциясида иштирок этади. Глютамат, аспарагин, аланин билан бу реакция тез утади. Глицин, валин, лейцин, изолейцин, гистидин, триптофан, фенилаланин ва тирозин қийинроқ переаминланади.

Переаминланиш реакцияси азот алмашишувида алоҳида аҳамиятга эга. Биринчидан бу реакция натижасида α -кетокислоталардан янги аминокислоталар синтезланади. Иккинчидан, переаминланиш реакцияси аминокислоталар парчаланишидаги усуллардан ҳисобланади.

Фермент препаратини тайёрлаш + 4°C да олиб борилади. Фермент препаратини олиш учун бирорта ҳайвон суйилиб, скелет мускули кесиб олинади ва қайти билан майдаланади. Ҳосил булган туқима бўтқасини гомогенизатор стаканига солиб, 1:5 нисбатда 0,1% ли KHCO_3 эритмасидан қушиб 2 минут давомида гомогенизатор билан майдаланади. Гомогенат тўрт қават дока орқали филтрланади ва у тажриба учун ишлатилади. Тажрибани олиб бориш учун пробиркаларга қуйидаги схемада реакция аралашмалари тайёрланади:

Пробиркаларнинг номери	CH_2COOH ни KHCO_3 даги эритмаси, мл	Глютамин кислота, мл	Пирурузум кислота, мл	H_2O , мл	Гомогенат, мл
1	0,5	0,5	0,5	-	1,5
2	0,5	0,5	0,5	-	1,5
3	0,5	-	0,5	0,5	1,5

Переаминланиш барча аминокислоталарнинг аминокруппасини α -кетоглутарат кислотага кучириш орқали уларнинг дезаминланишини таъминлайди. Ҳосил бўлган глутамат кислота глутаматдегидрогеназа таъсирида аминокруппасини йуқотади, NH_3 ни ажратади. Бу реакция қайтар бўлиб, қайтадан α -кетоглутарат кислотага айланади. Мускулдаги фермент иштирокида, глутамат ва пирозузум кислота мисолида переаминланиш жараёни билан танишиш мумкин.



Переаминланиш реакциясини қандай борганлигини билиш учун пирозузум кислотасининг переаминланиш жараёни тўхтатилади. Натижада қолган пирозузум кислотаси салицил альдегиди билан тўқ сарик рангли ҳосил қилади. Переаминланиш реакциясини тўхтатиш учун моноид сирка кислотаси иштирокида инкубация қилинади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; сув ҳаммоми; шпатель; гомогенизатор; 1,2 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. Калий бикарбонатнинг KHCO_3 0,1% ва 2% ли эритмалари. 2. Глютамин кислота эритмаси 6 мг глютамин кислота 1 мл 2% ли KHCO_3 эритмасида эритилади. 3. Пирозузум кислота эритмаси, 4,6 мг пирозузум кислотаси 1 мл дистилланган сувда эритилади. 4. Моноид сирка кислотасининг калий бикарбонатдаги эритмаси, 0,002 M CH_2ICOOH эритмаси 0,1% ли KHCO_3 эритмасида тайёрланади. 5. Калий ишқорининг туйинган эритмаси. 6. Салицил альдегидининг спиртдаги 2% ли эритмаси. 7. Учхлорсирка кислотасининг 10% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Бу ишда фермент манбаи сифатида мускул туқимасининг гомогенати ишлатилади. Гомогенат филтрати юқорида баён қилингандек тайёрланади. Биринчи пробиркага 1 мл учхлорсирка кислотаси эритмасидан солинади, сунгра туқима гомогенати

филтратидан кушилади. Бу кислота таъсирида ферментатив реакция булмайди. Иккинчи ва учинчи пробиркаларга туқима гомогенатидан кушиб, аралаштирилади ва $37-38^{\circ}\text{C}$ да инкубация қилинади. Инкубация 90 минут давом этади, ҳар бир 5-10 минутда чайқатиб турилади.

Инкубациядан кейин пробиркаларга 1 мл дан учхлорсирка кислотата эритмасидан кушиб, ферментатив реакция тухтатилади ва 10 минутдан кейин ҳамма пробиркалардаги аралашма филтратланади. Филтрат салицил альдегиди билан пироузум кислотасини аниқлашга ишлатилади. **Бунинг учун учта пробирка олиб, 1-номери пробиркага аввалги биринчи пробиркадаги филтратдан 1 мл, 2-номери пробиркага иккинчи пробиркадаги филтратдан, 3-номери пробиркага учинчи пробиркадаги филтратдан 1 мл солинади.** Сунгра ҳамма пробиркаларга 1 мл дан KOH нинг тўйинган эритмасидан ва 0,5 мл 2% ли салицил альдегидининг эритмасидан солинади. Пробиркалардаги сувиликлар чайқатиб аралаштирилади. Шундан кейин пробиркаларни 10 минут $37-38^{\circ}\text{C}$ ли сув ҳаммомида инкубация қилинади. Ҳамма пробиркалардаги ҳосил булган ранглар солиштирилади ва бу сздаги рангларга қараб преаминланиш жараёни қандай борганлигини билиш мумкин. Олинган натижалардан хулоса ёзилади.

Оқсилларни пепсин ферменти таъсирида парчаланиши

Пепсин – оқсилларнинг меъдада узағарисига сабаб буладиган энг муҳим протеслитик фермент булиб, меъда ширасида учрайди. Меъда шиллиқ пардасининг ҳужайралари пепсиноген ишлаб чиқаради, пепсиноген меъда ширасидаги хлорид кислота таъсирида актив протеолитик фермент – пепсинга айланади. Пепсин учун оптимал водород ионлари концентрацияси $\text{pH} - 1,5-2,5$ га тенг булади. Кислотали муҳитда $\text{pH} - 1,5-2,5$ у оқсилларни гидролитик пептонларгача парчалайди. Пепсин оқсил молекуласининг ичида, урталарида жойлашган пептид боғларини узади. Пепсин, асосан ароматик аминокислоталарнинг аминокруппалари ҳосил қилган боғларни ва Ала-Ала, Ала-Сер каби пептид боғларни узади.

Меъда шиллиқ пардасининг ҳужайралари пепсиноген ишлаб чиқаради, пепсиногеннинг физиологик шароитларда пепсинга айланиши автокаталик жараёндир. Пепсиногеннинг молекула оғирлиги 425°C га, пепсинники эса 34500 га тенг. Активланиш жараёнида пепсиногендан 6 та полипептид ажралиб чиқади.

қилиш, хлорид кислотаси пепсинни таъсир қилиши учун ошқорнинг иретилади. Ундан ташқари бу кислота таъсирида оқсилларнинг, аминотурларнинг учрайдиган, натижада уларнинг ҳазм бўлиши осонлашадиган оқсилларнинг пепсин таъсирида ҳазм бўлиши фибрин мисолида таъсир қилиши пепсин таъсирида сувда эрийдиган пептон ҳосил бўлади.

Таъсир қилиши таъсир пробиркалари билан штив; сув қилиши таъсир қилиши.

1. Фибрин. 2. 0,1% ли пепсиннинг 0,2% ли хлорид кислотаси эритмасидан. 3. 0,2% ли хлорид кислотаси эритмаси, 4. 10% ли натрий ишқорининг эритмаси. 5. Мис сульфатнинг 1% ли эритмаси.

Таъсир қилиши. Туртта пробирка олиб, биринчисига 4 мл хлорид кислотасидан, иккинчисига 4 мл пепсиннинг хлорид кислотасидан, учинчи пробиркага сода билан нейтралланган пепсиннинг хлорид кислотасидан 4 мл, туртинчи пробиркага хлорид кислотасидан 4 мл солинадиган 1 мл солинадиган.

Ҳар бир пробиркага фибриннинг кичик-кичик булакларидан солинадиган ҳамма пробиркалар бир вақтда 37-40°C ли сув ҳаммомига қўйилганда 10 минутдан кейин реакциялар натижаси текширилади. Биринчи пробиркада фибрин хлорид кислотаси таъсирида шишиб кетганлиги кўрилади, иккинчи пробиркада пепсиннинг хлорид кислотасидан таъсирида фибрин инкубациядан кейин эриб кетганлигини кўрилади. Учинчи пробиркадаги фибрин узғаришсиз қолади, чунки пепсин нейтрал муҳитда актив ҳолатда бўлмайди, Туртинчи пробиркадаги фибрин хлорид кислотаси таъсирида букиб қолади, чунки қайнатилган пепсин уз биологик ҳолатини йўқотади.

Таъсир қилиши пробиркалардаги суяқликлар филтрланади, ҳар бир филтратнинг таъсир қилиши таъсир қилиши бажарилди ва олинган маълумотлар таъсир қилиши қилинди.

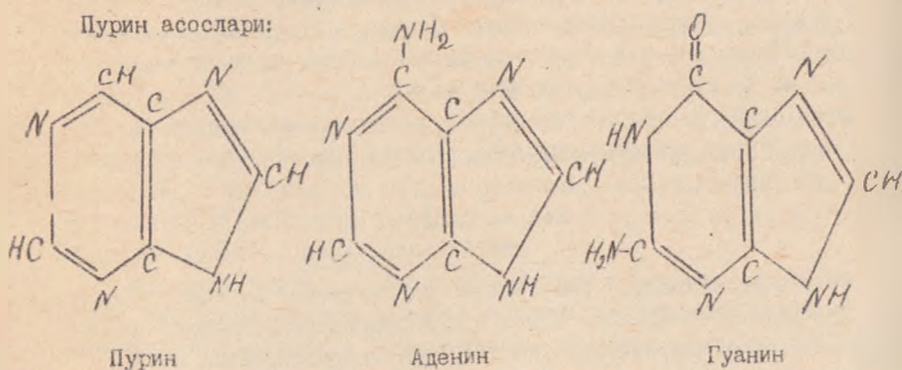
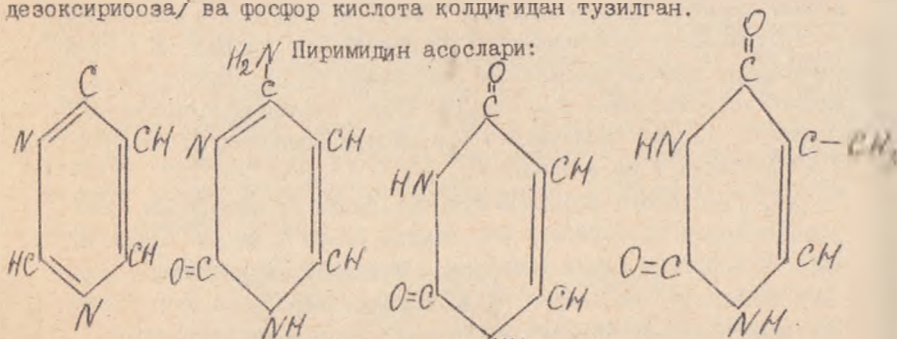
IV боб. Нуклеин кислоталар

Нуклеин кислоталар - ДНК (дезоксирибонуклеин) ва РНК (рибонуклеин) кислоталаридир. Организмда ҳамма ирсий белгиларни сақлашда ва оқшорнинг асосий роль уйнайди. Дезоксирибонуклеин кислота (хитинлар ва усимликлар)да асосан гидроца жойлашади.

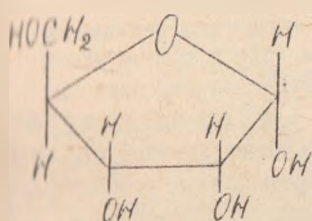
Митохондрияларда ҳам озроқ ДНК мавжуд. Эукариотларнинг ядросида бир неча пикограмм / μg / ДНК бор: сут эмизувчиларда 6 пг, қушларда 2 пг.

Рибонуклеин кислоталарнинг уч тури бор: информатсион РНК (/и-РНК/), транспорт РНК (/т-РНК/), рибосомал РНК (/р-РНК/). Булар бир-биридан таркиби, размери, функционал хоссалари ва хужайрадаги жойланишига қараб фарқ қилади. РНК асосан хужайра цитоплазмасида, камроқ микдорда ядрога учрайди. Хужайрада РНКнинг бажарадиган функцияси оксил молекулалари синтезида катнашишдан иборат.

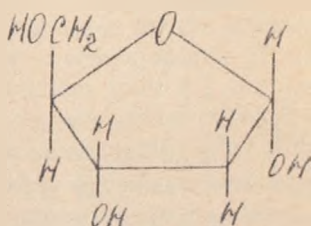
Нуклеин кислоталар /полинуклеотидлар/ - нуклеотидлардан тузилган полимерлардир. Нуклеотидлар уч компонентдан: азот асослари /пурин ёки пиримидин/, углевод компонентлари - пентоза /рибоза ёки дезоксирибоза/ ва фосфор кислота қолдигидан тузилган.



Таркибида қандай пентоза борлиғига қараб, нуклеин кислоталар иккита катта гурпуага: РНК ва ДНК га бўлинади. РНК молекуласи таркибида рибоза, ДНК молекуласида эса дезоксирибоза бор.



Д = рибоза

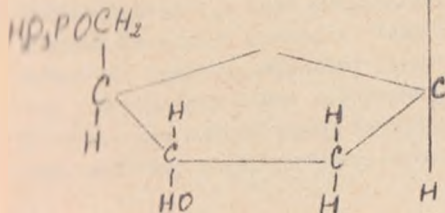
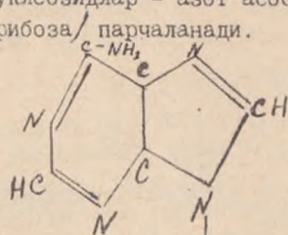


Д=2 = дезоксирибоза

РНК таркибида азот асосларидан аденин, гуанин, цитозин ва тимин, углевод компонентларидан рибоза мавжуд. ДНК таркибида эса азот асосларидан – аденин, гуанин, цитозин ва тимин, углевод компонентларидан дезоксирибоза учрайди. ДНК – икки спираль занжирли полинуклеотидлардан, РНК – бир спиралли занжирдан иборат.

Нуклеотидлар таркибида аденин булса, аденилат, гуанин-гуанилат, цитозин – цитодилат кислотаси деб аталади.

Нуклеин кислоталарнинг узи гидролизланганда бирин-кетин нуклеотидларга, нуклеотидлар эса уз навбатида нуклеозидларга ва фосфат кислотага, нуклеозидлар – азот асосларига ва углеводларга (рибоза, дезоксирибоза) парчаланadi.



Хайвон тўқимасидаги нуклеин кислоталарнинг
микдорини аниқлаш

Ушбу сурт ва пиримидин асослари ультрабинафша нурларнинг 260-280 нм тўлқин узунлигидаги қисмини этиштира асосланган. Хайвон тўқимасидаги умумий нуклеин кислоталарнинг микдорини аниқлаш маъносида А.С. Сингхга яратган бўлиб, кислотала эрувчи нуклеотидлар соғутилган 0,2 н хлор кислотаси билан ажратиб олинади; нуклеин кислоталарнинг экстракцияси ва гидролизи 0,5 н хлор кислотаси билан 100°C да олиб борилади, экстрактларнинг оптик зичлиги 270 ва 290 нм тўлқин узунлигида аниқланади ва формула бўйича ҳисобланади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; илпёткалар; центрифуга; спектрофотометр; сув ҳаммоми.

Реактивлар. I. Перхлорат кислотасининг 0,2 н ва 0,5 н эритмаси.

Ишнинг бориши. 100-200 мг тўқима тортиб, майдаланади ва центрифуга стаканига солиб, унга 5-10 мл соғутилган 0,2 н хлор кислотаси эритмасидан қўшилади. Стакэнлардаги суьқлик яхшилаб аралаштирилади, сўнгра 3000 айл/мин тезлигида 5 минут центрифуга қилинади. Центрифугат ташлаб юборилади, чўкмага эса 5-10 мл 0,5 н HClO₄ кислотасини эритмасидан қўшилади ва пробиркалар қайнаб турган сув ҳаммомига 20 минут қўйилади.

Гидролизат соғутилиб, центрифуга қилинади ҳамда спектрофотометрда 270 ва 290 нм тўлқин узунлигида контролб 0,5 н HClO₄ эритмасига нисбатан ўлчанади, оптик зичлиги аниқланади. I мл текширилайтган эритманинг нуклеин кислотасидаги фосфор микдори мкг да ҳисобланади.

$$C_{\text{мкг}} = \frac{D_{270} - D_{290}}{0,19}$$

Бунга 0,19-I мл эритма нуклеин кислота таркибидаги фосфорнинг /I мкг/ оптик зичлик кўрсаткичи.

Нуклеин кислоталарнинг миқдори уларнинг таркибидаги фосфорга ҳисобланади ва бунда уртача ҳисоблаш коэффициентини 10,3 қўл-

$$C_{\text{мкг}} \text{ НК} = C_{\text{мкг}} \frac{P}{P} \cdot 10,3$$

10,3 - уртача ҳисоблаш коэффициентини

ДНКнинг сифат реакцияси

Дезоксирибозага хос характерли сифат реакцияси натижасида ДНК ниқлланади. Бу реакция учун кўпинча дифениламин N, N' -ди- N,N' қўлланади. Дифениламин дезоксирибоза ва ДНК билан кук ранг-да бирикма ҳосил қилади. Рибоза ва РНК дифениламин билан яшил рангга киришади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; ҳаммоми.

Реактивлар. 1. Дифениламин реактиви: 1 г дифениламин 100 мл 10% нуклеин кислотасида эритилади, эритмага 2,75 мл концентранган сульфат кислотаси солинади. 2. Натрий ишқорининг 0,4% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. ДНК нинг чуқмасидан сзгина пробиркага солинади (10% чуқмасини олиш юқорида изоҳланган) ва 1 мл натрий ишқори эритмасини қўшиб эритилади. Тенг ҳажмда дифениламин реактивидан то 10 мл эритма эритунча қушилади ва 15-20 минут қайнаб турган сув ҳаммомига қўйилади. Натижада кук ранг ҳосил бўлади. Нуклеин кислоталарнинг гидролизи ва гидролиз маҳсулотларининг рангли реакциялари нуклео-протеинлар булимида тула кўрсатилган.

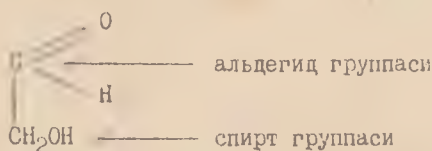
У боб. Углеводлар

Углеводлар ўсимлик ва ҳайвон организмнинг муҳим таркибий қисмларидан бири ҳисобланади. Одам ва ҳайвонлар организмда углеводлар миқдори 2% булиб, улар жуда кўп функцияларни бажаради:

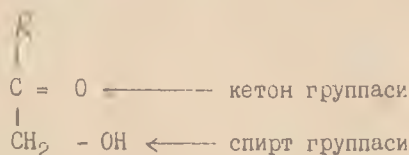
1. Углеводлар организм учун асосий энергиядир. 1 г углеводнинг оксидланишида 4,1 ккал энергия ажралиб чиқади. 2. Углеводлар осмосик функцияни бажаради. Улар ҳужайралар мембранаси, органицидлари ва нуклеопротеинлар, гликопротеинлар, гликолипидлар, бир қатор витаминлар ҳамда коферментлар таркибига киради. Углеводлар ўсимликларда асосан таянч вазифасини ўтайди. 3. Углеводлар запас моддалар сифатида катта аҳамиятга эга. Ўсимликлар крахмал,

ҳайвонларда гликоген углеводларнинг запас шакли ҳисобланади, зарур бўлганда сарф қилиб турилади. Жигар ва мускуллар асосан гликоген-депозитир. 4. Ҳимоя функцияси, бу функцияни мукополисахаридларнинг асосий вакиллари: гиалуронат кислота, гепарин бажаради. Гиалуронат кислота туқималар ва ҳужайралараро бириктирувчи туқима таркибига кириб, уларни ёпиштириб туради. У туқималарга турли хил шикаст етказувчи моддаларнинг киришига тусқинлик қилади. Гепарин ҳайвон туқималарида (жигар, талоқ ва бошқалар) қон ивишининг кучли ингибиторидир.

Углеводлар химиявий тузилишига кура куп атомли спиртларнинг альдегиди ёки кетони ҳисобланади.



Кетонспирт тузилишида кетон ва спирт группаси булади:



Углеводлар тузилишига ва хусусиятларига кура учта группага моносахаридлар, олигосахаридлар ва полисахаридларга булинади.

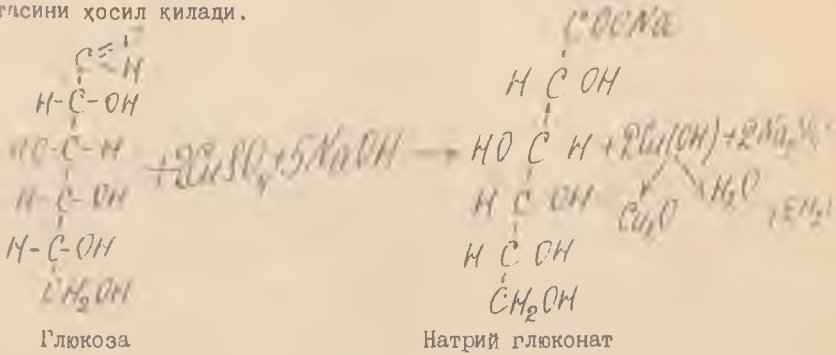
Моносахаридлар

Моносахаридлар таркибидаги углерод атоми сонига қараб, триоза, тетроза, пентоза, гексоза, гептоза ва бошқаларга булинади. Буларнинг умумий формуласи - $C_nH_{2n}O_n$. Моносахаридлар қайтарувчанлик хусусиятини намоён қилади, чунки уларнинг таркибида карбонил группаси бор.

Моносахаридларнинг қайтарувчанлик хоссалари. Ҳамма моносахаридлар ишқорий шароитда мис, кумуш ва бошқа металл тузлари ионларини қайтариш хоссаларини намоён қилади. Бу реакцияда моносахаридлар молекуласидаги альдегид группаси ҳисобига намоён бўлиб, бу группа осон оксидланиб, карбоксил группасини ҳосил қилади, металл ион-

ами эса қайтариледи.

Громмер реакцияси. Глюкоза ишқорий шароитда мис сульфат тузи билан реакцияга киришиб, мис оксидигача қайтаради ва ўзи гљуконат ионларини ҳосил қилади.

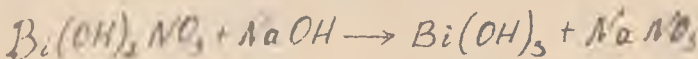


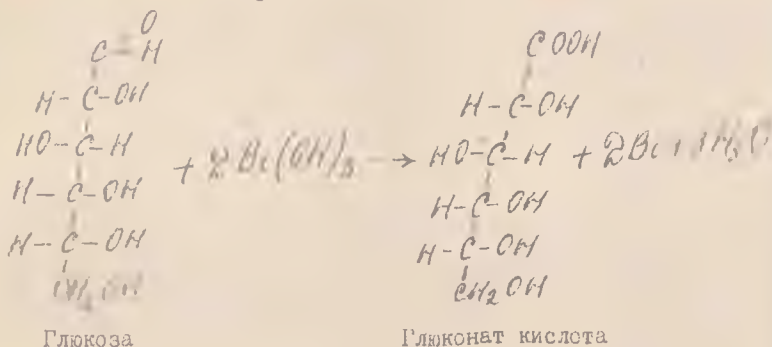
Қыракли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1 ва 2 мл ли; шпательлар, спирт лампаси.

Реактивлар. 1. Гљукозанинг 1% ли эритмаси. 2. Натрий ишқорининг 20% ли эритмаси. 3. Мис сульфатнинг 5% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага гљукозанинг эритмасидан 3-4 мл солини ва 1-2 мл 20% ли натрий ишқорининг эритмасидан ва 2-3 томчи 5% ли мис сульфат эритмасидан қушилади. Пробирка чайқатилади ва эҳтиятлик билан қайнатилади. Дастлаб бошланишида мис гидроксидининг $\text{Cu}(\text{OH})_2$ чуқмаси, сунгра Cu_2O оксидининг қизил чуқмаси ҳосил бўлади.

Висмут тузлари билан реакцияси. Гљукоза ишқорий шароитда висмут гидроксидини то металл ҳолатигача ёки унинг оксидигача қайтаради, реакция натижасида суюқлик қора рангни ҳосил қилади.

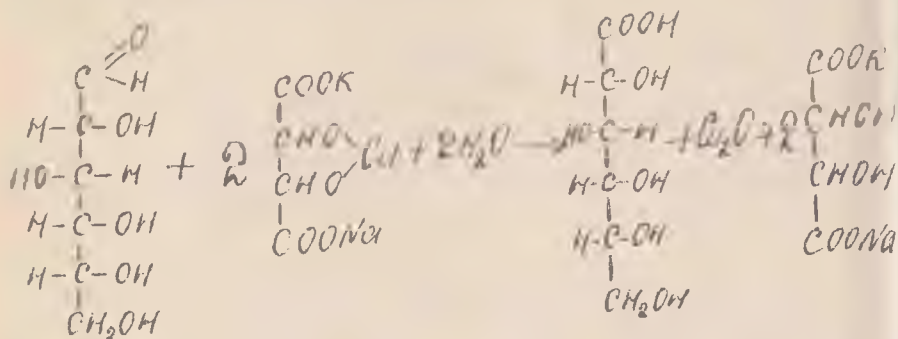




Реактивлар. 1. Глюкозанинг 1% ли эритмасы, 2. Ниландер реактиви, 2 г висмут нитрат ва 4 г калий-натрий-тартарат (сегнет) тузи 100 мл 1% натрий ишқоризинг эритмасида эритилади. Висмут тузини яхши эритиш учун сув ҳаммомида қайнатилади. Совуғандан кейин филтрланади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл глюкоза эритмасидан солиб, унга 1 мл Ниландер реактивидан қушилади ва 2-3 минут қайнатилади. Пробиркада висмутни қора чуқмаси ҳосил булади.

Фелинг реактиви билан реакцияси. Моносахаридлар фелинг реактиви билан қайнатилганда, бу реактив мис оксидигача қайтарилади ва моносахаридлар глюконат кислотасига оксидланади.

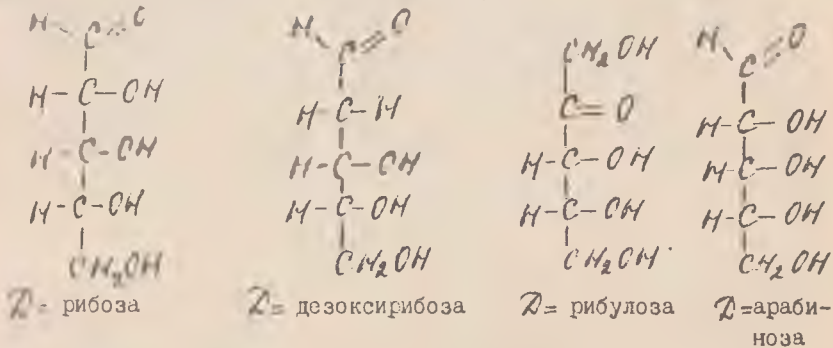


Реактивлар: 1. Глюкозанинг 1% ли эритмасы, 2. Фелинг реактиви: Бу реактив иккита эритмадан тайёрланади. 1. 500 мл қолбада 34,64 г

миг сульфат ($\text{CaSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) эритилади ва белгисигача сув қу-
шилади. 2. 500 мл колбага 173 г сегнет тузини солиб, 200–250 мл
сунгра эритилади ва 100 мл 50% ли натрий ишқори қушилади, сунгра
пентозанинг белгисигача сув қушилади. Реактив ишлатишдан олдин
тегили ҳажмда олиб, аралаштирилади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 3–4 мл 1% ли глюкоза эритмасидан
олинди ва тенг ҳажмда Фелинг реактивидан қушиб, қайнатилади,
тегили ҳажмда мис оксидининг кизил чуқмаси ҳосил булади.

Пентозалар учун реакция. Пентозалар усимлик ва ҳайвон туқима-
лари учиради. Улар ДНК ва РНК, купгина коферментлар МНД , НАДФ ,
 НАД таркибига киради. Бу группа углеводларга рибоза ва десоксири-
боза, ксилоза, арабиноза, рибулоза киради.



Пентозалар учун характерли реакция шундан иборатки, улар кон-
центрланган кислоталар билан қиздирилганда сувни йуқотади ва фур-
фуролга айланади, у ордин билан реакцияга киришиб, яшил ранг, ани-
лин билан реакцияга киришиб, кизил ранг беради.

Пентозаларнинг анилин билан реакцияси. Реактивлар: 1. Рибоза,
арисинозанинг 1–2% ли эритмаси. 2. Анилин ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NH}_2$), 3. Сир-
ка кислотаси. 4. Концентрланган хлорид кислотаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл пентоза эритмаси ва шунча ҳажм-
да концентрланган хлорид кислотасидан солинади, сунгра эҳтиётлик
билан қайнагунча қиздирилади. Совуғаъдан кейин унга 1 мл анилин ва
1 мл сирка кислотаси қушилади. Эритма қизил рангга киради.

Пентозаларни ордин билан реакцияси. Реактивлар: 1. Пентоза-
ларнинг 1–2% ли эритмаси. Ордин реактиви: 0,25 г ординни 125 мл
10% хлорид кислотасида эритилади ва шу эритмага 1 мл 10% ли теми,

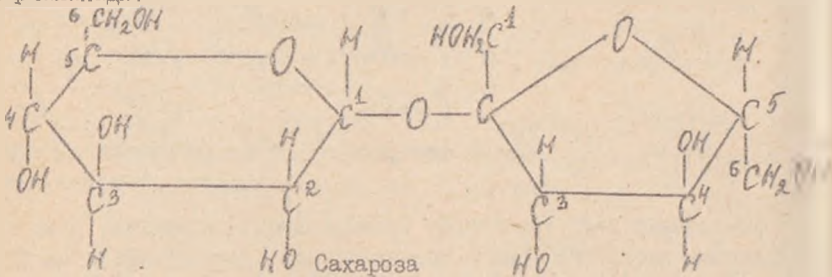
хлорид эритмасидан қушилади. Эритма қоронги ойнали идишда сақланади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 1-2 мл ордин реактиви солиб, қайнагунча қиздирилади ва 4-5 томчи пентоза эритмаси қушилади, натижада кук яшил ранг пайдо бўлади.

Дисахаридлар

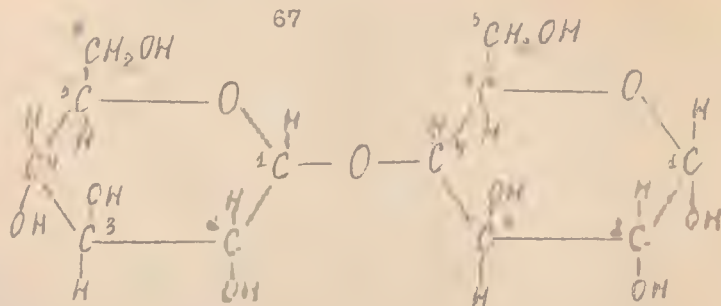
Дисахаридлар иккита моносахарид молекуласидан бир молекула сув ажралиб чиқиши натижасида ҳосил бўлади. Дисахаридларнинг умумий формуласи - $C_{12}H_{22}O_{11}$. Дисахаридларга: сахароза, лактоза, мальтоза, целлобиоза киради.

Сахароза молекуласининг ташкил қилган моносахаридлар ўзаро 1,2 бог орқали бириккан. Унда эркин гликозид гидроксил группа йуқ. Шунинг учун у Троммер реакциясини ҳосил қилмайди. Фелинг суюқлигини қайтармайди. Сахароза кислота билан қиздирилса ёки унга сахараза ферменти таъсир эттирилса, глюкоза ва фруктозагача парчаланаяди.



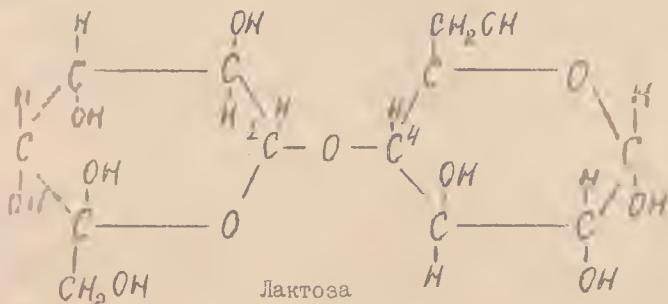
Мальтоза. Парчаланганда икки молекула α -D-глюкопираноза ҳосил бўлади. Улар 1:4 бог билан бирикканидан битта глюкоза қолдигида гликозид гидроксил сақлаган булгани учун, мальтоза қайтариш қобилиятига эга. Мальтоза табиатда эркин ҳолда булмайди, у крахмал ва гликоген тузилишидаги асосий элемент бўлиб, уларнинг гидролитик парчланиши натижасида ошқозон-ичак йулида ҳосил бўлади.

Мальтоза фермент иштирокида гидролизланиб, икки молекула глюкоза ҳосил қилади. Глюкозанинг гидроксил группаси очик булганлиги сабабли мальтоза қайтарувчанлик хусусиятига эга.



Мальтоза

Лактоза, сут шакари - дисахарид бир молекула D -глюкоза ва бир молекула D -галактозадан тузилган булиб, галактозанинг биринчи углерод атоми билан глюкозанинг тўртинчи углерод атоми бириккан. Лактоза таркибидаги глюкозада эркин глюкозид гидроксил булганлигидан қайтарувчанлик хусусиятига эга.



Лактоза

ДИСАХАРИДЛАРНИНГ ҚАЙТАРУВЧАНЛИК ХУСУСИЯТИНИ

ТЕЖШИРИШ

Реактивлар. 1. Мальтозанинг 2% ли эритмаси. 2. Лактозанинг 2% ли эритмаси. 3. Сахарозанинг 2% ли эритмаси. 4. Натрий ишқори-нинг 10% ли эритмаси. 5. Мис сульфатнинг 5% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Учта пробирка олиб, 3-4 мл мальтоза, лактоза, сахарозанинг эритмасидан болинади ва Троммер реакцияси бажарилади. Мальтоза ва лактоза қайтарувчанлик хусусиятларини намоён қилади, сахароза пробиркаларда қизил чуқма ҳосил булади. Сахароза юқорида айтиб ўтилгандай, бу хусусиятни намоён қила олмайди, шунинг учун Троммер реакциясини ҳосил қилмайди.

