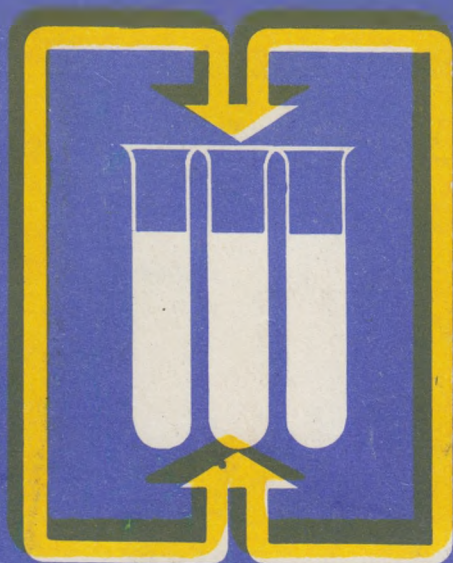


П. Мирҳамидова
С. Холиқов
Л. Рабинович

ҲАЙВОНЛАР БИОХИМИЯСИ

амалий машғулотлар



П. Мирхамидова, С. Холиқов, Л. Рабинович

ҲАЙВОНЛАР БИОХИМИЯСИ

амалий машғулотлар

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



ТОШКЕНТ "МЕХНАТ" 1990

58
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 кўпгина методлар **ЧОРВАЧИЛИК** комплексларида диагностика мақсадлар учун ҳам қўлланилади.

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

Мухаррир Акбарали Нурметов

ISBN 5-8244-0379-1
"Мехнат" нашриёти, 1990.
© 1990
И 1910000000 - 296 77-90
М 359 /04/ - 90

К И Р И Ш

Биохимиядан амалий машгулотлар ўтказиш учун мўлжалланган 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 мўлжалланган ушбу қўлланмада биохимиядан амалий машгулотлар ўтказиш 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/ Кон; 11/ Сут; 12/ Мускул туқимаси.

Қўлланмада оксиллар, нуклеин кислоталар, углеводлар, ёғлар, витаминлар, гормонлар ва биологик суюқликларни 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. Ўзгича 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.

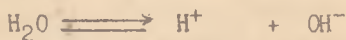
Лаборатория учун берилган ҳар бир амалий машгулотлар биохимия назарий курсининг тегишли боблари билан ўзвий боғлиқ бўлиб, шу фанни янада чуқурроқ ўзлаштиришга ёрдам беради.

Қўлланмадаги материаллардан студентлар илмий тадқиқот туғадиган ҳолатларида ҳам фойдаланишлари мумкин.

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

Водород курсаткичи

Ҳамма сувли эритмаларда кислотали ёки ишқорий эритмалар бўлишдан қатъи назар, уларда водород ионлари H^+ ва гидроксил ионлари OH^- иштирок этади. Сув - куэсиэ 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_c) дейилади. Муайян температурада K_c - 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 ифодаланилади, нейтрал эритмада $[H^+] = 10^{-7}$, кислотали эритмада $[H^+] < 10^{-7}$ ва ишқорий эритмада $[H^+] > 10^{-7}$. Водород ионларининг концентрацияси водород курсаткичи, 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 ўнли логарифми водород курсаткичи 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 қуйидагича ташкил топган бўлиши мумкин:

1/ Кучли кислота ва шу кислотани кучли диссоциланадиган туздан, масалан, ацетат буфери - сирка кислотаси/натрий ацетат / CH_3COOH ва $\text{CH}_3\text{COO Na}$ /; гидрокарбонатли буфер/карбонат кислота натрий гидрокарбонат (H_2CO_3 ва Na_2HCO_3 /;

2/ кучсиз асос ва шу асоснинг кучли диссоциланадиган тузи, масалан, аммонийли буфер - аммоний гидроксиди/аммоний хлорид (NH_4OH / 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 бўлади. Буфер эритмаларнинг pH назарий ҳолда қуйидаги формула билан ҳисобланади.

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

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

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

Тукима ва биологик суюқликларнинг буфер системаларини ҳосил қилишда минерал тузлар муҳим роль ўйнайди ва pH ини доим бир хил даражада сақлаб туради. Оқсиллар, натрий ва калий бикарбонатлар, фосфат буферлари организм учун гоёт зарур моддалардир. Масалан, оқсиллар амфотер хоссага эга ва шунинг учун H^+ ионларини ҳам, OH^- ионларини ҳам бириктира олади. Шунинг учун оқсиллар муҳим буфер системалар ролини ўйнайди 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 ўзаро 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 ўзариши 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 ўзгартириш учун қўшилади.

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

• Буфер сизимини ҳисоблаш учун қуйидагиларни билиш керак:

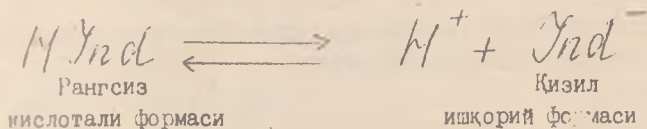
V_c – буфер эритманинг ҳаъми; V_i – қўшилган кислота ёки ишқорнинг ҳаъми; N – қўшилган ишқор ёки кислотанинг нормаллиги; pH_0 – буфер эритмани даялабки pH. pH_1 – буфер эритманинг ишқор ёки кислота қўшилгандан кейинги pH. Буфер сизими қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$B = \frac{N \cdot V_i}{(\text{pH}_1 - \text{pH}_0) \cdot V_c}$$

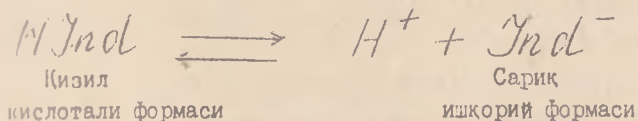
Индикаторлар ёрдамида водород ионларининг концентрациясини аниқлаш

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 бўйлади, диссоцияланмаган молекуласи рангсиз бўлади:



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



Таъширилаётган эритмага индикатор қўшиб, ҳосил бўлган ранг-га қараб муҳитнинг рН ини 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 рН га қараб турлича ранг ҳосил қила олади. Уни қуйида кўрсатилган мисолдан кўриш мумкин:

№	Индикатор	Рангнинг ўзгариш чегараси	Ранги	
			кислотада	ишқорда
1.	Тўқсарик метил	3,1-4,4	қизил	сарик
2.	Метилрот	4,2-6,2	қизил	сарик
3.	Бромтимол	6,0 - 7,6	сарик	қўқ
4.	Фенолфталеин	8,0 - 9,8	рангсиз	бинафла- қизил
5.	Тимолфталеин	9,3 - 10,5	рангсиз	тўқ сарик- жигарранг

Ишнинг бориши. Тўртта пробирка олиб, уларга 0,15 М KH_2PO_4 ва NaHPO_4 эритмаларидан қуйида кўрсатилган нисбатларда олиб, уларни рН га эга бўлган буфер эритмаларини тайёрлаймиз. Эритмаларни аралаштириб, ҳар бир пробиркадаги буфер иккига бўлинади. Ҳар бир ҳаётдаги пробиркаларга метилрот индикаторидан қўшилади.

Иккинчи катордаги 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 NaHPO_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 узининг мос рангини ҳосил қиладди. Универсал индикаторнинг таркиби қуйидаги жадвалда кўрсатилган.

I ва II универсалиндикаторлар таркиби

Индикаторлар	Миқдори, граммларда	
	I	2
Тимол	1	-
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 1-10 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 сариқ	5	тўқ сариқ
6	сарик	6	сарик
8	яшил	7	яшил
10	кўк	8,5	кўк
		10	бинафша

Эттига пробирка олиб, қуйда кўрсатилган буфер эритмалар тибёрланади. Тайёрланган буфер эритмаларга 2 томчидан универсал индикатордан қўшилади ва ҳосил бўлган рангга қараб, ҳар бир пробаанинг рН аниқланади:

Эритмалар	Пробиркаларнинг номери						
	1	2	3	4	5	6	7
$Mg_2 HPO_4 - 0,1 M$ эритманинг миқдори, мл	0,40	4,11	7,71	10,30	12,63	15,45	19,40
Амион 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 текшириляётган эритма-
лардаги водорол ионлари концентрациясининг таъсирида гальваник
элементларининг электр критувчи кучини улчалга асосланган. Бу
усул билан ҳар қандай суюқликларнинг рН ини аниқ улчаш мумкин.
Махсус асбоблар - турли потенциометр ёрдамида эритмалардаги рН
ни улчаш мумкин. Бу асбобларнинг умумий тузилиши ва эритмалар-
нинг рН, улчашни бажарадиган барча операциялари потенциометр-

ларга /рН - метрлар/ қўшиб бериладиган паспортда ёзилган.

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

Эритманинг рН аввал асбобнинг катта - 2 - +14 диапозонида, кейин кичик диапозонида улчанади. Кейин эса асбоб электродлари 7-10 марта сув билан ювилади. Электродлар ювилгач, бошқа эритманинг рН 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 ажралиб чиқади.

Оқсиллар иккита синфга бўлинади: оддий оқсиллар ва мураккаб оқсиллар. Оддий оқсилларга альбуминлар, глобулинлар, гистонлар, протаминлар киради. Мураккаб оқсиллар таркибига фосфопротеинлар, глюкпротеинлар, 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 дока орқали филтрланади. Эритма хол дильникда сақланади.

Даволаш учун тухум оқсилининг эритмасини тайёрлаш. Учта товуқ тухумининг оқсидан саригидан ажратиб, 700 мл дистилланган сувда эритилади, суярра 200 мл натрий хлорид тузининг тўйинган эритма-

виддан қушилади. Эритма 3-4 қават доқа орқали филътрланади ва холо-
дильникда сақланади.

Сут альбумини эритмаси. 200 мл сутга тенг ҳажмда аммоний сульфатнинг тўйинган эритмасидан қушилади ва аралаштириб 15-10 минутга қолдирилади, сўнгра филътр қоғоз орқали филътрланади. Альбуминлар эритмада, глобулинлар ва казеинлар эса чўкмада қола-
ди.

Оқсилларнинг чўктириш реакциялари. Турли реактивлар оқсил моддаларининг физик + химиявий хоссаларига таъсир этиб, макро-
молекула структурасини ўзгартиришга олиб келади. Оқсилларнинг чўк-
тириш реакцияларини иккита группага булиш мумкин: оқсилларни де-
натurationиясиз чўктириш /нейтрал ишқорий металл тузлари/ ва дена-
турация йули билан чўктириш /ҳарорат, минерал ва органик кислота-
лар, оғир металл тузлари, алкалоид реактивлари/.

Оқсилни чўкмага тушиши унга боғланган сув пардасининг бузи-
лишига боғлиқ. Гидрофил моддалар, органик эритувчи - ацетон,
этил спирти, ишқорий металллар - нейтрал тузларининг концентран-
ган эритмалари оқсилнинг сув пардасини бузиб, унинг эрувчанлигини
камайтиради. Мана шу органик эритувчилар, аммоний сульфат, нат-
рий хлорид, натрий сульфат, натрий фосфат ва бошқа эритмалар оқ-
силга таъсир этирилганда, оқсил чўкмага тушади.