Сахарозани кобальт йод билан реакцияс. Сахароза ишқорий шароитда кобальт иони $[Co^{2+}]$ билан комплекс ҳосил қилиб бинафша ранг ҳосил қилади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1,2 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. Сахарозанинг 1% ли эритмаси. 2. Кобальт сульфатнинг 2% ли эритмаси. 3. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2-3 мл сахароза эритмасидан солинади ва 1 мл ишқор эритмасидан, бир неча томчи кобальт сульфат эритмасидан қўшилади, реакция натижасида бинафша ранг ҳосил бўлади.

Сахароза инверсияси. Реактивлар. 1. Сахарозанинг 1-2% ли эритмаси. 2. Концентрланган хлорид кислота. 3. Натрий ишқорининг 20% ли эритмаси. 4. Мис сульфатнинг 5% ли эритмаси. 5. Натрий карбонатнинг 10% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага 3-4 мл сахароза эритмаси ва 3-4 томчи хлорид кислотаси қўшилади ҳамда 10-15 минут қайнатиб /сув ҳам-жомидда/ сунгра пробирка совутилади ва 1-2 мл натрий карбонат эритмасидан қўшиб нейтралланади. Кейин Громмер реакцияси бажарилади. Сахарозанинг инверсия маҳсулотлари глюкоза ва фруктозадан иборат бўлиб, булар қайтарувчанлик хусусиятига эга.

Полисахаридлар

Полисахаридлар яқори молекуляр бирикмалар бўлиб, кислоталар ёки ферментлар билан гидролизланганда олигосахаридлар билан моносахаридларга парчаланadi. Ҳар бир моносахарид қолциги ёнидаги моносахарид билан ўзаро гликозид боғлар билан бириккан. Шунинг учун уларни полигликозидлар ҳам деб аталади. Бир хил моносахаридлардан ташкил топган полисахаридлар гомополисахаридлар дейилади. Гомополисахаридлар таркибидаги моносахаридлар қолдиқларининг табиатига қараб ҳар хил бўлади /крахмал, гликоген, целлюлоза/. Агар полисахаридлар таркибида турли моносахаридлар бўлса, улар гетерополисахаридлар дейилади. Гетерополисахаридлар таркибида баъзан бошқа мод-далар /аминокислота, ёғ, оқсил ва ҳоказо/ ҳам учрайди. Гетерополисахаридларга мукополисахаридлар, гемицеллюлозалар ва бошқалар киради.

Крахмалнинг йод билан реакцияси. Крахмал учун характерли реакция - йодни калий йоддаги эритмаси билан кук ранг ҳосил

Крахмални йодли реакцияси - мураккаб жараёндр, нати-
 ҳосил бўлаётган ранг крахмалнинг тузилишига боғлиқ. Крахмал
 кил полисахарид - амилоза ва амилопектин аралашмасидан ибо-
 Амиллоза молекуласи 1000-6000 - D = глюкоза қолдиқларидан
 бўлиб, уларнинг 1,4 = глюкозид боғ оркали боғланган мо-
 тармоқланмаган формага эга. Тула гидролизланганда D -
 молекулаларига парчаланadi. Амиллоза сувда эрийди ва йод
 таъсирида тўқ кук ранғни беради. Амиллопектин ҳам жуда кук - D =
 қолдиқларидан ташкил топган булиб, амилозага ухшаб 1,4-
 иқ боғлари билан боғланган. Аммо амилопектин занжири жуда
 тармоқланган бўлиб, тармоқланган қисми 1,6 = глюкозид боғлари би-
 ни боғланган. Амиллопектин ҳам тула гидролизланганда D - глюко-
 молекулаларига парчаланadi. Амиллопектин сувда эримайди, у сув-
 ишди ва клейстер ҳосил қилади. Йод таъсирида у бинафша ранг-
 ҳосил қилади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1,2 мл ли пи-
 петкалар.

Реактивлар. 1. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 2. Йоднинг калий
 йодиди эритмаси: 500 мл сувда 20 г калий йод ва 10 г йод эрити--
 маси. 3. Натрий гидроксидининг 10% ли эритмаси. 4. Этил спирти.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2-3 мл крахмал эритмасидан ва 3-4
 томчи йодни калий йоддаги эритмасидан солинади, натижада кук ранг
 ҳосил булади. Шу пробиркадаги суюқлик учта пробиркага булинади:
 биринчи пробиркага 1-2 мл натрий гидроксидининг эритмасидан, ик-
 кинчи пробиркага 2-3 мл этил спирти солинади, учинчи пробирка
 ва қиздирилади. Ҳамма ҳолларда ҳам кук ранг йўқолади. Учинчи
 пробирка совугандан сўнг яна кук ранг ҳосил булади. Крахмалнинг
 йод билан ҳосил қилган комплекси спирт, ишқор, юқори температура-
 га нисбатан таъсирчан бўлиб, йод билан гипойодитларни ҳосил қилади.

Крахмални қайтарувчанлик хоссаларини аниқлаш. Керакли асбоб-
лар: пробиркалари билан штатив; 1,2 мл ли пипеткалар; сув ҳаммо-

Реактивлар. 1. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 2. Концентрланган
 сульфат кислота. 3. Натрий гидроксидининг 20% ли эритмаси. 4. Мис
 сульфатининг 5% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Иккита пробиркага 4-5 мл крахмал эритмаси со-
 линади. Биринчи пробиркага 3-5 томчи концентрланган сульфат

кислота, иккинчи пробиркага эса шунча миқдорда сув қушилади. Иккала пробирка 10-15 минут қайнаб турган сув ҳаммомига қуйилади. Совугандан кейин Троммер реакцияси бажарилади. Биринчи пробиркада мис оксидининг қизил чукмаси ҳосил булади, бу эса крахмални гидролитик парчаланиб, қайтарувчанлик хусусиятига эга глюкоза ҳосил булганлигини курсатади. Иккинчи пробиркада эса Троммер реакцияси юз бермайди, чунки крахмал гидролизланмаган, шунинг учун у қайтарувчанлик хусусиятига эга булган глюкоза ҳосил қилмаган.

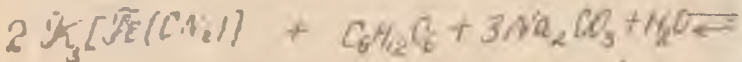
Биологик суюқликларда глюкоза миқдорини
Хагедорн-Йенсен методи билан аниқлаш

Глюкоза – қоннинг доимий таркибий қисми ҳисобланади. Глюкоза қонга ичак орқали келиб тушади. Одам қонида нормада 80 дан 120 мг% атрофида булади. Турли қишлоқ хужалик ҳайвонлари қони таркибида глюкозани миқдори қуйидагича, мг%:

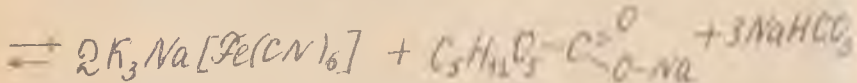
*Отларда	90-100
Сигирларда	60-80
Қуй ва эчкиларда	40-65
Чуққаларда	80-100
Қуёнларда	100-200
Қушларда	130-260

Методнинг моҳияти шундан иборатки, бунда глюкоза ишқорий шароитда калий гексациано = (III) = феррат (қизил қон тузи) —

$K_3[Fe(CN)_6]$ билан глюконат кислотасигача оксидланади, бунда қизил қон тузи то сариқ қон тузига — $K_4[Fe(CN)_6]$, яъни калий гексациано — (II) — ферратга қайтарилади.



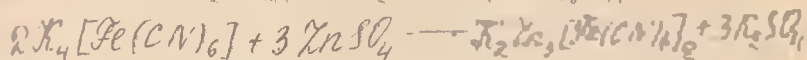
калий гексациано = (III) — феррат глюкоза



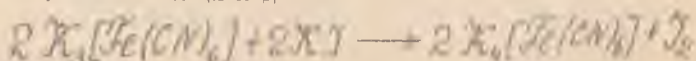
калий гексациано — (II) феррат глюконат + H₂

Қондаги глюкоза глюконат кислотагача оксидланиб, темирни қайтаради:

бу кайтар реакция булиб, Zn^{2+} иони иштирокида реакция аниқласида рухнинг эримайдиган бирикмаси ҳосил булади:



Ортиқча калий гексациано = (III) - феррат кислотали муҳитда и метририк йул билан аниқланади.



Ажралиб чиққан йод крахмал иштирокида натрий тиосульфат билан аниқланади:



Қондаги глюкозани миқдори куп булса, фойдаланилмаган $K_4[Fe(CN)_6]$ кам қолади ва бу йодни титрлаш учун оз миқдорда натрий тиосульфат сарф булади. Сарф булган натрий тиосульфатнинг миқдори аниқлаб, махсус жадвал ёрдамида қон таркибидаги глюкозани миқдори аниқланади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 0,1, 2, 5, 10 мл микропипеткалар; сув ҳаммоми; диаметри 3-4 см ли воронкалар; 10 мл ли микробюреткалар; фильтр қоғоз.

Реактивлар. Оксилларни чуқтириш учун: рух сульфатнинг 0,45% эритмаси; натрий гидроксидининг 0,1 н эритмаси - бу икки реакцияларни аниқлаш учун ишлатилади; натрий оксалатнинг 0% ли эритмаси (микропипеткаларни ювиш учун ишлатилади).

Глюкозани аниқлаш учун. 1. Гексациан = (III) = феррат эритмаси: бу эритмани тайёрлаш учун 1,65 г перекристалланган $K_4[Fe(CN)_6]$ ва 10,6 г сувсиз натрий карбонатнинг 1 литрли колбада эритилади ва колбада белгисигача сув қушилади. Эритма қоронги ойнали идишда қонни жойда сақланади. 2. Хлор-рух-йод эритмаси: бу эритмани тайёрлаш учун 10 г рух сульфат, 50 г натрий хлорид ва 5 г калий йодат 100 мл колбада эритилади. 3. Сирка кислотасини 3% ли эритмаси. 4. Натрий тиосульфатнинг 0,005 н эритмаси. 5. 1% ли крахмални тўқилган натрий хлорид эритмасида тайёрланади. 6. Қуён қони, қон қонни қолмаслиги учун 10 мл қонга 0,01 г натрий оксалат тузидан аниқланади.

Ишнинг бориши. Оксилларни чуқтириш ва ажратиш. Қон оксиллари рух гидроксиди билан қайнатилиб чуқмага туширилади. Бунинг учун аввал рух гидроксиди тайёрлаб олинади. Туртта белгиланган пробиркаларга 5 мл рух сульфат эритмасидан ва 1 мл натрий гидроксиди эритмасидан солинади, бунда пробиркаларда рух гидроксидининг чуқмаси ҳосил булади. Сунгра иккита пробиркага микропипетка ёрдамида /микропипеткалар натрий оксалат эритмаси билан ювилган булиши керак/ 0,1 мл дан қон солинади. Қолган иккита пробиркага 0,1 мл дан дистилланган сув қуйилади, бу намуналар контрол ҳисобланади. Ҳамма пробиркалар 3 минут қайнаб турган сув ҳаммомига қуйилади. Натижада қон оксиллари чуқмага тушади. Пробиркалардаги суюқликлар филтрланади, чуқма 2 марта 3 мл дистилланган сув билан юзилади. Ҳосил булган филтрат тиниқ рангда булиши керак.

Глюкозани аниклаш. Қонни оксилсиз филтратларига ва контрол намуналарга 2 мл дан калш гексацпан = /III/ = ферратнинг содали эритмасидан кушилади, сунгра қайнаб турган сув ҳаммомида 15 минут қиздирилади. Сөвугандан кейин ҳар бир стаканга 3 мл дан хлор-рух-йодли эритмаси ва 2 мл дан сирка кислотасининг эритмаси кушилади. Пробиркадаги суюқлик ажралиб чиққан йод таъсирида сариқ рангга киради. Ҳамма пробиркаларга 2 томчидан крахмал эритмаси кушилади ва натрий тиосульфат эритмаси билан куқ ранг йуқолгунча титрланади. Титрлаш учун сарф булган натрий тиосульфатнинг ҳажми маълум булгач I-жадвал ёрдамида глюкоза миқдори аникланади.

Тажриба буйича топилган сондан контрол буйича топилган соннинг айирмаси, текширилаётган эритма таркибидаги қайтарувчанлик хусусиятига эга булган углеводлар миқдорини беради. Текшириш учун олинган эритманинг умумий ҳажмидаги углеводлар миқдори ҳисобланади. Углеводларнинг процент миқдори қуйидагича топилади.

$$x = \frac{a \cdot 100}{N}$$

Бунда:

a - текширилаётган материал таркибидаги углевод миқдори; *N* - олинган материалнинг миқдори.

Ҳигар туқимасидаги гликогенни аниклаш

Турли хил сут эмизувчиларнинг жигарида 2 дан 8% гача гликоген

	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04
0,0	0,385	0,382	0,372	0,370	0,373
0,1	0,355	0,352	0,350	0,345	0,345
0,2	0,337	0,329	0,327	0,325	0,323
0,3	0,310	0,308	0,305	0,304	0,302
0,4	0,290	0,288	0,286	0,284	0,282
0,5	0,270	0,268	0,266	0,264	0,262
0,6	0,257	0,249	0,247	0,245	0,243
0,7	0,232	0,230	0,228	0,226	0,224
0,8	0,213	0,211	0,209	0,208	0,206
0,9	0,195	0,193	0,191	0,190	0,188
1,0	0,177	0,175	0,173	0,172	0,170
1,1	0,157	0,157	0,155	0,154	0,152
1,2	0,141	0,139	0,138	0,136	0,134
1,3	0,124	0,122	0,120	0,119	0,117
1,4	0,106	0,104	0,102	0,101	0,099
1,5	0,088	0,086	0,084	0,083	0,081
1,6	0,070	0,068	0,066	0,065	0,063
1,7	0,052	0,050	0,048	0,047	0,045
1,8	0,034	0,032	0,031	0,030	0,027
1,9	0,017	0,015	0,014	0,012	0,010

0,35	0,36	0,37	0,38	0,39
0,370	0,367	0,364	0,361	0,358
0,343	0,341	0,338	0,336	0,333
0,321	0,318	0,316	0,314	0,312
0,300	0,298	0,296	0,294	0,292
0,280	0,278	0,276	0,274	0,272
0,260	0,259	0,257	0,255	0,253
0,241	0,240	0,238	0,236	0,234
0,222	0,221	0,219	0,217	0,215
0,204	0,202	0,200	0,199	0,197
0,186	0,184	0,182	0,181	0,179
0,168	0,166	0,164	0,163	0,161
0,150	0,148	0,146	0,145	0,143
0,132	0,131	0,129	0,127	0,125
0,115	0,113	0,111	0,110	0,108
0,097	0,095	0,093	0,092	0,090
0,079	0,077	0,075	0,074	0,072
0,061	0,059	0,057	0,056	0,054
0,043	0,041	0,039	0,038	0,036
0,025	0,024	0,022	0,020	0,019
0,008	0,007	0,005	0,003	0,002

булади. Жигар гликогенининг миқдори озиқанинг таркиби ва ҳазм булган овқатларнинг миқдорига боғлиқ. Агар ҳайвонлар рационда углевод кам булса, гликоген камроқ йигилади, аксинча рационда кўп углевод булса, гликоген миқдори кўп булади. Физик иш жигар гликогенининг камайишига олиб келади. Жигар гликогенининг миқдори эндокрин системалари орқали бошқариб турилади.

Керакли асбоблар: 50,200 мл ли колбалар; сув ҳаммоми; 1,2, 5 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. 2,5% ли хлорид кислотаси. 2. 10% ли натрий ишқори
3. Қуённинг жигари.

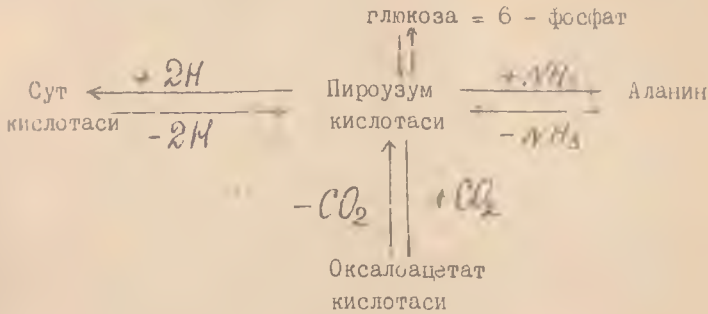
Ишнинг бориши. 1 г қуён жигарини улчаб олиб, 10 мл сувда эзилади. Ҳосил булган аралашма 200 мл колбага солинади ва колба белгисигача дистилланган сув қуйилиб, аралаштирилади, сунгра 5 мл суюқлик олиниб, қанцлар аниқланади. Яна 1 г жигарга 15 мл 2,5% ли хлорид кислота қушиб эзилади. Аралашма 50 мл ли колбага солинади ҳамда қайнаб турган сув ҳаммомида 1 соат қайнатилади. Совигандан кейин суюқлик 200 мл ли колбага солинади ва белгисигача сув қуйилиб аралаштирилади. Кейин эса ундан 2 мл олиб, 1-2 томчи 10% ли натрий гидроксидидан қушиб нейтралланади ва қандлар миқдори Хагедорн-Йенсен методи билан аниқланади.

Гликоген миқдорини ҳисоблаш. Гидролизланган 1 г жигардаги аниқланган глюкозанинг мг сонидан, гидролиздан аввал аниқланган 1 г жигардаги глюкозанинг миллиграмм миқдори айириб ташланади. Натижада олинган глюкозанинг мг дағи ифодаси 0,9 коэффицентига кўпайтирилиб гликогеннинг миқдори аниқланади, яъни гликоген ва глюкозанинг оғирлиги эквивалент муносабатда булади. Қуён жигарида гликоген 5-6% атрофида булади.

Сийдикда пирозузум кислотасининг миқдорини аниқлаш

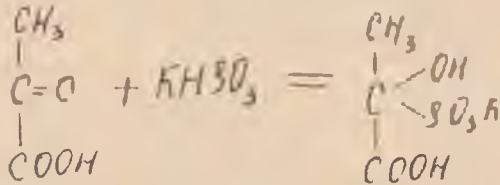
Пирозузум кислотаси метаболик реакцияларда жуда муҳим роль ўйнайди.

Пирозузум кислота оқсил, липид ва углеводлар алмашинувида муҳим аҳамиятга эга. Пирозузум кислотаси қон плазмаси ва жигарда 0,8-1,5 мг %, мускул тўқимасида 3,0-3,5% булади. 4 витамин етишмаганда организмда пирозузум кислотаси оксидланиши ва кислород ютилиш жараенлари пасаяди. Натижада мияда ва бошқа туқималарда пируват

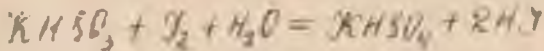


кислота тупланади. Пироузум кислотаси сийдик билан ажралиб чиқади /с.л.лом одамларда - I суткада 200 мг/. Сутка павомида сийдикдаги пироузум кислотаси миқдорини аниқлаб, углеводлар алмашинуви ширинини билиш мумкин.

Пироузум кислотаси кислотали муҳитда калий ёки натрий бисульфит билан бисульфитли бирикмалар ҳосил қилади:



Шунингча калий бисульфит йод билан боғланади.



Пироузум кислотасининг бисульфитли бирикмасига ишқор таъсир эттирилса, пироузум кислотасига эквивалент миқдорда бисульфат ажралиб чиқади. Ажралиб чиққан бисульфит миқдори йод билан титрлаб аниқланади.

Керакли асбоблар: 25 мл ли колба; 1, 2, 10 мл ли пипеткалар; микробюретка.

Реактивлар. 1. Йоднинг 0,1 ва 0,01 н эритмаси. 2. Калий ёки натрий бисульфитнинг 1% ли эритмаси. 3. Натрий бикарбонат ёғич гидрокарбонатнинг туйинган эритмаси. 4. натрий гипосульфитнинг

0,1 н эритмаси. 5. Крахмалнинг 1% ли эритмаси, бу натрий хлориднинг тўйинган эритмасида тайёрланади. 6. Оксалоацетат кислотасининг 0,1 н эритмаси. 7. Сийдик.

Ишнинг бериши. 2 мл ли колбага пипетка билан 1 мл сийдик солинади, сўнг унга 2 мл сув ва 1 мл оксалоацетатнинг 0,1 н эритмасидан қушилгач ихшилаб аралаштирилади, натижада кальций тузлари чуқмага тушади. Калий еки натрий бисульфит эритмасидан 10 томчи қушиб, аралашма чайқатилади ва колба 15 минут қоронги жойга қўйилади. Шундан кейин 10 томчи крахмал эритмасидан қушиб, ортиқча бисульфатни йоднинг 0,1 н эритмасидан кук ранг ҳосил булганча томчилаб қушиб боғланади. Ортиқча йодни бартараф қилиш учун натрий гипосульфитнинг 0,1 н эритмасидан то кук ранг йуқолгунча томчилаб қўшилади, шундан сўнг йоднинг 0,01 н эритмасидан (ортиқча гипосульфитни боғлаш учун) яна кук ранг ҳосил булгунча қўшилади. Кейин 10 томчи натрий бикарбонатнинг тўйинган эритмасидан солинади (кук ранг йуқолади) ва колбадаги суюқликни йоднинг 0,01 н эритмаси билан микробюретка орқали қайтадан кук ранг ҳосил булгунча титрланади.

Сутка давомидаги сийдик таркибидagi пирозуэм кислотасининг миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади.

$$X = \frac{B \cdot A \cdot 0,01 \cdot 9}{I}$$

Бунда: Э - пирозуэм кислотасининг грамм эквиваленти;

A - титрлаш учун сарф булган 0,01 н йод эритмасининг миқдори, мл;

0,01 - йод эритмасини нормаллиги;

B - сутка давомидаги сийдикнинг миқдори, мл;

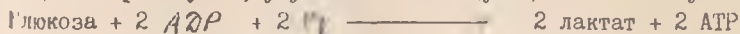
I - текшириш учун олинган сийдикнинг миқдори, мл

Гликолиз

Углеводларнинг гликоген еки глюкозадан бошланиб, анаэроб парчаланиши натижасида сут кислота ҳосил булиш жараси гликолиз деб аталади. Бу жараси мураккаб бўлиб, ~~хатта~~ куп ферментатив реакциялар иштирокида боради.

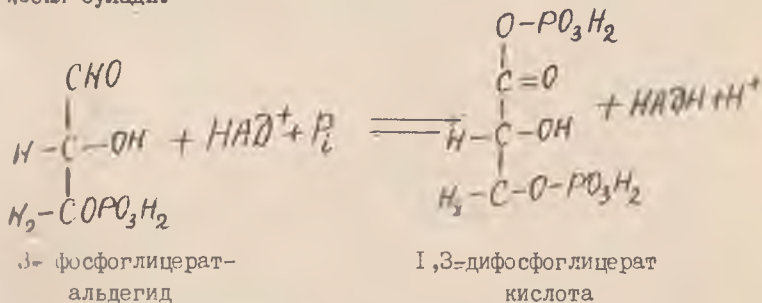
Глюкозанинг анаэроб йул билан парчаланишининг моҳияти,

глюкоза 2 молекула сут кислотасига парчаланиши ва энергия ажралиб чиқишидан иборат бўлиб, умумий натижани қуйидагича ёзиш мумкин:



Агар бу жараён глюкозадан бошланса, биринчи босқичда глюкоза билан АТФ гексокиназа ферменти иштирокида узаро таъсир этиб, глюкоза = 6 = фосфатни ҳосил қилади. Гликогеннинг парчаланиши фосфорилиздан бошланади, бу реакция анорганик фосфор ва фосфорилаза ферменти иштирокида боради. Реакция натижасида глюкоза = 1 = фосфат ҳосил бўлади, бунга фосфоглюкомутаза ферменти таъсир этиб, глюкоза = 6 = фосфатни ҳосил қилади. Глюкоза ва гликогендан глюкоза = 6 = фосфат ҳосил бўлгандан кейинги парчаланиш босқичлари сарф қил боради.

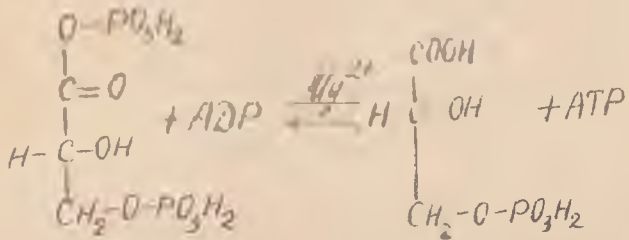
Гликолизнинг асосий реактивларидан бири фосфоглицератальдегиднинг оксидланиш реакцияси бўлиб, реакция глицератальдегид = 3 = фосфатгидрогеназа ферменти иштирокида боради. Бу фермент мураккаб шакли бўлиб, кофермент қисми никотинамидадениндинуклеотиддан (НАД^+) иборат. Бунда фосфоглицерат = 3 = альдегид НАД^+ ва анорганик фосфор иштирокида узига хос оксидланиш реакцияси орқали 1,3 = дифосфоглицерат ҳосил бўлади.



1,3-дифосфоглицерат кислота фосфоглицераткиназа ферменти иштирокида АТФ билан перефосфорланиш реакциясига киришади, реакция натижасида 3-фосфоглицерат кислота ва АТФ ҳосил бўлади.

Шундай қилиб, бу реакциялар натижасида фосфоглицератальдегиднинг оксидланиш энергияси битта АТФ молекуласининг макроэргик шаклида боғи шаклида тупланади.

Глицератальдегид = 3 - фосфатдегидрокиназа ферментига монофосфат ёки монобромасетат таъсир этирилса, фермент активлигини



3-фосфоглицерат кислота

йукотади. Инкубацион аралашмага моноиодацетат қушилса углеводларнинг парчаланиш реакцияси альдолаза боскичида тухтайди, чунки тупланган 3= фосфоглицератальдегид реакцияни фруктоза 1,6-дифосфат ҳосил булиши томон боришни таъминлайди.

Олдинги реакцияда, яъни фосфофруктокиназа таъсирида фруктоза = 6= фосфатдан фруктоза = 1,6= дифосфатни ҳосил булиш реакцияси қайтмасдир, шунинг учун оксидоредуктазаларнинг гликолитик реакциясини блокировка қилинганда фруктоза = 1,6-дифосфат тупланади.

Намуналарда гликолиз жараёни қандай боранлигини, инкубацион аралашмага моноиодацетат иштирокида ва уни қушмасдан туриб, фруктоза 1,6-дифосфатнинг резорцин билан ҳосил қилган рангнинг интенсивлиги солиштириб курилади.

Реактивлар. 1. Фосфат буфери, 0,1 м, pH-7,6. 2. Гликогеннинг 0,5% ли эритмаси, фосфатли буферда тайёрланади. 3. $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ нинг 0,5 м эритмаси, pH-7,6 гача нейтралланади. 4. $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_6$ нинг 6% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Гликолиз жараёнида иштирок этадиган ферментнинг манбаи сифатида мускул гомогенати қулланилади.

Мускул гомогенатини тайёрлаш учун калмуш суйилади. Мускулни бириктирувчи ёғ туқималаридан ажратилади ва чинни идишга солиб, муз ҳаммомига қуйилади. Сунг қайчи билан майдаланади ва ҳосил булган масса тортилади. Тортиб олинган мускул бутқасини гомогенизация қилиш учун гомогенизаторнинг стаканига солинади, 6-7 ҳажмда (1 г мускул бутқасига 6-7 мл) совитилган фосфат буферичан қушилади. 1-2 минут гомогенизация қилинади. Гомогенизация + 2⁰ + 4⁰ да олиб борилади. Ҳосил булган мускул гомогенати 1 қаватли дока оққали филтрланади ва тажриба учун ишлатилади.

Тажриба учун урта пробирка олинади. Биринчи пробиркага

мул гомогенати қўшмасдан олдин 2 мл трихлорсирка кислотасидан қилинса ва инкубация қилинмайди.

Тажриба олиб бориш учун қуйидаги схема тайёрланади.

Пробиркалар номери	Гликоген, мл	$\text{C}_6\text{H}_5\text{NCSO}_3\text{H}$ мл	H_2O мл	Мускул гомогенати, мл.
1.	0,9	-	0,1	I
2.	0,9	0,1	-	I
3.	0,9	-	0,1	I

Иккинчи ва учинчи пробиркалар 90 минут 37°C да термостатда инкубация қилинади.

Инкубациядан кейин иккинчи ва учинчи пробиркаларга ҳам 2 мл дан трихлорсирка кислотасидан қўшилади ҳамда шisha таёқча билан аралаштирилади. 10-15 минутдан кейин учала намуна филтрланади. Ҳамма филтратлар фруктоза - 1,6 - дифосфатни аниқлаш учун ишлатилади.

Фруктозадифосфатни аниқлаш фруктоза билан резорцинни ҳосил қилиш рангли реакцияга асосланган. Бунинг учун учта пробирка номерли билан белгиланади. Биринчи пробиркага 1-номерли филтратдан, иккинчи пробиркага 2-номерли филтратдан, учинчи пробиркага 3-номерли филтратдан 1 мл солинади. Ҳамма пробиркаларга 0,1% ли резорциннинг 95% ли спиртдаги эритмасидан 1 мл ва 3 мл концентратнинг хлорид кислота /солиштира оғирлиги 1,15/ қўшилади. Сунгра шisha таёқча билан аралаштирилади ва 80° сув ҳаммомига 10 минут қўйилади. Намуналардаги пайдо бўлган рангнинг интенсивлигига қараб фруктозадифосфат ҳосил булганлигини билиш мумкин.

Ҳосил булган фруктозадифосфатнинг миқдорини аниқлаш учун қилинган график тузилади. График тузиш учун турли миқдордаги фруктоза тутувчи стандарт эритмалар тайёрланади. Асосий эритманинг 1 мл 100 мкг фруктоза сақлайди. Шу асосий эритмадан 6 та пробиркаларга турли концентрациядаги фруктоза эритмаси тайёрланади. Бу қуйида кўрсатилган схема бўйича тайёрланади.

Намуналарда ранг ҳосил бўлгандан кейин, спектрофотометрда 490 нм тўлқин узунлигида қурилади.

Пробиркалар номери	Фруктоза, мл	H_2O , мл	Резорцин, мл	HCl , мл
1.	0,2	0,3	1,0	3,0
2.	0,4	0,6	1,0	3,0
3.	0,6	0,4	1,0	3,0
4.	0,8	0,2	1,0	3,0
5.	1,0	-	1,0	3,0
6.	-	1,0	1,0	3,0

График тузиш учун намуналарнинг оптик зичлиги катталигини ординат укига, абсцисс укига фруктозанинг миқдори қуйилади. Текширилаётган намуналарнинг оптик зичлигига қараб, графикдан қанча миқдор фруктоза борлиги аниқланади.

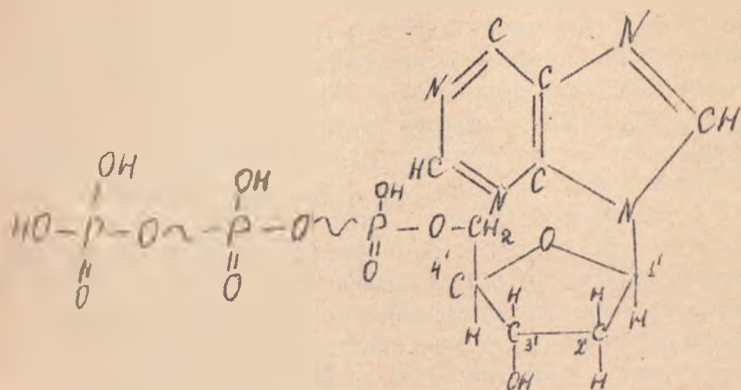
Намуналардаги фруктоза миқдорини аниқлаш учун, фруктозалифосфатнинг оптик зичлиги 1,9 коэффицентига кўпайтирилади. Шундан кейин графикдан тажриба намуналаридаги фруктоза миқдори ҳисоблаб топилади ва бу намуналарда гликолиз реакцияси қандай борганлиги ҳақида хулоса ёзилади.

Туқимададаги АТФ миқдорини аниқлаш

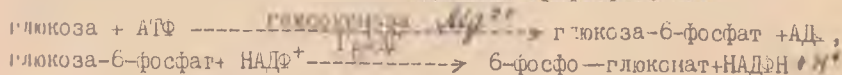
АТФ энергияга бой бўлган муҳим компонентдир. Макроэргик боғлари, яъни ортофосфат орасидаги пирофосфат боғлари узилганда ҳар бири 1 моль ҳисобига 7000-8000 кал энергия ажратади.

Ҳужайрада АТФ жуда кўп метаболик жараёнларда иштирок этади. Масалан, жуда кўп ферментатив реакциялар АТФ иштирокида боради: фосфофруктокиназа, цитратсинтеаза, H_2O - изоцитратдегидрогеназа ва бошқалар. АТФ шунингдек, оксидланиш, фосфорланиш жараёнларида ҳам иштирок этади.

Методнинг моҳияти. АТФ миқдорини туқималарда аниқлаш Лампрехт ва Тратшольд (1965) методига асосланган. АТФ гексокиназа иштирокида глюкозани фосфорлайди. Реакция натижасида глюкоза + P_i = 6-фосфат ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган глюкоза-6-фосфат глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа (Г6ПДГ) учун субстрат ҳисобланади.



Аденозин трифосфат, АТФ



Реакция тенгламасидан куришиб турибдики, реакция учун сарф қилинган АТФ ning миқдори, глюкоза - 6 - фосфатдегидрогеназа ферментининг ҳосил булган НАДФН миқдорига эквивалент, яъни эквивалентдир. У спектрофотометр билан 340 нм тулқин узунлигида ўлчанади. Бу метод билан яна реакциянинг оралик маҳсулоти, глюкоза-6-фосфат миқдорини ҳам ўлчаш мумкин.

Қуракли асбоблар: центрифуга; спектрофотометр; суяқ азот; муш хаммони; ҳавонча; 0,1 ва 2 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. HClO_4 кислотасининг 6% ли эритмаси. 2. K_2CO_3 нинг 5 М эритмаси. 3. Учэтаноламин буфери 0,05 М (рН 7,5),

4. MgCl_2 ning 0,1 М эритмаси, 5. НАДФ ning 7,5 мМ эритмаси.

6. Глюкозанинг 0,5 М эритмаси. 7. Гексокиназа (КФ. 2.7.1.1.):

0-15 мг гексокиназани кристаллидан олиб, 1 мл дистилланган сувда эритилади. 8. Глюкоза - 6 - фосфатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.49) 0,3 М аммоний сульфатдаги фермент суспензиясини ишлатишдан олдин дистилланган сув билан 5-10 марта суялтирилади. 9. Туқима.

Ишнинг бориши. Туқима суяқ азотда музлатилади ва ҳавончада эритилади. Эзилган туқимадан 500 мг олиб, олдиндан 1 мл 0,1 М MgCl_2 эритмасидан солинган центрифуга пробиркаларига солинади ва муз

хаммомида қўйилади. Намуналардаги туқима: кислота= 1:3,35 нисбат да бўлиши керак. Пробиркалардаги суюқликлар аралаштирилади ва реакцияларнинг метаболитлари яхши экстракция бўлиши учун 10 минут муз хаммомига қўйилади. Шундан кейин 3000 айл/тезлигида 10 минут центрифуга қилиб, оксиллар чуқмага туширилади.

Оксилсиз экстракт центрифуга пробиркасига қўйилади. Ортикча HClO_4 кислотасини ажратиш учун, 1 мл кислотали экстрактга 0,05 мл 0,5 М K_2CO_3 эритмасидан қўйилади, сўнгра намуна 10 минут муз хаммомига қўйилади, ҳосил булган чуқма 5 минут 3000 айл/тезлигида центрифуга қилиб ажратилади. Нейтрализация қилинган туқима экстракти хона ҳароратида сақланади ва ферментатив реакция учун ишлатилади.

Ферментатив анализ қилиш учун спектрофотометр кюветасига 1,2,5 мл учетаноламин буферидан, 0,05 мл НАДФ эритмасидан ва 0,35 мл *Agd₂* эритмасидан солинади, сунгра 0,1 мл туқима экстрактдан қушиб аралаштирилади ва 3 минут кейин дастлабки оптик зичлигининг катталиги ўлчанади (E_1). Сунгра намунага 0,05 мл глюкоза-6 фосфатдегидрогеназа суспензиясидан қўшилади ҳамда 5 минутдан кейин оптик зичлиги (E_2) ўлчанади. Глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа қўшилгандан кейин намуна оптик зичлигининг ортиши туқима экстракти таркибидаги глюкоза-6-фосфатни оксидланишига боғлиқ.

Кюветага 0,4 мл глюкоза эритмасидан қўшилади ва 30 секунддан кейин оптик зичлиги ўлчанади, оптик зичлиги камаяди, чунки глюкоза эритмаси қўшилганда намуна суюлади. 0,05 мл гексокиназа суспензиясидан қўшилади ва реакция тамом булгандан (12-15 минутдан) кейин оптик зичлигини ўлчанади (E_3). Намунага гексокиназа қўшилганда оптик зичлигининг ортиши экстракт таркибидаги АТФ миқдори ферментатив реакцияга жалб қилинганлигидан дарак беради.

Намунадаги АТФ миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$X = \frac{\Delta E \cdot V \cdot K}{6.22}$$

Формуладаги ΔE - намуна оптик зичлигининг узгариши, ферментатив реакция системасида АТФ сарфланиши билан оптик зичлик узгариши, яъни $\Delta E = E_2 - E_3$ тенг, V - кюветадаги намунанинг охириги ҳажми (3,5 мл). K - намунанинг 1 г туқимага нисбатан суюлтириш коэффициенти, бу ҳолатда суюлтириш коэффициенти 41,6 тенг. Суюлтириш коэффициенти қуйидагича ҳисобланади. 1 г туқимадаги оксиллагани чуқтириш учун 9 мл HClO_4 кислотаси қўйилади. Туқимадаги

нинг уртача миқдори ҳам ҳисобга олинади. 6,22-340 нм тулқин доирасида пиридин нуклеотидларини қайтарилган формаларини микродарозликнинг экстинкция коэффициенти. Кюветани кенглик қавати 1 см. Ҳисоблашнинг фарқига қараб $\lambda = \frac{6}{\epsilon} - \frac{6}{\epsilon_0} - \frac{6}{\epsilon_1}$, намунадаги глюкоза-фосфатнинг миқдорини ҳисоблаш мумкин. Қуйида каламуш туқималари таркибидagi АТФ нинг уртача миқдори келтирилган. 1 г туқимадаги АТФ нинг миқдори мкмоль билан ҳисобланади.

Бош мия	2, 65 ± 0,19
Жигар	2,51 ± 0,31
Юрак	2,31 ± 0,30

У1 боб. Липидлар

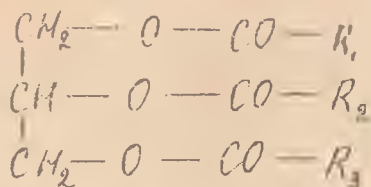
Липидлар иккита катта синфга бўлинади: ёғлар (нейтрал ёғлар/ триглицеридлар / ёғсимон моддалар/).

Липидлар бир қатор органик эритувчиларда, масалан - этанол, эфир, хлороформ, бензол ёки петролей эфирида яхши эрийди, сувда эришмайди. Липидлар химиявий табиатига қура бир неча гуруҳларга бўлинади:

- I Ёғ кислоталари.
- II Глицеринли липидлар: а) нейтрал ёғлар; б) фосфоглицеридлар.
- III Глицеринсиз липидлар: а) сфинголипидлар; б) алифатик спирт-этер ва мушлар; в) стероидлар.
- IV. Бошқа синф моддалари билан боғланган липидлар: а) липопротеинлар; б) протеолипидлар; в) фосфатидпептидлар; г) липонуклеонокислоталар; д) липополисахаридлар.

Липидлар туқима ва ҳужайраларда муҳим функцияларни бажаради. Организмда оксидланганда энергия ажралиб чиқади (1 г ёғ оксидланганда 9,3 ккал). Липидлар биологик мембраналарнинг структураларини ҳисобланади. Организмда липидлар оқсиллар билан ҳаммажаманга бирикмалар - липопротеинлар ҳосил қилади.

Стероидлар қатор биологик актив моддалар - витаминлар, гормонлар, ушбу кислоталарнинг ҳосил бўлишида иштирок этади. Ёғлар - ушбу кислота спирт глицерин ва юқори ёғ кислоталарининг мураккаб эфиридир. Ёғлар қуйидаги умумий тузилишга эга:



Бунда: $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ - ёғ кислоталарининг радикаллари.

Табийй ёғлар таркибига тўйинган ва тўйинмаган ёғ кислоталарининг қолдиқлари киради / пальмитин, стерин, олеин, линолен ва бошқалар/. Таркибда бирдан ортиқ ~~дў~~ боғ булган тўйинмаган ёғ кислоталар кўпчунча усимлик мойларида, оз миқдорда ҳайвонлар ёғида ҳам учрайди. Ёғлар таркибидаги тўйинмаган ёғ кислоталари - линоленат, арахидонат - ҳужайрадаги оксидланиш - қайтарилиш жараёнларининг бориши учун ва шунингдек простагландинларнинг биосинтези учун муҳим роль уйнайди.

Ёғларнинг сифат реакциялари

1. Ёғларни эрувчанлигини аниқлаш.

Керакли асбоблар: 1,2 мл, ли пипеткалар; пробиркалари билан штатив.

Реактивлар. 1. Усимлик мойлари /пахта, каноп ва бошқа мойлар/.

2. Қаттиқ ёғлар /куй, мол/. 3. Этил спирти. 4. Бензол. 5. Хлороформ. 6. Дистилланган сув.

Ишнинг бориши. 8 та пробирка олиб, 4 тадан икки қатор қилиб қуйилади. Биринчи қатордаги пробиркаларга 6-8 томчидан усимлик мойдан, иккинчи қатордаги пробиркаларга бир булакдан қаттиқ ёғ солинади. Ҳар бир қатордаги биринчи пробиркаларга 2 мл дан дистилланган сув, иккинчи пробиркаларга 2 мл дан спирт, учинчи пробиркаларга 2 мл дан бензол, туртинчи пробиркага эса 2 мл дан хлороформ солинади. Ҳамма пробиркалар чайқатилади ва ёғларни эритувчи ларда ҳар хил эрувчанлиги кузатилади.

2. Ёғларни эмульсияланиши.

Ёғлар сув билан тургун булмаган эмульсия ҳосил қилади, бир неча минутда қолдирилганда тезда қатламланади. Ут, оксиллар, фосфатидлар, натрий ва калий карбонатлар таъсирида ёғлар эмульсия ҳосил қилади, совунлар таъсирида эса эрийди.

Керакли асбоблар: 1,2 мл ли пипеткалар; пробиркалари билан

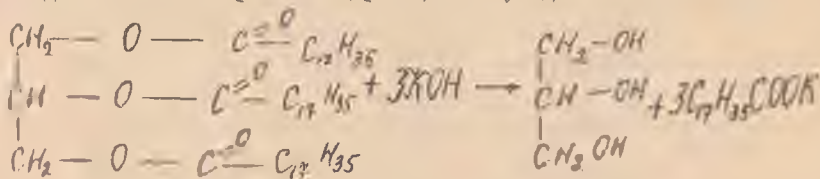
ингтив.

Реактивлар. 1. Усимлик мойи. 2. Икки марта султирилган ўт.
3. Тухум оксилнинг 10% ли эритмаси. 4. Совуннинг 1% ли эритмаси.
5. Лецитин.

Ишнинг бориши. Олтита пробирка олинади. Биринчи ва иккинчи пробиркаларга I мл дан сув, учинчига I мл ўт, тўртинчисига I мл оқсил, бешинчисига – I мл совун, олтинчисига эса I мл натрий карбонат эритмасидан солинади. Иккинчи пробиркага эса бир булук лецитин солинади. Ҳар бир пробиркага 3-5 томчи усимлик мойини қуйилгач яшилаб чайқатилади ва қайси пробиркада эмульсия ҳосил булганлиги белгиланади.

Ёғларни совунланиш сонини аниқлаш. I г мой таркибидаги эркин ёғ боғланган ёғ кислоталарни нейтраллаш учун сарфланган калий перборининг миллиграммдаги миқдори ёғларнинг совунланиш сони деб аталади.

Ёғлар химилвий жиҳатдан бирмунча тургун бирикмалардир, лекин иккунга таъсирида гидролиз қилинганда эфир боғлари осси узилиб, натижада ёғ кислоталар ва глицерин ҳосил булади.



Ёғ ва мойларда совунланиш сони қуйидагича бўлиши мумкин:
 май ёғи - 190-200, қуй - 192-198, чўчка - 193-200, кансп мойи - 187-198.

Керакли асбоблар. 50 мл ли колба; ҳаво **совутгичи** пробка; бюретка; 2, I, 5 мл ли пипеткалар; сув ҳаммоми.

Реактивлар. 1. Усимлик мойи ва ҳайвон ёғи. 2. 0,5 н калий гидроксиднинг спиртдаги эритмаси. 3. Хлорид кислотасининг 0,5 н эритмаси. 4. Фенолфталеиннинг 0,1 н ли спиртдаги эритмаси.

Ишнинг бориши. Биринчи колбага (**таҳриба намунаси**) 0,5 г усимлик мойи ёки ҳайвон ёғи, иккинчи колбага (**контрол намунаси**) - 0,5 мл дистилланган сув ва ҳар бир колбага бюретка орқали 15 мл 0,5 н калий гидроксидни эритмасидан солинади. Колбани ҳаво **совутгичи** гици билан беркитилади ва 30-40 минут қайнаб турган сув ҳаммомида

қуйилади. Сунгра колбаларга 4 томчидан фенолфатеин қушилади ва то пушти ранг йуқолгунча 0,5 н хлорид кислотасининг эритмаси билан титрланади. Совунланиш сони қуйидаги формула билан ҳисобланади.

$$X = \frac{(b-a) \cdot K \cdot 28,05}{C}$$

Бунда: X - совунланиш сони; в - контрол намунани титрлаш учун сарф булган 0,5 н хлорид кислотаси эритмасининг ҳажми, мл; а-тажриба намунасини титрлаш учун сарф булган 0,5 н хлорид кислота эритмасининг ҳажми, мл; 28,05- калий гидроксидининг мг даги миқдори булиб, бу 1 мл 0,5 н хлорид кислотасининг эритмасига туғри келади; K - 0,5 н хлорид кислотаси эритмасининг титрини туғрилаш коэффициентини; C - ёғнинг оғирлиги, г.

Ёғларнинг йодли сонини аниқлаш. 100 г ёғни бириктириб олган йоднинг грамм миқдори билан ифодаланадиган сон ёғларнинг йодли сони деб аталади.

Йодли сон қанча катта бўлса, ёғ шунча суюқ булади. Баъзи бир ёғлар ва мойларнинг йодли сони қуйидагича булади; молларда 33-46, қуйларда 31-46, чўчқаларда 50-70, пахта мойида 110, зигир мойида 174. Бу сон ёғлар таркибидаги туйинмаган ёғ кислоталар миқдорини курсатади, чунки йод молекуладаги қуш бог урнига бирика олади:



Реакцияга киришмай ортиб қолган йод натрий гипосульфит билан титрланади.

Керакли асбоблар. 50 мл ли колба; бюретка, 0,2, 1, 5, 10 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. Усимлик мойи. 2. 96% ли этил спирти. 3. 0,1 н йоднинг спиртдаги эритмаси (тайёрланиши; 12,691 г йод 1 л 96% ли этил спиртида эритилади). 4. 0,1 н натрий гипосульфитнинг эритмаси. 5. крахмалнинг 1% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Биринчи колбага (тажриба намунаси) 0,1-0,2 г усимлик мойидан улчаб олиб, иккинчи колбага (контрол намунаси) /

0,1-0,2 мл сув солинади ва ҳар иккала колбага 5 мл дан спирт қўшилади. Мўй эригандан кейин колбаларга пипетка билан 10 мл 0,1 н йоднинг спиртдаги эритмасидан қўшиб, колба пробка билан беркитилди ва **чайқатлади** ҳамда 15 минут қоронги жойда сақланади. Сўнгра 0,1 н натрий гипосульфит эритмаси билан оч сариқ ранг ҳосил булгунча титрланади, кейин 1 мл 1% крахмал эритмасидан қўшиб кук ранг йуқ булгунча титрланади.

Йодли сон x , г/ куйидаги формула билан аниқланади:

$$x = \frac{(b-a) \cdot K \cdot 0,01269 \cdot 100}{C}$$

Бунда: b - контрол намунани титрлаш учун сарф булган 0,1 н натрий гипосульфит эритмасининг ҳажми, мл; a - тажриба намунасини титрлаш учун сарф булган натрий гипосульфит эритмасининг ҳажми, мл; K - 0,1 н натрий гипосульфит эритмасининг титрини тўғрилаш коэффициенти; 0,01269 - йоднинг граммдаги миқдори, бу миқдор 1 мл 0,1 н натрий гипосульфит эритмасига эквивалентдир; 100 - 100 грамм учун ҳисоблаш коэффициенти; C - олинган ёғнинг оғирлиги, г.

Ёғларнинг кислотали сонини аниқлаш. 1 г ёғ таркибидаги эркин ёғ кислоталарини нейтраллаш учун сарфланган **калий** ишқорининг миллиграмм билан ифодаланадиган сон ёғларнинг кислотали сони деб аталади.

Бу сон ёғнинг сифатини ифодаловчи **ёғ** муҳим кўрсаткичлардан бири ҳисобланади. Кислотали сони турли хил сортлардаги янги ёғларда 1,2 - 3,5 дан ошмайди. Ёғлар узоқ муддат сақланганда глицеридлар гидролизланади ва эркин ёғ кислоталари йигилади. Кислотали соннинг юқори бўлиши ёғнинг сифатини пасайишига олиб келади.

Керакли асбоблар: 25 мл ли колбалар; бюретка; 1, 2, 10 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. Этил спиртининг диэтил эфери билан аралашмаси **1:1**, бу аралашма **фенолфталеин** иштирокида 0,1 н калий гидроксиди эритмаси билан нейтралланади. 2. 0,1 н калий гидроксидининг эритмаси. 3. 0,1% ли фенолфталеин эритмаси.

Ишнинг бориши. Колбага 1 г усимлик мўйи, 10 мл спирт билан эфир аралашмасидан солиб, яхшилаб аралаштирилади. Кейин 2-3 томчи фенолфталеин эритмасидан, 0,1 н калий гидроксиди эритмасидан то **пушти ранг ҳосил булгунча қўшилади.**

Кислотали сони куйидаги формула билан ифодаланади:

$$x = \frac{a \cdot 5,6 \cdot K}{C}$$

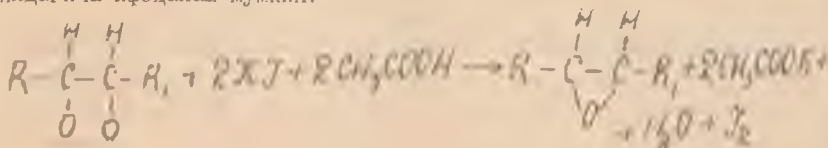
Бунда: x - кислотали сони, мг; a - текширилаётган намунани титрлаш учун сарф булган 0,1 н калий гидроксиди эритмасининг ҳажми, мл; 5,6 - 1 мл 0,1 н калий гидроксиди эритмаси таркибидаги калий гидроксидининг миллиграммдаги миқдори; K - 0,1 н калий гидроксиди эритмасининг туғрилаш коэффициенти; C - олинган ёғнинг оғирлиги, г.

Ёғларнинг перексидли сонини аниқлаш

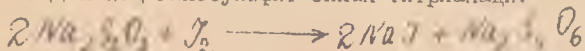
Ёғлар таркибидаги кислоталар липооксидаза ва ҳаводаги кислород, намлик, ёруғлик иштирокида қисман оксидланади.

Перексидли сони, 100 г ёғдаги перексидларнинг миқдорини курсатиб, у йоднинг грамм миқдори билан белгиланади.

Методнинг принципи. Перексидли сонини аниқлаш шунга асосланганки, кислотали шароитда ёғ кислоталарини перексидига калий йод таъсир этиб, реакция натижасида йод ажралиб чиқади. Бу реакцияни қуйидагича ифодалаш мумкин:



Ажралиб чиққан йод гипосульфит билан титрланади:



Керакли асбоблар: 150-200 мл ли колбалар; бюретка-титрлаш учун; 1 ва 2 мл ли пипеткалар;

Реактивлар. 1. Сирка кислота. 2. Калий йоднинг туйинган эритмаси; 3. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 4. Гипосульфитнинг 0,01 н эритмаси.

Ишнинг бориши. Аналитик тарозида 1 г ёғ тортиб олинади ва 150-200 мл колбага солинади. Бошқа колбага (контрол) 2-3 мл сув қуйилади. Иккала колбага 10 мл дан хлороформ солинади ва чайқатилади. Шундан кейин колбаларга 20 мл сирка кислотаси ва 1 мл дан калий йодни туйинган эритмасидан қушилиб, яхшилаб аралаштирилади ва 3 минут қолдирилади. Сунгра ажралиб чиққан йодни 0,01 н гипосульфит эритмаси билан сариқ ранг ҳосил булгунча титрланади, кейин

буларга 1 мл дан 1% ли крахмал эритмасидан қулиб, кук ранг Пу-
шонча титрланади.

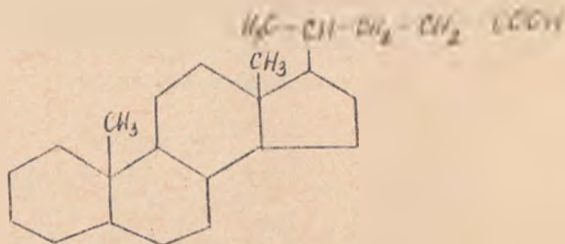
Перексидли сони қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$X = \frac{(a - b) \cdot T \cdot 0,001269 \cdot 100}{H}$$

Бунда: X - перексидли сони; a - тажриба намунасини титрлаш
сарф булган 0,01 н гипосульфит эритмасининг миқдори, мл;
b - контрол намунасини титрлаш учун сарф булган гипосульфитнинг
миқдори, мл; T - гипосульфит эритмасининг титри; H - ёғнинг оғир-
лиги, г.

Ут кислоталарининг сифат реакцияси

Ут кислоталари стероид тузилишга эга булиб, тула туйинган сте-
роид шакли ва 5 углеродли ён шохчадан тузилган. Ут кислоталари-
нинг тузилиши холестеринга ухшаш булиб, холанат кислотасининг ҳосил-
ланган.



Холанат кислота

Ут таркибида асосан холанат кислота, дезоксихоланат кислота, мито-
хонанат кислота, хенодезоксихоланат кислоталари учрайди. Бу ут кис-
лоталар эркин ҳолда бўлмай, глицин ёки таурин билан бирикиб,
гликохоланат кислоталар шаклида ут таркибига киради. Уларнинг энг муҳимла-
ри гликохоланат, гликодезоксихоланат, таурохоланат ва таурозидеоксихоланат
кислоталаридир. Ут таркибига кирувчи ут кислоталари ёғларнинг ҳазм
қилишда муҳим функцияларни бажаради. Улар эмульгаторлар
қилинади, липазани активлайди ва ёғ кислоталарининг сурилиш
сонида иштирок этади.

Ут кислоталарини очишда оксиметилфурфурол қулланилиб, у ут кис-
лотасини билан кизил ранг ҳосил қилади. Оксиметилфурфурол фруктоза
концентранган HCl ёки H_2SO_4 кислотаси таъсир этганда

хосил булади.

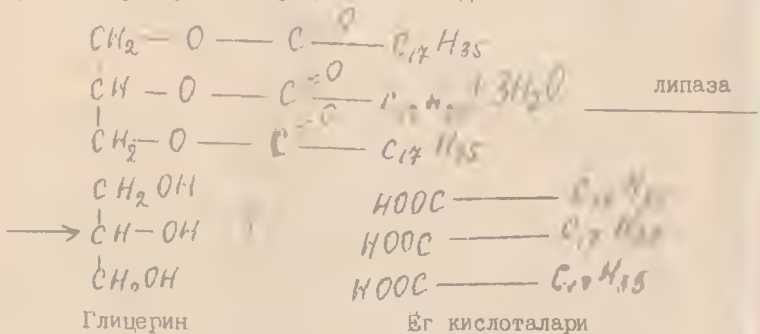
Керакли асбоблар: 1, 2 мл ли пинеткалар пробиркалари билан штатив.

Реактивлар. 1. Утнинг сувли эритмаси . 2. Сахарозанинг 5% ли эритмаси ёки фруктозанинг 3% ли эритмаси; 3. Концентрланган сульфат кислота.

Ишнинг бориши. Қуруқ пробиркага 10 томчи суолтирилган ут суулиги солинади ва 1-2 томчи сахароза ёки фруктоза эритмасидан қушиб чайкалади. Эҳтиётлик билан пробирка деворидан тенг ҳажмда концентрланган сульфат кислота қуйилади. Суюқликлар чегарасида пурпур ҳалқаси хосил булади, кейин қизил бинафша рангли хосил қилади.

Липаза активлигига утни таъсири

Сутга озроқ липаза қушилади ва фенолфталеин иштирокида аралашма пушти ранг хосил қилгунча ишқор қушилади, кейин 37 ли сув ҳаммомига қуйилганда суюқлик аста-секин рангсизланади. Ут қушилганда рангсизланиш тезлашади. Бу шундан далолат берадики, липаза ут киноталарининг тузлари таъсирида активлашади.



Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; сув ҳаммоми.

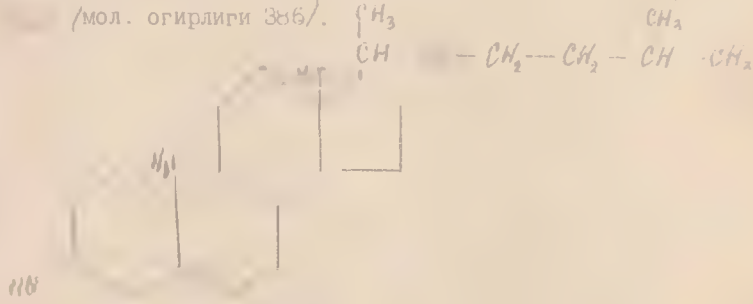
Реактивлар. 1. Қайнатилган сут сувда суолтирилади. 2. Натрий карбонатнинг 10% ли эритмаси. 3. Фенолфталеиннинг 0,5% ли эритмаси, спиртда тайёрланади. 4. Ут. 5. Липаза экстракти - яъни ошқозон ости безининг экстракти - ошқозон ости бези ёғлардан тозланади, майда қилиб қирқилади ва 5 марта куп сув қушиб ҳавончад эзилади. Хосил булган экстракт дона орқали филтрланади.

Ишнинг бориши. Иккита пробиркага 1 мл сут солинади ва 1-2

дан фенолфталеин эритмасидан аниқлади. Ҳамадан ҳам
 уштинчи ранг ҳосил бўлгунча натрий карбонат эритмасидан томчи-
 қушилади ва айни пайтда 2-4 томчи липаза оксидативдан солина
 эринчи пробиркага бундан ташқари 1-2 томчи ут қўйилди.
 алардаги суяқликлар чайқатилиб, 37°C сув — қўйилди,
 -фталейинни утли ва утсиз тажрибаларда раққислаштириш нақтини
 қилилади.

Орган ва туқималарда холестерин миқдорини аниқлаш

Холестерин — циклопентанопергидрофенантенин ҳосиласи бўлиб,
 эркинида 27 углерод атоми тутадиган кўп қалқали туғинмаган спирт.
 Холестерин структурасидаги 3-углерод атомида битта гидроксил,
 қанда 6- углерод атомлари орасида битта қуябоғ. 10 ва 13 углерод
 да CH_3 /метил группаси/ группалари, 17- углерод атомида 6 угле-
 родли углеводород занжири бор. Холестеринни эмпирик формуласи
 /мол. оғирлиги 386/.



Холестерин

Холестерин — қуритилган ҳайвон организми оғирлигининг 0,25-
 0,30% ни ташкил этади. Холестерин эркин ёки эфирлар ҳолида нор-
 мал шароитда организмда оз миқдорда учрайди, патологик ҳолатлар-
 да эса холестериннинг миқдори ортади ва гиперхолестеринемияга
 олиб келади. Холестерин миқдорининг ортиши сарик, жигар циррози,
 нефроз ва уремия касалликларда учрайди. Эндокрин касалликларида —
 микседема, кретинизм ва диабет, авитаминоз касалликларида ҳам
 холестериннинг миқдори қупаяди.

Базедов касаллигида, анемияда гипохолестеринемия кузатилади.
 Холестерин моддалар алмашинувини бошқаришда муҳим аҳамиятга эга

булган хужайра мембраналарининг тузилишида иштирок этади.

Эритманинг принципини, холестерин миқдорини аниқлаш Либерман-Бунхарднинг рангли реакциясига асосланган. Холестериннинг хлороформли эритмаси сирка ангидриди ва концентранган сульфат кислотаси билан яшил ранг ҳосил қилади, ранг ҳоли булишининг интенсивлиги холестерин концентрациясига пропорционалдир.

Керакли асбоблар: 25 мл ли колба; 1,2,5 ва 10 мл ли пипеткалар; цилиндр; суя ҳалқами.

Реактивлар. 1. Этанол-дихлорид; аралашмаси 3 : 1 нисбатда, Хлороформ. 3. Сирка ангидриди ва концентранган сульфат кислотаси. 4. Холестериннинг стандарт эритмалари, бу эритманинг 1 мл да 0,1 мг холестерин бор.

Ишнинг бориши. Майда килиб қирқилган жигар ёки буйрак туқимасидан 200-300 мг улаиб олиб, ҳажми 25 мл булган қопқоқли колбага солинади ва 15 мл спирт эфирли аралашмадан қушилади. Колбадаги суюқлик аралаштирилгач, қайнатиб олинади. Аралашма қайнагунча сув ҳаммомида қолдирилади. Аралашма совугандан кейин колбага яна спирт эфирли аралашмадан колба белгисигача қушилади. Колбадаги аралашма чайқатилади, сунгра фильтр қорғоз орқали фильтрланади ва қайнаб турган сув ҳаммомида қуригунча парлантирилади.

Парлантириб булгандан кейин колбадаги қолдиқ 10 мл хлороформда эритилади. Рангли реакция қилиб қуриш учун пробиркага 5 мл холестериннинг хлороформдаги эритмасидан солиб, 1 мл сирка ангидриди ва 4 томчи ~~суя~~ қушилади. Яхшилаб аралаштирилган аралашма 30 минут қоронги жойда қолдирилади. Ҳосил булган рангнинг интенсивлиги оптик зичлик катталигига қараб аниқланади. Оптик зичлиги спектрофотометрда 656 нм тулқин узунлигида улчанади. Холестерин миқдори калибрланган графикдан аниқланади, калибрланган графикни тузиш учун холестериннинг стандарт эритмасидан турли концентрация олиб, рангли реакцияси бажарилади ва оптик зичлиги улчанади.

Туқимадаги холестерин миқдори /мг % да/ қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$x = \frac{m \cdot V_2 \cdot 100}{V_1 \cdot V_2}$$

Бунда: m - намунадаги холестерин миқдори, мг; V_1 - спирт-эфирли аралашманинг ҳажми /25 мл/, V_2 - аниқлаш учун олинган спирт - эфирли экстрактнинг ҳажми /5 ёки 10 мл/.

C_2 - холестерин хлороформдаги эритмасининг умумий ҳажми (10 мл),
 U_3 - рангли реакция учун олинган холестериннинг хлороформдаги
 эритмаси M мл/, P - туқиманинг оғирлиги, г.

Бу метод билан намуналардаги холестериннинг миқдорини 0,05 дан
 0,5 мг гача аниқлаш мумкин.

Туқималардан умумий липидларни ажратиш ва
 миқдорини аниқлаш

Методнинг принципи. Умумий липидлар туқималардан хлороформ ва
 метанол аралашмаси билан экстракция қилиниб, нолипид бошқа қолдиқ-
 лардан сув ёки кучсиз тузларнинг эритмаси билан ювилади, қуритила-
 ци ва липидлар чукмаси аналитик торозиларда улчанади. Умумий липид-
 ларни аниқлаш Кейте М. (1975) методига асосланган.

Керакли асбоблар: гомогенизатор; центрифуга; цилиндр; қайчи;
 бокс ёки стакан; 1, 2, 5 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. Хлороформ, 2. Метанол. 3. 1-аралашма, бу аралаш-
 ма хлороформ ва метанолдан тайёрланади, аралашма липидларни экст-
 ракция қилиш учун 1:2 нисбатдаги ҳажми тайёрланади. 4. 2-аралашма,
 хлороформ-метанол-сув, бу қуйдаги нисбатда тайёрланади 1:2:0,8.
 5. Қон плазмаси.

Ишнинг бориши. Центрифуга стаканларига 1 мл қон плазмаси ва
 4,75 мл 1-аралашмадан солинади, сунг 30-60 минут давомида чайқати-
 либ турилади. Сунгра 10 минут 3000 айл/мин тезликда центрифуга
 қилинади ва экстрактни бошқа пробиркага солинад. Чукмага 4,75 мл
 2-аралашмадан қушиб экстракция қилинади ҳамда иккала экстрактларни
 қушиб юборилади. Шу экстрактга 2,5 мл хлороформ ва 2,5 мл дистил-
 ланган сув қушилади. 10 минут 3000 айл/мин тезликда центрифуга
 қилинади. Хлороформли қават шприц ёки пипетка билан олинади ва
 бошқа идишга солинади, ҳажми аниқлангач тенг ҳажмида бензол қуши-
 лди. Хлороформли липидлар эритмаси олдиндан оғирлиги улчанган
 боксларга ёки стаканларга солинади ва термостатга 60° С га қуйила-
 ци. Қуритиш доимий оғирликка эга булгунча давом эттирилади.

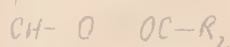
Липид чукмасининг оғирлиги аналитик торози билан улчанади ва
 улчаб олинган туқимадаги липидларнинг миқдори процент ҳисобида қу-
 йдаги формула билан ҳисобланади.

$$X = \frac{m \cdot 100}{P}$$

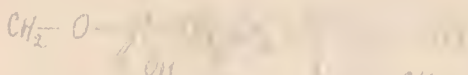
Бунда: m - липидлар чукмасининг оғирлиги, г, n - липидларнинг анализ қилиш учун олинган туқимонинг оғирлиги, г;

Товуқ тухуми саригидан лецитинни акратив олиш

Лецитин фосфоглицеридларга (фосфативилхолинларга) киради. Лецитин гидролизланганда глицерин молекуласи, икки молекула ё кислотаси, фосфат кислота молекуласи ва асосли асос ҳолига ажралади. Холинфосфат кислотаси қолдинининг ҳамла таркибидаги ёғ кислоталарининг бирикшига қарао ва - лецитинларга булинади.

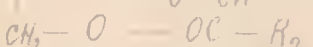
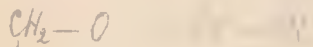


CH



CH₂

лецитин



CH₃

Бунда: В - лецитин; R_1, R_2 - ёғ кислоталарининг қолдиқлари.

Керакли асбооблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; 100 мл ли стакан, шима таёқча.

Реактивлар. 1. Товуқ тухумининг сариги. 2. Этил спирти. 3. Ацетон. 4. Кадмий хлориднинг туинган эритмаси (спиртда ёрланади).