Оқсил эритмаларига турли тузлар қўшилганда, унинг чўкмага
тушириш реакциялари оқсилларни тузлаш дейилади. Бу жараёнда оқсил
молекулалари гидрат пардаларидан ҳоли бўлиб, бир-бири билан осон
қўшилади. Оқсил тузланиш натижасида кўпинча табиий ҳолатини ўз-
гартирмайди. Чўкмадан туз ионларини диализ йули билан четлатил-
ганда оқсил қайтадан эритмага ўтади.

Аммоний сульфат ва натрий сульфат билан тузлаш усули оқсил-
ларни натив ҳолатини бузмай ажратиб олишда қўлланилади. Масалан,
йон зардобидаги оқсиллар аммоний сульфат билан чала тўйинтирил-
ганда, глобулинлар ажралиб чиқади, глобулинлар чўкмасини филътр-
либ, эритмага тўла тўйингунча туз кристаллидан қўшилса, альбу-
минлар фракцияси чўкмага тушади.

Оғир металл /мис, симоб, рух, кумуш, кўргошин ва ҳоказо/
тузлари оқсил эритмасига таъсир этганда, улар оқсил молекуласи-
даги сульфгидрил группа - S H билан бирикма ҳосил қилиб,
оқсил молекуласининг структурасини ўзгартиради. Оқсилларни

огир металл тузлари билан чуқтириш, қайтарилмайдиган жараёнцир, 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 оксилининг 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 сувлтирилган тухум оксидан солиб, тенг ҳажмда аммоний сульфатнинг тўйинган эритмасидан қўшилади ва яхшилаб 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, сўнг чуқма филтрланади.

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

Оксилларни натрий хлорид таъсирида чуқтириш

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

Ишнинг бориши. Пробиркага 2-3 мл қон зардоби ёки тухум оксидан солиб, натрий хлорид тузининг кристалларидан тўйингунча қўшилади. 3-5 минутдан кейин пробиркада глобулинлар чуқмаси ҳосил бўлади. Сўнгра 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, срадан 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 чуқмага тушади. Бу реакция қайтмас реакция ҳисобланади, чунки оқсилнинг коллоид заррачалари дигидратацияланади ва уларнинг зарядлари нейтралланади, натижада комплекс бирикмалар ҳосил бўлади. Бундай ҳолда оқсиллар қайтмас денатурацияга учрайди. Ортикча минерал кислоталар/ нитрат кислотадан ташқари/ чуқмага тушган оқсилларни эритиб оборади.

Реактивлар. 1. Концентранган хлорид кислотаси. 2. Концентранган сульфат кислотаси. 3. Тухум оқсилининг 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 қўшилади. Шунда оқсил билан кислота чегарасида оқ ҳалқа ҳосил бўлади. 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) бўзилади, яъни денатурацияга учрайди, натижада эритмадаги оқсилларнинг эрувчанлиги камаяди ва оқсил чуқмага тушади. Агар оқсил эритмасида туз иштирок этса (NaCl), коллоид заррачаларнинг тарядини ўзгаришга олиб келади, бу ҳол оқсил эритмаларининг чидамлигини янада камайтиради. Агар чуқтириш спирт (хлороформ) билан совуқ шароитда олиб борилса, ҳосил бўлган оқсил чуқмаси сувда эрийди, яъни буқда оқсил хоссалари ўзгармайди, денатурацияга учрашга улгурмайди. Агар оқсил узоқ вақт спиртда турса денатурацияга учрайди ва ҳосил бўлган 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 қўшиб, 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 бўлганлигини куриш мумкин.

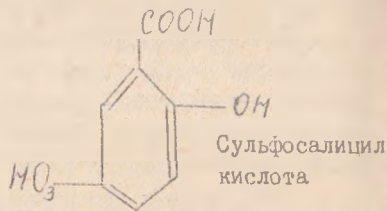
Оқсилларни органик кислоталар билан чуқтириш

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

Энг самарали ва узыга ҳос таъсир қилувчи сульфосалицил ва трихлорсирка кислотасидир.



Трихлорсирка кислота



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

Реактивлар. 1. Тухум оксилининг 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 кислота-сидан қўшилади. Пробиркалар чайқатилади ва оқсиллар чуқмага тушганлиги кузатилади.

Оқсилларни огир металл тузлари таъсирида чуқтириш

Оқсиллар мис, қургошин, симоб, рух, қумуш ва бошқа огир металлларнинг тузлари таъсирида чуқмага тушади.

Оқсиллар билан огир металл ионларининг ўзаро таъсири жуда

муриниб булади. Аввало сувда эримайдиган комплекс бирикмалар ҳосил булади, ортиқча тузнинг эритмасида (AgNO_3 , HgCl_2) эрийди) ортиқча огир металл ионлари оксил мицелларига адсорбцияланиб, уларнинг электр зарядларини ўзгартиради. Огир металл тузлари таъсирида оксиллар денатурацияга учрайди. Оксил макромолекуласининг яшилмачи ва учламчи структураси бузилади, пептид занжирининг ҳолатлари ўзгаради, улар орасидаги боғларда узилиш ҳоллари рўй беради /дисульфид боғлари/. Дисульфид боғлар оксилларнинг иккинччи ва учламчи структура тузилишида катта роль ўйнайди. Занжирлар орасидаги узилиш оксил структурасини ўзгаришига – оксилларни айланис денатурациясига олиб келади.

Реактивлар. 1. Тухум оксили. 2. Мис сульфатнинг 5% ли эритмаси. 3. Қўрғошинни сирка кислотали тузининг 5% ли эритмаси. 4. Кумуш нитратнинг 3% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Учта пробиркага 1–2 мл дан оксил эритмаси солинади. Биринчи пробиркага томчилаб мис сульфат эритмасидан, иккинчи пробиркага қўрғошиннинг сирка кислотали тузи эритмасидан, учинчи пробиркага эса кумуш нитрат эритмасидан қўшилади. Пробиркалар чайқатилганда, ҳамма пробиркаларда оксил чўкмаси ҳосил булади. Ортиқча реактивдан қушилса, биринчи ва иккинчи пробиркадаги чўкмалар эриб кетади /гидролизланади/. Учинчи пробиркага кумуш нитрат эритмасидан ортиқча қўшилганда ҳам чўкма эримаydi.

Оксилларни 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 оксиллар чўкмага тушади. Буларга қуйидагилар киради: танин, йодни калий йоддаги эритмаси /Ушард реактиви/, висмут йодни калий йоддаги эритмаси /Драгендорф реактиви/, пикрин кислотаси ва бошқалар.

Оксил моддаларини алколоид реактивлари билан чўкма ҳосил қилишнинг асосий сабаби шундан иборатки, аминокислоталар ва алколоидлар таркибига кирадиган гетероциклик группаларнинг ўхшашигидир /индол, имидазол ва бошқалар/. Алколоид реактивлари оксиллар

билан эрмайдиган бирикмаларни ҳосил қилади. Оксилни алколоид реактивлари билан чуқтирипга 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** хажми дистилланган сув билан 50 мл га етказилади.

5. /Драгендорф реактиви/ висмут йодининг 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 ойнали идишда/ қолдирилади. Вунда идиш тагига калий нитратнинг кристаллари чуқкади. Тинч эритма элтиётлик оқлан бошқа идишга қуйилади ва ўзгача сув билан 50 мл га етказилади.

6. Сирка кислотасининг 1% ли эритмаси.

Йанин бориши. Турпта 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 қўзилади. Натижада оксил чуқмаси ҳосил булади.

Оксилларни юқори ҳарорат таъсирида чуқмага тушириш

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

Реактивлар. 1. Тухум оксилнинг эритмаси. 2. Сирка кислота-сининг 1% ли эритмаси. 3. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси.

4. Бушард реактивининг тузилган эритмаси.

Йанин бориши. 1. Битта пробирка олиб, 10 томчидан оксил эритмаси, 2-3 пробиркаларга 2 томчи сирка кис отаси-

нинг 2 % ли эритмаси томизилади. 4-5-пробиркаларга 10 томчи сир-
та кислотасининг эритмасидан қўшилади. 6-пробиркага 2 томчи нат-
рий ишқорининг 10% ли эритмасидан солинади. Энди 3 ва 5-пробир-
каларга 4 томчи натрий хлориднинг тўйинган эритмаси қўшилади.
Ҳамма пробиркалар қайнагунча қиздирилади. Пробиркаларда чуқма
қоқил бўлиш тезлиги белгилаб берилади.

Таърибада олинган натижалар асосида жадвал тулдирилади:

Пробиркаларнинг номери	Пробиркаларга моддалар томчилаб солинади			
	Оқсил	CH_3COOH	Na OH	<i>NaCl</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 ёрдам-
ида махсус мембраналар/ яъни коллоидларни ўтказмайциган/ билан
ақриштилади. Диализ ёрдамида юқори молекулали оқсил эритмалари ки-
чик молекулали бирикмалар /тузлар, қандлар ва бошқалар/ дан тоза-
ланади. Оқсиллар юқори молекулали коллоид моддалар бўлиб, махсус
мембраналар орқали диффузиялана олмайди. Оқсилларнинг шу хоссаси-
га асосланиб, диализ ёрдамида кичик молекулали органик ва минерал
бирикмалардан тозаланади.

Реактивлар. 1. Тухум оқсилининг тўйинган натрий хлоридда-
ги эритмаси. 2. Кумуш нитратнинг 0,5 % ли эритмаси (қора рангга
бўлган 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 яригача тухум

оқсили эритмасидан солинади. Халтачани шиша таёқчага боғлаб, дистилланган сувли стакан ичига осиб қўйилади (I-расм)*. Диализ хона ҳароратида олиб борилади. 40-60 минутдан кейин иккита пробиркага станандаги 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 қўшилади. Натижада, кумуш хлориднинг оқ чўкмаси ҳосил бўлади. Иккинчи пробиркада эса биурет реакцияси бажарилади. Агар диализ тугри олиб борилётган булса биурет реакцияси ҳосил бўлмайди.

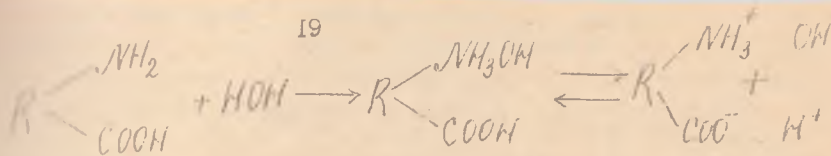
Диализни тезлатиш учун, станандаги сувни ҳар 15-20 минутда алмаштириб турилади. Диализ хлор ионига салбий реакция ҳосил булгунча давом эттирилади. Диализ натижасида целлофан халтачадаги натрий хлорид эритмасининг концентрацияси камайиб, эритмада глобулинлар чўкмага тушади.

Оқсилларнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш

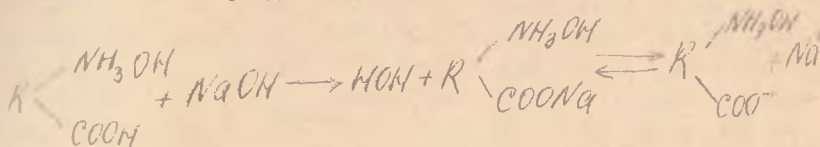
Оқсиллар химиявий хоссаларига кўра амфотер моддалар ҳисобланади, уларнинг молекуласида эркин карбоксил ва амин группалари бор. Оқсилларнинг кислотали хоссалари полипептид занжирлари охиридаги карбоксил группаларига ва дикарбон аминокислоталар ҳисобига намоён бўлади. Кислотали муҳитни ҳосил қилишга таркибидаги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

Ҳам манфий, ҳам мусбат зарядли группалар мавжудлиги туфайли оқсиллар ҳам аминокислоталарга ўхшаш амфотерлик хусусиятига эга. Шунинг учун оқсилларни тахминан $(\text{H}_2\text{N})_m \cdot \text{R} \cdot (\text{COOH})_n$ 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 $(\text{NH}_3^+)_m \cdot \text{R} \cdot (\text{COO}^-)_n$ ҳосил бўлади. Агар манфий ва мусбат зарядларнинг сони тенг бўлса, оқсил молекуласининг заряди амалий жиҳатдан нолга тенг бўлиб, электр майдонида ҳеч қайққа силжмайди.

*Расмлар китобининг охирида берилган.



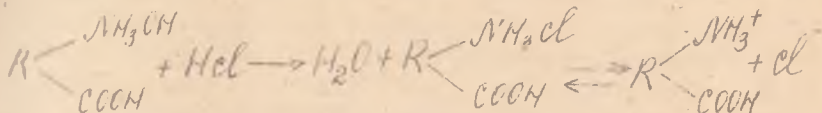
■ Шунинг муҳитда оксиллар ортиқча COO^- группаларга эга бўлиб, анион тарзида уйнайди. Масалан, натрий ишқори билан оксилларнинг натрийли тузи ҳосил булади:



Оксил биони

Оксил аниони

Аксинча, кислотали муҳитда оксил ортиқча NH_3^+ группаларида бўлади 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 йигиндиси йолга тенг бўлиб, электр майдонида на катод ва на анод томонга силжимайдиган эритманинг pH оксилларнинг изоэлектрик нуқтаси деб аталади. Турли оксилларнинг изоэлектрик нуқтаси pH нинг ҳар хил ўлчамига туғри келади, чунки оксил молекулаларида ишқор ва кислота харақтерига эга булган группаларнинг сони бир-бирига тенг эмас, pH нинг турли курсаткичларида уларнинг диссоциланиш даражаси бараварлашиб, молекула, умуман, электронейтрал ҳолатга келади. Масалан, казеиннинг pH -4,7; тухум альбумининг оксили -4,8; желатинаники -4,0; зеин (жўхори оксили)ники -6,2 га тенг. Протаминлар ва гистонларнинг изоэлектрик нуқтаси кучсиз ишқорий муҳитга туғри келади.

Оксилларнинг изоэлектрик нуқтасида чуқмага туширишни тез-тезлаштурувчи сувни тартиб олувчи моддалар (спирт, ацетон, эфир)

ёки танин қўшилади. Органик эритувчилар оқсил макромолекуласининг сув қобигини бузиб юборади, масалан, танин билан азотли гетероциклик группалари сувда эрмайдиган бирикмаларни ҳосил қилади.

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

Реактивлар. 1. Желатинанинг 1% ли эритмаси. 2. Сирка кислота-сининг 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 кўрсатилган 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 юқори лойқаланиши желатинанинг изоэлектрик нуқтасига тўғри келади. Желатинанинг изоэлектрик нуқтаси рН - 4,7. Жадвалда лойқа ҳосил бўлган пробиркаларга қўйилган + ишораси лойқаланиш даражасини кўрсатади.

Оқсилларнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш

Пробиркалар номери	Буфер аралашмаларнинг миқдори, мл		Аралашмаларнинг рН	Желатинанинг 1% ли эритмаси, мл	Этил спирти, мл	Лойқаланиш даражаси (+)
	0,1н CH_3COOH	0,1н CH_3COONa				
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	

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

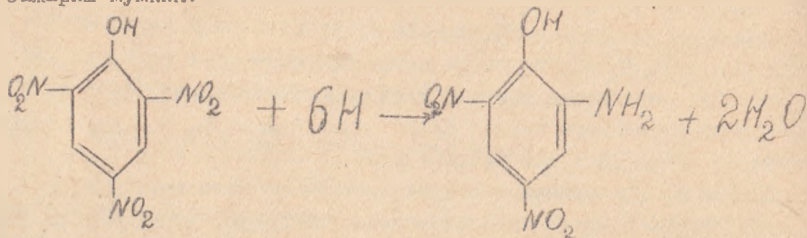
Реактивлар. 1. Тухум оксилининг эритмаси. 2. Натрий ишқорининг 10% ли эритмаси. 3. Мис сульфатининг 1% ли эритмаси. 4. Сиддикчил.

Ишнинг бориши. 1. Пробиркага 100-200 мг мочевинонинг кристаллидан солиб, аммиак ҳиди ҳосил булгунча 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 оксиддан 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 қайтарилади. Бу реакцияни бошқа қайтарувчилар (масалан, глюкоза) билан бажариш мумкин:



Пикрин кислота

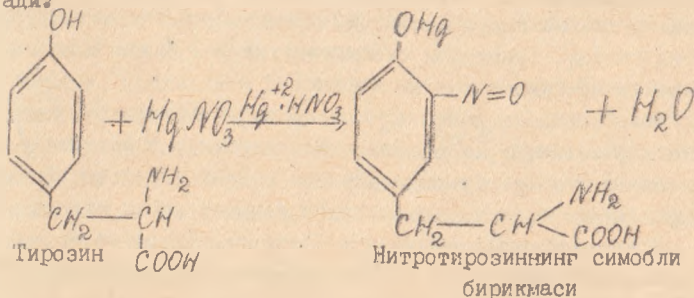
Пикрамин кислота

Реактивлар. 1. Пикрин кислотасининг тўйинган 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 тўйинган эритмасидан қушилади ҳамда бир неча минут қиздирилади. Пикрин кислотаси пикрамин кислотасигача қайтарилади, натижада сарик рангли эритма аста-секин қизил рангга айланади.

Бошқа пробиркага глюкозанинг 0,1 % ли эритмасидан 2 мл солиниши билан ишқордаги реакция бажарилади. Бу реакцияда ҳам оксил эритмаси пушти рангга натижа кузатилади.

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



Деярли ҳамма оқсиллар 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 концентратланган нитрат кислотасида (хона температурасида) эритилади.

Тайёрланган эритмага икки ҳажмда сув қўшиб сулфтирилади ва ҳосил бўлган чўкма тўкиб юборилади. 3. Оқсил эритмаси. 4. Желатинанинг 0,1% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Машгулот аввал фенол билан бажариб кўрилади. Пробиркага 2 мл фенол эритмасидан ва 1 мл Миллон реактивидан солиб, аста-секин қиздирилади, натижада пушти ранг ҳосил бўлади. Сунгра оқсил билан шу реакция бажарилади. Бошқа пробиркага 2 мл оқсил 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.

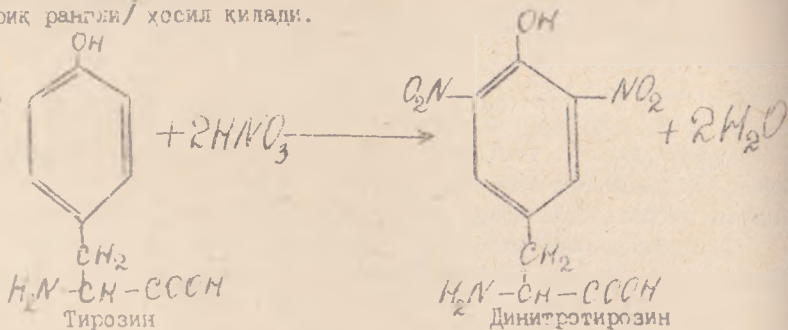
Триптофан реакцияси. Реактивлар. 1. Оқсил эритмаси. 2. Сахарозанинг 10% ли эритмаси. 3. Концентратланган сульфат кислота.

Ишнинг бориши. Пробиркага 1 мл оқсил эритмаси ва 2 томчи сахарозанинг эритмасидан солинади. Сунгра 1 мл концентратланган

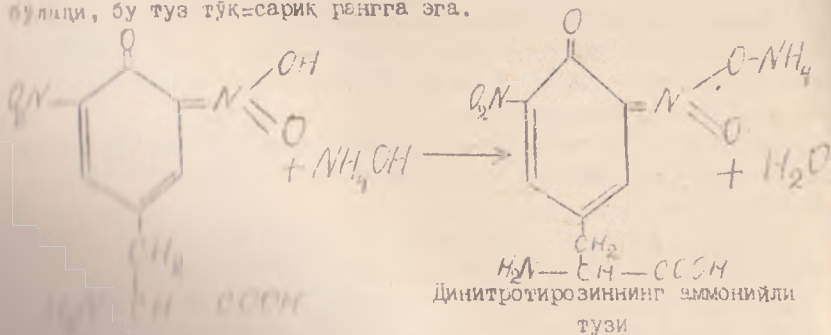
сульфат кислотасидан пробирка девори орқали қуйилади. Суюқликлар чегараси оралигида қизил рангли ҳалқа ҳосил булади. Реакциянинг моҳияти шундан иборатки, сульфат кислота таъсирида сахароза моносахаридларга гидролизланади, сувсизланиб оксиметилфурфуролни ҳосил қилади. Триптофан оксиметилфурфурол билан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

Ксантопротеин реакцияси. Бу реакция ароматик аминокислоталар учун характерлидир / фенилаланин, тирозин, триптофан /. Оксил ва полипептидларни концентрланган нитрат кислотаси билан қиздирилади, бунда сарик рангли нитробирикмалар 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 эттирилса, динитротирозиннинг натрийли ёки аммонийли тузи ҳосил бўлиши, бу туз тўқ-сарик рангга эга.



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

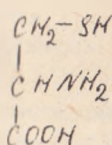
Реактивлар. 1. Тухум оксилининг эритмаси. 2. Желатинанинг 1% ли эритмаси. 3. Концентрланган нитрат кислотаси. 4. Натрий ишқорининг 20 % ли эритмаси ёки концентрланган аммиаки эритмаси 10-25%. 5. Фенолнинг 0,1 % ли эритмаси.

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 кислотадан қўшиб қиздирилганда чўкма сариқ рангга киради. Совигандан кейин пробиркага эҳтиёткорлик билан аммиак эритмасидан ёки натрий ишқорининг эритмасидан қўшилади, натижада тўқ сариқ ранг ҳосил бўлиши кузатилади.

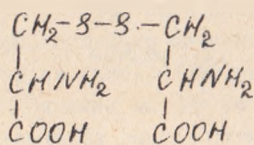
Пробиркага 1-2 мл желатинанинг 1% ли эритмаси, 8-10 томчи концентрланган нитрат кислотаси эритмасидан қўшиб қиздирилади. Желатина ароматик аминокислоталарни таркибида сақланмаганлиги учун бундай реакцияни бермайди.

Олтингугурт тутувчи аминокислоталар учун реакция. Купгина оксиллар молекулалари таркибида олтингугурт тутувчи аминокислоталар цистеин, цистин ва метионин сақлайди.