Ишнинг бориши. Стаканга тахминан 1/5 - 1/6 тухум саригидан солинади ва шима таёқча билан аралашти, ио туғиб 10 мл иссиқ сир қўшилади. Стакандаги сужклик совуганнан кейин куруқ пробиркага фўльтрланади. Фўльтрат тиниқ булиши керак.

Лецитиннинг шу спиртли фўльтрати билан бир катор реакциялар бажарилади.

1. Ацетон билан чуқтириш. Куруқ пробиркага 2-3 мл ацетон лингач, лецитиннинг спиртдаги эритмасидан томчилаб қўшилади. Натижада чуқма ҳосил булади, сабаби лецитин ацетонда эримайди.

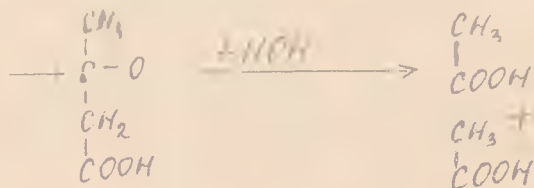
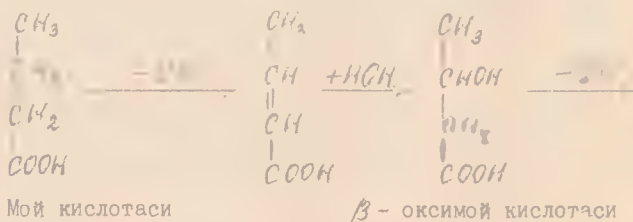
2. Лецитиннинг эмульсия ҳосил қилиши. Бунинг учун пробирка

катор 2-3 мл лецитиннинг спиртдаги фильтратдан солиб, томчилаб чиқилган сув қушилади. Натижада лецитиннинг сувдаги тургун эмульсияси ҳосил бўлади.

3. Кадмий хлорид билан қўйириш. Пробиркага 1 мл лецитиннинг спиртдаги эритмасидан солиб, томчилаб кадмий хлориднинг эритмасидан қушилади. Лецитин кадмий хлорид билан ҳосил қилиб, қолида чуқмага тушади.

Сийдикда ацетонли таначаларни аниқлаш

Одам ва ҳайвон туқималарининг таркибига кирадиган олий ёғ кислоталарида углерод атомлари жұфт сонда булади. Туқималарда олий ёғ кислоталари парчаланганда ёғ кислотаси аввал калрон, мой кислотасига, у ўз навбатида икки молекула сирка кислотасига парчланади. Бу реакцияларни схематик равишда қуйидагича ёзиш мумкин.



Сиркаацетат кислотаси

Сирка кислотаси

Сирка ацетат кислота, β - оксимой кислота ва ацетондан иборат бу бирикмалар келиб чиқадиган манба ёғ кислоталардир. Нормал организм қон плазмасида кам миқдорда ацетон /кетон/ таналари учрайди. Бир қатор касалликларда, масалан, қанд касаллигида, икки организмда углеводлар запаси камайганда ёғларнинг оксидланиши тезлашиб, кетон таналар миқдори ортиб кетади. Натижада туқималарда ва қонда β - оксимой кислотаси ва сирка кислотани

ацетати йигила бошланади, бир қисм сирка ацетат кислотаси декар-боксилланиб, ацетон ҳосил қилади.

Ацетон сиркаацетат кислотаси ва β -оксимой кислотаси, ацетон ёки кетон танаҷалари деб аталади. Ацетон танаҷаларининг қонда ва сийдикда ортиб кетиши биохимиявий метод билан аниқланади.



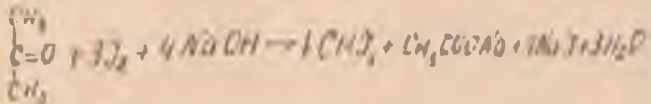
Сирка ацетат
кислотаси

Ацетон

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар.

Реактивлар. 1. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси. 2. Йоднинг калий йоддаги эритмаси. 3. Таркибида ацетон бор сийдик (0,5 л сийдикка 5 мл ацетон қушилади).

Ишнинг бориши. Ацетон ишқорий шароитда йод билан узаро таъсир этиб, йодоформасини ҳосил қилади, буни сарик рангли чуқма ҳосил булишидан ва характерли ҳидидан билиш мумкин. Реакцияни қуйидаги-ча ёзиш мумкин.



Пробиркага 1 мл текширилаётган сийдикдан солинади ва 1-2 томчи натрий ишқорининг эритмасидан ва 3-4 томчи йодни калий йоддаги эритмасидан солинади. Реакция натижасида сарик чуқма ва йодоформанинг характерли ҳиди ҳосил булади.

Сирка ацетат кислотасининг сифат реакцияси

Сирка ацетат кислотасининг енол формаси, темир хлорид билан узаро таъсир қилиб, комплекс бирикма ҳосил қилади, бу бирикма олча қизил рангни ҳосил қилади.

Реактивлар. 1. Темир хлориднинг 1% ли эритмаси. 2. Сийдик таркибида сирка ацетат кислотаси булган (0,5 л сийдикка) 1 г салицил кислотаси қушилади.

Ишнинг бориши. Пробиркага I мл текширилаётган сийдикдан соли-
ници на томчилаб темир хлорид эритмасидан қушилади. Натижада
очқоқ қизил ранг ҳосил бўлади.

Уш боб. Ферментлар

Ферментлар тирик организмларнинг ҳамма ҳужайралари ва туқима-
ларининг таркибига кириб, биологик катализаторлик вазифасини ба-
таърифлаган специфик оксиллардир. Тирик организмларнинг фаолияти
ферментларга боғлиқдир. Организм билан ташқи муҳит уртасидаги мод-
далар алмашинуви жараёнларида ферментларнинг ҳаят катга аҳамияти

Одам ва ҳайвонларнинг ҳазм йулидаги гидролитик жараёнлар
37°C га яқин тана ҳароратида урта кислотали /ошқозонда / еки сушт
қисқорий реакциялар /ичакда/ етарлича содир бўлади. Ҳазм ширалаари-
нинг таркибида махсус ферментлар /пепсин, трипсин, липаза ва бош-
қалар/ бор. Озиқ моддаларнинг ҳужайраларда истеъмол қилиниши,
уш молекулалардан моддалардан химиявий энергия ажралиши, туқималар-
нинг кислород қабул қилиши, CO₂ ҳосил бўлиши ҳамда туқима ва ҳужай-
ралардаги бошқа процесслар ҳам ферментлар иштирокида боради.

Ферментлар бир қатор умумий хусусиятларга эга. Шулардан бири
ферментлар оксил хосасига эга бўлиб, жуда беқарордир /лабиль/,
ташқи муҳит узғаришига жуда ҳам сезгирдир. Ферментларнинг ҳам ок-
силларга хос юқори молекула оғирлиги, амфотерлик ва маълум изоелек-
трик нуқтага эга, турли таъсурот натижасида денатурацияга учрай-
ди. Ҳар бир ферментатив реакция оптимал ҳарорат ва водород ионла-
ри концентрацияси мавжуд бўлганда боради, бу хусусият уларнинг ок-
сил табиатига боғлиқ. Бундан ташқари, ферментлар аорганик ката-
лизаторларнинг аксича, юқори даражада спецификлиги ҳам уларнинг
оксил хусусиятига боғлиқ.

Барча ферментлар оксил табиатига эга бўлиб, бир компонентли
ферментлар, яъни оксилнинг узидан иборат ва икки компонентли фер-
ментлар, яъни оксил қисмидан ташқари простетик группаси бўлган
группаларга бўлинади. Икки компонентли ферментларнинг оксил қисми
кофермент, оксил бўлмаган қисми кофермент деб аталади. Кофермент-
ларга турли металл ионлари, нуклеотидлар, витаминлар, гемин груп-
паси ва бошқа бирикмалар кириди. Масалан, ҳужайра нафас олишининг
асосий ферментлари — цитохромлар, каталаза, пероксидазаларнинг
простетик группаси — металлопорфиндан иборат.

Ферментларнинг ҳаммаси 6 та асосий синфга бўлинади.

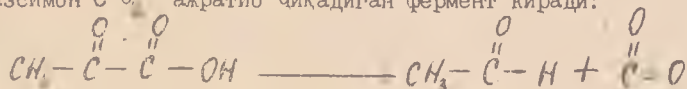
I - синф - гидролазалар. Бу синф ферментлари сув иштирокида молекулалар ичидаги боғларни узич йули билан ҳар хил бирикмаларнинг гидролиз жараёнларини таъминлайди.

Бу синф ферментларига меъда - ичак йулининг ферментлари - амилаза, пепсин, липаза, фосфатаза, нуклеотидаза ва бошқалар киради.

II - синф - трансферазалар. Бу синфга кирувчи ферментлар айрим функционал гуруҳларни молекулалар уртасида кучиришни таъминлайди. Масалан, аминотрансферазалар - амин гуруҳларини $(-NH_2)$, метил-трансферазалар метил гуруҳларини $(-CH_3)$ кучиради; креатинкиназа креатинфосфат ҳосил бўлишини катализлайди, гексокиназа гексоза молекуласига фосфат гуруҳасини кўчирувчи вазифасини бажаради ва ҳоказо.

III - синф - оксидоредуктазалар. Бу синфга ҳужайралардаги оксидланиш - қайтарилиш реакцияларини катализлайдиган ферментлар киради. Масалан, лактатдегидрогенеза ферменти сут кислотанинг оксидланишини таъминлайди, глюкоза - 6 - фосфатни 6 - фосфоглюконолактонгача оксидлайди, ксантиноксидаза сийдик кислотасини ҳосил бўлишида илтирок этади.

IV - синф - лиазалар. Лиазалар қандай бўлмасин бирор гуруҳани субстратдан гидролитик бўлмаган йул билан ажратиб оладиган ферментлардир. Бу синфга кирувчи ферментлар жумласига, масалан, пируватдекарбоксилаза, яъни пируват кислотасидаги $-C-C-$ боғини узиб, газсимон $C=O$ ажратиб чиқадиган фермент киради:



Лиазалар моддалар алмашинуви жараёнларида жуда муҳим роль ўйнайди. Масалан, тўқима нафас олишида, карбонат ангидрид ҳосил бўлишида лиазалар илтирок этади.

V - синф - изомеразалар. Ҳар қандай изомер ўзгаришларини сабаб буладиган ферментлар изомеразалар деб аталади. Бу ферментларга мисол қилиб фосфогексизомераза, триозофосфатизомеразани олиш мумкин.

VI - синф - лигазалар ёки синтеазалар. Аденозинтрифосфат (ATP) ва аналогларининг парчаланиш энергияси ҳисобига синтез реакцияларини лигаза ферментлари катализлайди. Бу синфга мисол

қилиб ацил - K_2O - синтезага, пируваткарбоксилаза ва бошқаларни олиш мумкин. Пируваткарбоксилаза иштирокида пирувум кислотасига ATP қатнашуви билан CO_2 бирикиб, оксалоацетат кислота ҳосил була-



Ферментларнинг термолабиллиги

Ферментлар оқсил табиатига эга булгани учун, уларнинг муҳим харақтерли хоссаси термолабиллиги, яъни юқори ҳароратга сезгирлигидир. Ферментатив жараёнлар 70°C дан юқори ҳароратда давом эта олмайди, $80\text{--}100^\circ\text{C}$ да ферментлар узининг каталитик хоссаларини бутунлай йукотиб қуяди, оқсил қисми денатурацияга учрайди. Ҳамма ферментлар учун муайян бир ҳарорат булиб, бунда фермент юқори активликка эга булади. Иссиқ қонли ҳайвонларнинг ҳужайра ва туки-молларидан ажратиб олинган купчилик ферментлар учун энг қулай ҳарорат $37\text{--}40^\circ\text{C}$ дир. Паст ҳароратларда ферментатик катализ тезлиги паскинлашиб, 0°C да пассив ҳолатда булади.

Методнинг принципи. Сулак таркибидаги амилаза ферментининг активлигига турли шароитдаги ҳароратнинг таъсири текширилади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; 50 мл стакан; спиртовка; термостат; муз ҳаммоми.

Реактивлар. 1. Суултирилган сулак /огиз дистилланган сув билан шийиб ташланади, кейин оғизга 10-15 мл сув олиб 2-3 минут ушлаб қўйилади ва стаканга солинади /. 2. 1% ли крахмалнинг 0,3% ли натрий хлориддаги эритмаси. 3. Йоднинг калий йоддаги эритмаси 1 мл дистилланган сувда 1 г калий йод эритилади ва унда 1 г йодни эритилади, эритма ҳажмини 300 мл га сув билан олиб борилади. 4. Нис сульфатнинг /1,2 г / 5% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Учта пробиркага 1-2 мл дан суултирилган сулак /амилаза/ солинади. Биринчи пробиркадаги сулак 2-3 минут қайнатилади. Сунгра ҳамма пробиркаларга 3-4 мл дан крахмал солинади. Биринчи ва иккинчи пробирка 15-20 минут 37°C ли термостатга инкубацияга қўйилади. Учтинчи пробирка 15-20 минут муз ҳаммомига қўйилади.

Инкубациядан кейин ҳар бир пробиркадаги суюқлик иккига бўлиниб, пробиркаларга солинади ва А ҳамда Б қатордаги пробиркалар деб белгиланади. А қатордаги пробиркаларга бир неча томчи йоднинг калий

Йоддаги эритмасидан солинади, Б қатордаги пробиркаларга эса 20% ли натрий ишкоридан 2-3 мл ва 3-4 томчи 5% ли мис сульфат эритмасидан солиб қиздирилади, яъни Троммер реакцияси бажарилади. Тажрибада олинган натижалар жадвалга ёзилади ва ферментларнинг термобиллиги ҳақида хулоса қилинади.

Пробиркаларнинг номери	Фермент	Тажриба шароити	Субстрат	Инкубация	А қатор пробиркалари	
					Йод билан ҳосил бўлган ранг	Троммер реакциясининг натижаси
1	Амилаза	Денатурацияга учраган фермент	Крахмал	15-20 минут	37°C	
2	Амилаза	Натив ҳолатдаги фермент	Крахмал	15-20 минут	37°C	
3	Амилаза	Натив ҳолатдаги фермент	Крахмал	15-20 минут	0°C	

Ферментларнинг узига ҳослиги

Ферментлар биологик катализаторлар бўлиб, улар узига ҳос таъсир қилиш хусусиятига эга. Уларнинг бундай узига ҳослиги тирик организмларга ҳос бўлган муҳим хусусиятлардан бири ҳисобланади. Каталитик жараёнларда фермент-субстрат комплексининг ҳосил бўлиши ферментларнинг оксил молекуласи тузилишига, унинг актив қисмлари билан субстратнинг тегишли группалари уртасидаги химиявий боғлар ҳосил бўлишига боғлиқ. Ҳар бир фермент фақат маълум субстратга ёки молекуладаги химиявий боғнинг маълум типигагина таъсир этади. Шундай қилиб, ферментларнинг узига ҳос моҳияти, фермент субстратга катит қўлдан тушгандай мос келиши зарур.

Методнинг принципи. Амилаза ва сахароза ферментларини турли субстратларга, яъни крахмал ва сахарозага таъсири текширилади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пинеткалар; термометр, спирт лампаси.

Реактивлар. 1. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 2. Сахарозанинг 1% ли эритмаси. 3. Суялтирилган сўлак. 4. Сахароза /10 г ачитқини 100 мл дистилланган сувда гомогенизация қилинади/. 5. Натрий ишқорининг 20% ли эритмаси. 6. Мис сульфатнинг 5% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Биринчи ва иккинчи пробиркаларга 2-4 мл крахмал эритмасидан; учинчи ва тўртинчи пробиркаларга 2-4 мл сахароза эритмасидан солинади. Биринчи ва учинчи пробиркаларга 2-4 мл суялтирилган сўлак /амилаза/, иккинчи ва тўртинчи пробиркаларга 2-4 мл сахароза ферменти солинади, сунгра пробиркаларни чайқатиб, 10 минут 37°C ли термостатга инкубация учун қўйилади. Инкубациядан кейин I ва 2-пробиркаларга I-2 томчи йоднинг калий йоддаги эритмасидан томизилади. 3 ва 4 пробиркаларга 2-4 мл натрий ишқорининг 20% ли эритмасидан, 2-4 томчи мис сульфатнинг 5% ли эритмасидан солиб қиздирилади. Реакция натижалари жадвалга ёзиб, хулоса қилинади.

Пробиркалар номери	Субстрат	Фермент	Инкубация	Йод билан ҳосил булган ранг	Термометр реакция натижаси
--------------------	----------	---------	-----------	-----------------------------	----------------------------

- | | | | | | |
|----|----------|----------|--------------|--|--|
| 1. | Крахмал | Амилаза | 20 мин, 37°C | | |
| 2. | Крахмал | Сахароза | | | |
| 3. | Сахароза | Амилаза | | | |
| 4. | Сахароза | Сахароза | | | |

Крахмалнинг ферментатив гидролизи

Гидролиз моддалар таркибини урганиш методларидан биридир. У кислотали, ишқорий ва ферментатив бўлиши мумкин. Улар орасида маълум фарқ мавжуд бўлиб, шулардан бири ҳароратдир. Агар биринчи, иккинчи гидролиз хили узоқ қайнатиш давомида утса, ферментатив гидролиз эса маълум, яъни тана ҳароратида амалга оширилади. Крахмал фермент амилаза таъсирида декстринлар, мальтоза, глюкозагача гидролизланади. Амилаза ферменти сулакда, ошқозон ости безининг ширасида, конда, жигарда учрайди.

Тажриба натижалари йод ва Троммер реакциялари ёрдамида аниқланади. Гидролизланмаган крахмал йод билан кук рангни /мусбат реакция/ ва манфий Троммер реакциясини беради, чунки у қайтариш хусусиятига эга эмас. Шунинг учун крахмал гирозининг маҳсулоти /мальтоза ва глюкоза/ йод билан кук рангни ҳосил қилмайди. Троммер реакциясида эса моносахаридлар, эркин карбонил группасига эга булган айрим дисахаридлар /мальтоза, лактоза/ ишқорий шароитда металлларни қайтариш хусусиятига эга.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 2 ва 5 мл ли пипеткалар; сув ҳаммоми ёки термостат.

Реактивлар. 1. Сулак /сулакнинг дистилланган сув билан 10 марта суюлтирилгани/. 2. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 3. Йоднинг калий йоддаги эритмаси. 4. Натрий ишқорийнинг 20% литр эритмаси. 5. Мис сульфатнинг 5% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Иккита пробиркага 2 мл дан 1% ли крахмал эритмаси солинади. Сунгра биринчи пробиркага 1 мл дистилланган сув /контрол/, иккинчи пробиркага эса 1 мл суюлтирилган сулак эритмасидан қушилади. Пробиркалар чайқатилади ва сув ҳаммомига ёки термостатга 37°C да 20 минут қолдирилади. Инкубациядан сунг, 1-пробиркадаги суюқликни иккига булиб, а ва б пробиркага солинади. 2 пробиркадаги суюқликни ҳам а¹ ва б¹ пробиркаларга булинади. Пробиркалар а ва а¹ га 2-4 томчи йоднинг калий йоддаги эритмасидан солинади, б ва б¹ пробиркаларга эса 1-2 мл натрий ишқорийнинг 20% ли эритмасидан, 3-4 томчи мис сульфатнинг 5% ли эритмасидан солиб қиздирилади. Тажриба натижалари асосида хулоса қилинади ва натижалар жадвалга ёзилади.

Пробиркалар номери	Суб- страт	Фермент	Инкубация 37°C	Йод билан реакцияси	Троммер реакцияси
-----------------------	---------------	---------	-------------------	------------------------	----------------------

1 Крахмал Сув 20 мин. а
(контрол/)

2 Крахмал Амилаза 20 мин. а'

а¹

Ферментлар активлигига муҳит рН нинг таъсири. Ферментларнинг характерли хусусиятларига уларнинг муҳит рН нинг узгаришига сезгирлиги киради. Ферментларнинг активлиги 11 қийматиге қараб кескин ўзгариб туради. рН нинг оптимал қиймати турли ферментлар

учун бир хил эмас. Масалан: рН нинг оптимал қиймати пепсин учун 1,5-2,0; сулак амилазаси - 6,8 - 7,0; трипсин 7,8 га тенг. Купчилик ферментлар нейтрал ёки кучсиз ишқорли ёки кучсиз кислотали реакцияда ҳаммадан куп активликка эга бўлади. Ферментлар изоэлектрик ҳолатда ҳаммадан катта активликка эга бўлади. Оптимал активлик зонаси доираларида фермент заррачалари электр майдонида одатда катодга ҳам, анодга ҳам қараб ҳаракатланмайди. рН нинг узгариши фермент фаолиятининг пасайишига ёки бутунлай тухташига олиб келади. Натижада ферментнинг актив марказ структураси бузилади.

Реактивлар: 1. 1% ли йоднинг калий йоддаги эритмаси. 2. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 3. Хлорид кислотасининг 0,2 н эритмаси.

Ишнинг бориши. 8 та пробиркага 1 мл дан дистилланган сув солинди, сўнгра 1-пробиркага 1 мл 0,2 н ли хлорид кислотаси эритмасидан қушилади ва аралаштирилади. Сўнгра шу пробиркадаги суяқликдан 1 мл олиниб, 2-пробиркага солинади ва аралаштириб, ундан ҳам 1 мл олинади-да, 3-пробиркага қўйилади ва ҳоказо. 8-пробиркадан 1 мл олиб тукиб ташланади. Шундай қилиб, хлорид кислотанинг ҳар хил концентрацияси ҳосил қилинади, улар муҳитнинг ҳар хил рН қийматига тўғри келади. Шундан кейин ҳар бир пробиркага 2 мл дан 1% ли крахмал эритмасидан ва 1 мл дан суяқтирилган сулак эритмасидан қушилади, пробиркалар э чайқатилади ва 20 минут 37°C да термостатга қўйилади. Совугандан кейин ҳамма пробиркаларга 1-2 томчилик 1% ли йоднинг калий йоддаги эритмасидан қушилади. 5- ва 6-пробиркаларда крахмалнинг тула гидролизи рўй бергани белгиланади, бу пробиркаларда эритма муҳитининг рН 6,8-7,2 атрофида, шунинг учун амилаза оптимал активликка эга бўлади.

Ферментларнинг активлигига активатор ва ингибиторлар таъсири. Ферментатив реакцияларнинг активлигини оширувчи моддалар активаторлар деб аталади. Купинча катионлар активаторлик вазифасини бажаради. Махсус активаторларга Mg^{2+} , K^+ , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} каби металл катионлари киради. Анионлар ҳам бир қатор ферментлар активлигига таъсир қилади. Масалан, аденозинтрифосфатаза ферментининг активлиги $H_2PO_4^-$, Mg^{2+} , Ca^{2+} катионлари, амилаза ферментининг активлиги хлор, йод, бром анионлари таъсирида анча оштиради.

Ферментатив реакцияларнинг активлигини пасайишига олиб келувчи моддалар ингибиторлар дейилади. Ингибитор субстрат билан фақат

ферментнинг актив маркази учун рақобатлашади. Оғир металл тузлари, метаболитлар, гормонлар ингибиторлар ҳисобланади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; термостат.

Реактивлар. 1. Суялтирилган сулак. 2. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 3. Натрий хлориднинг 1% ли эритмаси. 4. Мис сульфатнинг 1% ли эритмаси. 5. Йодни калий йоддаги эритмаси.

Ишнинг бориши. Иккита пробиркага 3-4 мл крахмал эритмасидан солинади. Биринчи пробиркага 1-2 мл натрий хлорид эритмаси, иккинчи пробиркага эса шунча миқдорда мис сульфатнинг эритмасидан қўшилади, сунгра иккала пробиркага 1-2 мл суялтирилган сулак қуйилади ва пробиркалар чайқатилади.

Тажриба натижаларидан ҳулоса қилиниб, жадвалга ёзилади.

Активатор ва ингибиторларнинг сулак
амилазаси активлигига таъсири

Пробиркалар номери	Фермент	Субстрат	Эффектор	Инкубация	Йод қушилангандан кейин эритманинг ранги
	Амилаза	Крахмал	сулак	20 мин, 37°C	
	Амилаза	Крахмал	1. 30%	20 мин, 37°C	

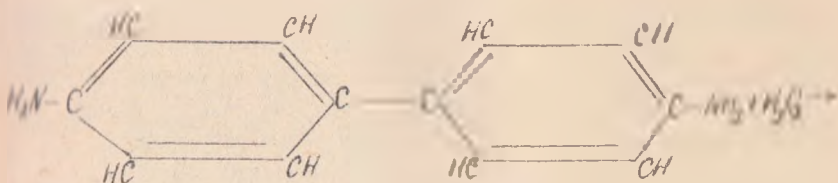
Пероксидаза активлигини зичқлаш

Пероксидаза ҳайвон ва усимлик туқималарида кенг тарқалган, химиявий табиатига кура гемпротеин булиб, протетик группасининг таркиби темирпорфириндан иборат. Фермент бир қатор органик бирикмаларни (феноллар, полифеноллар, ароматик аминлар) водород перокси иштирокида оксидланиш реакцияларини катализлайди.

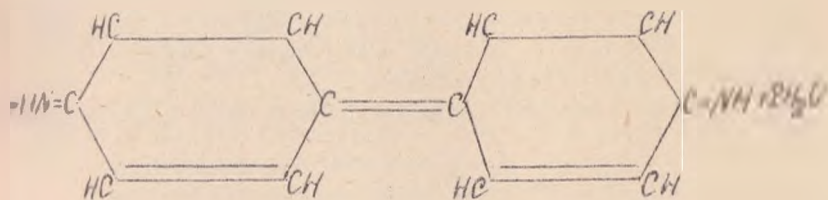
Методнинг принципи. Пероксидаза бензидинни дифенохинонди-мингача оксидланиш реакцияларини катализлайди:

Керакли асбоблар: 25 мл ли колбалар; пипеткалар, спектрофотометр.

Реактивлар. 1. Янги қон, 1 : 1000 суялтирилади. 2. 1% ли

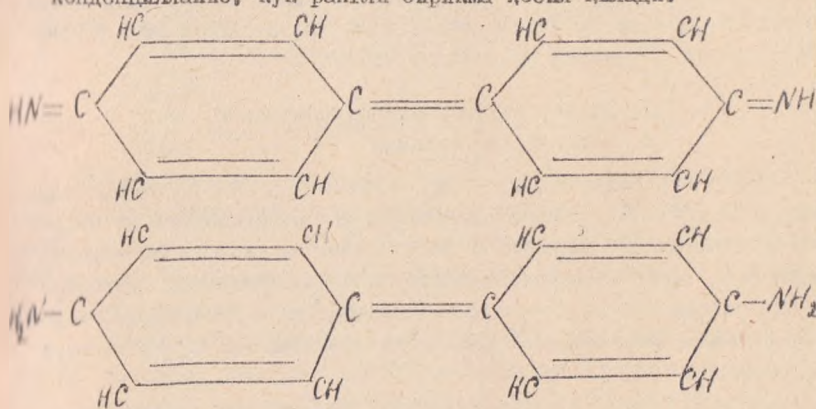


Бензидин



Дифенохинондимиин

Дифенохинондимиин молекуласи бензидиннинг молекуласи билан конденцияланиб, кук рангли бирикма ҳосил қилади.



Бензидин кўки

1. Бензидиннинг сирка кислотадаги эритмаси.
2. 3. Водород пероксидининг 3% ли эритмаси.
4. Натрий ишқорининг 30% ли эритмаси.
5. 6. Этил спирти.
6. 0,01 н калий перманганатнинг эритмаси.

7. Стандарт эритма, 25 мл ли колбага 2 мл 1% ли бензиндин эритмаси, 3 мл 0,01 N калий перманганатнинг эритмасидан қушилади ва 10 минут қолдирилади, шундан кейин 10 мл 30% ли натрий ишқорини эритмасидан солинади ҳамда колба белгисигача спирт қуйилади. Бу эритма фермент активлигини аниқлашдан олдин тайёрланади.

Ишнинг бориши. 25 мл колбага 2 мл бензиндин эритмаси, 2 мл 3% ли водород пероксиди ва 1 мл суялтирилган қон солинади. Колба чайқатилгач, 3 минутдан кейин 10 мл 30% ли натрий ишқори эритмасидан қушилади ва колба яна чайқатилади. Буялган чўкма ҳосил бўлади, уни спиртда эритгач колба белгисигача спирт қушилади. Текшириляётган ва стандарт эритмалардаги рангнинг интенсивлиги спектрофотометрда ўлчанади.

Ферментнинг активлиги қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$X = \frac{h_2 \cdot 5}{h_1 \cdot 25}$$

Бунда: h_1 - стандарт эритманинг оптик зичлигининг энтенкцияси; h_2 - текшириляётган эритманинг оптик зичлигининг энтенкцияси; 25 - колбадаги эритманинг ҳажми, мл; 5 - колбадаги бензиндин, водород пероксиди ва қоннинг ҳажми, мл.

Глутаматдегидрогеназа ферментининг активлигини аниқлаш

Глутаматдегидрогеназа / ~~X~~ -глутамат : НАДФ - оксидоредуктаза, К.Ф.1.4.1.3. / митохондриянинг ички мембранасига ва матриксига жойлашган. Бу фермент - субстратнинг оксидланиши, водород ажратилиши билан борадиган реакцияларни катализлайди. Донордан ажралиб чиқадиган водород турли акцепторларга қучирилади. Фермент активлигини аниқлаш НАДФ^н ни оксидланиш ёки НАДФ⁺ қайтарилиш тезлиги билан ўлчанади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; центрифуга; гомогенизатор; муз ҳаммоми; спектрофотометр; пипеткалар.

Реактивлар: 1. 0,25 M сахароза эритмаси. 2. 0,05 M ~~Na~~ K - фосфатли буфер, pH 8,2. 3. 0,5% ли тритон X - 100 эритмаси, ~~Na~~ K - фосфатли буферда тайёрланади. 4. 0,25 M сахароза трис-буфери; pH 8,2. 5. ~~EDTA~~ ЭДТА эритмаси. 6. 18 X ~~10~~ M

НАДФ эритмаси. 7. 0,75 М глутамин кислотасининг эритмаси. 8. Туқима.

Ишнинг бориши. Глутаматдегидрогеназининг активлиги митохондрия фракцияларида аниқланади. Митохондрияни ажратиб олиш учун 0,5 г туқима олинади ва қайчи билан майдаланади. Туқимани гомогенизация қилиш учун 0,25 М сахарозанинг 0,1 М ЭДТА даги эритмаси ишлатилади. Туқиманинг 1:10 нисбатдаги гомогенати тибёрланиб, 1200 айл/мин да 10 минут центрифуга қилинади. Чукма ташлаб ёборилади, суюқлик қисмини 12000 айл/мин да 10 минут центрифуга қилинади. Олинган чукма икки марта 0,25 М сахароза эритмаси билан ювилади, шундан кейин трихон X - 100 эритмаси билан митохондриянинг мембранаси бузилади, бунийг учун 1 мл трихон X - 100 эритмасидан ва 1 мл митохондрия фракцияси-дан олиниб гомогенизация қилинади, сунгра 20 минут музга қўйилади. Митохондрия суспензиясини 30 минут 12000 айл/мин центрифуга қилинади. Чукма ташлаб ёборилади, суюқлик билан глутаматдегидрогеназининг активлиги аниқланади.

Фермент активлигини аниқлаш учун қуйидагича инкубацион аралашма тайёрланади /битта намунага мл ҳисобида/:

0,25 М сахароза, трис = HCl буфёр	0,6
ЭДТА	0,3
Сув	1,7
НАДФ	0,1

Спектрофотометр қобетасига 2,7 мл инкубацион аралашма ва 0,1 мл митохондриянинг экстрактидан солинади. Реакция инкубацион аралашмага 0,2 мл 0,75 М глутамин кислотасини қўлиш билан бошланади. Намунанинг оптик зичлиги ҳар 15 секундада 1,5-2 минут вақт давомида улчанади.

Глутамат дегидрогеназа активлиги /мк мол НАДФ /мин/ 1 мг оксил/ қуйидаги формула билан ҳисобланади.

$$X = \frac{2,2 \cdot V \cdot 1000}{6,22 \cdot a}$$

Бунда: Δ - 1 минут давомидаги эритманинг оптик зичлигининг ўзгариши; V - намуначанинг умумий ҳажми /3 мл/;

Ц - намунадаги оксигеннинг миқдори, мг. 6,22 - қайтарилган пиридиннуклеотидлар формасининг 340 нм тулқин узунлигидаги микроляри экстинкция коэффициенти:

Уш боб. Витаминлар

Витаминлар - кичик молекуллар оғирлигидаги моддалар булиб, органик бирикмаларнинг турли синфларига киради. Витаминлар - ҳайвонлар, микроорганизмлар, усимликларнинг энг муҳим физиологик ва биохимиявий жараёнларида иштирок этади. Уларнинг қупчилиги икки компонентли ферментларнинг простетик группалари - коферментлар таркибига киради.

Организмда қандайдир витаминнинг бутунлай булмаслиги авитаминозга, яъни бутун организмнинг маълум витаминнинг йўқлигига характерли белгилар билан касаллигига сабаб бўлади. Қупинча витаминларнинг қисман етишмовчилик ҳоллари - гиповитаминозлар учрайди; улар бирламчи ва иккиламчи булиши мумкин. Витаминлар ҳаддан ташқари қуп истеъмол қилинганда организмнинг интоксикацияси гуй беради, бу гипервитаминозлар деб аталади.

Ҳозирги вақтда айрим витаминлар ва уларнинг хиллари уттизга яқин. Витаминлар овқатнинг турли компонентларига боглиқ булишига қараб, фақат эрувчанлиги асосида, иккита катта группага; сувда эрийдиган ва ёгда эрийдиган витаминларга булинади.

Ёгда эрийдиган витаминлар группасига А, Д, В ва К витаминлари киради.

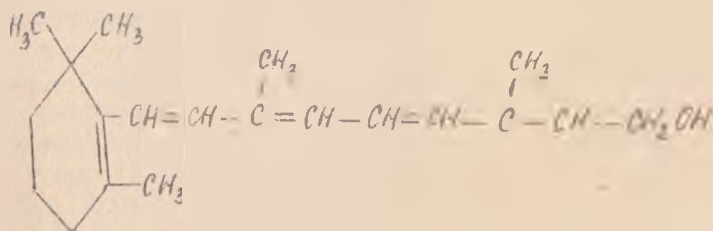
Сувда эрийдиган витаминлар группасига В - витаминлар группаси: В₁ - тиамин, В₂ - рибофлавин; РР - никотинамид, В₆ - пиридоксин, Н - биотин, пантотинат ва параминобензоат кислота, холин, инозит, фолат кислота, В₁₂ - цианкобаламин, В₁₅ - пангамат кислота; С витамин /аскорбат кислота/; Р витаминлар киради.

Ёгда эрийдиган витаминлар. Бу группа витаминларига А, Д, В, К группасидаги витаминлар ва бошқалар киради. Витаминларнинг ҳар бир группасига химиявий тузилиши яқин бўлган ўхшаш биологик таъсир курсатувчи қатор бирикмалар киради. Масалан, А витамин группасида А₁, А₂ витаминлар ва бошқалар; В витамин группасида 4 та витамин бўлади: Д витамин группасида уларнинг сони 10 га яқиндир.

А группа витаминлари

А витамин ҳайвон туқималарида, айниқса, жигарда кўп миқдорда бўлади. Усимликларда А витаминнинг узи мутлоқо бўлмайди, лекин уларнинг таркибида ҳайвон организмида А витаминига айланадиган, унинг провитамини – ёғда эрийдиган сарик рангли бирикмалар каротинлар учрайди. Каротинлар тўйинмаган рангли углеводлар – каротиноидлар оиласига киради. Улар ҳайвонлар ичагининг шилимшиқ пардасида парчаланиб, А витаминига айланади, сўнгра жигарда тупланади.

Овқатда А витамин бўлмаганда авитаминозлар учун характерли белгиларини, яъни ўсишининг тўхташи, кўзнинг пардаси қуриб қолиши, ксерофтальмия ва сўнгра унинг қумлаб, некротик эмирилиши – кератомалация пайдо бўлганлигини кузатиш мумкин. А витамин биологик мембраналарнинг структура компонентлари ҳисобланади, жигарда оксил биосинтезини стимуляция қилади, мукополисахаридларнинг синтезида иштирок этади, суяк туқималарининг тараққиётида эл ёруғликни сезиш жараёнларида иштирок этади.



А₁ витамин /ретинол/

А витаминга рангли реакциялар.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар.

Реактивлар. 1. Балиқ еги. 2. Хлороформ. 3. ~~Метилен~~ тўйинган /33 % ли/ эритмаси. 4. Концентранган сульфат кислота.

Ишнинг бориши. 1. Сурма /Ш/ . хлориди билан реакцияси.

Пробиркага бир неча томчи балиқ ёғидан солинади-да, 2 мл хлороформда эритилади ва 2 мл тўйинган сурма /Ш/ – хлоридининг эритмасидан қушилади. Реакция натижасида ҳосил булган маҳсулот кўк рангга эга бўлади. 2. Сульфат кислотаси билан реакцияси. Пробиркага 3-4 томчи балиқ ёғидан солинади, 20-25 томчи хлороформ-

да эритилади ва I томчи концентранган сульфат кислота кушиб чайқатилади. Натижада кук = бинафша ранг ҳосил булади.

Кон зардобдаги умумий каротиноидларни аниқлаш

Кон зардобдаги умумий каротиноидлар Рачевский методи билан аниқланади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; чинни идиш; 40° С сув ҳаммоми; бюретка.

Реактивлар. 1. Кон зардоб. 2. Спирт. 3. Петролейн эфир.

Ишнинг бориши. Булувчи воронкага 0,1 мл кон зардоб ва 1 мл спирт солинади ва аралаштирилади, сунгра 2 мл петролейн эфиридан кушиб, чайқатилади ва 2 мл сувни томчилаб икки қаватга ралиш ҳосил булгунча томизилади. Сунгра сувли қават тулиқ ажратиб ташланади ва петролейн-эфири қават аниқ 2 мл га олиб борилади. Кейин ана шу эритма микробюреткага солинади-ца 40°С сув ҳаммомига қуйилган чинни идишга томчилаб томизилади. Томчилар идишга бўялган ҳалқа ҳосил булгунча кушилади. Буялган ҳалқа ҳосил булганда чуқмадаги каротинларнинг миқдори 0,05 мг га тенг булади. Бюреткадаги петролейн-эфиридан қанча ҳажм кетганлиги ҳам белгилаб олинади. Агарда ҳалқа ҳосил булиши учун 0,5 мл эфири эритма сарфланган булса, унда 100 мл кон зардобдаги умумий каротинларнинг сони қуйидагича булади:

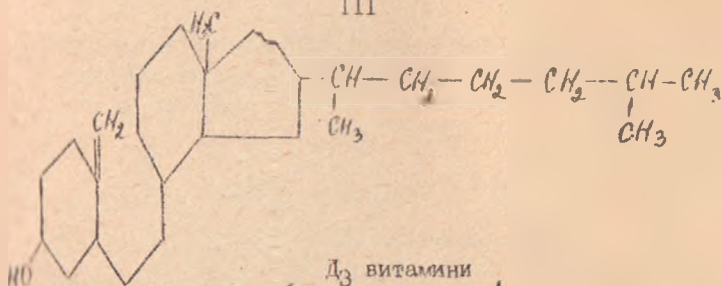
$$\frac{0,05 \cdot 2 \cdot 100}{0,5 \quad 1,0} \quad 200 \text{ мкг } / 0,2 \text{ мг } \%$$

Д группа витаминлари

Д группа витаминлари (Кальцифероллар) химиявий тузилиши кўра, стероидларга ухшаш бирикмалар булиб, табиатда куп топишган, биологик активлиги энг юқори булган витаминлар / Д витаминлар / дир.

Эргастерол ва холестерол I ва II витаминларнинг провитадини ҳисобланади. Ҳайвон организмидаги витаминлар ультрабаданининг нурлари таъсирида стероллардан синтезланади. Организмда Д витамини етишмасе рахит касаллиги пайдо булади. Чунки суяк

III



D₃ витамини
/Холекальциферол/

Элементларида фосфор ва кальций алмашинувини бузади. Бунда ошқор-
лиқ шик нулларида кальций ва фосфорнинг сурилиши бузилади.
Элемент суякда анорганик тузлар етишмаганлигидан у юмшайди ва
танимини йўқотади.

Эргостерин нурланганда бир қатор стерин изомери ҳосил була-
ди. Улардан бири кальциферол рахитга қарши кучли таъсир этади.

D₃ витаминнинг рахитга қарши таъсири.

Реактивлар. 1. Анилин. 2. Концентрланган хлорид кислотаси.
3. CCl_4 нинг 21-23 % ли хлороформдаги эритмаси. 4. Сирка
анидриди. 5. Витаминлаштирилган балиқ мойининг 10% ли хлоро-
формдаги эритмаси. 6. Бромнинг хлороформдаги эритмаси.

Ишнинг бориши. 1 мл балиқ мойига 4-5 мл анилин билан 0,5
мл концентрланган хлорид кислотаси қушилади. Эмульсия сарик
рангга ўтади, қиздирилади ва у қизил рангга киради.

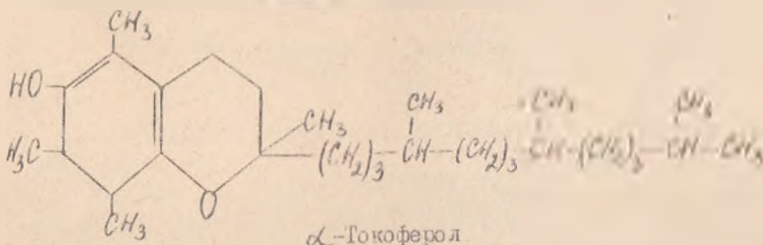
Сурма /Ш/ = хлорид билан реакцияси. Қуруқ пробиркага 3-5
мл балиқ ёғининг хлороформдаги эритмасидан солиб, 8-10 томчи
анидриди ва шунча микдорда CCl_4 нинг хлороформдаги
эритмасидан қушилади. Суюқлик сарик ёки туқ сарик рангни ҳосил
қилади.

Бром билан реакцияси. Пробиркага 8-10 томчи балиқ ёғи со-
либ, 1-3 томчи бромнинг хлороформдаги эритмасидан қуши-
лади. Бир қанча вақтдан сунг яхши фарқланувчи яшил ёки қўқ-яшил
ҳосил булади.

E витамини /Токоферол/

Табиятда токофероллар /E витамини/, кўп бўлиб, биологик
таъсирли эга булганлари α , γ ва δ - токофероллардир.

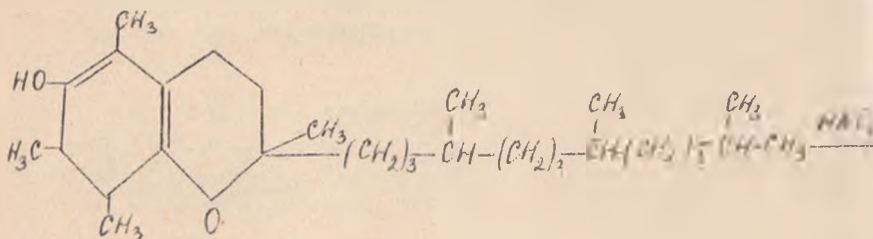
Уларнинг ҳаммаси хроман тузилишининг бензол ҳалқасида метил ва гидроксил группалари ҳамда ён шохлиқ тоғул группасини сақлайди.

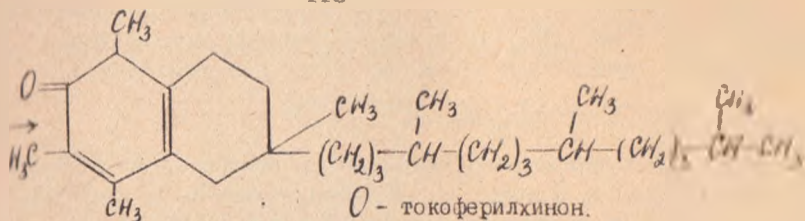


Е витамини усимликлар таркибида, айниқса манжажухори, гуза, бугдой, наматақда учраб, уларнинг яшил қисмларида ҳамда уруг қур-тагида куп булади. Е витамини кулайинч витамини деб ҳам аталади. Е витамини сувда эримайди. У иссиққа айниқса, чидамли, шунинг-дек, кислоталар таъсирига ҳам чидамли, бундан аниқланади ва ультра-бинафла нурлар таъсирида бузилади. Бу уз навбатида эркак ва урғоч-чи ҳайвонларнинг жинсий аъзоларида турли патологик узғаришларга сабаб бўлади. Ҳайвонлар организмда Е витамини етишмаса, оқсил, ег ва углеводлар алмашинуви бузилади. Е авитаминозининг характер-ли белгиларидан бири тарғил чизикли мускулларда кузатиладиган дистрофия ҳодисадир. Бунда мускулларнинг чизиклари йуқолади, то-лалари ингичкалашади, емирилади ва нобуд булади, натижада улар-даги моддалар алмашинувида ҳам маълум бузилишлар руй беради. Е витамини купгина бирикмаларни оксидланиб кетишдан сақлайди ва антиоксидантлар сифатида ишлатилади.

Е витаминининг рангли реакциялари. I. Нитрат кислотаси билан реакцияси.

Методнинг принципи. Е витамини концентрланган нитрат кисло-таси билан узаро таъсир этиб, яъни α -токоферолдан О-токофе-рилхинон ҳосил булади, натижада бу бирикма қизил рангни беради.



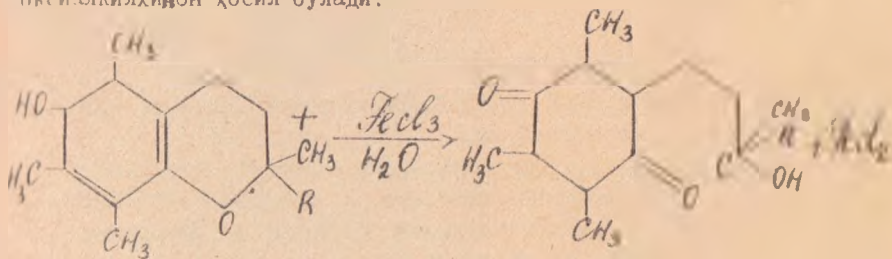


Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; сув ҳаммоми.

Реактивлар. 1. Концентрланган нитрат кислота. 2. E витаминининг ёгдаги эритмаси. 3. Дистилланган сув.

Ишнинг бориши. Иккита пробиркага 2-3 томчи E витаминининг ёгдаги эритмасидан солинади. Биринчи пробиркага 1-2 мл дистилланган сув, иккинчи пробиркага шунча миқдорда концентрланган нитрат кислотасидан қушилади. Иккала пробирка ҳам қайтаб турган сув ҳаммомида 10 минут қиздирилади. Нитрат кислотаси солинган пробиркадаги витаминнинг ёгли қавати қизил ёки сариқ-қизил рангга буялади.

2. Темир хлорид билан реакцияси. Токофероллар темир хлорид билан оксидланади, яъни темир = III-хлориди темир-II-хлоридгача қийтарилади, темирни II валентли иони билан ортофенантропин комплекси $Fe(C_{12}H_{8}N_2)_3^{2+}$ ионни ҳосил қилади, шунинг натижасида эритма қизил рангга буялади. Токоферол темир хлорид билан оксидланганда пиран ҳалқаси узилиб γ -оксиалкилхинон ҳосил булади.



α - токоферол

γ - оксиалкилхинон

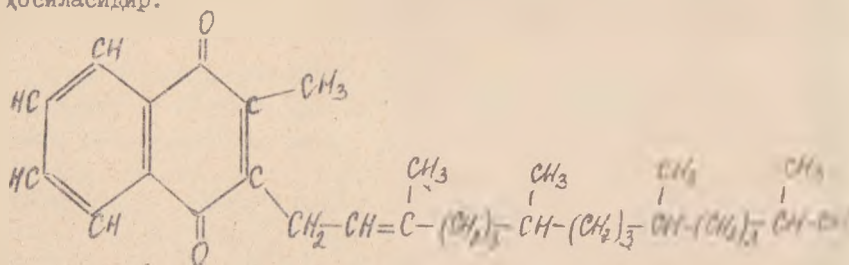
Реактивлар. 1. E витаминининг ёгдаги эритмаси. 2. 0,2% ли темир хлориднинг спиртдаги эритмаси. 3. 0,5% ли ортофенантролиннинг спиртдаги эритмаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага 1-2 мл Е витаминнинг ёгдаги эритмасидан солиб, 1 мл ортофенантролин эритмасидан ва томчилаб темир хлориднинг эритмасидан қизил ранг ҳосил бўлгунча қўшилади.

К витамини

Организмда К витамини (филлохинонлар) етишмаса, тери остига ва мускуллар орасига қон қуюлади (геморрагиялар) ва қоннинг ивишга эзалиги пасаяди. К витаминнинг етишмаслиги асосан, қонда протромбин миқдорининг камайиши билан характерланади. К авитаминозда қоннинг ивилида иштирок этадиган яна бир нечта оксилнинг жигарда синтези тўхтайди. Агарда К авитаминозли ҳайвонларга витамин берилса қон плазмасида протромбин миқдори ортади ва геморрагик ҳодисалар йўқолади. К витаминлар ҳайвон организмида синтезланмайди. Микроорганизмлар ва ўсимликларда синтезланади. Улар айниқса, беда, исмамоқ, қарам баргларида кўп булади.

К гурпуага кирадиган витаминлар 2-метил-1,4-нефтохинонлар ҳосиласидир.



К₁ витамин (2-метил-3-фитил-1,4-нафтахинон)

К витаминининг сифат реакциялари. Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар.

Реактивлар. 1. 0,1% ли викасолнинг спиртдаги эритмаси.

2. К витаминининг синтетик аналоглари. 3. Цистеиннинг 0,025% ли эритмаси. 4. 10% ли натрий ишқорининг эритмаси. 5. Диэтилмелон эфирининг 1% ли эритмаси. 6. Калий гидроксидининг 1% ли эритмаси. 7. Анилин...

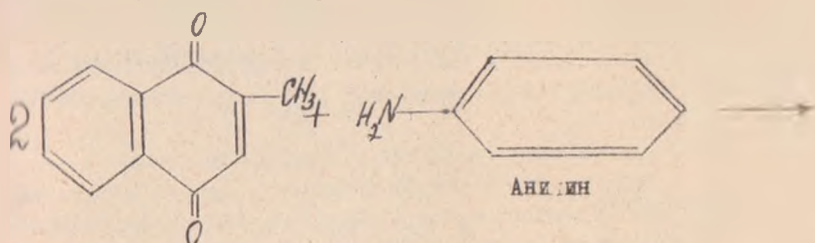
Цистеин билан реакция. Пробиркага 1 мл 0,1% ли викасолнинг спиртдаги эритмасидан солинади. Сунгра 2 томчи 0,025% ли цисте-

ин эритмасидан ва 2 томчи 10% ли натрий гидроксиднинг эритмасидан қўшилади. Натижада сариқ ранг ҳосил бўлади.

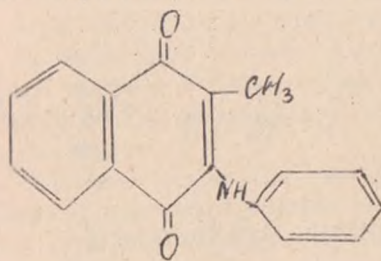
Диэтилмелон эфири билан реакция

Пробиркага 2 мл 0,1% ли викасолнинг спиртдаги эритмасидан солинади ва 0,5 мл 1% ли диэтилмалон эфирдан ва 0,1 мл 1% ли иллий гидроксиддан аралаштирилади. Реакция натижасида бинафша-қизил ранг ҳосил бўлади.

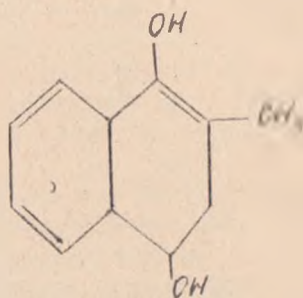
Анилин билан реакция. Пробиркага 2 мл 0,2% ли метинонни спиртдаги эритмасидан ва 1 мл анилин эритмасидан солиб аралаштирилади. Аралашма қизил рангга киради.



Метинон /2-метил-1,4-нафтахинон/



2-метил-3-фенил-амино-
1,4-нафтахинон /қизил
рангли/



2-метил-1,4-диоксинафталин

Сувда эрийдиган витаминлар

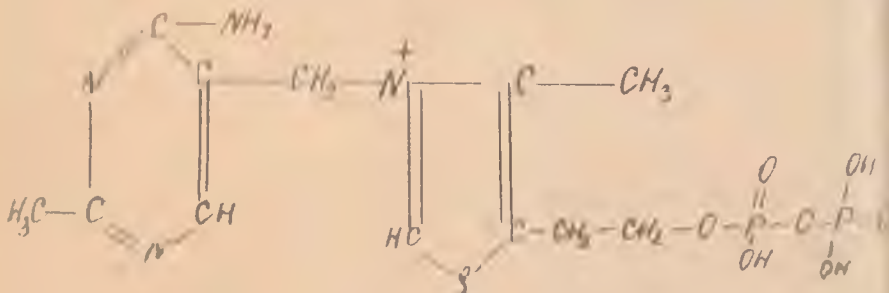
Сувда эрийдиган витаминлар группасига В витаминлар комплекси, С ва Р витаминлари киради. Бу бирикмаларнинг таркиби ва ҳосиллари ҳар хил бўлиб, уларнинг умумий биологик роли ушшадир.

улар моддалар алмашинуви ферментлари системаларида кофермент ва зифасини бажаради.

В₁ витамини

Бу витамин (Тиамин) таркибида олтингугурт (грекча тио) ва аминогруппа сақлайди, шунинг учун тиамин деб аталади. В₁ витамини авитаминозининг энг характерли ва узига хос белгилари: полиневрит, юрак фаолиятининг бузилиши, сув алмашинуви бузилиши, меъда-ичак йулининг секретор функциясининг бузилишидир.

В₁ витамини ҳайвон туқималарида асосан эркин ҳолда бўлмай, балки тиамин пирозинида учрайди. Ичакдан сўрилиб утган эркин витамин туқималарда фосфорланиб, тиаминпирозинида шаклини ҳосил қилиб, пирозинида кислотанинг декарбоксилланишини катализ қилувчи карбоксилаза ферментининг коферменти-кокарбоксилазани ташкил қилади.



Тиаминпирозинида (кокарбоксилаза)

В₁ витамини усимликларда кенг тарқалган (тозаланмаган гуруч, нухат уни ва бошқалар). В₁ витамин ачитқиларда жуда кўп булиб, буларда тиамин пирозинида эфир шаклида учрайди.

Ҳайвонлар организмида В₁ витамини жигарда, буйракда, юрак мускули ва мияда ҳаммадан кўп миқдорда учрайди.

В₁ витаминининг сифат реакцияси. Тиамин диазобензолсульфокилотасининг таъсирида бирикма ҳосил қилиб, у бирикма пушти ёки

қик пушти рангга эга булади.

Керакли асбоблар: приборкалари билан штатив; пипеткалар.

Реактивлар. 1. Сут. 2. V_1 витаминнинг 0,001% ли сувдаги эритмаси. 3. Натрий гидроксиднинг 5% ли эритмаси. 4. А-эритма (100 мл колбада 0,9 г сульфокислотаси 9 мл концентрланган хлорид кислотатада эритилади ва колбанинг белгисигача сув солинади. Эритма қоронги идишда сақланади). 5. В - эритмаси (натрий нитратнинг 5% ли эритмаси). 6. Диазореактив, бу реактив тажрибадан олдин тайёрланади / 50 мл ҳажмдаги колбани музли ҳаммомга урна- тиллици, 1,5 мл А - эритмасидан ҳамда 7,5 мл В- эритмасидан том- тилиб солинади ва 15 минутдан кейин ишлатиш мумкин /.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл натрий гидроксиддан ва 3 мл диазореактив эритмасидан солинади. Ҳосил булган аралашмага 24 мл сут қушилади. Натжида пробиркада сарик-пушти ранг ҳосил булади.

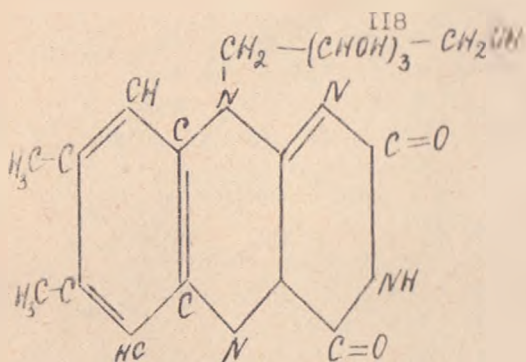
B_2 витамини

B_2 витамин /рибофлавин/ - организмда оксидланиш-қайтарилиш оқименларида иштирок этадиган ферментларнинг актив группалари таркибига кириб, субстратлардан водород атомининг цитохром сис- темасига ёки молекуляр кислородга кучирилишини таъминлайди. Бу ферментлар органик кислоталар, аминокислоталар ва бошқа бирик- мларнинг оксидланиш реакцияларини катализлашда иштирок этади.

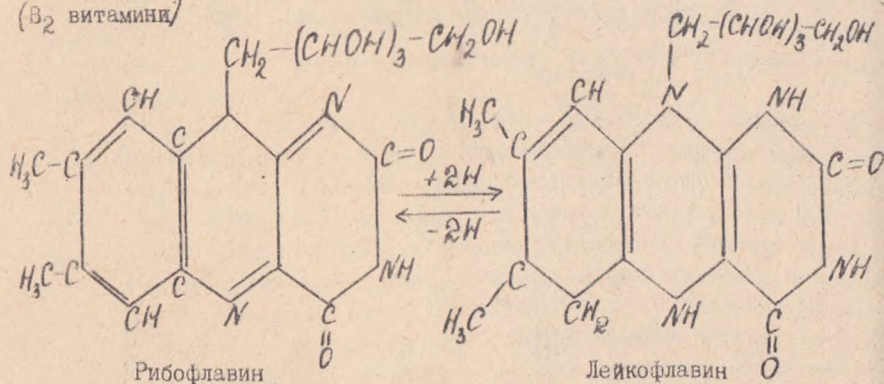
B_2 витаминнинг асосини диметилизоаллоксазин ташкил этиб, дибортал спиртининг қолдиги билан боғланган, шунинг учун рибо- флавин ёки 6,7 - диметил - 9 /1- ~~к~~ - рибитил/ - изоаллоксазин деб аташ мумкин.

Рибофлавин ўсимлик ва ҳайвон маҳсулотларида кенг тарқалган. Рибофлавин авитаминози бўйнинг усидан тўхташи, терининг яллиғ- личиши-дерматит, куз мугуз пардасининг васкуляризацияланиши /куз мугуз пардасида қон томирларини ўсиб кетиши/, сөч тукилиши, томир уришининг сийракланиши, нерв системасининг фалажланиши билан намоён бўлади.

Рибофлавиннинг оифат реакциялари. Рибофлавиннинг қайтарили- ши. Рибофлавин осон оксидланади ва қайтарилади. У водород билан қайтарилганда рангсиз бирикма - лейкофлавин ҳосил булади, оксид- ланиганда эса рибофлавинга айланади.



Рибофлавин
(В₂ витамини)



Рибофлавин

Лейкофлавин

Реактивлар. 1. Рибофлавиннинг 0,015% ли эритмаси (қора рангга бўялган идишларда сақланади). 2. Концентриланган хлорид кислотаси. 3. Рух метали.

Ишнинг бориши. Пробиркага 1 мл рибофлавиннинг эритмасидан солинадиган ва 10 томчи концентранган хлорид кислотаси ҳамда рух металининг булакчаси қушилади, сунгра пробирка тикин билан беркитилади. Ажралиб чиққан водород витамин билан реакцияга киришиб, уни қайтаради ва эритмани рангини узгартиради (сарик, сунгра қизил ва пушти), кейин рангсизланади.

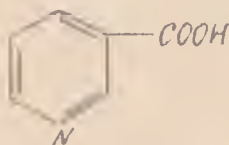
Кумуш нитрат билан реакцияси. Рибофлавиннинг нейтрал эки кучсиз кислотали эритмасига (рН 6,5-7,2) кумуш нитрат таъсир эттирилса, ҳосил бўлган бирикма пушти эки қизил рангга булади.

Реактивлар. 1. Рибофлавиннинг 0,015% ли эритмаси. 2. Кумуш нитратнинг 0,1% ли эритмаси.

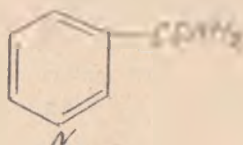
Ишнинг бориши. Пробиркага 1 мл рибофлавиннинг эритмасидан солинади ва 0,5 мл кумуш нитрат эритмасидан кушилади. Натжидада пушти ёки қизил ранг ҳосил бўлади.

B₅ витамини

Никотин кислота ёки унинг амиди антипеллагрик витаминидир. Никотин кислота сув ва спиртда яхши эрийдиган кристаллик оқ моддидир.



Никотин кислота



Никотин кислота амиди

Организмда B₅ витамини (pp витамини, никотинимид) етишмаси цитратитлар, меъда-ичак фаолиятининг бузилишига ва оғиз ҳамда тил шиллиқ пардалари яллигланишига, нерв фаолиятини издан чиқишига олиб келади. Бу витамин ачиткиларда ва бугдой кепагида, мил ва чўчкаларнинг жигарида анча кўп бўлади. Усимликлар ва баъзи микроблар, шунингдек, баъзи ҳайвонлар (каламушлар) ҳам B₅ витаминларини синтезлай олади.

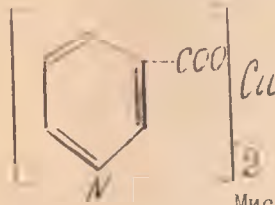
Никотин кислота, унинг амиди, моддалар алмашинувида муҳим роль ўйнайди. Тўқиманинг нафас олишини катализлайдиган бир қанча фермент группаларининг (НАД, НАДФ) таркибига никотин кислота амиди киради.

B₅ витаминининг сифат реакциялари: мис ацетати билан реакцияси

Никотин кислота, сирка кислотали шароитда мис тузларининг ериширида, кўк рангли никотин кислотанинг мисли тузини ҳосил қилади.

Реактивлар. 1. Никотин кислотасининг 0,75% ли эритмаси. 2. Сирка кислотасининг 15% ли эритмаси. 3. Мис ацетатнинг 0,5% ли эритмаси.

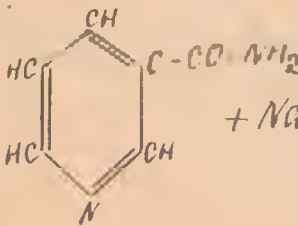
Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл никотин кислотасининг эрит-



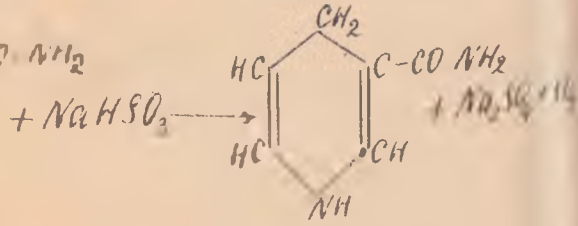
Мис никотинати

масидан солиб, унга 1 мл 15% ли сирка кислотасининг эритмасидан қушилади ва қайнагунча қиздирилади, шундан кейин 1-1,5 мл мис ацетати эритмасидан солинади. Пробиркада аввал ҳаво ранг лойқа, сунгра кук чукма никотин кислотасининг мисли тузи ҳосил булади.

Натрий гидросульфит билан реакцияси. Никотинамидга гидро-сульфит таъсир этганда сариқ рангли 1,4-дигидропиридин никотина-мидли ҳосиласи пайдо булади.



Никотин амид

1,4-дигидропиридин
никотинамид ҳосиласи

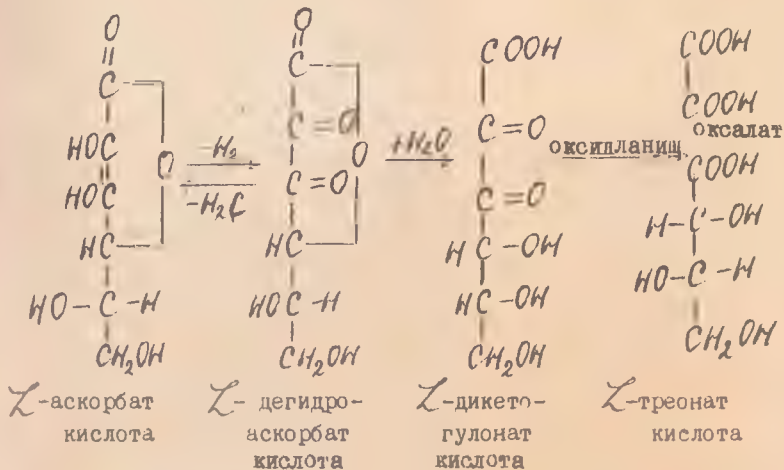
Реактивлар. 1. Никотин кислотаси ёки никотин кислотасининг амиди (кукун ҳолатда). 2. Натрий гидрокарбонатнинг 10% ли эритмаси 3. Натрий гипосульфитнинг (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5) эритмаси (ишлатиш олдидан тайёрланади).

Ишнинг бориши. Пробиркага никотин кислотаси ёки унинг амиди нинг кукинидан солинади ва 1-2 мл натрий гидрокарбонат эритмаси дан аралаштирилади, кейин 1-2 мл натрий гипосульфит эритмасидан қушилади. Пробиркадаги суяклик сариқ рангга буялади.

С витамини

С витамини \mathcal{L} - аскорбат кислота деб аталади. \mathcal{L} - аскорбат кислота сувда яхши эрийди. \mathcal{L} - аскорбат кислота ва нинг

дегидро шакли водород атомларини, яъни электронлар билан протонларни олишга ҳам, беришга ҳам қодир бўлган оксидланиш-қайтарилиш системасини ҳосил қилади.



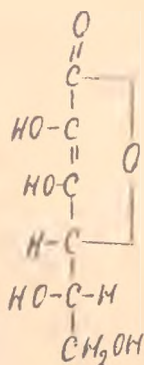
Аскорбат кислотанинг дегидро шакли жуда чидамсиз бирикмалар дикетогулонат кислотага айланиши қайтмас жараён бўлиб, оксидланиб парчаланиши билан тугалланади. С витамини оксидловчилар иштирокида нейтрал ёки ишқорий муҳитда қиздирилганда жуда тез парчланади.

С витамини усимликларда ва купчилик ҳайвонлар (одам, маймун) м денгиз чучқасидан ташқари/ да синтезланади. Сут эмизувчиларнинг жигарида 25 мг % ва буйракларда 12 мг % С витамини бўлади. Ҳайвон организмда С витамини етишмаса оқсиллар алмашинувининг бузилиши, ошқозон-ичак тракти ва нафас олиш йуларини турли касалликларга чидамсизлиги, ички органларда қон талашлар ва тишларнинг тушиб кетиш каби ҳоллари вужудга келади.

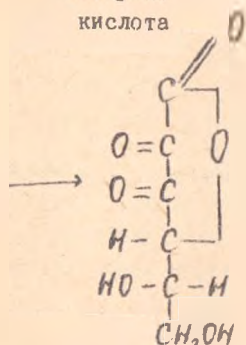
С витаминининг сифат реакциялари: метилен куки билан реакцияси.

Аскорбат кислотаси метилен кукини рангсиз бирикмагача қайтаради /лейкоформсига/, узи оксидланиб дегидроаскорбат кислота сини ҳосил қилади.