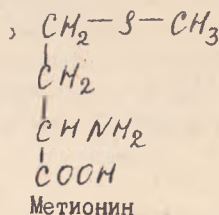
Оксилга ишқор қўшиб қиздирилганда, бу аминокислоталардан олтингугурт водород сульфид ҳолида ажралиб чиқади. Водород сульфид кўрғошин ацетати билан қора чўкма — кўрғошин сульфидни ҳосил қилади.



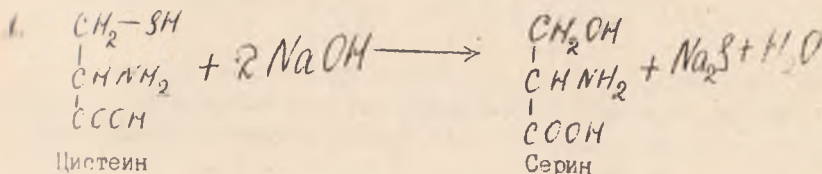
Цистеин



Цистин

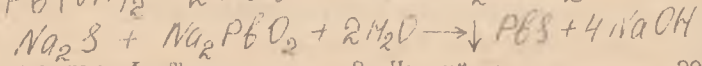
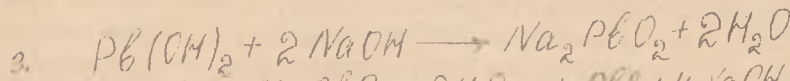
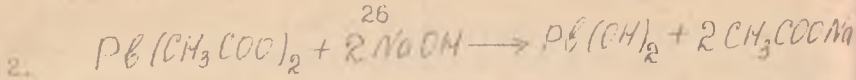


Метионин



Цистеин

Серин

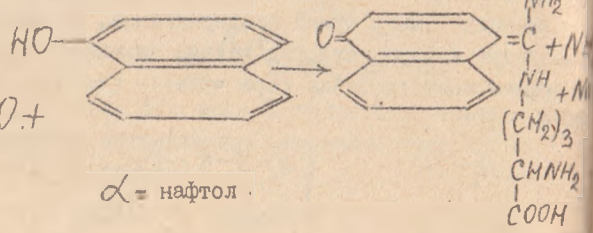
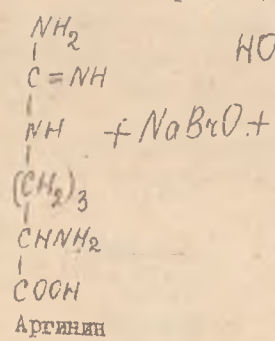


Реактивлар. 1. Тухум оксиди. 2. Натрий гидроксиднинг 20% ли эритмаси. 3. Кургошин ацетатнинг 0,5% ли эритмаси.

Ишнинг бориши. Пробиркага 1-2 мл оксид эритмасидан солинадди ва тенг ҳажмда натрий ишқоридан қўшилади, қайнагунча қиздирилади ва 1-2 томчи кургошинни ацетатли тузининг эритмасидан қўшилади. Натижада қора чуқма PbS ҳосил бўлади.

Аргинин реакцияси. Гуанидиннинг ҳосилалари масалан, аргинин (гуанидинаминовалериан кислота), метилгуанидин, гликоциаминлар натрий гипобромид (NaBrO) билан α-нафтол таъсирида қизил рангли маҳсулот ҳосил қилади. Метилгуанидин ва гликоциамин оксиллар таркибида учрамайди, демак бу реакцияни аргинин аминокислотасини очиш учун қўллаш мумкин.

Гипобромид оксидловчидир. Оксидланган аргинин битта имино-группасини йўқотиб (=NH), α-нафтол билан бирикади ва тўқ қизил рангли бирикма ҳосил қилади.



Оксидланган аргининнинг α-нафтол билан ҳосил қилган маҳсулот

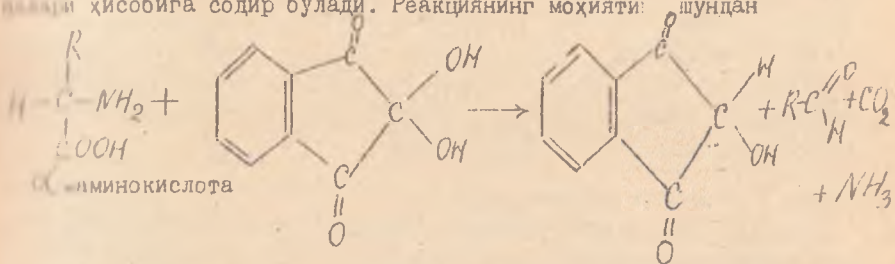


Реактивлар. 1. Тухум оксидининг эритмаси. 2. 1% ли α-нафтолнинг эритмаси (96% ли этил спиртида тайёрланган). Реактивни ишлатишдан олдин 10 мл олиб, 100 мл ҳажмдаги колбада спирт

булган суулытирилади. 3. 15% ли натрий ишқорининг эритмаси. 4. Натрий гипобромиднинг эритмаси, 150 г натрий ишқори 500 мл сувда эритилиди. Эритма совугандан сунг 8 мл бром (мурили шкафта) қўйилади. Эритма қоронги жойда қора рангга бўялган идишда сақланади.

Нининг бориши. Пробиркага 2 мл оксил эритмасидан солингач, унга 2-3 томчи натрий гидроксидининг эритмасидан ва 2 томчи α -нафтолдин қўйилади. Пробиркадаги моддалар яхшилаб аралаштирилади ва бир томчи гипобромид қўйилади. Натижада қизил ранг ҳосил бўлади. Аргининнинг эритмаси билан ҳам шу реакция бажарилади. Реакция натижасида тўқ қизил ранг ҳосил бўлади.

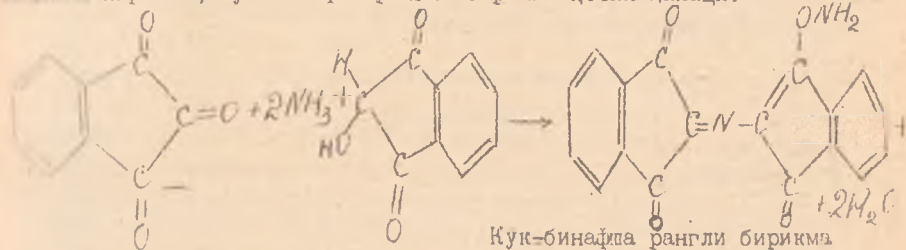
Нингидрин реакцияси. Оксил эритмасини ва полипептидларини нингидрин реактиви билан қиздирилганда кўк-бинафша ранг ҳосил қилади. Нингидрин реакцияси аминокислоталарни α -ҳолатдаги аминогруппаларни ҳисобига содир бўлади. Реакциянинг моҳияти: шундан



Қайтарилган нингидрин

инверти, α - аминокислоталар ва пептидлар, нингидрин таъсирида деаминаланиш ва декарбоксилланиш жараёнлари боради. Реакция натижасида CO_2 , NH_3 альдегид ва қайтарилган нингидрин ҳосил бўлади.

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



Дезоксирибонуклеопротеинларни жигар ва талоқдан ажратиб олиш.

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

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

Реактивлар: 1. Мол, қуён, чуққанинг жигари ёки талоғи, янги-си ёки музлатилгани. 2. Натрий хлориднинг 5% ли эритмаси. 3. Ёғоч таёқча.

Ишнинг бориши. 2-2,5 г жигар ёки талоқ олиб, қайчи билан яхшилаб майдаланади, сўнгра ҳавончага 5% ли натрий хлорид эритмасидан бегина солиб эзилади. Шундан кейин ҳавончага оз-оздан 70-80 мл ошқозон эритмасидан солиб, 10-15 минут давомида эзилади. Ҳавончадаги гомогенат центрифуга стаканларига солинади ва 10-15 минут 2500 об/минут тезликда центрифугаланади, сўнгра чўкмаси ташлаб юборилади ва суюқлик қисмининг ҳажми цилиндр билан ўлчанади. Суюқлик ҳажмидан олти марта куп сув ўлчаб стаканга солинади ва уни ёғоч таёқча билан айлантириш давомида сувга суюқлик қўйилади. Дезоксирибонуклеопротеинлар ипсимон ҳолатда чўкмага туша бошлайди, уларни ёғоч таёқча билан ўраб олинади ва пробиркага солинади. Улар нуклеопротеинлар билан олиб бориладиган сифат реакциялари учун ишлатилади.

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

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

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

ақеткі колбага солиниб, унга 30-40 мл 5% ли сульфат кислота эрит-
масыдан кўшилади ва колба шиша трубка ўрнатилган тикин билан
баркитилиб, 1-1,5 соат қайнатилади. Шундан сўнг колба совутилиб
фильтрланади. Фильтрат билан ишқорида кўрсатилган реакциялар ба-
жарилади.

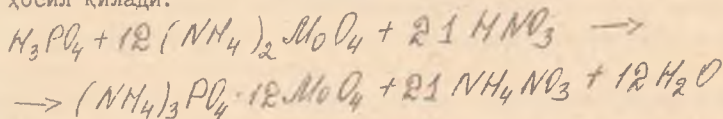
1. Полипептидлар учун фильтрат билан биурет реакцияси бажа-
риб кўрилади. Пробиркага 1-2 мл фильтрат, 1-2 мл натрий ишқори-
нинг 10% ли эритмасы солинади ва аралаштирилади, натижада оксил-
лан таркибдаги пептид боғи учун хос бинафша ранг ҳосил бўлади.

2. Пурин асосларини билиш учун пробиркага 2 мл фильтратдан
солинади, 5-6 томчи концентрланган аммиак томизилади, сўнгра 0,5
мл кумуш нитратнинг аммиакли эритмасидан кўшилади. Бир неча
минутдан сўнг, пурин асосларини кумушли тузининг чўкмасы ҳосил
бўлади.

3. Пентозалар учун Троммер реакцияси бажарилади. Рибоза иш-
қорий шароитда мис сульфатни мис гидроксидигача (CuOH) қайта-
риди. Пробиркага 1-2 мл фильтратдан ва шунга тенг ҳажмда натрий
ишқоридан солиб аралаштирилади, 2-3 томчи мис сульфатдан кўшиб
кўрилади.

Реакция натижасида мис гидроксидининг (CuOH) қизил чўкма-
си ҳосил бўлади.

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



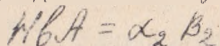
Пробиркага 1-2 мл фильтратдан солиб, тенг ҳажмда молибдат ре-
активидан кўшилади ва 2-3 минут қайнатилади. Натижада фосформо-
либдат кислотасининг аммонийли тузи сариқ чўкма ҳосил бўлади.

Хромопротеинлар

Хромопротеинлар (хромо - грекча ранг, буёқ) мураккаб оксил
булиб, оддий оксил глобулинлар, протетик группа /оксил бўлмаган
қисм/ ва рангли бирикма /пигмент/дан тузилган. Турли хромопроте-
инларнинг оксил билан боғланган рангли группаси ҳар хил органик

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

Гемоглобин, оксил - глобин (гистон) ва простетик группаси гем деб аталадиган темир протофорфириндан иборат бўлган металлопротеин бўлиб, қизил қон таначалари - эритроцитлар таркибида булади. Унинг физиологик функцияси кислородни ўлкадан тўқималарга ташидан иборат. Деярли барча умурткалилар эритроцитларида гемоглобиннинг молекула оғирлиги тахминан 66000 га тенг. Гемоглобин тўртта аянан ўхшаш жұфт суббирликлардан ташкил топган. Катта ёшдаги одамларда асосан гемоглобин HbA структура тузилишига эга, суббирликлар α ва β деб белгиланади ва қуйидагича ёзиш мумкин.

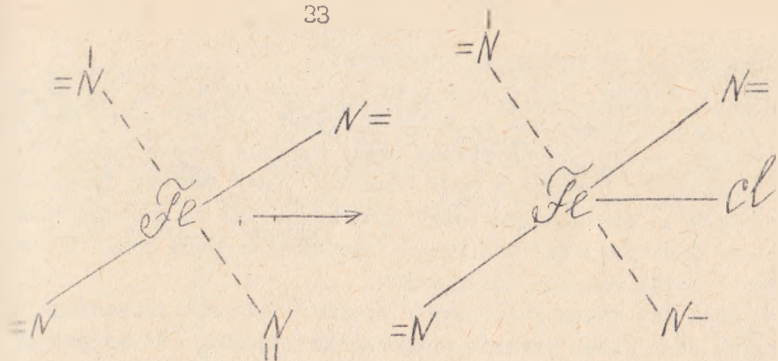


α - суббирликлар I41 та , β - суббирликлар эса I46 та аминокис- лоталар қолдигидан иборат.

Шу занжирларнинг ҳар бири гем деб аталувици простетик группара боғланган. Гем - мураккаб молекула бўлиб, тўртта азот тутувчи гетероциклик пиррол ҳалқасидан тузилган. Пиррол ҳалқалари бир- бири билан метин ($-CH$) туркумлари орқали боғланган, порфирин склети гем таркибида икки валентли темир атоми билан координация - ловчи алоқада булади. Шунингдек, темир атоми гистидин қолдигидаги азот билан боғланган. Бундан ташқари пропионил қолдиқлари ёлект- ростатик кучлари ҳисобига асосий аминокислоталар қолдиқларидан кү- пинча лизин қолдиқлари боғланади.

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

Уни фақат ацетон ва хлорид кислотаси аралашмаси таъсирида ўзиш мумкин. Натижада гем ўзининг оксидланган шакли /оксидланиш натижасида уч валентли ҳолатга ўтади/ - гемин ҳолида ажралади.



Тажриба микроскопик ойна устида утказилади, ҳосил булган гемин кристаллари жуда характерли кўринишда булганлигидан, бу реакциянинг текширувчилар учун қулай ҳисобланади.

Химиявий тузилишга кўра гемоглобинга яқин яна бир қатор темир-сироксидли протеинлар мавжуд. Улар қаторига умуртқалилар ва умуртқасизларнинг мускулларидаги нафас олиш пигменти - миоглобин киртиради. Бу металлопротеиннинг молекула оғирлиги 17000 га тенг, у ягона полипептид занжиридан иборат бўлиб, темир атомига тутати. Миоглобин ҳам гемоглобинга ўхшаш кислород билан қайталама бириккич хосасига эга. Бу қатордаги бошқа муҳим темир протеинлар ҳужайранинг цитохромлар деб аталадиган нафас олиш пигментлари гуруҳасидан иборат.

Цитохромларнинг тула урганитган вакили - цитохром С нинг молекула оғирлиги 13000 га тенг бўлиб, у таркибида битта темир тутати. Организмда кенг тарқалган ферментлар - масалан, каталаза таркибида туртта темир атоми, пероксидазанинг таркибида бир атом темир бор.

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

Реактивлар. 1. Янги сушилган қуён, от ёки бошқа турдаги қайвон қони. 2. Диэтил эфири. 3. Аммоний сульфатнинг тўйинган эритмаси. 4. Натрий хлориднинг 0,9 % ли эритмаси. 5. 96% ли этанол. 6. 0,1% ли натрий хлориднинг сирка кислотасидаги эритмаси. 7. 0,1 г натрий

хлориднинг 100 мл кислотада эритилади/.

Ишнинг бориши. Пробиркага 5 мл қон олиб унга 1 мл сув билан эфир (1:1) аралашмасидан солинади ва тулиқ гемолиз ҳосил бўлгунча аралаштирилади. Ҳосил бўлган қизил суюқлик гемолизланган қон деб аталади. Шу суюқликка тенг ҳажмда (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 томзилади 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 парчланади 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 кристалли. 2. Сирка кислота.

Ишнинг бориши. Предмет ойнасига бир неча томчи қон томзилади ва 60°C дан юқори бўлмаган ҳароратда қурилади. Қурилган 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 амидопирин билан аниқлаш. Керакли асбоблар: пипеткалар, пробиркалари билан штатив.

Реактивлар. 1. Дефибринланган қон.

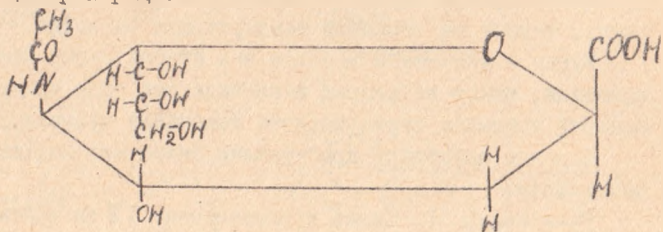
2. Амидопирин (пирамидон)нинг 5% ли спиртдаги эритмаси.

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

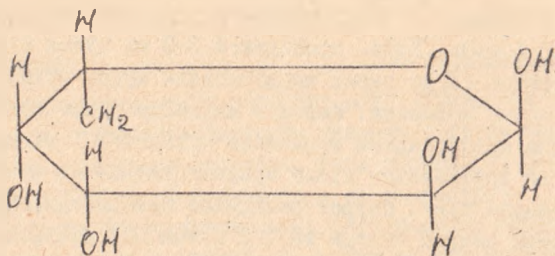
Ишнинг бориши. Пробиркага суюлтирилган дефибринланган қоннинг эритмасидан 1-2 мл солинади ва тенг ҳажмда амидопириннинг спиртдаги эритмасидан, 10-15 томчи сирка кислотаси ва водород пероксидининг эритмасидан қўшилади. Натижада кук-бинафша ранг ҳосил бўлади.

Гликопротеинлар

Гликопротеинлар - мураккаб оксил булиб, простетик группаси углеводлар ва уларнинг ҳосилаларидир. Гликопротеинларнинг оксил булмаган 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 организмида кенг тарқалган. Улар теярли ҳамма тўқималарда учрайди. Уларнинг бир қисми механик функцияларни бажаришда иштирок этади, бошқалари овқатнинг ошқозонга сирғаниб тушишини ва овқат ҳазм қилишни енгиллаштиради. Шунингдек, гликопротеинларга қондаги бир группа моддалар, ферментлар, масалан, холинэстераза ва бошқалар киради. Гликопротеинлар бир қатор усимликлар (арпа, бугдой ва бошқалар)нинг уруғларида ҳам учрайди. Бир қатор гликопротеинларнинг простетик группаси мукополисахаридлардан иборат ва улар мукопротеинлар деб аталади.

Бу группанинг асосий вакиллари барча тўқималарда ҳам учрайди. Улар суюқ, тоғай, кўзнинг мугуз пардаси ва шишасимон танасида,

қушилади. 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 қушилади ва ҳаво холодильникли пробка билан беркитилади. Кейин 10-15 минут қайнатилади ва совитилгач гидролиз маҳсулотлари учун реакция ба-жарилади.

1. Оқсилларни аниқлаш. Оқсилларни 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 булади.

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 чўкмаси ҳосил булади, бу ҳол гидролизатда фосфат кислотасининг қолдиги борлигидан далолат беради.

Тўқималардаги оқсил миқдорини аниқлаш методлари ва оқсиллар алмашинуви

Оқсиллар миқдорини аниқлаш методлари тўқималардаги азотни текширишга асосланган. Ҳайвон тўқималари ва органлари оқсилларининг таркибидаги умумий азотнинг миқдори ўртача 16 % ни ташкил қилади, яъни 100 г оқсилнинг таркибида 16 г азот бор. Бунда оқсиллар таркибида азот ўрта ҳисобда 16% булганида озик модда ва маҳсулотлардаги азот миқдори 6,25 ($100 : 16 = 6,25$)га кўпайтирилса, қабул қилинган ҳамда парчаланган оқсиллар маълум булади.

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

Оқсил миқдорини азот бўйича аниқлаш. Тўқималарда, органларда, биологик суюқликларда ва сувли экстрактларда азотни аниқлашда Кьельдаль методининг уч хил модификацияси қўлланилади: макрометод, нрим макрометод ва микрометод.

Методнинг принципи. Тўқима ёки оқсил концентранган 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.

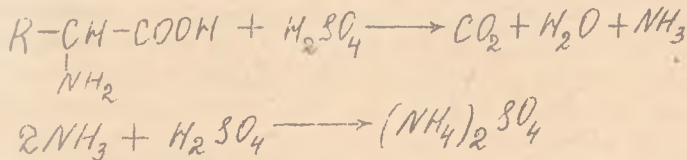
Қоракли асбоблар: қайчи; скальпель; 1 ва 2 мл ли пипеткалар; 50 мл ли Кьелдаль колбаси /минерализация қилиш учун/; ҳайдаш учун 150–200 мл ли Кьелдаль колбаси; 20 мл ли бюретка.

Реактивлар. 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 аммо борилади. Биринчи босқич оқсилни минерализация қилишдан ibорат. 50 мл ҳажмдаги Кьелдаль колбасига 0,2 мл қон зардоби ёки 150–250 мг тўқима (жигар, мускул, буйрак ва бошқалар) солинади. Кейин эса унга 1–2 мл концентрланган сульфат кислотаси қўшилади ва колба оловда қиздирилади.

Тўқима бўлақчалари гидролизланиб, парчаланади. Аралашма жигар рангга кирганда колбани алангадан олиб, бир оё совутилади ва 1–1 томчи пергидрол қўшиб колбадаги моддалар чайқатилгач яна оловда қўзилади. Пергидролдан яна 1–2 марта то рангсиз минерализат тавли булгунча қўзилади.

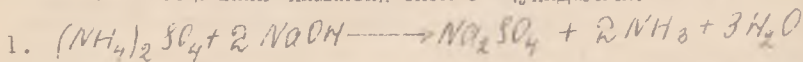
Биринчи босқичнинг химийвий схемаси қуйидагича булади:



Иккинчи босқич – аммиакни ҳайдаш. Ишнинг иккинчи қисми 2-раунда кўрсатилган ҳайдаш аппаратида олиб борилади. Кьелдаль колбадаги қуйдирилган тўқиманинг массаси сув билан сууштирилади ва 1 ҳайдаш колбасига солинади. Сунгра умумий ҳажми сув билан колбанинг ярмигача етказилади. Колбага 2–4 томчи метилрот индикаторидан солиб, тешикли пробка билан беркитилади. Кейин унга бюретка ва совитгич билан уланадиган томчиларни тутувчи колба уростилади. 5-номерли қабул қилиш колбасига 20 мл 0,1 н сульфат кислотасининг эритмасидан солинади ва унга 2–4 томчи метилрот

индикаторидан қўшилади сунгра, бу колба узайтиргич орқали совутгичнинг бошка учига уланади. Воронка орқали ҳайдаш колбасига 33-40 % ли натрий ишқорининг эритмасидан то сувоқлик сариқ рангга киргунча қўшилади (ишқорий реакция). Совитгич улангач колба қиздирилади ва аммиакни ҳайдаш бошланади. Ҳайдаш колбасидаги сувоқлик то тулик аммиак ҳайдалгунча қайнатилади, аммиак тамом булганлиги лакмус қогози рангининг ўзгариши орқали билинади.