Реактивлар. 1. Метилен кукининг 0,01% ли эритмаси. 2. Натрий карбонатнинг 5% ли эритмаси. 3. Картошка ёки қарам шарбати.

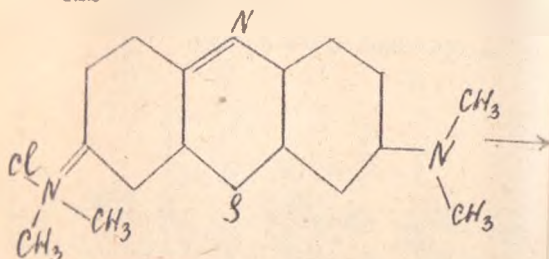


Аскорбат
кислота

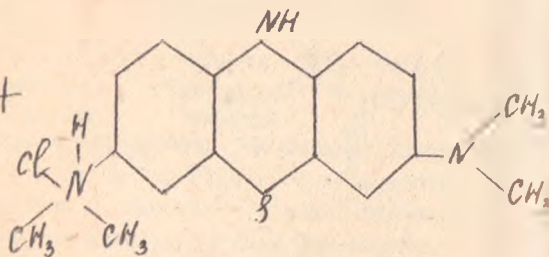


Дегидроаскорбат
кислота

122



Метилен куки

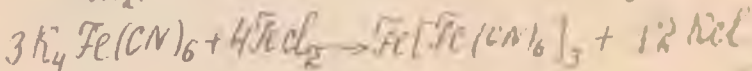
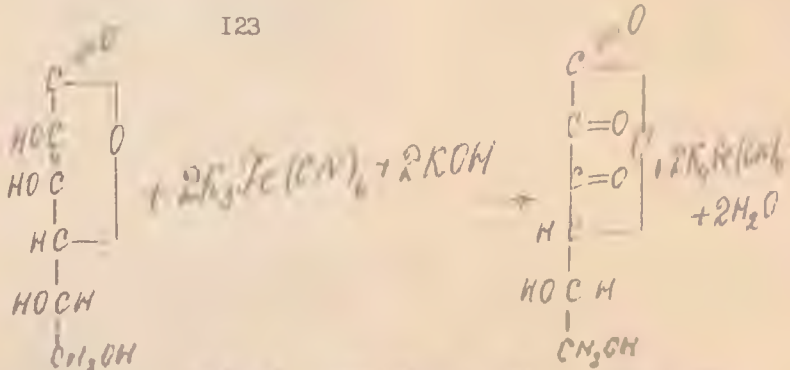


Лейкоформалин

Ишнинг бориши. Пробиркага янги тайёрланган картошка еки
ларем шартидан 1-2 мл солиб, 1-2 томчиси метилен куки эритма
си ҳамда 2-3 томчи натрий карбонат эритмасидан қушиб, қиздирила
пи. Натижада кук ранг интенсивлиги камаяди.

Калийферрицианид $K_3Fe(CN)_6$ билан таъқириши. Аскорон
кислотаси оксидланиб, калийферрицианид $K_3Fe(CN)_6$ ни то қал. я
ферроцианид $K_4Fe(CN)_6$ гача қайтаради ва уч валентли темир
иони билан кислотали шартда темир- (III) = гексоцианоферроат
 $Fe^{III}Fe(CN)_6$ ни, яъни Берлин зангорисини ҳосил қилади.

Реактивлар. 1. Картошка еки шартидан 2. Калий ферри
цианиднинг 5% ли эритмаси. 3. Калий ишқорининг 5% ли эритмаси
4. Темир (III) = хлориднинг 1% ли эритмаси.



Берлин зангориси

Ишнинг бориши. Пробиркага 1 мл картошка ёки карам шарбатиди, 2 томчи калий ишқори ва шунча миқдор калий феррицианид эритмасидан солиб, чайқатилади. Сунгра 6-8 томчи 10% ли хлорид кислотаси ва 1-2 томчи темир π (III)-хлориднинг эритмасидан қўшилади. Натижада кук ёки кук=яшил чуқма Берлин зангорисини ҳосил қилади.

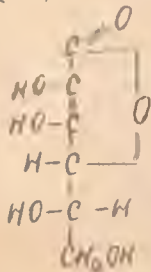
Озиқа маҳсулотларида С витаминининг миқдорини аниқлаш.
С витамини - хайвон ва одам рационининг энг муҳим таркибий қисми ҳисобланади. Қуйида усимлик маҳсулотларидаги С витаминининг миқдори кўрсатилган /мг/

Укроп	135	Лимон	40
Карам	30	Янги картошка	35
Кук пиёз	60	Сабзи	5
Қора смородина	300	Наъматок /меvasида/	3000

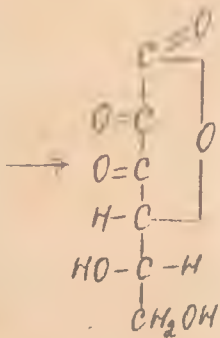
Озиқа маҳсулотларида аскорбат кислотасининг миқдорини аниқлаш учун суолтирилган кислоталарда С витамини экстракция қилинади /кислотали шароитга чидамлидир/. Сунгра 2,6- дихлорфенолиндофолнинг эритмасидан олиб титрланади. Экстракт таркибида аскорбат кислотаси бўлса, 2,6 = дихлорфенолиндофенолни қайтаради.

Экстрактдаги ҳамма аскорбат кислоталар оксидланиб бўлгандан кейин 2,6 = дихлорфенолиндофенол қайтарила олмайди ва эритма қизил рангга буялади /яъни, нейтрал шароитда 2,6-дихлорфенолиндофенол кук рангга, кислотали шароитда эса қизил рангга эга/.

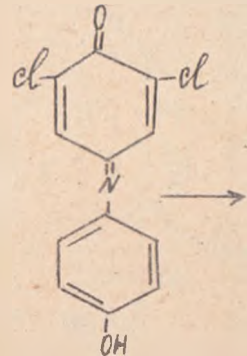
Титрлаш учун кетган 2,6-дихлорфенолиндофенолнинг миқдорини ва уни нормаллигини аниқлаб, маҳсулотлардаги аскорбат кислотасининг миқдори ҳисобланади.



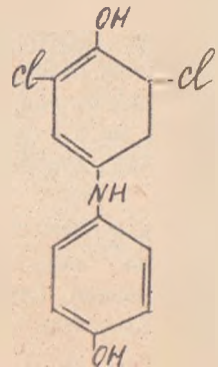
Аскорбат кислота



Дегидроаскорбат
кислота



2,6-дихлориндофенил
(оксидланган формаси)



2,6-дихлорфенолиндофенол
(қайтарилган формаси)

Керакли асбоблар: микробюретка; 25 ва 100 мл ли колбалар; 1 ва 10 мл ли пипеткалар; ҳавонча; тарози; воронка; филтр қоғоз.

Реактивлар. 1. Хлорид кислотасининг 2% ли эритмаси. 2. 2,6-дихлорфенолиндофенолнинг 0,001 н эритмаси. 3. Картошка, қарам.

Картошка таркибидagi C витаминини аниқлаш. 5 г картошка ҳавончада 10 мл хлорид кислотасидан қулиб эзилади. Ҳавончада

қосил бўлган суюқлик қолбага солинади ва филтрланади. Филтрат 2,6 = дихлорфенолиндофенол эритмаси билан пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади. 100 г картошка таркибидаги С витамини миқдорини қуйидаги формула билан ҳисобланади.

$$x = \frac{0,088 \cdot a \cdot 100}{b}$$

Бу ерда: X - 100 г маҳсулотдаги С витамини миқдори, мг;
0,088 - аскорбат кислотанинг миқдори бўлиб, бу 1 мл 2,6 = дихлорфенолиндофенол эритмасига туғри келади, мг; а - титрлаш учун сарф бўлган 2,6 = дихлорфенолиндофенол эритмасининг ҳажми; 5 - текширувдаги маҳсулотнинг оғирлиги, г.

Карамдаги С витаминининг миқдорини аниқлаш. 2 г карам ҳанончада 10-мл сирка кислотаси билан эзилади, ҳосил бўлган экстракт филтрланади. Филтратдан 3 мл олиб қолбага солинади ва 2,6 = дихлорфенолиндофенол эритмаси билан пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади. 100 г карам таркибидаги С витаминининг миқдори (X) қуйидаги формула билан аниқланади:

$$X = \frac{0,088 \cdot 2 \cdot 10 \cdot 100}{3}$$

Бу ерда: 10 - сирка кислотали экстрактнинг ҳажми;
а - титрлаш учун сарф бўлган 2,6 = дихлорфенолиндофенол эритмасининг ҳажми;
3 - титрлаш учун олинган экстракт миқдори.

IX боб. Гормонлар

Гормонлар биологик актив органик моддалар қаторига кириб, улар асосан махсус чиқариш йўллари бўлмаган эндокрин безлар ёки ички секреция безларида (грекча *endo* - ички ва *kribein* - кўратаман деган сўзлардан олинган) ишлаб чиқарилиб, гуморал йўл билан бошқа тўқималарга етказилади.

Гормонларнинг баъзи вакиллари модда алмашинувини бошқариб турса ҳам, ҳайвон гормонларининг кўпчилиги автоном ҳужайра системаларининг ишини химиявий алоқа йули билан бир бутун организм фиолияти сифатида бошқаради.

Ички секреция безларига: қалқонсимон без; қалқонсимон

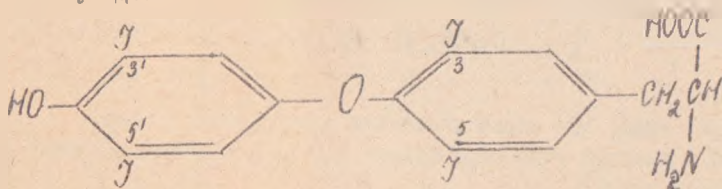
олди безлари ёки паратиреоид безлар; буйрак усти безлари; меъда ости беzi - унинг маълум қисмлари; жинсий безлар; уругдон ва тухумдонлар; гипофиз ёки мия ортиги; буқоқ беzi киради.

Ички секреция безлари функцияси бузилганда турли касалликлар пайдо булади. Улар айрим безлар функциясининг зурайиб кетиши натижасида гормонни ортиқча ишлаб чиқариши (гиперфункция) ёки активлигини сусайиши натижасида кам ажратишига (гипофункция) га боғлиқ.

Химиявий тузилиши, табиати ва таъсир усулига қараб гормонларни қуйидаги уч гурпгага бўлиш мумкин.

1. Стероид гормонлар. 2. Амонокислота ҳосилалари булган гормонлар. 3. Пептид ва оксил табиатли гормонлар.

Қалқонсимон без гормонида йодни очиш реакцияси. Қалқонсимон без энг муҳим эндокрин безларининг биридир. Одамда қалқонсимон безнинг оғирлиги - 25-30 г атрофида булади. Қалқонсимон без, асосан, тироксин гормони ишлаб чиқариб, у таркибида туртта йод атомини тутати.



Тироксин, 3,5,3^I, 5^I, - тетрайодтиронин

Қалқонсимон безга характерли булган оксил тиреоглобулин булиб, бу оксилнинг молекуляр оғирлиги 600000 га тенг булиб, гормон хоссаларига эга.

Қалқонсимон безда гормон ишлаб чиқарилишининг бузилиши натижасида бир қатор касалликлар келиб чиқади. Безнинг функцияси пасайганда гормон кам миқдорда ишлаб чиқарилиб, организмда гипотиреоз ҳолати пайдо булади. Бундай ҳолларда организмда микседема ва кретинизм касалликлари келиб чиқади. Қалқонсимон безнинг кенг тарқалган эндемик формаси - буқоқ бўлиб, бу касалликнинг асосий белгиси қалқонсимон безининг ҳаддан ташқри катталлашиб кетишидир (гипертрофия). Буқоқ пайдо бўлиши ташқи муҳитда

Гуноқда, сувда, усимликларда, озик-овқатларда/ Йод етишмасли-
ги билан боғлиқ. Агар қалқонсимон безнинг функцияси ортиб кетса,
гипертиреоз ҳолати руй беради. Тиреотоксикоз касалликларида мод-
да алмашинуви тезлашганидан организмнинг озиб кетиш ҳоллари
берилади, тебранувчан бўлиб қолади, юраги тез-тез уради. Тире-
отоксикоз ҳолатида қалқонсимон безда йод алмашинуви тезлашиб,
безнинг қондан йодитни ютиши кучаяди.

Қалқонсимон без гормонлари моддалар алмашинувининг ҳамма
туғиларига таъсир курсатади. Қондаги тироксин миқдори гипофиз-
нинг тиреотроп гормони томонидан қатъий тартибга солиниб туради.
Қондаги тироксин миқдори билан гипофизнинг тиреотроп функцияси
тез-тез (реципрок) алоқада бўлади. Қонда тироксиннинг миқдори
ошашиб кетса, унда тиреотроп гормон чиқарилиши камаяди, аксинча,
тироксиннинг миқдори камайса, гипофиз гормони кўпроқ ҳосил бў-
либ, қалқонсимон безни стимуляциялайди, натижада тироксин анча-
гина сарф бўлади ва унинг қондаги миқдори ортади. Бу жараёнлар-
да марказий нерв системаси гипоталамус орқали ўзининг регуляция-
лаштириши таъсирини курсатади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар;
сигнал; сув ҳаммоми.

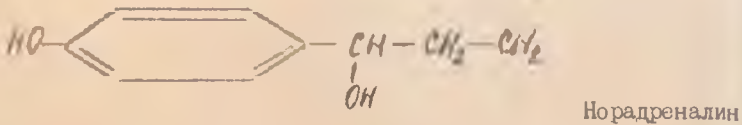
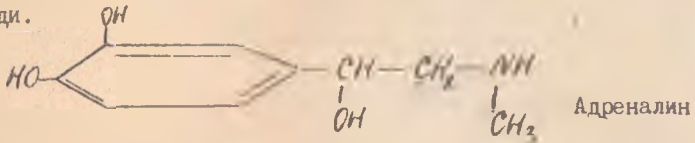
Реактивлар. 1. Тиреоидин таблеткаси /битта таблеткадаги 0,1
г масса таркибида 0,17-0,23 мг йод мавжуд/. 2. Сульфитрилган нит-
рат кислота HNO_3 . 3. Калий йодатнинг KIO_3 /10% ли эритмаси.
4. Хлороформ.

Ишнинг бориши. Тиреоидин таблеткаси майдаланади ва ҳосил
сулган кукуни пробиркага солинади. Шундан кейин 2 мл нитрат кис-
лотасидан кўшиб, қайнаб турган сув ҳаммомида 3-4 минут қиздири-
лади. Кейин пробиркани совутиб, 2 мл калий йодат эритмасидан
кўшиб, бир неча марта чайқатилади ва пробирка стакандаги сувга
солиб совитилади. Бир неча минутдан кейин 1-1,5 мл хлороформ
қўшилади ва яна бир неча марта чайқатилади. Хлороформли пастки
қанатни пушти-бинафша ранг эгаллайди. Бу ранг ҳосил булишининг
аслиби гидролиз натижасида пайдо булган йодит кислотани калий
йодит эркин ҳолдаги йодгача оксидлайди:



Хлороформ қаватидаги йод пушти-бинафша рангчи ҳосил қилади.

Буйрак усти безининг мия қавати гормонлари. Буйрак усти безининг мия қавати адреналин ва норадреналин гормонларини ишлаб чиқаради.



Адреналин ва норадреналин бир хил биологик таъсирга эга, уларнинг таъсири фақат миқдор жиҳатидан фарқланади. Бу гормонларнинг энг муҳим биологик функцияси қон босимни оширишдан иборат. Норадреналиннинг бу таъсири адреналинникига қараганда кучлироқ.

Адреналин организмда углеводлар алмашинувиға кучли таъсир курсатади ва моддалар алмашинувини кучайтиради. Адреналин жигар гликогенининг парчаланишини кучайтириб, қонда глюкоза миқдорини кўпайтиради.

Адреналин – жуда чидамсиз модда, у осон оксидланиб, қайтарувчанлик хусусиятини намоён қилади. Масалан, у кумуш нитрат эритмасидан кумуш металигача қайтариш хусусиятига эга. Адреналин нейтрал ва ишқорий шароитда осон оксидланади. Адреналиннинг оксидланиши натижасида ҳосил булган маҳсулотлар /дегидроадреналин, адренохром ва бошқалар/ организмдаги оксидланиш жараёнида иштирок этади.

Адреналиннинг сифат реакциялари

I. Темир =III=хлорид билан реакцияси: адреналинға темир хлорид эритмасидан қушилганда, яшил ранг ҳосил булади, бунда адреналиннинг пирокатехин ҳалқаси темир хлориди билан яшил рангли комплекс бирикма ҳосил қилади. Пирокатехин ҳам шундай реакция беради.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1,2 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. Адреналиннинг 0,01% ли эритмаси /ампулада/;
 2. Темир FeCl_2 хлориднинг 3% ли эритмаси. 3. Пирокатехиннинг
 0,5% ли эритмаси.

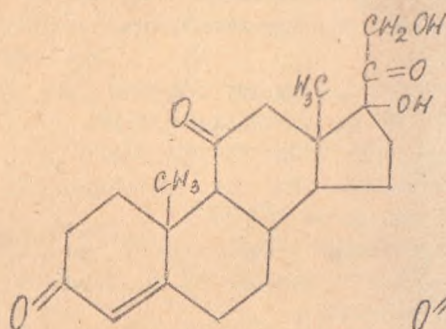
Ишнинг бориши. Биринчи пробиркага 1-2 мл сув, иккинчи про-
 биркага 1-2 мл адреналин эритмаси, учинчи пробиркага 1-2 мл
 пирокатехин эритмасидан солинади. Сунгра ҳамма пробиркаларга
 10 томчидан темир хлориднинг эритмасидан қушилади. Адреналин,
 пирокатехинли пробиркаларда яшил ранг ҳосил булади.

2. Калий йодат KIO_3 билан реакцияси. Реактивлар. 1. Ад-
 реналиннинг 0,01% ли эритмаси. 2. Калий йодатнинг 1% ли эритма-
 си. 3. Сирка кислотасининг 10% ли эритмаси.

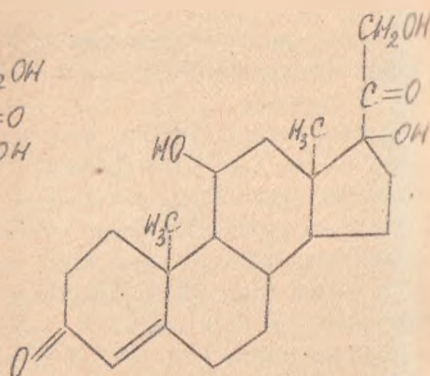
Ишнинг бориши. Пробиркага 0,5 мл адреналиннинг эритмасидан
 10 томчигача 1 мл 1% ли калий йодат ҳамда 10 томчи 10% ли сирка
 кислотасининг эритмасидан қушилади. Натижада қизил-бинафша ранг
 ҳосил булади.

Буирак усти безлари пўстлок қаватининг гормонлари /Корти-
 коидлар/. Буирак усти безларининг пўстлок қавати ёғларда
 ҳайқилган бир қанча муҳим гормонларни ишлаб чиқаради. Пўстлок
 қаватидан олинган экстракт таркибида 34 дан ортик стероид аниқ-
 ланиб, шулардан бир нечтаси гормон активлигига эга, қолганлари
 стероидлар синтезида иштирок этадиган оралиқ бирикмалар, баъзи-
 лари эса таъсир этувчи моддаларнинг парчаланиш маҳсулотларидир.
 Улар иккунчи циклопентанопергидрофенантронинг тетрациклик ст-
 ероидларга эга бўлиб, яъни стероидлар /холестерин, ўт кислотала-
 ри, провитаминлар, жинсий гормонлар/ учун ҳам умумийдир, шунинг
 учун бундай моддалар кортикостероидлар деб аталади. Минерал
 кортикоидлар электролит ва сув балансига жавоб беради, бунга
 минерал дезоксикортикостерон киради. Углевод ва оксил алмашинуви
 функциясига жавоб берувчи глюкокортикоидларга альдостерон,
 кортизон, кортизол гормонлари киради.

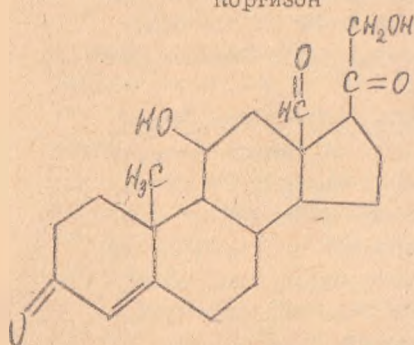
Бу безнинг функцияси пасайганда, қон зардобда Na^+ , Cl^- ,
 карбонат ва глюкозанинг камайиши, мускулда Ca^{++} ни камайиши,
 K^+ ва сув миқдорининг ортиши, зардобда K^+ ва азотнинг ортиши
 кўрилади. Жигар ва мускулда гликоген миқдори камайди.
 CO_2 билан HCO_3^- бикарбонат чиқарилиши кўпайиб K^+ ва
 азот чиқарилиши камайди.



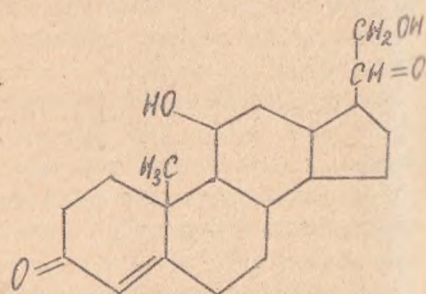
Кортизон



Кортизол / гидрокортизон/



Альдостерон



Кортикостерон

Кортизоннинг сифат реакциялари

1. Фенилгидразин сульфат билан реакцияси.

Кортизон карбониль группаси ҳисобига фенилгидразин билан гидрозон ва озазонни ҳосил қилади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1,10 мл ли шипеткалар; сув ҳаммоми.

Реактивлар. 1. Фенилгидразин сульфат эритмаси: 0,1 г фенилгидразин 100 мл 50% ли сульфат кислота эритмасида эритилади.

2. "Кортизон-ацетат" препарати. 3. Метил спирти.

Ишнинг бориши. 1 мг кортизон-ацетат 1 мл метил спиртида эритилиб, 5 мл фенилгидразин эритмасидан қушилади ва сув ҳаммомида қиздирилади. Бир неча минутдан сунг сариқ ранг ҳосил

лади.

2. Фелинг реактиви билан реакцияси. Кортизон мис тузларини мис оксидигача қайтариш хусусиятига эга.

Реактивлар. 1. Кортизон-ацетат препарати. 2. Фелинг реактиви I. 500 мл колбада 34, 64 г мис сульфат $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ эритилади ва колба белгисигача дистилланган сув қушилади. 3. 500 мл колбага 173 г сегнет тузини солиб, 200-250 мл дистилланган сувда эритилади, сунг унга 100 мл 50% ли натрий ишқори эритмасидан солиб, ҳажми сув билан колба белгисигача етказилади. 4. Реактивни қулланишдан олдин тенг ҳажмда биринчи ва иккинчи эритмалардан олиб аралаштирилади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 10 мг кортизон-ацетати солиб, 1 мл метил спиртда эритилади ва 1 мл Фелинг реактивидан қушилади, сунгра сув ҳаммомида қиздирилади. Натижада қизил чукма - мис оксиди ҳосил булади.

Ошқозон ости беzi гормони - инсулин

Ошқозон ости беzi гормони - инсулин - Лангерганс оролчаларининг β - ҳужайраларида ишлаб чиқарилади. Организмда инсулин еттишмай қолганда, қонда қанд миқдори-купаяди (гипергликемия) ва организмдан қандни сийдик билан бирга чиқиб кетиши ортади, бу ҳолига глюкозурия деб аталади, оқибатда диабет деб аталадиган касаллик келиб чиқади.

Кристалл ҳолдаги инсулиннинг молекуляр оғирлиги 36000 га тенг булиб иккита полипептид занжирдан иборат: А / Δ та аминокислота қолдиги/ ва В /30 та аминокислота қолдиги бор/. Бу полипептид занжирлари цисульфид боғлари орқали боғланган. Инсулиннинг биологик аҳамияти шундан иборатки, у гликоген синтези учун шароит яратиб беради.

Инсулиннинг сифат реакциялари. Инсулин ҳамма оксилларга хос булган биурет ва олтингугурт тутувчи аминокислоталарга хос реакциясини беради.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1,2 мл ли пипеткалар; спирт лампаси.

Реактивлар. 1. Инсулин эритмаси (ампулада). 2. Натрий иш-

корининг 10% ли эритмаси. 3. Мис сульфатнинг 1% ли эритмаси.

4. Қургошин ацетатнинг 0,5% ли эритмаси.

1. Биурет реакция. Пробиркага 1-2 мл инсулин эритмасидан солинади. Кейин тенг ҳажмда натрий ишқори эритмаси ва 1-2 томчи мис сульфатнинг эритмасидан қўшилади. Натижада бинафша ранг ҳосил булади.

2. Олтингугурт тутувчи аминокислоталар учун реакция. Пробиркага 1-2 мл инсулин эритмаси ва тенг ҳажмда натрий ишқори эритмасидан солиб қайнагунча қиздирилади. Сунгра 2-3 томчи қургошин ацетат эритмасидан қўшиб қиздирилади. Натижада пробиркада қора чўкма ҳосил булади.

Х бобъ Қон

Қон артериялар, веналар ва капиллярда доимо айланиб турадиган суяқлик бўлиб, турли мураккаб физиологик функцияларни бажаради: 1. Органлар ва туқималарни кислород билан таъминлайди ва ажратиб чиққан карбонат ангидридни олиб кетади. 2. Озиқ моддаларни ичакдан туқималарга ва органларга етказилади. 3. Моддалар алмашинувидаги охириги маҳсулотларни чиқариш органларига /ўпка, буйрак, ичак, тери/ ташийди. 4. Қоннинг регулятор функцияси ниҳоятда муҳим бўлиб, у осмотик босимни, муҳитнинг рН доимийлиги, кислота-ишқор мувозанатини сақлаб туриш, гормонлар, витаминлар, минерал моддалар транспорти, сув ҳамда иссиқлик алмашинуви жараёнларини тартибга солиб туради. 5. Ҳимоя функциясини бажаради.

Қон ҳайвон организмнинг умумий массасини тахминан 8-10% ини ташкил қилади. Қон - плазма ва шакли элементларидан: эритроцитлар, лейкоцитлар ва тромбоцитлардан тузилган.

Қон таркибига оқсиллар, ёғлар, углеводлар, моддалар алмашинувининг турли оралиқ маҳсулотлари, гормонлар, витаминлар ва минерал туелар киради. Туқималардаги моддалар алмашинувини бузилиши қоннинг таркибини ўзгарилига олиб келади. Шунинг учун организмнинг соғломлиги қоннинг таркибий қисмларини миқдорий анализ қилиб билинади.

Қон зардобининг оқсил фракцияларини аниқлаш

Қон зардобини оқсил фракцияларини экспресс-метод билан аниқлаш, оқсилларни турли концентрациядаги фосфатли эритмалар билан

чуқтирилга асосланган. Маълум оксил фракциялари эритмаларининг оптик зичлиги фотоэлектроколориметр ва спектрофотометр билан чиқланади.

Оксил фракцияларини аниқлашнинг экспресс-методи, маълум шароитда озикланаётган ҳайвонларнинг оксил алмашинувидаги ўзгаришни билиш учун ишлатилади.

Керакли асбоблар: бюретка; пипеткалар; пробиркалари билан штатив; цилиндрлар; колбалар; фотоэлектроколориметр ёки спектрофотометр.

Реактивлар. I. Асосий эритма: - бу эритмани тайёрлаш учун 226,8 г K_2HPO_4 олиб, 400 мл . 33,5 г $NaOH$ тутган эритмада тулик эритилади. Кейин эритма хона температурасигача совутилиб, ҳажми дистилланган сув билан 500 мл га етказилади.

2. Биринчи эритмани тайёрлаш учун асосий эритмадан 92,6 мл /ёки 123,5 г/ олиб, 100 мл ли колбага солинади ва дистилланган сув билан колба белгисигача етказилади. 3. Иккинчи, учинчи, тўртинчи эритмани тайёрлаш учун асосий эритмадан 100 мл колбаларга 75,0 мл /100 г/, 58,8 мл /78,5г/ ва 48,7 мл солиб, ҳажми сув билан колбанинг белгисигача етказилади.

Ишнинг бориши. I. Олтита пробирка олиб, уларни 0,1,2,3,4, 5 рақамлари билан белгиланади. 2. 0 рақамли пробиркага 10 мл дистилланган сув, 1, 2, 3, 4 номерли пробиркаларга 5 мл дан суўлтирилган фосфат эритмаларидан /1,2,3,4 - эритмалардан/, 5- пробиркага 0,5 мл қон зардоби, 0,75 мл дистилланган сув ва 3,75 мл асосий фосфат эритмасидан солинади. 3. 5-пробиркадаги суўклик аралаштирилади, сўнгра шу пробиркадан 1,2,3,4-пробиркаларга 0,5 мл дан, 0 рақамли пробиркага 1 мл аралашмадан солинади ва пробиркалар чайқатилади. 4. 15 минутдан кейин 1,2,3,4 - пробиркалардаги эритмаларнинг оптик зичлиги фотоэлектроколориметрда - кизил ёруғлик фильтри билан аниқланади. 0 рақами пробиркадаги эритма контрол сифатида ишлатилади. 5. 1,2,3,4-пробиркаларидаги аралашмаларнинг оптик зичлиги аниқлангандан кейин, оксил фракциялари ҳисобланади. Биринчи пробиркадаги аралашманинг оптик зичлигидан иккинчи пробиркадаги аралашманинг оптик зичлигини айириб ташланади. Оптик зичликларнинг фарқи альбуминларнинг оптик зичлигига тўғри келади. Иккинчи пробиркадаги аралашманинг оптик зичлигидан учинчи пробиркадаги аралашманинг

оптик зичлиги айириб ташланади. Бу фарқ альфа-глобулинларнинг оптик зичлигини курсатади. Учинчи пробиркадаги аралашманинг оптик зичлигидан туртинчи пробиркадаги аралашма оптик зичлиги айириб ташланади. Бу оптик зичликларнинг фарқи α - глобулинларнинг оптик зичлигини курсатади. Сунгра I ва 4-пробиркалардаги аралашмаларнинг оптик зичлигининг фарқлари қўшилади ва йигиндисини 100% деб олиб, ҳар бир оқсил фракциясини нисбий проценти ҳисобланади. Ҳар бир фракция грамм-проценти ҳисобланади. Бунинг учун умумий оқсилларнинг миқдори рефрактометрик метод билан топилади. Оқсилларни умумий миқдорини 100% деб олиб, ҳар бир оқсил фракцияларни нисбий процентидан, фракцияларни абсолют проценти ҳисоблаб топилади.

Сигир қони зардобидаги оқсил фракцияларининг тахминий ҳисоби

Оқсил фракциялари	Пробиркалар номери	Оптик зичлик	Оптик зичликларнинг фарқи	Нисбий	Абсолют α	Қон зардобидаги умумий оқсилларнинг миқдори . %
Альбуминлар	1	0,686	0,364	53,14	4,66	
α -глобулинлар	2	0,321	0,049	7,15	0,66	
β -глобулинлар	3	0,272	0,082	11,97	1,06	
γ -глобулинлар	4	0,190	0,190	27,74	2,43	
Йигиндиси		1,468				8,76

Қонда, сийдикда глюкоза миқдорининг ортотолуидин реактиви аниқлаш. Методнинг принципи. Кислотали муҳитда юқори ҳарорат таъсирида глюкоза билан О-толуидин кук-яшил комплекс ҳосил қилади, бу рангнинг интенсивлиги глюкозанинг концентрацияси га боглиқ, оптик зичлиги спектрофотометр билан улчанади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1,2 мл ли пипеткалар; центрифуга; спектрофотометр; сув ҳаммом.

Реактивлар. I. Ортотолуидин реактиви: 0,15 г тиомоч знач.

41 мл сирка кислотасида эритилади ва 6 мл орто-толуидин кушилади. Бу реактив холодилникда сақланади. 2. Трихлорсирка ~~0,1~~ ли/ кислотасининг эритмаси. 3. Глюкозанинг стандарт эритмаси, 100 мг %; бу эритмани тайёрлаш учун, 100 мг глюкозани 100 мл қолбага солиб, 0,2% бензой кислотасининг эритмасида эритилади. Бу реактив холодилникда сақланади.

Ишнинг бориши. Центрифуга пробиркасига 0,9 мл 5% ли трихлорсирка кислотаси солинади ва 0,1 қон ёки сийдик қушилади. Пробирка чайқатилади ва 2500 айл/минутда 10 минут центрифуга қилинади. Сунгра тиниқ суяқликдан 0,5 мл олиб пробиркага солинади ҳамда 4,5 мл орто-толуидин реактивидан кушилади. Сунгра пробиркалар тикин билан беркитилади ва 8 минут қайнаб турган сув ҳаммомида олиб турилади.

Шундан кейин пробиркаларни совутилади ва спектрофотометрда 630 нм тўлқин узунлигида улчанади. Бу билан бир вақтда контрол нм стандарт намуналар билан ҳам шундай иш олиб борилади. Контрол нмунани тайёрлаш учун 0,5 трихлорсирка кислота ва 4,5 мл орто-толуидин реактивидан қушилади. Стандарт намуна тайёрлаш учун коннинг урнига 0,1 мл глюкозани стандарт эритмаси олинади ва глцриба намунасига ухшаб иш олиб борилади. Контрол ва стандарт нмуналар центрифуга қилинмайди.

Глюкозанинг концентрацияси юқори булган ҳолларда, айниқса сийдикнинг анализида, намунани 2 ёки 10 мартагача дистилланган сувда суялтирилади. Олинган натижани суялтириш натижасига куяйтирилади.