Иккинчи босқичнинг химиявий схемаси куйидагича:



Учинчи босқич. Нитрлан ва ҳисоблам. Ҳайдаш жараёни тамом бўлганидан сунг, ҳайдаш колбасини 2-3 мл дистилланган сув билан ювиб, қабул қилиш колбасига қўйилади. Қабул қилиш колбасидаги аммиак билан боғланмай қолган сульфат кислотаси натрий ишқорининг 0,1 н эритмаси билан титрланади. Азот куйидаги формула билан ҳисобланади.

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

Бу ерда: X - текширибётган объектидаги азотнинг миқдори, $m\%$ 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 келадиган; c - юртиб олинган тўқиманинг оғирлиги, mg ; 100 - азотни $mg\%$ да ҳисоблам учун умумий кўпайтирувчи.

Қондаги қолдиқ азот миқдорини аниқлаш. Керакли аэроблар: пробиркалар билан штатив; 25 мл ли Кьельдаль колбаси; фотокалориметр ёки спектрофотометр; филтер қороз билан воронка; 0,2 мл микропипетка; 1, 2, 5 мл ли пипеткалар; 25, 50, 100 мл ли колбалар, қақич.

Реактивлар. 1. Қон (қоннинг цитратли ёки оксалатли аралашмаси). 2. 96 % ли этил спирти. 3. Трихлоруксус кислотасининг 20% ли эритмаси. 4. Концентрацияланган сульфат кислотаси. 5. Пергидрол. 6. Аммоний сульфатнинг стандарт эритмаси: 0,2357 г туз 1 л сузда эриштирили, 1 мл бундай эритмада 0,05 мг азот бор. 7. Йесселер реактиви:

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

Ишнинг бориши. Пробиркага 1,8 мл дистилланган сув ва 0,2 мл 10% солинади, сунгра 2 мл 20% ли трихлорсирка кислотасидан қуйиб шиша таёқча билан яхшилаб аралаштирилгач, 5 минут тиндирилади. Суюқлик жигар рангга киради. Пробиркалардаги суюқлик фильтр қоғоги билан филтрланади. 2 мл филтратдан олиб /яъни 0,1 мл қонга туғри келади/ Кьелдаль колбасига солинади ва 2 томчи концентрланган сульфат кислота қўшилгач то оқ тутун ҳосил бўлгунча қиздирилади. Сунгра колбани қиздиришдан тухтаб, совугач 2 томчи пергидрол қўшилади ва колбадаги суюқлик рангсизлангунча қиздирилади. Кейин: эса колбадаги суюқлик совутилади ва 2-3 мл сув қўшиб суюлтирилади, ҳажмини улчаб колбага солинади (колбанинг деворлари ҳам шаклдам ҳажмидаги сув билан ювилади). 25 мл ли колба ҳажмининг 2/3 қисмига сув қўшилади, 3 мл Несслер реактивидан солиб, сунгра колбадаги белгигача сув қўшилади.

Бошқа колбага 1 мл аммоний сульфатнинг стандарт эритмаси ва 1 томчи концентрланган сульфат кислотаси солинади ҳамда колба симобнинг 2/3 қисмигача сув қўшилади. Сунгра 3 мл Несслер реактивидан қўшилади ва колбадаги белгигача сув қуйилади. Колбалардаги суюқлик чайқатилгач, спектрофотометрда ўлчанadi ва қуйидаги формула билан 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_1 - стандарт суюқлигининг оптик зичлиги экстинкцияси; h_2 - текширилаётган суюқликнинг оптик зичлиги экстинкцияси; 100 - азотни мг % да ҳисоблаш учун умумий кўпайтирувчи.

Туқималардаги оксиллар таркибига кирмаган азотни аниқлаш. Бу буюк жигар ёк мускул туқималари қайчи билан майдалангач, шаклида яхшилаб эзилади. Сунгра ҳосил бўлган массада 500 ёки 1000 мг улчаб олиниб, 50 мл ҳажмли колбага солинади. Унга 20 мл дистилланган сув қўшиб аралаштирилади ва 26-30 минутга қолдири-

Шундан кейин 5 мл 20% ли трихлорсирка кислотасидан қўшилади ва 5-10 минутга тиндирилади, сўнгра фильтрланади. Кейинги жараёнда 2 мл фильтратдан олиб Кьелдадь колбасига солинади, унга 0,1 мл концентранган сульфат кислотасидан қўшилади ва қумли ҳаммомда минерализация қилинади. Сўнгра, оғир оқ тутун ҳосил бўлиши билан колбани оловдан олиб, бир оз совутилгач, 1-2 томчи пергидрол қўшилади. Яна колбани қумли ҳаммомда то рангсиз тиниқ суюқлик ҳосил бўлгунича қиздирилади. Минерализация қилиш тамом бўлгандан кейин колбага 2-3 мл сув қушиб 25 мл ли колбага солинади, бир неча марта сув билан юшиб, колбага жойлаштирилади, яъни умумий ҳажмининг $2/3$ қисмига сув қўшилади. Кейин 5 мл Несслер реактиви солинади ва колбадаги белгигача сув қуйилади.

Худди шундай шароитда контрол намуна ҳам минерализация қилинади, яъни колбага 0,1 мл сульфат кислота ва 2 мл сув солинади. Совутилгандан кейин 2 мл аммоний сульфатнинг стандарт эритмасидан ва 5 мл Несслер реактивидан қўшилади ҳамда ҳажми сув билан колбадаги белгигача оширилади. Иккала колбадаги оуюқликлар яхшилаб аралаштирилади ва ~~100~~ спектрофотометр билан уларнинг оптик зичлиги аниқланади.

Азот миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$X = \frac{0,10 \cdot h_1 \cdot 25 \cdot 100}{C \cdot h \cdot 2}$$

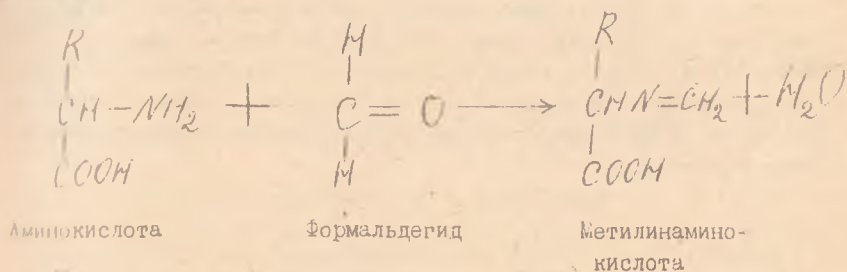
Бу ерда: X - оқсил составига кирмаган азотнинг миқдори, мг %
 0,10 - азотнинг миқдори (мг/), яъни 2 мл стандарт эритманинг концентрациясига тўғри келади; h - контрол намунанинг оптик зичлигининг экстинкцияси; h_1 - текширилаётган суюқликнинг оптик зичлигининг экстинкцияси; 25 - туқима экстрактининг умумий миқдори; 100 - мг % ҳисоблаш учун; C - экстракция учун олинган туқиманинг оғирлиги, мг; 2 - минерализация қилиш учун олинган фильтратнинг миқдори.

Туқимадаги умумий азотнинг ва оқсил составига кирмаган азотнинг миқдорини билиб, оқсиллар составига кирган азотнинг миқдори аниқланади.

Ҳисоблаш формуласи: азот - оқсиллар составига кирмаган азот - оқсиллар составига кирган азот.

Аминогруппалардаги азотни формальдегид билан титрлаб аниқлаш метилендиоллар, оксиллар ва аминокислоталардаги эркин аминогруппаларнинг азоти амин азоти деб аталади. Оксил молекулаларининг структурасини ва таркибини, шунингдек, уларнинг гидролизланиш шартларида ҳосил бўлган маҳсулотларини урганишда, аминогруппаларнинг миқдори катта аҳамиятга эга. Амин азотларининг миқдорини қараб протеолитик фермент /катепсин/ларнинг активлигини ва оксилларнинг гидролизланиш тезлигини урганиш мумкин. Биология материалларида аминогруппаларни аниқлаш организмда аминокислоталар ва оксиллар алмашинувиغا қўшимча характеристика беради.

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



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

Керакли асбоблар: 50 мл ли колбалар, 5, 10, 20 мл ли пипет-калар, 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 формальдегидининг эритмасига 1-2 томчи фенолфталеин солинади ва 0,1 н натрий ишқорини эритмасидан бюретка орқали томчилаб, аралашма пушти ранг ҳосил қилгунча қушилади.

Ишнинг бориши. Колбага 3 мл 25% ли глицин эритмаси солиб, 1-2 томчи фенолфталеин қушилади ва 0,1% ли натрий ишқори эритмаси билан бюретка орқали то пушти ранг ҳосил булгунча титрланади. Сунгра нейтралланган глицин эритмасига пипетка билан 2 мл формол аралашмадан қушилади (эритманинг пушти ранги йуқолади). 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, ваҳолонки, 1 мл 0,1 н ишқор эритмасига 1,4 мг азот тўғри келади. Шунинг учун титрлаш учун сарф булган 0,1 н ишқор эритмаси миқдорини 1,4 га мўайитириб, 3 мл 0,25% ли глицин эритмасида канча миқдор амин азот 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 булса, унда 100 г глицинда X г азот бор.

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

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

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

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

борилади.

Оқсил миқдорини биурет методи билан аниқлаш. Бу метод оқсилларни ишқорий шароитда мис сульфат эритмаси билан бинафша ранг ҳосил қилишга асосланган бўлиб, бу рангнинг интенсивлиги текшириладиган оқсил таркибидаги пептид боғларнинг миқдорига боғлиқ.

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

Реактивлар. 1. Альбумин оқсилнинг стандарт эритмаси, бу эритманинг 1 мл да 10 мг альбумин оқсили бор. 2. Биурет реактиви, 0,15 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ва 0,6 г $\text{Na}_2\text{K}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ натрий тартарат=калий ёки сегнет тузи тузидан олиб, 50 мл сувда эритилади. Шу эритмага 30 мл 10% ли натрий ишқори эритмасидан солиб қўйилади ва эритмада қайтар реакциялар кетмаслиги учун 0,1 г KOH нинг тузидан қўшиб, эритма ҳажми сув қўшиб 100 мл га кўсатилади.

Ишнинг бориши. Калибирланган график тузиш учун альбумин оқсилнинг стандарт эритмасидан фойдаланилади, бу эритманинг 1 мл 10 мг альбумин оқсилни сақлайди. 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 қўйилади ва ҳана ҳароратида қолдирилади. Улчашни тўққизинчи пробиркадаги бўлган солиштирган ҳолда олиб борилади, бу пробирка оқсидан бошқа ҳамма компонентларни сақлайди. 30 минутдан кейин спектрофотометрда 540 нм тўлқин узунлигида улчанади. Олинган натижалар

калибрланган 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 кўрсатилган шароитда иш олиб борилади. Бунинг учун текширилаётган оқсил султириб, ундан 2 мл олинади, сўнгра 8 мл биурет реактивидан қушилади.

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

Оқсил миқдорини микробиурет методи билан аниқлаш. Реактивлар.

1. $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ — 2,1 % ли эритмаси.

2. КОН — 30% ли эритмаси.

3. А эритма. Бу эритмани тайёрлаш учун $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ — 2,1%

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

Ишнинг бориши. Текширилаётган объектда оқсил миқдорини аниқлаш учун альбумин оқсилнинг стандарт эритмасидан калибрланган 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 қўлланилади. 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 калибрланган график тузилади. Бу графикни тузиш учун альбуминнинг стандарт эритмаларидан фойдаланилади.

Материал ва боблар: штатив; пробиркалар; 0,1, 1,5 ва 10 мл ли шприцлар; спектрофотометр.

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

2% ли натрий карбонатнинг 0,1 н ли натрий ишқс
 3. В эритма: 0,5% ли мис сульфатнинг 1% ли натр
 эритмаси. Эритмани тайёрлаш учун 10 г натрий та
 мл сувда эритилади. Сўнгра эритмага 5 г мис суль
 ва ҳажми 1 литрга етказилади. 4. С эритмаси: бу э
 лаш учун 49 мл А эритмага 1 мл В эритмадан қўшила
 анализ қилишдан олдин тайёрланади. 5. Фолин реактив
 маси. Эритмани тайёрлаш учун 2 литрли колбага 100 г
 $2H_2O$ ва 25 г $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ тузидан олиб, 700 мл сувда
 эритилади. Сўнгра эритмага 50 мл 85% ли H_3PO_4 кислота ва 100 мл
 концентранган *mel* кислотадан қўшилади. Кейин эса шу аралашма
 солинган колбани қайтарувчи совитгичга улаб, 10-12 соат қайнати-
 лади. Қайнатиб булғач 150 г литий сульфат, 50 мл сув, бир неча
 томчи бромли сув қўшилади. Ортиқча бромни чиқариб юбориш учун
 15 минут совитгичсиз қайнатилади. Аралашма хона ҳароратигача
 совутилиб, филтрланади ва ҳажми сув билан 1 литрга етказилади.
 Фолин реактивининг кислоталиги фенолфталеин иштирокида 0,1 н
 натрий ишқори билан титрланиб аниқланади. Реактив қоронги идиш-
 га солиб сақланади. Оксилни аниқлашда кислоталиги 1 н булган
 Фолин реактиви ишлатилади.

Ишнинг бориши. Калибирланган график тузиш учун альбуминнинг
 стандарт эритмаси тайёрланади. Бунинг учун 4 мг альбуминни 10 мл
 сувда эритилади, бу эритманинг 0,1 мл 40 мкг оксил миқдорини сақ-
 лади. Пробиркаларга 10-120 мкг альбумин оксили эритмаси солинади.
 Буни тайёрлаш қуйидаги жадвалда кўрсатилган.

Пробиркалар номери	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 хона ҳароратида 10 минут қолдирилади. Сунгра 0,2 мл 20% реактивидан қўпилади, пробиркаларни чайқатиб, 30 минут хонада қолдирилади. Кейин спектрофотометрда 750 нм тулқин узунлигида оқсилсиз пробага қарши ўлчанади. Олинган маълумотлардан график тузилади. Бунинг учун ординат укига оптик зичлик катталиги, абсцисс ўқиға - оқсил миқдори қўйилади ($\lambda = \text{расм}$).

Қон зардобида оқсил миқдорини аниқлаш учун, пробиркага 0,4 мл қон зардобидан ($\frac{1}{50}$ ёки $\frac{1}{100}$ марта суялтирилган) солиб, юқорида ёзилган тарзотда иш олиб борилади. Оптик зичлигига қараб графикдан оқсил миқдори аниқланади, кейин суялтирилмаган қон зардобидан оқсил миқдори мг да ҳисобланади.

Аминокислоталарни хроматография методи билан "Силуфол 110-254" пластинкасида аниқлаш. Оқсилларни аминокислотали таркибини аниқлаш учун улар аввало гидролизланиши керак. Шундан сунг оқсилларни гидролизатлари хроматография методи билан "Силуфол 110-254" пластинкасида аминокислоталарнинг бўлинишини ўрганиб, оқсил таркибида қандай аминокислоталар борлигини билиш мумкин.

Бу метод иккита аралашмайдиган суюқликлар фазасида (ҳаракат қилмайдиган сув фазаси ва ҳаракатланувчи органик эритувчи фазаси) аминокислоталарнинг турлича бўлиниш даражасига асосланган. Аминокислоталар сувли фазада кўп эриса, органик эритувчиларнинг фронтида секин ҳаракатланади. Барча аминокислоталарнинг силжиш тезлиги турличади. Силжиш тезлигининг коэффициентини қуйидагича 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 қуритилиди ва

нингидрин эритмасидан пуркалади. α - аминокислоталар нингидрин билан узаро таъсир этиб оксидлангач, аммиак, альдегид ва карбонат кислотасага парчалансади, нингидрин қайтарилсади. Қайтарилган нингидрин ҳамда нингидриннинг бошқа молекуласи аммиак билан реакцияга киришиб, кўк-бинафша рангни берувчи мураккаб мураксид бирикмасини ҳосил қилсади.

Керакли асбоблари: хроматография камераси; термостат; 0,1 мл пипетка.

Реактивлар. 1. 0,1 М цитрат буфери, pH-5,3 2. 0,1% ли нингидриннинг ацетондаги эритмаси. Хроматография пластинкаларидаги нингидриннинг тургун бўлиши учун нингидринли реактивга кадмий қушилади. Бу эритма 5 : 1 нисбатда тайёрланади:

1. 1 % ли нингидриннинг ацетондаги эритмасидан - 5 қисм.
2. Кадмий ацетатнинг аралашмаси; бу аралашмани тайёрлаш учун 50 мл сирка кислота ва 100 мл сув олиб аралаштирилади ҳамда бу аралашмада 1 г кадмий ацетат эритилади. Сунг ушбу эритмадан - 1 қисм олинади.
3. Оқсил гидролизати, 4. "Силуфоль *UV-254*" пластинкаси.

Ишнинг бориши. "Силуфол *UV-254*" пластинкасини пастки қарағидан 2-2,5 см ўлчаб олиб, оддий қалам билан старт низиги қилинади. Текшириляётган оқсил гидролизатлари бир-бирдан 1,5-2 см оралиқ масофада томизилади. Сунг бу оқсил гидролизатларидан 10-20 мкл олиб, томчилаб томизилади ва доғ иссиқ ҳаво билан қуритилади - хроматография камерасига вертикал ҳолатда қўйилади. Хроматографияланиш махсус камераларда олиб борилади, эритувчи сифатида 0,1 М цитрат буфери pH-5,3 ишлатилади. Эритувчи камерада 1-1,5 см қалинликда қўйилади.

Эритувчи пластинка баландлиги $4/5$ 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 давомида қиздирилади. Натижада аминокислоталар кўк-бинафша ранглилар ҳолида кўринади. Сунгра ҳар бир аминокислотани юқорида кўрсатилган формула ёрдамида силжиш тезлиги коэффициенти (R_f) асбобланади.

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

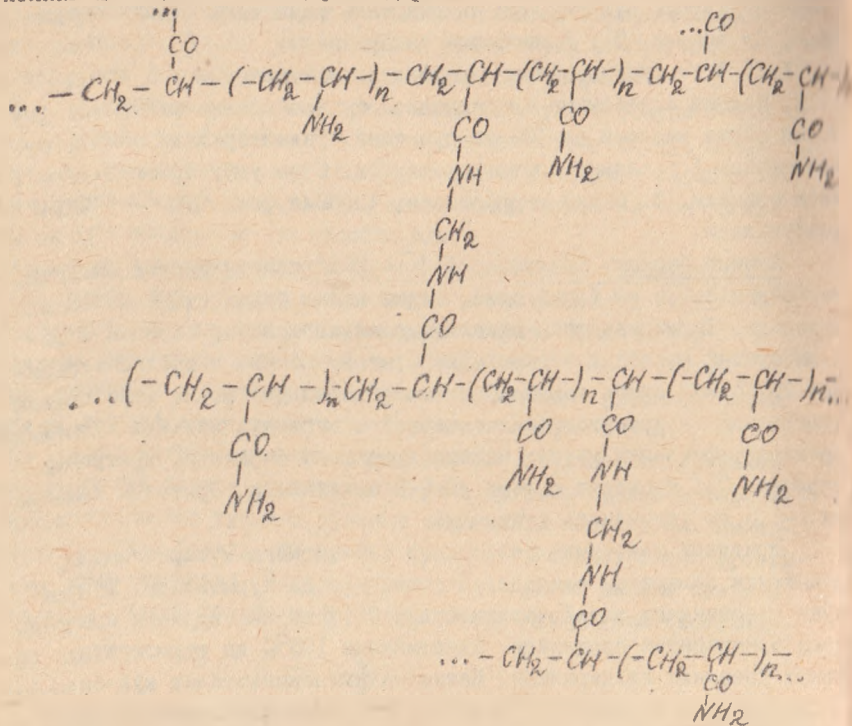
ларда қўлланади. Диск-электрофорез усули - оксилларни маълум концентрацияли ва маълум молекуляр Ғалвирли гелдаги булинишиди. Диск-электрофорезни амалга оширишда полиакриламид гели қўлланилади. Полиакриламид гели уч хил қисмдан ташкил топган:

1) катта ғалвирли гелнинг старт қисми; 2) катта ғалвирли концентровчи гел; 3) кичик ғалвирли бўлувчи гел.

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



сополимеризацияланиш маҳсулотидир.



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

Формалар. Гел устунча шаклида маҳкамланган шиша трубкаларда полимеризация қилинади. Сополимеризациялашиш реакциясини катализатор сифатида оксидловчи - қайтариловчи системалар ишлатилади, улар орқин радикаллар манбаи ҳисобланади, масалан: персульфат аммоний $(NH_4)_2S_2O_8$ ва N,N,N',N' -тетраметилэтилендиамин

Аммоний: $(NH_4)_2S_2O_8$ ва N,N,N',N' -тетраметилэтилендиамин

Аммоний: $(NH_4)_2S_2O_8$ ва N,N,N',N' -тетраметилэтилендиамин

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

Керакли асбоблар. Электрофорез учун аппарат, электрофорез камераси борич "Реанал" (Венгрия) фирмасини апаратидан фойдаланилади. Аппарат органик ойнадан ясалган бўлиб, иккита электроднинг резервуарлардан иборат, юқори ва пастки, ҳар бирининг ҳажми 1,5 л. Иккала резервуарларнинг кўмир электродлари бўлиб, бу электродларга доимий ток уланади. Узгармас ток манбаи сифатида ГИИ-1 прибори ишлатилади.