Глюкозанинг миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади.

$$E_{оп} = C_{ст} \frac{E_{оп}}{E_{ст}} \quad \text{мг \% глюкоза,}$$

Бу ерда:

$E_{оп}$ - пробиркадаги глюкозанинг концентрацияси, мг % да;

$E_{ст}$ - стандарт намунадаги глюкозанинг концентрацияси, мг %

да;

$E_{оп}$ - намуна оптик зичлиги;

$E_{ст}$ - стандарт намунанинг зичлиги.

Қон зардобидаги кальций миқдорини аниқлаш

Кальций организмда жуда муҳим роль уйнайди. У купроқ суяк туқималарида фосфорли, карбонатли, фторли бирикмалари ҳолда учрайди. Суяк туқималарида унинг концентрацияси камайиб кетса, қон орқали яна таъминланиб турилади. Қон зардобидаги кальцийнинг тахминан 40 фоизи альбуминлар билан боғланган мураккаб комплекс бирикмалар ҳолда учрайди. Кальций икки валентли катион бўлиб, нерв системасининг қузғалувчанлигини камайтиради, актомиозинни, АТФ азани, лецитиназани активлаштиради ҳамда дегидротаза, депептидаза ва бошқа ферментларни тормозлайди, қоннинг ивишига ҳам таъсир этади.

Қон зардобидаги кальцийнинг миқдори муҳим курсаткич ҳисобланиб, қон зардоби орқали организм катион билан таъминланиб турилади. Шунинг учун ҳайвон қони зардобидаги кальцийнинг миқдори доим текширилиб турилади.

Ҳар хил турдаги ҳайвонларнинг қон зардобидаги кальцийнинг миқдори (мг %).

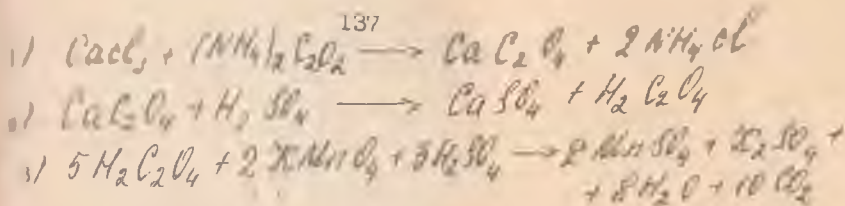
От	12 - 14	Чучқа	12 - 14
Сигир	10 - 13	Ит	10 - 12
Туя	11 - 12,5	Товуқ	12 - 22
Эчки	23 - 26		

Организмдаги кальций алмашинуви бир қатор омилларга боғлиқ. Унинг алмашинуви озиқалардаги кальций ва фосфорларнинг нисбати-га, Д витаминнинг ва қалқон олди бези, буйрак усти безларининг физиологик ҳолатига боғлиқ. Бир қатор касалликларда қон зардобидаги кальцийнинг миқдори узғаради. Қондаги кальций миқдорининг камайиши / гипокальцемия / яхши овқатланмасликда, рахит, тугма шол каби касалликларда кузатилади.

Гиперпаратиреоз, суяк туқимасини шишларида, Д витамини катта дозада қулланилганда қонда кальцийнинг миқдори купаёди.

Методнинг принципи. Қон зардобидаги кальций оксалатлар ҳолида чуқтирилади. Чукма ювилади, сунгра сульфат кислотада эритилади ва ажралиб чиққан оксалат кислотаси калий перманганат эритмаси билан титрланади.

Реакция куйидаги ҳолда боради:



Юқоридаги реакциядан курииб турибдики, оксалат кислотасининг оксидланишига кетган калий перманганати миқдори, кальций миқдорига эквивалентдир.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; центрифуга; ва 10 мл ли пипеткалар; шиша таёқча; микробюретка; сув ҳаммом...

Реактивлар. Оксалат кислотасининг аммоний тузини 4 % ли эритмаси. Аммиакнинг 2 % ли эритмаси. Сульфат кислотасининг 5,0% ли эритмаси. Калий перманганатнинг 0,01 н эритмаси.

Ишнинг бориши. 1. 2 та центрифуга пробиркаларига 2 мл дан дистилланган сув солинади.

2. Шу пробиркаларга 1 мл дан қон зардоби солиб, яхшилаб аралаштирилади.

3. Пробиркаларга пипетка билан 0,5 мл дан оксалат кислотасининг аммоний тузининг туйинган эритмасидан солинади. Пробиркалардаги суюқликлар яхшилаб аралаштирилади ва кальцийни тўлиқ чуқтириш учун 15 минутга қолдирилади.

4. Сунгра пробиркалар центрифугага жойлаштирилади ва 10-15 минут давомида 3000 айл/мин центрифуга қилинади.

5. Центрифугадан пробиркалар олинади, пробиркалардаги суюқлик эҳтиёткорлик билан тукилади, кальций чуқмаси пробирканинг тагида қолади.

6. Пробиркалардаги кальций чуқмасининг устига бюретка билан 1 мл дан дистилланган сув ёки 4 мл 2 % ли аммиак эритмасидан солиб аралаштирилади ва 10-15 минут давомида 3000 айл/мин центрифуга қилинади.

7. Чуқмани қолдириб суюқликни тукиб юборилади, кальций оксалат чуқмасига 1-2 мл 50% ли сульфат кислотасидан солиб, чуқма шиша таёқча билан аралаштирилади ва пробирка 2-3 минут қайнаб турган сув ҳаммомига қўйилади.

8. Иссиқ эритма 0,01 н калий перманг натнинг эритмаси билан

оч-пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади /ҳосил булган ранг 30 секунд ва 1 мин. вақт оралигида йуқолмаслиги керак/.

9. Қон зардобидаги кальцийни аниқлаш билан бир вақтда "контрол" тажриба ҳам утказилади, яъни дистилланган сув ва реактивлардаги кальцийнинг миқдори аниқланади. Бунинг учун центрифуга пробиркасига 3 мл дистилланган сув ва 0,5 мл дан оксалат кислотанинг аммонийли тузи эритмасидан солиб, аралаштирилади, 15 минутдан кейин центрифугаланади, аммиак билан ювилади, яъни қон зардобида қандай иш олиб борилган бўлса, контрол тажрибада шундай иш амалга оширилади.

Тажриба намунасини /қон зардоби/ титрлаш учун сарф булган калий перманганатнинг миқдоридан, контрол намунасини титрлаш учун сарф булган калий перманганатнинг миқдори айириб ташланади /1 мл 0,01 н *0,2%* эритмаси 0,2 мг кальцийга тўғри келади/.

Кальций миқдорини ҳисоблаш учун мисол. Кальций миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади: $X = 0,2 \cdot \frac{a-b}{a} \cdot 100$.

Бу ерда: X - кальцийнинг миқдори, мг % да, 0,2 - мг даги кальцийнинг миқдори бўлиб, бу 1 мл 0,001 н калий перманганатга тўғри келади; a - тажриба намунасини титрлаш учун сарф булган перманганатнинг миқдори; b - контрол намунасини титрлаш учун сарф булган перманганатнинг миқдори; 100 - мг % ҳисоблаш учун.

Қон зардобини титрлаш учун 0,01 н *0,2%* эритмасидан 0,3 мл сарф бўлди, контрол намунасини титрлаш учун 0,3 мл 0,01 н *0,2%* эритмаси сарф бўлди. Қон зардобидаги кальцийнинг миқдори қуйидагига тенг бўлади:

$$\left(0,95 - 0,3 \right) \cdot 0,2 \cdot 100 = 13 \text{ мг \%}$$

Қон зардобидаги фосфор миқдорини аниқлаш

Фосфор тўқималарнинг тузилишида энг муҳим структура элементи ҳисобланади. Организмдаги суяк тўқималари таркибининг 85 қисмига яқинини фосфор ташкил қилади. Фосфор нуклеин кислоталар, нуклеопротеинлар, фосфопротеинлар, бир қатор коферментлар НАД, НАДФН, пиридоксальфосфат, ТПФ ва фосфорли эфирлар, углеводларни синтези учун энг керакли компонент ҳисобланади.

Фосфорли бирикмалар - гликолиз, гликогенолиз, оксидланиш-

фосфорланиш ва бошқа қатор моддалар алмашинуви жараёнларида иштирок этади. Фосфат кислотасининг тузлари буфер системалар таркибига кириб, қоннинг рН ни нисбий доимийликда ушлаб туради.

Ҳайвон қони зардобидаги анорганик фосфор миқдорининг узағариши организмнинг физиологик ҳолатига, ёшига, озиқаларнинг харақтерига боғлиқ. Ҳайвон қони зардобидаги анорганик фосфорнинг миқдори нормада қуйидагича бўлади / мг % ҳисобида /:

Сигирларда	4,5 - 5 , 5
Бузоқларда	6,5 - 7,0
Чучқаларда	3,0 - 4,0

Қон зардобидаги анорганик фосфор миқдорини камайиши одатда озиқа рақционининг таркибида фосфор Д витамини етишмаслиги /гиповитаминоз Д/, шунингдек, кальций ва фосфорнинг нисбати бузилганда куриш мумкин.

Ҳайвонлар озиқа рақциондаги кальцийнинг фсфорга энг мақбул нисбати қуйидагича бўлади: 1,5:1; 2:1, ёз даврида 2,5:1. Бу нисбат ҳайвонларнинг турига, ёшига, маҳсулдорлигига ва уларнинг физиологик ҳолатига боғлиқ. Қон зардобидаги анорганик фосфорнинг камайиши, организмда фосфор алмашинуви бузилганлигидан далолат беради.

Методнинг моҳияти шундан иборатки, қон зардобидаги анорганик фосфор билан молибдат кислотаси, молибдат кислотасининг фосфорли комплексларини ҳосил қилади, бу маҳсулот реакция натижасида қайтарилганда кук ранғни ҳосил қилади. Ранг ҳосил булиши тезлиги текширилаётган объектдаги фосфорнинг миқдорига боғлиқ.

Қайтарувчи сифатида эйконоген, гидрохинон, аскорбин кислотаси ва бошқаларни ишлатиш мумкин.

Керакли асбоблар: пробиркалар билан штатив; 1, 2, 5 ва 10 мл ли пипеткалар; фильтр қоғози; воронка; 25 мл ли Къалдал колбаси; сув ҳаммоми; фотоколориметр ёки спектрофотометр.

Реактивлар. 1. Трихлорсирка кислотасининг 20% ли эритмаси. 2. Аммоний молибдатнинг 2,5 % ли эритмаси, 5 н ли сульфат кислотанинг эритмасида тайёрланади. 3. $K_2P_2O_7$ нинг стандарт эритмаси, 1 мл эритмасида 0,04 мг фосфор сақлайди.

Эритмани тайёрлаш: 0,1757 г $K_2P_2O_7$ ни дистилланган сувда эритилади ва умумий ҳажми 1 л га етказилади. 4. Концентр-

ланган сульфат кислота. Пергидрол.

Ишнинг бориши. 1. Курук тоза пробиркага 2 мл қон зардоби, 6 мл дистилланган сув ва 2 мл 20% ли трихлорсирка кислотасидан солинади ва яхшилаб аралаштирилади.

2. 5-10 минутдан кейин фильтр қоғози орқали филтрланади. Тиниқ филтрат анорганик фосфорни аниқлаш учун ишлатилади.

3. 5 мл филтратдан олиб пробиркага солинади, 1 мл аммоний молибдат ва 0,5 мл аскорбин кислотасидан солинади, сунгра пробиркадаги солинган моддаларнинг ҳажми сув билан 10 мл га етказилади ва 5 минут 37° даги сув ҳаммомига қўйилади.

4. 30 минутдан кейин спектрофотометрда 750 нм тўлқин узунлигида кўрилади.

Умумий фосфорни аниқлаш. Микрокьелдел колбасига 0,05 мл қон олиб, 0,2 мл 5 н сульфат кислотасидан қўшилади ва тўлиқ рангсизлангунча минерализация қилинади. Фосфор миқдорини аниқлаш юқорида ёзилган шароитда олиб борилади.

Кислотада эрувчи фосфорни аниқлаш. 0,25-0,5 мл трихлорсирка кислотали филтратдан олиб, юқорида анорганик фосфорни аниқлаш учун тайёрланганидан микрокьелдел колбасига солиб минерализация қилинади. Юқорида ёзилган анорганик фосфорни аниқлаш методи билан фосфор аниқланади.

Фосфор миқдорини ҳисоблаш учун калибрланган график тузилади. Бунинг учун, KH_2PO_4 нинг асосий стандарт эритмаси тайёрланади, бу эритманинг 1 мл таркибида 0,04 мг фосфор сақлайди. Олтига пробирка олиб, пробиркаларга қуйида жадвалда кўрсатилган реактивлардан қўшилади.

Реактивлар	Пробиркалар номери					
	1	2	3	4	5	6
Фосфорнинг стандарт эритмаси, мл	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	-
Дистилланган сув, мл	2,95	2,9	2,8	2,7	2,6	3
Молибдат реактиви, мл	1	1	1	1	1	1
Аскорбин кислота, мл	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

30 минутдан кейин спектрофотометрда 750 нм тулқин узунлигида курилади.

График чизиш учун, ординат уқига оптик зичлик катталиги, абцисс уқига эса фосфор миқдори мг ҳисобида курсатилади. Анализ қилинаётган 1 мл қон зардобидаги фосфорнинг миқдорини топиш учун қуйидаги формуладан фойдаланилади:

$$x = \frac{H \cdot 100}{V}$$

Бу ерда:

X - анорганмик фосфорнинг миқдори /мг % /;

C - калибрланган графикдан топилган фосфорнинг миқдори /мг/;

100 - натижаларни мг % да ҳисоблаш учун коэффициент.

f - филтрат таркибидаги қон зардобининг ҳажми;

Қон зардобидаги умумий фосфорнинг миқдорига қараб умумий
фосфолипидларни аниқлаш

Методнинг принципи. Трихлорсирка кислота таъсирида қон оқсиллари билан биргаликда фосфолипидлар чуқмага тушади. Ҳосил булган чуқмадаги фосфорнинг миқдори спектрофотометрик метод билан аниқланади.

Реактивлар. 1. Трихлорсирка кислотасининг 10% ли эритмаси. 2. Перхлорат кислотасининг 57% ли эритмаси. 3. Аммоний молибдатнинг 4% ли эритмаси. 4. Аминонафтолсульфон кислотасининг асосий эритмаси /эйконогеннинг/: 30 г натрий бисульфит ёки натрий метабисульфит, 6 г натрий сульфит ва 0,5 г эйконогендан тайёрланади. Натрий бисульфит 100-150 мл дистилланган сувда эритилади, сунг эритмага эйконоген қушилади. Эйконоген шипша таёқча билан аралаштирилиб эритилади, озроқ ҳажмида сув олиб, натрий сульфит эритилади. Кейин иккала реактив аралаштирилади ва ҳажми 250 мл га /сув солиб етказилади/. 2-3 соатдан кейин филтрланади ва эритмани қоронғи идишга солиб, совуқхонада сақланади. Ишлатишдан олдин асосий эритмани 1:2,5 марта суултирилади. 5. Асосий стандарт эритмани тайёрлаш. Бу эритмани тайёрлаш учун KH_2PO_4 дан 4,39 г олиб, 1 л дистилланган сувда эритилади. Бу эритманинг

1 мл таркибида 1 мг фосфор сақлайди.

Ишлагиш учун шу стандарт эритма 100 марта суықтирилади, бу 1 мл эритма таркибида 0,01 мг фосфор сақлайди. Шу эритмадан стандарт эритмалар /намуналар/ тайёрланади.

Керакли асбоблар: 1000 ва 250 мл ли колбалар; 1,2,10 мл ли пипеткалар; қумли ҳаммом; пиша таёқча; фильтр қоғози; воронка; спектрофотометр.

Ишнинг бориши. Таҳриба намунасини тайёрлаш.

Пробиркага 0,2 мл қон зардоби солинади ва унга 2,8 мл дистилланган сув қўшилади. Сунгра 3 мл 10% ли трихлорсирка кислота эритмасидан қўшиб чайқатилади, 5 минутдан кейин минутига 2500 айлана тезликда 15 минут центрифуга қилинади. Суюқлик тукиб юборилади ва чуқмасига 1 мл перхлорат кислотасининг 57% ли эритмасидан солинади. Пробирка 20–30 минут 180°C қумли ҳаммомга қўйилади ва аралашма рангсизлангунча қолдирилади. Совуғандан кейин таҳриба намунасининг ҳажмини дистилланган сув билан 7 мл га етказилади.

Контрол намунасини тайёрлаш учун 0,8 мл перхлорат кислотасининг 57% ли эритмасидан олиб, ҳажми сув билан 7 мл га купайтирилади.

Стандарт намуналар тайёрлаш. Учта стандарт намуна тайёрланади. Бунинг учун пробиркаларга 2 мл дан стандарт эритма ва 0,8 мл перхлорат кислотасининг 57% ли эритмасидан солинади. Ҳар бир стандарт намунанинг ҳажми сув билан 7 мл га етказилади. Ҳар бир пробиркага 1 мл дан аммоний молибдатнинг 4% ли эритмасидан қўшилади ва аралаштирилади, 1 мл дан аминофтолсульфон кислотасидан қўшиб, ҳажми сув билан 10 мл га купайтирилади. Сунгра пробиркалардаги суюқликлар яхшилаб аралаштирилади ва 20 минутга қолдирилади. Спектрофотометрда 630–690 нм тулқин узунлигида контролга нисбатан улчанади.

Фосфорнинг миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$\frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}} = \frac{0,02 \cdot 100}{0,2} = \frac{E_{\text{оп}}}{E_{\text{ст}}}$$

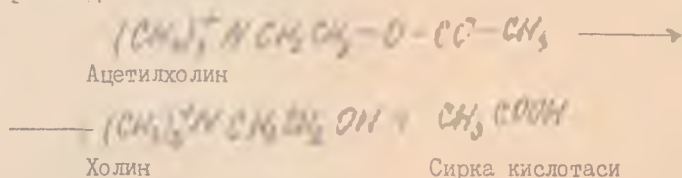
Бу ерда: 0,02 – 2 мл стандарт эритмадаги фосфорнинг миқдори (мг).
0,2 – таҳриба намунасидаги қон зардобининг ҳажми. $E_{\text{оп}}$ таҳриба

намунасининг /кон зардобининг/ оптик зичлиги. n_D^{20} - стандарт эритманинг оптик зичлиги.

Липоидли фосфор фосфолипидлар молекуласининг 45 ни ташкил қилади, фосфолипидларнинг умумий концентрациясини ҳисоблаш учун эса липоидли фосфор концентрацияси 25 га купайтирилади

Холинэстераза ферментининг активлигини
аниқлаш

Ацетилхолин нерв импульсини ўтказишда медиаторлик ролини баҳаради. Холинэстераза ацетилхолинни холин ва сирка кислотасига парчалайди:



Бу реакция натижасида сирка кислотасининг тупланиши ҳисобига кислотали муҳит ҳосил булади, буниндикатор ёрдамида аниқлаш мумкин. Бу ишда шароитга қараб, ранг ҳосил қилувчи бромтимол кук индикатори қўлланилади. Рангининг узғариш зонаси pH 7,6-6,0 орасида булади. Кислотали муҳитда сариқ, ишқорий муҳитда кук, ораликда яшил рангни ҳосил қилади.

Фермент билан субстрат турли ҳароратда инкубация қилинади. Ацетилхолиннинг ферментатив гидролизланиши инкубацион аралашма ҳосил қилган рангга қараб аниқланади.

Купгина ҳайвон туқималаридан ажратиб олинган ферментлар учун энг мақбул ҳарорат 37-40° ҳисобланади. Ҳарорат пасайганда ферментатив катализ секинлашади, 0°С да эса реакция бермайди.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; сув ҳаммоми; муз ҳаммоми.

Реактивлар. I. Ацетилхолиннинг 0,5 % ли эритмаси, кон зардоби - холинэстераза ферменти манбаи, 1:50 марта султирилган, бромтимол кукнинг 0,2% ли эритмаси 10 г бромтимол индикатори 4,5 мл 0,1 н натрий ишқорида эритилади, ҳосил бўлган эритма 50 мл ли колбага солинади ва унга 12,5 мл 0,1 н сирка кислотасининг

эритмасидан қушилади, сўнгра эритма ҳажми 0,1 М *NaCl* эритмаси билан колбанинг белгисигача етказилади. Ишлатишдан олдин эритма 2,5 марта суялтирилади).

Ишнинг бориши: учта пробирка олинади, ҳар бирига 2,5 мл қон зардоби ва 0,5 мл бромтимол кук индикаторидан солинади. Биринчи пробирка 40°C ли сув ҳаммомига, иккинчисини - хона ҳароратидаги сув ҳаммомига, учинчисини музли ҳаммомга қуйилади. 10 минутдан кейин ҳамма пробиркаларга 0,5 мл ацетилхолин эритмасидан солиб суяқликлар аралаштирилади ва яна уша ҳароратларда сақланади. 10-15 минутдан кейин пробиркаларда ҳосил булган ранглар белгиланади ва ферментатив реакция ҳароратга боғлиқ эканлиги аниқланади.

XI боб. Сут

Сут - тиниқ булмаган суяқлик булиб, мазаси ширинроқ ва кучсизроқ узига хос ҳидга эга. Сутнинг ранги маълум даражада унинг таркибидаги А провитамиinning миқдорига боғлиқ булиб, каротин унга сариқроқ тус беради.

Сут - сут плазмасидан ва ёгдан иборат. Қуйида турли ҳайвонлар сутининг таркиби келтирилган (%):

Ҳайвонлар	Сув	Оқсил	Ёғлар	Лактаза	Минерал моддалар
Сигир	87,3	3,4	3,6	5,0	0,7
Эчки	87,0	3,7	4,0	4,5	0,9
Қуй	84,0	5,1	6,1	4,2	1,0
Чучқа	82,0	6,1	6,4	4,0	1,1
Ит	77,0	9,7	9,3	3,1	0,9
Қуён	70,0	15,5	1,9	2,9	
Кийик	65,0	14-20	17,0	2,8	1,5

Сутнинг таркибида асосан қуйидаги оқсиллар бор: казеиноген, лактоальбумин, лактоглобулинлар, липопротеинлар, ферментлар ва бошқалар. Энг муҳим сут оқсилларига - казеиноген = фосфопротеинлар киради. Фосфат кислота оқсил таркибидаги оксиаминокислоталар

серин ва треонин қолдиги билан боғланади. Казеиноген тулиқ қийматли оксил булиб, яъни таркибида ҳамма аминокислоталар йигиндиси бор. Таркибида етарли миқдорда кальций ва фосфор борлиги учун организмда яхши ҳазм бўлади. Сут оксиллари ҳам биологик тулиқ қийматлидир. Улар қайнатилганда кагуляцияга учрамайди. Казеиноген - сут ачиганда денатурацияга учрайди, унинг изоэлектрик нуқтаси $(\text{ИЭТ}) = 4,7$. Сут липидларининг асосий қисми - триглицеридлардир. Ёғлар сутда эмульсия ҳолатида учрайди. Сут углеводларининг 99,9% ни лактоза ва 0,1% - глюкоза ташкил қилади. Лактоза $(1,4 - \text{галактозидоглюкоза})$ - дисахарид ва сут безлари учун хосдир. Организмда лактоза кальций, магний, фосфорнинг ҳазм булишида ва В гурпуадаги витаминларнинг синтезида иштирок этади.

Сутнинг таркиби каротин ва А витаминларга бой, шунингдек яна С, Д, В_1 , В_2 , В_5 , В_6 витаминлари ҳам учрайди. Сутнинг таркибида ферментлар (амилаза, каталаза, ксантинооксидаза, дегидраза ва бошқалар); пигментлар (ксантофилл, каротин, лактофлавин ва бошқалар); гормонлар (пролактин, окситоцин ва бошқалар) ҳамда иммуномоддалар бор.

Сутнинг таркибида минерал моддалардан кальций - 140 мг%, фосфор - 80 - 100 мг %, калий - 140 мг %, ҳамда камроқ нисбатда темир учрайди. Сутнинг таркиби ҳайвонларнинг индивидуал хусусиятларига, зотига, лактация даврининг вақтига ва озиқанинг характериға боғлиқдир. Организмнинг физиологик ва патологик ҳолати ҳам сутнинг миқдорига ва таркибиға таъсир қилади.

Сутнинг сифат анализи

1. Казеиннинг чуқтириш ва ажратиб олиш. Сутға кислоталар (масалан, сирка, сут, хлорид) ёки аммоний сульфатнинг, натрий хлориднинг туйинган эритмаларини таъсир этириб, казеин ажратиб олиш мумкин. Казеин сувда эрмайди, ишқорий эритмаларда тез эриб кетади. Сутдан казеинни ажратиб олинганда унинг зардоби қолади. Сут зардоби таркибида лактальбуминлар ва лактоглобулинлар, лактоза ва минерал тузлар бор. Ёғлар ҳам казеин чуқмаси билан биргаликда чукади.

Керакли асбоблар: қолбалар; стаканлар; цилиндр 100 мл ли; пипетка, шипа твёқчч; фильтр қоғоз, воронна.

Реактивлар. 1. Сирка кислотасининг 0,1% ли эритмаси, 2. Натрий ишқорининг 1% ли эритмаси. 3. Натрий гидрокарбонатининг 5% ли эритмаси. 4. Сут.

Ишнинг бориши. Стокандаги 20–30 мл сут унга нисбатан 3–4 ҳажмдаги кўп сув билан суўлтирилиб яхшилаб аралаштирилади ва унга томчилаб сирка кислотанинг 0,1% ли эритмасидан то казеиннинг оқ чўкмаси ҳосил булиши тамом бўлгунча қушилади, ёглар ҳам казеин билан биргаликда чўқади. Кислота керакли миқдорда қушилади, чунки ортиқча кислотада казеин яхши эрийди. Чукма филтёрлангач 2–3 марта дистилланган сув билан ювилади. Чукма ва филтёртрат кейинги ишлар учун ишлатишга олиб қўйилади.

Чукманинг озгина қисмига /казеин, ёг/ натрий гидроксидининг эритмасидан ёки натрий гидрокарбонатидан таъсир эттирилса казеин эрийди ёг эса муаллақ ҳолатда қолади. Суўклик ҳул филтёр қоз орқали филтёрланади. Ёг филтёр қозда қолади. Филтёртрат билан оқсил учун реакциялар бажариб қурилади /рангли ва чўктириш реакциялари/.

Лактоальбуминлар ва лактоглобулинларни ажратиб олиш.

Керакли асбоблар: 50 мл ли колба: пробиркалари билан штатив: филтёр қоз; воронка.

Реактивлар. 1. Филтёртрат. 2. Натрий хлориднинг туйинган эритмаси.

Ишнинг бориши. Казеиннинг сирка кислотаси таъсирида чўктириб олинган филтёртидан олиб, натрий хлориднинг туйинган эритмаси билан аралаштирилади /1:1/ ва қайнатилади. Натижада лактоальбуминлар ва лактоглобулинлар чукмага тушади ва филтёрланади. Чукмани эвилгач дистилланган сувда эритилади. Ҳосил булган эритма билан оқсиллар учун рангли реакциялар қилиб қурилади.

Казеин миқдорини аниқлаш. Керакли асбоблар: 50 мл ли колба; термометри билан сув ҳаммоми; бюретка.

Реактивлар. 1. Натрий салицилатнинг 5% ли сувдаги эритмаси. 2. Фенолфталеиннинг 2% ли эритмаси. 3. Натрий гидроксидининг 0,02 н эритмаси.

Ишнинг бориши. Казеин филтёртидан /"казеинни чўктириш ва ажратиб олиш" ишидан/ колбага солинади ва унга 10 мл иссиқ /60–70°C/ натрий салицилатнинг эритмасидан қушилади. Колба сув ҳаммомига /75–80°C/ қуйилгач, казеин эригунча чайқатиб турила-

ди. Шундан сўнг эритма совутилади, 2-3 томчи фенолфталеин эритмасидан қўшилади ва 0,02 н натрий гидроксиди билан пушти ранг ҳосил булгунча титрланади. Сарф булган ишқорнинг оз-кўплигига қараб, казеиннинг миқдори аниқланади. 0,1 г тоза казеинни нейтраллаш учун 4,1 мл 0,02 н натрий гидроксидининг эритмаси сарф бўлади:

$$X = \frac{a \cdot 0,1}{1}$$

Бу ерда: X - текширилаётган маълум ҳажмдаги казеиннинг миқдори, a - титрлаш учун сарф булган 0,02 н натрий ишқорининг миқдори.

Сут оксилларига оғир металл тузларининг таъдири. Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив, пипеткалар,

Реактивлар. 1. Қўргошин ацетатининг 0,5% ли эритмаси. 2. Мис сульфатнинг 5% ли эритмаси. 3. Сут.

Ишнинг бориши. Иккита пробирка олиб, биринчисига 3-4 мл қўргошин ацетатидан, иккинчисига 3-4 мл ли мис сульфатнинг эритмасидан солинади. Иккала пробиркаларга 1-2 мл сут қўшилади, натижада оксиллар чуқмага тушади.

Сут қандининг сифат реакциялари

Методнинг принципи шундан иборатки, лактоза таркибидаги эркин альдегид группаси ишқорий шароитда йод билан оксидланади, натижада лактон кислота ҳосил бўлади.



Лактоза

Лактон кислотаси

Керакли асбоблар: 50, 100 мл ли колбалар; 5, 10 ва 20 мл ли пипеткалар; бюретка; воронка; фильтр қоғоз.

Реактивлар: 1. Сут. 2. Мис сульфатнинг 7% ли эритмаси. 3. Натрий гидроксиднинг 2% ли эритмаси. 4. Натрий фторининг 5% ли эритмаси. 5. Хлорид кислотасининг 5% ли эритмаси. 6. Натрий тиосульфатнинг 0,1 н эритмаси. 7. Крахмалнинг 5% ли эритмаси. 3. Йоднинг 0,1 н эритмаси.

Ишнинг бориши. Иккита 50 мл ли колбага 5 мл дан мис сульфат эритмасидан, 5 мл дан натрий гидроксидининг эритмасидан ва

2,5 мл натрий фториднинг эритмасидан солинади. Сўнгра биринчи колбага /тажриба/ 5 мл сут, иккинчисига /контрол/ - 5 мл дистилланган сув қўпилади. Колбалар чайқатилади ва 30 минутдан кейин филтрланади.

20 мл филтратлардан слиб, 100 мл ли колбаларга солинади ва 20 мл дан йоднинг эритмасидан қўпилади, сўнгра тўхтовсиз ара-лаштираб туриб 10 мл натрий ишқорининг эритмасидан томизилади. Иккала колба теқин билан беркитилгач, 20 минутдан кейин 10 мл хлорид кислотасининг эритмасидан, 5 томчи крахмал эритмасидан қўпилади ва натрий тиосульфатнинг эритмаси билан эритма рангсиз-лангунча титрланади. 1 мл 0,1 н натрий тиосульфатнинг эритмаси 18,01 мг лактозага тўғри келади.

Ҳисоблаш:

$$x = \frac{(a-b) \cdot K \cdot 18,01 \cdot 50 \cdot 100}{20 \cdot 5}$$

Бу ерда: X - 100 мл сутдаги лактозанинг миқдори, мг, %

a - контрол намунани титрлаш учун сарф бўлган натрий тиосульфат эритмасининг ҳажми, мл;

b - тажриба намунасини титрлаш учун сарф бўлган натрий тиосульфат эритмасининг миқдори, мл;

K - 0,1 н натрий тиосульфат эритмаси титрининг тузатиш коэффициенти.

Сигир сутида ўртача лактозанинг миқдори 4,6 %.

Сутдаги С витамини миқдорини аниқлаш

Керакли асбоблар: 50 ва 100 мл ли колбалар; пипеткалар; бюретка.

Реактивлар. 1. Хлорид кислотасининг 2% ли эритмаси. 2. 0,001 н 2,6 - дихлорфенолиндофенолнинг эритмаси. 3. Сут.

Ишнинг бориши. 10 мл сутга уч ҳажм дистилланган сув қўшиб суултирилади. 50-100 мл колбага 1 мл хлорид кислота эритмасидан ва 5 мл суултирилган сут солинади, сўнгра ҳажми сув билан 15 мл га етказилади. Контрол намуна учун колбага 1 мл хлорид кислотасининг эритмаси ва 14 мл сув солинади. Колбалардаги суяқликлар чайқатилади, сўнгра 2,6 - дихлорфенолиндофенол эритмаси билан оч пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади. Контрол намунани титрлаш учун кетган 2,6 - дихлорфенолиндофенолнинг миқдоридан

тажриба намунасини титрлаш учун кетган миқдориңи айириб ташлаб 2,6 - дихлорфенолиндофенолнинг миқдори аниқланади.

Ҳисоблаш:

$$X = \frac{v \cdot K \cdot C \cdot 0,088 \cdot 100}{5}$$

Бу ерда: X - сутдаги C витаминининг миқдори, мг %;

2,6 - дихлорфенолиндофенол эритмаси титрини тўғрилаш коэффициентини;

C - сутнинг суялтириш даражасини ифодаловчи сон;

0,088 - аскорбин кислотасининг сони /мг/, яъни бу сон 1 мл титрлаш учун сарф бўлган 0,001 н 2,6 - дихлорфенолдофенолнинг эритмасига тўғри келади;

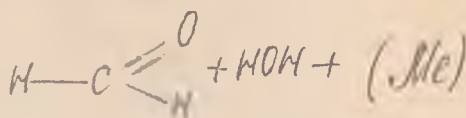
5 - титрлаш учун олинган сутнинг миқдори, мл;

100 - мг % да ҳисоблаш учун.

Сутнинг ферментлари

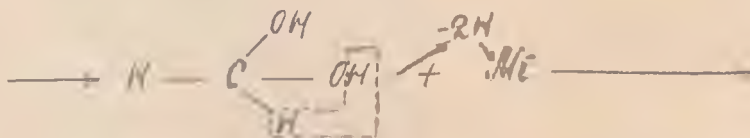
Сутнинг таркибида жуда кўп ферментлар бўлиб, улар сутга сут безлари ва микрофлоралар орқали келади. Турли ҳайвонлар сутининг таркибида гидролаза /амилаза, липаза, фосфотаза, лактаза ва бошқалар/, оксидоредуктаза /пероксидаза, анаэробли дегидрогеназалар, каталаза ва бошқалар/ ферментлари бор.

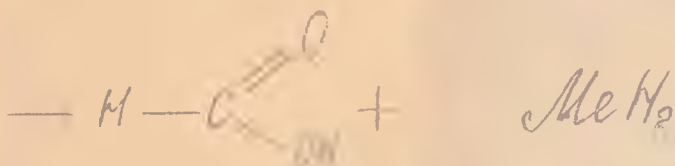
Альдегиддегидрогеназа ферментини аниқлаш. Сутга қўшилган метилен кўки эритмасининг рангсизланишидан альдегиддегидрогеназа ферменти борлигини билиш мумкин. Бу фермент таъсирида метилен кўкининг қайтарилган рангсиз лейкоформасига айланади:



Формальдегид

Метилен кўки оксидланган формаси





Чумоли кислотаси

Қайтарилган формаси,
рангсиз

Сутга альдегиддегидрогеназа сут безлари орқали жуда оз миқдорда киради. Сутда микрофлоралар кўпайганда фермент ҳам кўплай йигилади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; сув ҳаммоми, термометр; пипеткалар.

Реактивлар: 1. Формальдегиднинг 0,5 % ли эритмаси. 2. Метилен кўкининг эритмаси /0,001 % ли/. 3. Сут.

Ишнинг бориши. Битта пробиркага 2-3 мл қайнатилган сут /контрол/, бошқасига 2-3 мл янги соғилган сутдан /тажриба/ солинади. Иккала пробиркага 1 мл дан формальдегид эритмасидан ва 1 мл метилен куки эритмасидан солиб, 70° ли сув ҳаммомига қўйилади - реакциянинг бориши кузатилади. Янги сут солинган пробиркадаги аралашма рангсизланади, қайнатилган сут солинган пробиркадаги аралашма эса рангсизланмайди, чунки қайнатилган сутда бу фермент уз активлигини йўқотади.

Каталаза ферментини аниқлаш. Каталаза ферменти таъсирида пергидрол сувга ва молекуляр кислородга парчланади:



Сутга пергидрол қушилса кислород ажралиб чиқади, бу каталаза ферменти борлигидан далолат беради.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар.

Реактивлар. 1. Сут. 2. Пергидролнинг 1% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Битта пробиркага 2-3 мл сут ва шунча миқдорда пергидролнинг 1% ли эритмасидан солинади. Каталаза таъсирида кислород пуфакчалари ажралиб чиқади. Иккинчи пробиркага 2-3 мл қайнатилган сут ҳамда 2-3 мл пергидрол эритмасидан солинади. Қайнатилган сутда фермент юқори ҳарорат таъсирида де-

натурацияга учраган, шунинг учун бу пробиркада ферментатив реакция бормаиди.

Сут таркибидаги кальций миқдорини аниқлаш

Сутдаги умумий минерал моддаларнинг тахминан $\frac{1}{5}$ қисмини кальцийли бирикмалар ташкил қилади. Ҳайвонлар сутида кальцийнинг ўртача миқдори қуйидагича: сигирларда 140 мг%; эчкиларда 142 мг%; отларда 83 мг.

Сут - кальций ва фосфорга бой бўлган овқат ҳисобланади. Сутдаги 78% кальций аорганик тузлар ҳолатида; 22% кальций казеин оксили билан бириккан ҳолатда учрайди.

Сутдаги кальцийнинг миқдори Ваард методи билан аниқлашга асосланган.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; центрифуга; сув ҳаммоми; 20, 25 мл ли цилиндрлар.

Реактивлар. 1. Сут - 10 марта суўлтирилган, 25 мл ли цилиндрга 1 мл сут ва 9 мл сув қушиб аралаштирилади. 2. Оксалат кислотасининг 4% ли эритмаси. 3. Аммиакнинг 2% ли эритмаси. 4. Сульфат кислотасининг 1 н эритмаси. 6. Калий перманганатнинг $\frac{1}{1000}$ н эритмаси.

Ишнинг бориши. Битта центрифуга пробиркасига 1 мл суўлтирилган сут, иккинчи пробиркага 1 мл сув солинади, сунг иккала пробиркага 0,5 мл аммоний оксалатнинг эритмасидан қушиб аралаштирилади ва 30 минутга қолдирилади. Кейин эса 10-15 минут центрифуга $\frac{2500}{\text{айл/мин}}$ қилинади. Филтрат тукиб юборилгач иккала пробиркадаги чуқмага 4 мл дан аммиакнинг 2% ли эритмасидан солинади ва яна 8-10 минут центрифуга қилинади. Кальций оксалат чуқмаси ишқорий шароитда эрмайди, минерал кислоталарда эса яхши эрийди. Иккала пробиркага 1 мл дан сульфат кислотасининг 1 н эритмасидан солинади ва шisha таёқча билан яхшилаб аралаштирилади. Сунгра пробиркалар (таёқлари билан) 3-4 минут қайнатилган сув ҳаммомига қўйилади. Иссиқ эритмаларни 0,01 н KMnO_4 эритмаси билан пушти рачг ҳосил бўлгунча титрланади.

Сутдаги кальций миқдори $\frac{1}{\text{мг \%}}$ қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$x = \frac{a \cdot b}{c} \cdot 100$$

- Бу ерда: 0 - тажриба намунасини титрлаш учун сарф булган 0,01 н
К Мп O_4 эритмасининг миқдори;
К - контрол намунани титрлаш учун сарф булган 0,01 н
К Мп O_4 эритмасининг миқдори;
0,2 - кальций миқдорини, яъни 1 мл 0,01 н КМп O_4 нинг
эритмасига туғри келади,
100- мг % ҳисоблаш учун;
0,1- сулфит-илган сутнинг таржибидаги сутнинг миқдори,
мл.

Сутнинг кислоталилигини аниқлаш

Сутнинг кислоталилигини аниқлаш уни айниб қолмаганларини билишда катта амалий аҳамиятга эга. Сут узок , сақланганда ачийди ва натижада сут кислотаси йиғилади. Сутнинг кислоталилиги градусларда ифодаланади. 100 мл текшириладиган сутни нейтраллаш учун сарф булган 0,1 н ишқорнинг мл дағи миқдори 1° га туғри келади. Янги сирир сути $15-18^{\circ}$, туғриб қолган сут - $20-22^{\circ}$, қайнатилганда ивиб қолган сут - $24-27^{\circ}$ га эга.

Керакли асбоблар: 50-100 мл ли қолбалар; пипеткалар; бюретка.

Реактивлар. 1. Натрий гидроксиднинг 0,1 н эритмаси. 2. 0,1% ли фенолфталеиннинг спиртдаги эритмаси. 3. Сут.

Ишнинг бориши. Қолбага 10 мл текшириладиган сут, 20 мл дистилланган сув ва 2-3 томчи фенолфталеиннинг эритмасидан солинади, сунгра қолба чайқатилади ҳамда 0,1 н натрий гидроксиднинг эритмаси билан пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади.

Ҳисоблаш: титрлаш учун сарф булган ишқор миқдори 10 га кўпайтирилади /100 мл да ҳисоблаш учун/. Бу сон сутнинг кислоталилигини градусда курсатади.

XII боб. Мускул туқимаси

Мускул туқимаси - гуштнинг муҳим компоненти ҳисобланиб учга бўлинади: таргил чизикли; силлик ёки чизиксиз ва ярак мускули. Мускуллар масалан, қон айланишида, нафас олишда, томирлардаги тонусларни бир хилда ушлаб туриш ва бошқа жараёнларда жуда муҳим физиологик функцияларни бажаради. Мускул таркиб қуйидагича тузилади / % ҳисобида / : сув - 72-82; оксиллар - 16,5-

20,9; липидлар / липидларнинг миқдори ўзгариб туради, чунки бу нарса емишга боғлиқ/; азотли моддалар /тахминан 1% АТФ, АДФ, АМФ, инозит кислота, эркин аминокислоталар, креатин, креатинин, фосфокреатинин, карнозин, ансерин ва бошқалар/; азотсиз моддалар/гликоген - 0,3-0,4; глюкоза, гликолиз маҳсулотлари, гликогенолизи ва трикарбон кислоталар цикли/, витаминлар, макро ва микроэлементлар / - I, -I,5 /.

Оқсиллар - мускул туқимасининг энг муҳим таркибий қисмларидан бири бўлиб, улар саркоплазматик, миофибрилляр ва строма оқсилларига булинади. Саркоплазматик оқсилларга миогенлар, миоальбуминлар, миоглобулинлар ва миоглобинлар киради. Миогенлар - оқсилларни, яъни мускул оқсилларининг 30% ни ташкил этади. Миогенлар иккига булинади: А ва Б миогенлар. А миогенлар альдолаза ферментининг таркибига киради, Б миогенлар каталитик таъсир қила олмайди.

Миоглобулинлар сувда эримайди, тузли эритмалар билан ажратиб олинади. Улар хромопротеинларга кириб, оқсил ва гемдан ташкил топган. Молекуляр оғирлиги 17000. Миоглобин, гемоглобинга ухшаб, молекуляр кислородни боғлаб олиш ва бериш хусусиятига эга.

Миофибрилляр оқсилларга миозин, актин тропомиозин ва тропонин киради. Оқсиллар мускулларни қисқаришида иштирок этиб ҳамма оқсилларнинг 50% ини ташкил қилади. Миозин - АТФ ни парчалаш хусусиятига эга. У актин билан бирикади ва қисқарувчи комплекс - актиомиозинни қисқариши химиявий энергия ҳисобига содир бўлиб, бунда магний иони иштирокида миозин таъсирида АТФ парчаланиб АДФ ва анорганик фосфат кислотани ҳосил қилади.

Актин оқсили сувда эрийди, миозин билан комплекс ҳосил қилади ва ҳамма оқсилларнинг 15% ини ташкил қилади. Строма оқсиллари мускул оқсилларининг 10% ини ташкил қилади, сувда ва тузли эритмаларда эримайди. Бу группа оқсилларига коллаген ва эластинлар киради. Майдаланган мускулни экстракция қилинганда оқсилсиз моддалар осон сувли эритмага ўтади.

Мускул туқимасининг таркибида турли хил ферментлар: масалан, катепсинлар, липазалар, оксидоредуктазалар бор.

Миозинни ажратиш

Миозин (актимиозин) - мускул оксиди бўлиб, мускул туқимасидан тузли эритмалар ердимида экстракция қилинади. Ҳосил бўлган экстрактлар сув билан сулштириб ски диализ қилиб, чўкмага туширилади. Миозин мускул оксидларининг 55% йни таъкил этади. Бу оксиднинг изоэлектрик нуқтаси pH 5,5 да намоён бўлади.

Керакли асбоблар: муз ҳамжони; кайчи; 1000 мл ли колбалар; центрифуга; дока.

Ҳақитиелар: 0,15 М фосфат буфери, 0,3 М KCl эритмасида тайёрланади pH 6,5. 2. $^{\circ}C$ гача совитилган дистилланган сув.

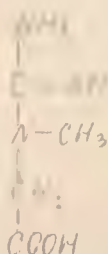
Ишнинг борили. Янги сўйилган ҳайвон мускули туқимасидан олиб майдаланади. Бу жараен $-2^{\circ}C$ да олиб борилади. 100 г майдаланган мускулга 300 мл 0,15 М фосфат буферининг 0,3 М KCl даги эритмасидан солиб экстракция қилинади. Экстракция $-1^{\circ}C$ да 10 минут давомида аралаштириб олиб борилади. Сунгра аралашмага хона хароратидаги сувдан кўшиб, ҳажми 1000 мл га етказилади ва дока орқали филтрланади. Сунгра филтратни мешалка билан актомиозин чўкмеси ҳосил бўлгунча аралаштириб туриш (бир-икки соат) лозим. Чўкма центрифуга қилиниб, ажратиб олинади. Шундан кейин суюқликка $0^{\circ}C$ совитилган 1500 мл дистилланган сув 10 минут давомида аралаштириб кўшилади—да $0^{\circ}C$ да 2 соат қолдирилади. Сунгги жараёнда миозиннинг чўкмеси центрифуга қилиниб миозин ажратиб олинади ва унинг изоэлектрик нуқтаси аниқланади.

Мускул туқимасидаги креатин ва креатин-фосфатни аниқлаш

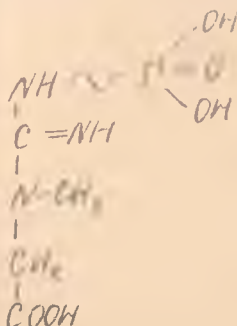
Креатин - кўндаланг тарғил мускулнинг муҳим таркибий қисми ҳисобланади. Скелет мускулларининг таркибида креатиннинг миқдори 400-500 мг %, юрак мускулида креатин 2-3 марта кам бўлади. Миа туқимасида тахминан 100 мг %, паренхиматоз органларда 10-50 мг % миқдорда креатин бор.

Мускул туқимасида креатин эркин ҳолатда ва фосфорли ҳосилалари (креатинфосфат, фосфокреатин) ҳолатида учрайди. Креатинфосфат маър эргик бирикма бўлиб, ҳужайрада энергия манбаи ҳисобланади.

Мускулларнинг кискариши доимо энергия ҳисобига содир бўлади,



Креатин



Креатинфосфат

яъни АТФ ҳисобига - АТФ ни регенерацияси креатинфосфатдаги энергияга бой группани фермент креатинкиназа иштирокида кучирилиши ҳисобига боради. Мускулдаги креатинфосфатнинг миқдори 30-70 мг %.

Креатинфосфат + АДФ $\xrightarrow{\text{креатинкиназа}}$ креатин + АТФ булади. Мускул туқимасидаги эркин креатин ва креатинфосфатнинг миқдори туқиманинг физиологик ҳолатига боғлиқ.

Креатинни аниқлаш. Эркин ҳолатдаги креатинни аниқлаш оксилсиз эритмада, диацетил билан α - нафтол иштирокида рангли реакция натижасида аниқланади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; муз ҳаммоми; центрифуга; термостат.

Реактивлар. 1. H_2SO_4 - 0,5 М эритмаси. 2. КОН - 2 М эритмаси. 3. Диацетилнинг 0,05 % ли эритмаси; бу реактивни тайёрлаш учун 1,6 г диметилглиоксим олиб 200 мл сульфат кислотасининг 5 н эритмасидан қушиб, қолба қумли ҳаммомда қиздирилади. Тулиқ эригандан кейин суяқлик 100 мл ли қолбага солинади ва ҳажми дистилланган сув билан 100 мл га етказилади. 1% ли диацетил эритмаси музхонада сақланади, ишлатишдан олдин сув билан суялтирилади.

Оксилсиз экстрактни /олиш/ тайёрлаш. Фосфорли бирикмаларни аниқлаш 0-4°C олиб борилади. 1-2 г мускул туқимасидан олиб, суяқ азотда музлатилади. Сунгра ҳавончада эзилиб, 200-300 мг қолбага солинади. Олдиндан совутилган HClO_4 0,5 М эритмаси билан ҳажми 10 мл га етказилади, яхшилроқ аралаштирилгач, оксилларни чуқтириш учун центрифуга қилинади. 7-8 мл оксилсиз эритмадан олиб, 2 М КОН эритмаси билан нейтралланади /нейтраллаш учун кетган КОН миқдори ҳисобига олиниши/. Кейин эри ма совутилиб, чуқмага ташланган HClO_4 филтрлиб ажратилади. Бу филтратни креатин ва креатинфосфатни аниқлаш учун ишлатиш мумкин.

Ишнинг бориши. Креатин миқдорини аниқлаш учун калибрланган график тузилади. Бунинг учун бир неча пробиркалар олиб, 0,1-0,5 мкмол креатинни бор стандарт эритмадан 1 мл дан солинади: 1 мл дан 1% α - нафталиннинг ишқордаги эритмасидан ва 0,5 мл 0,05% ли диацетил эритмасидан солинади. Намуналарнинг ҳажми дистилланган сув билан 5 мл га етказилади, сунгра яхшилаб аралаштирилади ва 30 минут хона ҳароратида қоронгу жойда қолдирилади. Кейин спектрофотометрда 540 нм тулқин узунлигида оптик зичлиги улчанади. Олинган натижалардан график чизилади.

Текшириляётган намуналардаги креатинни аниқлаш учун ҳам юқорида ёзилган тартибдагидек иш олиб борилади. Намунанинг оптик зичлиги белгилангандан сўнг, графикдан қанча миқдорда креатин борлигини аниқланади.

Креатинфосфатни креатинга қараб аниқлаш. Креатинфосфатни аниқлаш шунга асосланганки, у аммоний молибдатнинг кислотадаги эритмаси таъсирида анорганик фосфат кислота ва креатинга парчаланadi. Ишқорий муҳитда пикрин кислотаси билан ҳосил қилган рангнинг оптик зичлиги спектрофотометрда улчаб аниқланади.

Реактивлар. 1. 1,4 % ли аммоний молибдатнинг 2 н сульфат кислотасидаги эритмаси. 2. 0,7 % ли аммоний молибдатнинг 1 н сульфат кислотасидаги эритмаси. 3. Натрий ишқорининг 2 н эритмаси. 4. Пикрин кислотасининг тўйинган эритмаси. 5. Креатиннинг стандарт эритмаси (бу эритманинг 1 мл да 5 мкмол креатин бор). 6. Универсал индикатор.

Ишнинг бориши. Нейтралланган оксилсиз эритмадан 1-2 мл олиб пробиркага солинади ва тенг ҳажмда 1,4% ли аммоний молибдатнинг 2 н сульфат кислотасидаги эритмасидан қўшилади. Пробирка чайқатилгач, 40 минут 37°C ҳароратда термостатда қолдирилади. Шундан кейин филтрланади, филтратдан 1,5-3 мл олиб, 2 н натрий ишқорининг эритмаси нейтралланади. Эритмага 0,15 мл 2 н натрий ишқорининг эритмасидан ва 0,25 мл пикрин кислотасининг тўйинган эритмасидан қўшиб, ҳажми дистилланган сув билан 5 мл га етказилади. Энди уни аралаштириш ва 10-15 минут ранг ҳосил бўлиши учун қолдириш керак. Шундан сўнг спектрофотометрда 540 нм тулқин узунлигида оптик зичлиги улчанади. Намунанинг оптик зичлигига қараб, калибрланган графикдан қанча миқдорда креатин борлигини аниқлаш мумкин. Калибрланган график тузиш учун эса

пробиркаларга 1 мл дан 0,1-0,5 мкмол креатиннинг стандарт эритмасидан солиб, юқорида ёзилган шароитда иш олиб борилади.

Мускулдаги креатинфосфатнинг X мг %/ концентрацияси қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$X = \frac{A \cdot 10 \cdot 100}{2 \cdot C}$$

Бу ерда: a - калибрланган графикдан топилган тажриба намунасидаги креатин миқдори, мг;

10 - тўқима гомогенатининг ҳажми;

100 - процентда ҳисоблаш коэффициентини;

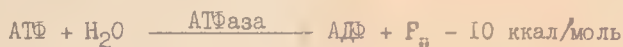
2 - аниқлаш учун олинган филтратнинг ҳажми;

C - мускул тўқимасининг оғирлиги, мг.

Мускул тўқимасида аденозинтри-
фосфатазанинг активлигини

аниқлаш

10' - АТФ аза ферменти АТФ нинг гидролитик парчаланишини катализлайди ва бу реакция натижасида энергия ажралиб чиқади:



Бу ферментнинг активлиги тўқималарда сарфлаган АТФ нинг миқдорини курсатади.

Методнинг принципи. Ферментатив реакциянинг активлиги, АТФ аза таъсирида АТФнинг парчаланишидан ҳосил булган неорганик фосфат кислотанинг миқдорига қараб аниқланади.

Керакли асбоблар: гомогенизатор; аналитик тарози; қайчи; 1 ва 2 мл ли пипеткалар пробиркалари билан штатив; воронкалар; филтър қоғоз; термостат; спектрофотометр; центрифуга.

Реактивлар. 1. Мускул тўқимаси. 2. 0,25 М сахарозанинг трис-НСІ эритмаси /рН-7,4/. 3. Трихлорсирка кислотасининг 20% ли эритмаси. 4. Инкубацион аралашма: Трис-НСІ /рН-7,5/ - 0,2 М, КСІ - 0,05 М, *насл* - 0,58 М, ЭДТА - 0,01 М, *кислота* - 0,02 М, АТФ - 0,02 М; 5. Буфер аралашма, рН - 4 - бу буфер аралашма: 0,2 М сирка кислотаси ва 0,4 М $\text{CH}_3\text{COO} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ эритмасидан тайёрланади. 6. Аммоний молибдатнинг 1 % ли эритмаси. 7. 1% ли аскорбин кислотасининг 1 мис сульфатдаги эритмаси.

Ишнинг бориши. 100 мг мушкул туқимаси майдаланади ва 5 мл 0,025 М сахарозанинг Трис - HCl /pH-7,4/ эритмаси билан гомогенизация қилинади. Ҳосил булган гомогенат дока оркали филтрланади. Иккита пробиркага 2 мл дан гомогенат солинади. Биринчи пробирка-контрол намунаси ҳисобланиб, унга 1 мл 20% ли трихлорсирка кислота эритмасидан қушилади. Шундан кейин иккала пробиркага 2 мл дан инкубацион аралашмадан қушилади: ва 30 минут 37°C термостатга - инкубацияга қўйилади. Инкубация даври тугагач тажриба намунасига 1 мл 20% ли сирка кислотасининг эритмасидан қушилади. Сунгра пробиркалардаги суюқликнинг ҳажми 0,25 М сахарозанинг эритмаси билан 10 мл га етказилади ҳамда 10 минут 2500 айл/минут тезликда центрифуга қилинади. Чукма туқиб юборилади, суюқлик қисми билан эса рангли реакция олиб борилади.

Бунинг учун 1 мл центрифугатдан олиб, унга 2 мл аммоний молибдат эритмаси, 1 мл аскорбин кислотасининг мис сульфатдаги эритмаси ва 6 мл ацетат буфферидан қушилади. эритмалар аралаштирилгач, 30 минутга қолдирилади. Шундан кейин ҳосил булган рангнинг интенсивлиги спектрофотометрда 750 нм тулқин узунлигида ўлчанади.

АТФаза ферментининг активлиги микромоль миқдори билан белгиланади ва бу 1 г туқима таркибидagi фермент 1 минутда қанча АТФ ни парчалай олишини кўрсатади. АТФаза ферментининг активлиги қуйидагича ҳисобланади /мкмоль/л/мин/.

$$E = \frac{A}{0,031 \cdot C \cdot 30}$$

Бу ерда: а - тажриба намунасидаги фосфорнинг миқдори /бу миқдор калибрланган графикдан топилади/, мг;

б - контрол намунасидаги фосфорнинг миқдори /бу миқдор ҳам калибрланган графикдан топилади/, мг;

0,031 - P_i нинг миқдори /мг/ булиб, бу бир мкмоль АТФ ни АТФаза таъсирида парчаланишидан ҳосил бўлади;

5 - гомогенатнинг ҳажми, мл;

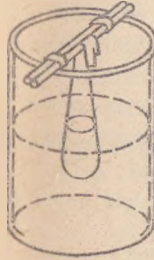
C - туқиманинг оғирлиги, г;

30 - инкубация вақти.

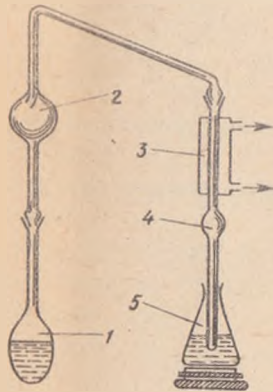
Калибрланган графикни тузиш. Бунинг учун стандарт эритма тайёрланади, бу эритманинг 1 мл да 0,025 мг фосфор бор. Шу

эритмадан фосфорнинг гурли концентрацияси тайёрланади: 0,0123 мг; 0,025 мг; 0,0473 мг; 0,050 мг; 0,0623 мг; 0,0746 мг; 0,0869 мг; 0,0982 мг; 1,105 мг.

Бунинг учун пробиркаларга 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 мл стандарт эритмалардан солинади. Сунгра юқорида ёзилган рангли реакция бажариб курилади ва 30 минутдан кейин оптик зичлиги спектрофотометрда 530 нм тўлқин узунлигида ўлчанади. Сунгра натижалардан калиброванган график тузилади. Шу графикдан тажриба ва контрол намуналардаги фосфорнинг миқдори топилади.

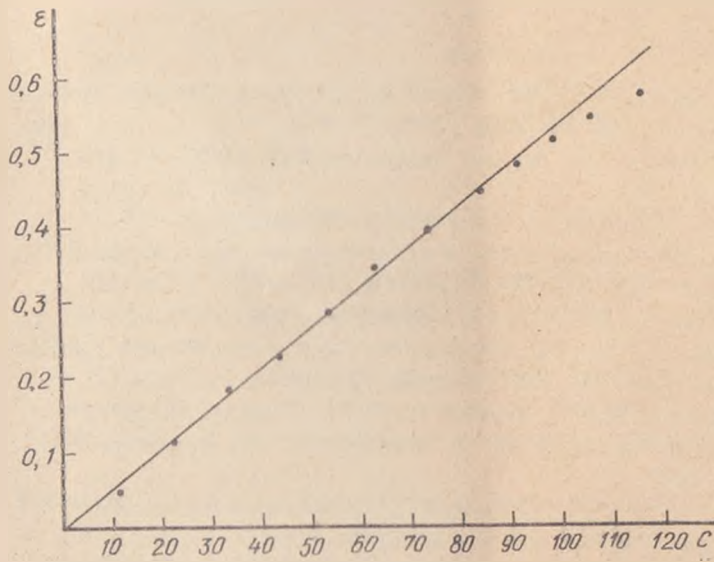


I=расм. Диализатор.

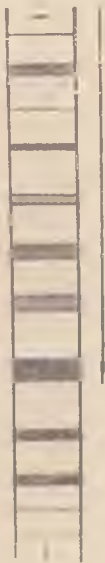


2=расм. Кьелдадь ҳайдаш аппарати.

1=ҳайдаш колбаси; 2=томчиларни тутувчи колба;
3=совуткич; 4=узайтиргич; 5=қабул қилувчи колба.



3-рasm. Калиброванган график. Абцисса ўқида -
намуналардаги оксиллар миқдори, мкг (C);
Ордината ўқида - оптик зичлик (ε)



1-рasm. Оксиллар электрофореграммаларининг
куриниши.

Адабиётлар

1. Соловьева Г.А. Руководство для малого практикума по биохимии животных. МДУ нашриёти, 1979.
2. Соловьева Г.А. Методы биохимического исследования. МДУ нашриёти, 1979.
3. Мальйй практикум по биохимии. МДУ нашриёти, 1979.
4. Методы биохимических исследований. Под ред. проф. М.И. Прохоровой, Л. ЛДУ нашриёти, 1982.
5. Маурер Г. Диск - электрофорез. М. 1971.
6. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов. М. "Мир" нашриёти, 1975.
7. Чечеткин А.В., Воронянский В.И. и другие. Практикум по биохимии сельскохозяйственных животных. М. "Высшая школа" нашриёти, 1980.
8. Шарпенак А.Э., Коньшев В.А. Практикум по биологической химии. "Высшая школа" нашриёти. 1969.
9. Шапиро Д.К. Практикум по биологической химии. "Высшая школа" нашриёти 1976.
10. Петухова Е.А. Бессарабова Р.Ф. и другие. Зоотехнический анализ кормов. М. "Колос" нашриёти 1981.
11. Практикум по общей биохимии. Под общей ред. Ю.Б.Филипповича. М. "Просвещение" нашриёти 1975.
12. Практикум по биохимии. Под общей ред. проф. Н.П.Мешковой и академика С.Е.Северина. МДУ нашриёти, 1979.

Кириш	3
I боб. Водород курсаткичи. Буфер эритмалар. Водород ионларининг концентрациясини аниқлаш методлари . . .	4
Водород курсаткичи	4
Буфер эритмалар	4
Индикаторлар ёрдамида водород ионларининг кон- центрациясини аниқлаш	6
Универсал индикатор ёрдамида рН ини аниқлаш	8
Потенциометрик усул билан рН ини аниқлаш	9
II боб. Оксиллар	10
Оксилларни аммоний сульфат таъсирида чуқтириш . .	12
Оксилларни натрий хлорид таъсирида чуқтириш . . .	12
Оксилларни минерал кислоталар таъсирида чуқтириш	13
Оксилларни органик эритувчилар билан чуқтириш . .	13
Оксилларни органик кислоталар билан чуқтириш . .	14
Оксилларни оғир металл тузлари таъсирида чуқти- риш	14
Оксилларни алкалоидлар реактиви билан чуқтириш .	15
Оксилларни юқори ҳарорат таъсирида чуқмага туши- риш	16
диализ	17
Оксилларнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш . . .	18
Оксиллар ва аминокислоталарнинг рангли реакциялар лари	21
III боб. Мураккаб оксиллар	28
Нуклеопротеинлар	28
Хромопротеинлар	31
Гликопротеинлар	35
Фосфопротеинлар	36
Туғилмалардаги оксил миқдорини аниқлаш методлари ва оксиллар алмашинуви	38
пероаксиднинг реакцияси	53
Оксилларни п-псин ферменти таъсирида парчала- ш	56

	бет
IУ боб. Нуклеин кислоталар	57
Ҷайвон туқимасидаги нуклеин кислоталарнинг миқдорини аниқлаш	60
ДНК нинг сифат реакцияси	61
У боб. Углеводлар	61
Моносахаридлар	62
Дисахаридлар	66
Дисахаридларни қайтарувчанлик хусусиятини текшириш	67
Полисахаридлар	68
Биологик суруқликларда глюкоза миқдорини Хагедорн-Иенсен методи билан аниқлаш	70
Жигар туқимасидаги гликогенни аниқлаш	72
Сийдиқда пирозум кислотасининг миқдорини аниқлаш	74
Гликолиз	76
Туқималардаги АТФ миқдорини аниқлаш	80
УI боб. Липидлар	83
Ёғларнинг сифат реакциялари	84
Ёғларни пероксидли сонини аниқлаш	88
Ҳаёт кислоталарининг сифат реакцияси	89
Линза активлигига ўтти таъсири	90
Орган ва туқималарда холестерин миқдорини аниқлаш	91
Туқималардан умумий липидларни ажратиш ва миқдорини аниқлаш	93
Товуқ тухуми сариғидан лецитинни ажратиш олиш	94
Сийдиқда ацетонли таначаларни аниқлаш	95
Сирка ацетат кислотасининг сифат реакцияси	96
УII боб. Ферментлар	97
Ферментларнинг термолабиллиги	99
Ферментларнинг узига ҳослиги	100
Крахмалнинг ферментатив гидролизи	101
Пероксидаза активлигини аниқлаш	104
Глутаматдегидрогеназа ферментининг активлигини аниқлаш	106

Уш боб. Витаминлар	108
А группа витаминлари	109
Қон зардобидаги умумий каратиноидларни аниқлаш	110
Д группа витаминлари	110
Е витамини /Токофероль/	111
К витамини	114
Дяетилмелон эфери билан реакция	115
Сувда эрийдиган витаминлар	115
В ₁ витамини	116
В ₂ витамини	117
В ₅ витамини	119
С витамини	120
IX боб. Гормонлар	125
Адреналиннинг сифат реакциялари	128
Кортизоннинг сифат реакциялари	130
Ошқозон ости беши гормони - инсулин	131
X боб. Қон	132
Қон зардобининг оксил фракцияларини аниқлаш	132
Қон зардобидаги кальций миқдорини аниқлаш	136
Қон зардобидаги фосфор миқдорини аниқлаш	138
Қон зардобидаги умумий фосфорнинг миқдорига қараб умумий фосфолипидларни аниқлаш	141
Холинэстераза ферментининг активлигини аниқлаш	143
XI боб. Сут	144
Сутнинг сифат анализи	145
Сут қандининг сифат реакциялари	147
Сутдаги С витамини миқдорини аниқлаш	148
Сутнинг ферментлари	149
Сут таркибидаги кальций миқдорини аниқлаш	151
Сутнинг кислоталилигини аниқлаш	152
XII боб. Мускул туқимаси	152
Миозинни ажратиш	154
Мускул туқимасида аденозинтрифосфатазанинг активлиги- ни аниқлаш	157
Адабиётлар	162

На узбекском языке

Парида Мирхамидова, Сабир Каримович Халиков,
Лев Шаевич Рабинович

Учебное пособие для студентов сельскохозяй-
ственных вузов

БИОХИМИЯ ЖИВОТНЫХ
/практикум/

Ташкент "Меҳнат" 1990

Редакция муҳити Р.О. Мирзаев
Кичик муҳаррир И. Каримова
Бадийи муҳаррир И. Кученкова
Техн. муҳаррир Н. Сорокина
Корректор М. Фозилова

ИБ № 934

Босилга рухсат этилди 29.12.89. Р 09021. Формати 60x84^I/₁₆.
" I босма қоғозга офсет усулида босилди. Шартли босма л. 9,76.
Шартли кр.отт. 9,97. Напр л. 10,0. Тиражи 5000. Заказ № 649
Баҳоси 40 т.

"Меҳнат" намоишти. 700129, Тошкент, Навоий кучаси, 30.
Шартнома № 165-89.

Ўзбекистон ССР нашриётлар, полиграфия ва китоб савдоси ишлари
Давлат комитети Тошкент "Матбуот" полиграфия ишлаб чиқариш бир-
лашмасига қарали 4-босмихонаси. Тошкент, Радиальный кучаси, 10.

4 53

Мирҳамидова П. ва бошқ.

Ҳайвонлар биохимияси /амалий машғу-
лотлар/. П. Мирҳамидова, С. Холиқов, Л. Раби-
Л. Рабинович. Т. "Меҳнат", 1990. 168 бет.

1.1,2 Автордош

Мирҳамидова П. и др. Биохимия живот-
ных /практикум/.

ББК 28.902