Реактивлар. 1. А - эритмаси: 100 мл колбага 48 мл I н HCl, 16,3 г трис ва 0,46 мл ТЕМЕД солинади, эриб бўлгандан кейин колбанинг белгисигача сув солинади. Эритма рН 8,9 га тенг бўлиши керак. 2. В - эритмаси: 100 мл колбага 30,0 г акриламид ва 0,8 г метиленбисакриламид солиб, 70-80 мл дистилланган сувда эритилади ва филтрланади, сунгра эритманинг ҳажми дистилланган сув қушиб 100 мл га етказилади, сунг яхшилаб аралаштирилади. 3. С-эритмаси: 0,14 г аммоний персульфат 100 мл дистилланган сувда эритилади, бу эритмани ишлатишдан аввал тайёрланади. 4. Электрод буферини: 6,0 г трис ва 28,8 г глицин дистилланган сувда эритилади ва ҳажми сув қушиб 100 мл га етказилади, рН-8,3. Фойдаланишдан олдин 10 марта суялтирилади. 5. Еуёқ - индикаторнинг эритмаси: Бромфенол кукнинг 0,001% ли дистилланган сувадаги эритмаси. 6. Оксиметилэтилендиамин фракцияларини ўлчиш учун амидо-шварц реактиви ишлатилади. Амидо-шварц 10 л ни 1% ли эритмаси 7% ли сирка кислотасининг эритмасида тайёрланади. 7. Сирка кислотасининг 7% ли эритмаси. 8. Кон зардоби.

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

Алоҳида колбага ёки стаканга I қисм А эритмадан, 2 қисм В эритмадан, 4 қисм С 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 кўринади. Гелнинг юқори қисмидаги сув фильтр қоғоздан қирқиб тайёрланган лентачалар билан олинади ва гелнинг юқори қисми электрод буфери билан ювилади.

Анализ қилишга ишлатиладиган оксил эритмаси гел тайёрлаш учун қулланиладиган буфер эритмасида тайёрланади. Оксил эритмасининг концентрацияси 1-5 мкг/мл бўлиши керак. Масалан: қон зардобини текшириш учун 3 мл 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% бўлгунча сгхароза ёки глицерин қўшилади - ҳар бир трубкага 10-100 мкл тайёрланган оксил эритмасидан солинади. Шундан сўнг трубкалар охиригача электрод буфери билан тўлдирилади.

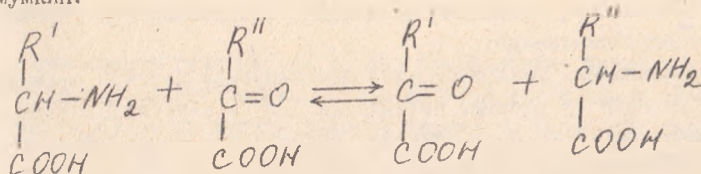
Электрофорезни олиб бориш. Электрофорез холодильникда олиб борилади. Электрод буферлари ишлатилшдан аввал + 4°C гача совутилади. Электрофорез аппарати ҳам совутилади. Юқориги идишдаги буфер эритмасининг 500 мл га I мл бўёқ-индикатор, 0,001% ли бромфенол кўк эритмасидан қўшилади. Аппаратнинг қопкоғини 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 бўлиниши 2-3 соат давом этади, яъни бўёқ трубканинг пастки учига 3 мм қаватда ток манбаи учирилади. Электрод буферлари аппарат идишларидаги ёққа идишларга қуйиб олинади ва трубкалар бураб чиқарилади.

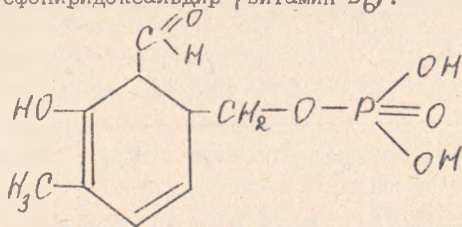
Трубкалардан гелни чиқариш учун шприцга дистилланган сув олиб, игна билан трубка деворлари ҳамда гел орасига юборилади ва аста-секин гел чиқариб олинади. Геллардаги оксил зоналарини бўйш учун амидо-шварц IO B эритмаси пробиркаларга солинади ва IO-15 минутга қолдирилади. Шундан кейин бошқа идишга қуйилади. Геллар 7% ли сирка кислотасининг эритмаси билан ювилади. Гелнинг оксилсиз қисмларини рангсизлантириш учун кўп марта шу эритма билан ювиш лозим. Рангсизлантириш жараёни IO-12 соат давом этади. Сўнгра оксил фракциялари бор зоналар рангининг интенсивлигига ва уларнинг жойланишига қараб электрофореграммалар чизилади ($4=расм$).

Переаминланиш реакцияси

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



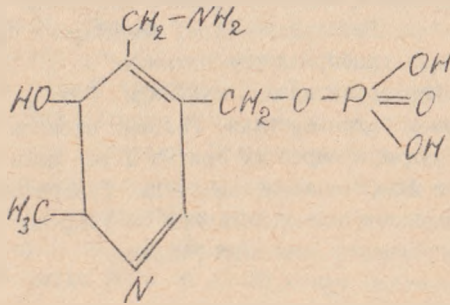
Переаминланиш жараёни барча туқималарда кенг тарқалган ферментлар - аминотрансферазалар иштирокида боради. Аминотрансферазалар пиридоксальфосфат протеинлар бўлиб, уларнинг коферменти оралиқ реакцияда аминокислотадан аминогруппани кетокислотага қўчираётган фосфопиридоксальдир (витамин В₆).



Пиридоксальфосфат

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

кучирилади ва яна пиридоксальфосфатга айланади.



Пиридоксаминфосфат

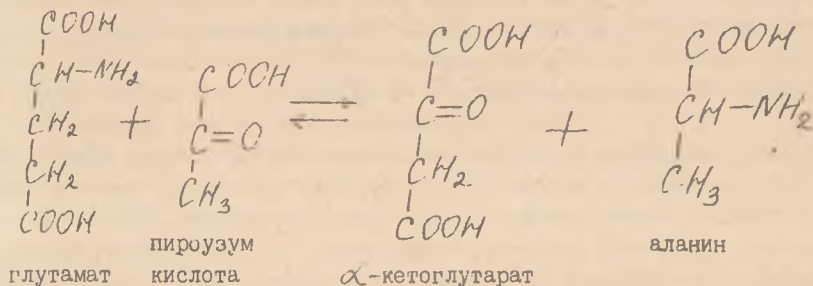
Переаминланиш реакцияси туқималарда кенг тарқалган. Барча аминокислоталар переаминланиш реакциясида иштирок этади. Глутамат, аспарагин, аланин билан бу реакция тез утади. Глицин, валин, лейцин, изолейцин, гистидин, триптофан, фенилаланин ва тирозин қийинроқ переаминланади.

Переаминланиш реакцияси азот алмашинувида 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 қайчи билан майдаланади. Ҳосил бўлган туқима бутқасини гомогенизатор стаканига солиб, 1:5 нисбатда 0,1% ли KHSO_3 эритмасидан қушиб 2 минут давомида гомогенизатор билан майдаланади. Гомогенат тўрт қават доқа орқали филтрланади ва у тажриба учун ишлатилади. Тажрибани олиб бориш учун пробиркаларга қуйидаги схемада реакция аралашмалари тайёрланади:

Пробиркаларнинг номери	CH_2COOH ни KHSO_3 даги эритмаси, мл	Глютамин кислота, мл	Пироузум 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 йўқотади, NH_3 ни ажратади. Бу реакция қайтар бўлиб, қайтадан α -кетоглутарат кислотага айланади. Мускулдаги фермент иштирокида, глутамат ва пирозуум кислота мисолида переаминланиш жараёни билан танишиш мумкин.



Переаминланиш реакциясини қандай борганлигини билиш учун пирозуум кислотасининг переаминланиш жараёни тўхтатилади. Натижада қолган пирозуум кислотаси салицил альдегиди билан тўқ сариқ рангги ҳосил қилади. Переаминланиш реакциясини тўхтатиш учун моноиод сирка кислотаси иштирокида инкубация қилинади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; сув ҳаммоми; қайчи; 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. Пирозуум кислота эритмаси, 4,6 мг пирозуум кислотаси 1 мл дистилланган сувда эритилади. 4. Моноиод сирка кислотасининг калий бикарбонатдаги эритмаси, 0,002 M CH_2ICOOH эритмаси 0,1% ли KHCO_3 эритмасида тайёрланади. 5. Калий ишқорининг тўйинган 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 иқорида баён қилингандек тайёрланади. Биринчи пробиркага 1 мл учхлорсирка кислотаси эритмасидан солинади, сунгра туқима гомогенати

филтратидан кушилади. Бу кислота таъсирида ферментатив реакция бўлмайди. Иккинчи ва учинчи пробиркаларга туқима гомогенатидан кўшиб, 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 I мл дан учхлорсирка кислота эритмасидан кўшиб, ферментатив реакция тўхтатилади ва 10 минутдан кейин ҳамма пробиркалардаги аралашма филтрланади. Филтрат салицил альдегиди билан пироузум кислотасини аниқлашга ишлатилади. Бунинг учун учта пробирка олиб, I-номеради пробиркага аввалги биринчи пробиркадаги филтратдан I мл, 2-номеради пробиркага иккинчи пробиркадаги филтратдан, 3-номеради пробиркага учинчи пробиркадаги филтратдан I мл солинади. Сўнгра ҳамма пробиркаларга I мл дан KCN нинг тўйинган эритмасидан ва 0,5 мл 2% ли салицил альдегидининг эритмасидан солинади. Пробиркалардаги сужкликлар чайқатиб аралаштирилади. Шундан кейин пробиркаларни 10 минут $37-38^{\circ}\text{C}$ ли сув ҳаммомида инкубация қилинади. Ҳамма пробиркалардаги ҳосил бўлган ранглар солиштирилади ва бу ердаги рангларга қараб переаминланиш жараёни қандай борганлигини билиш мумкин. Олинган натижалардан хулоса ёзилади.

Оқсилларни пепсин ферменти таъсирида парчаланиши

Пепсин - оқсилларнинг меъдада ўзгаришига сабаб бўладиган энг муҳим протеолитик фермент бўлиб, меъда ширасида учрайди. Меъда шиллик 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 шиллик пардасининг ҳужайралари пепсиноген ишлаб чиқаради, пепсиногеннинг физиологик шароитларда пепсинга айланиши автокаталитик жараёндир. Пепсиногеннинг молекула оғирлиги 42500 га, пепсинники эса 34500 га тенг. Активланиш жараёнида пепсиногендан 6 та полипептид ажралиб чиқади.

Шундай қилиб, хлорид кислота пепсинни таъсир қилиши учун оптимал шароит яратади. Ундан ташқари бу кислота таъсирида оксиллар шишиб, денатурацияга учрайди, натижада уларнинг ҳазм бўлиши осонлашади. Оксилларнинг пепсин таъсирида ҳазм бўлиши фибрин мисолида кўрилади, яъни пепсин таъсирида сувда эрийдиган пептон ҳосил бўлади.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; сув ҳаммоми; 5 мл ли пипетка.

Реактивлар. 1. Фибрин. 2. 0,1% ли пепсиннинг 0,2% ли хлорид кислотадаги эритмаси. 3. 0,2% ли хлорид кислотаси эритмаси, 4. 10% ли натрий карбонат эритмаси. 5. Мис сульфатнинг 1% ли эритмаси. 6. 10% ли натрий ишқорининг эритмаси.

Ишнинг бориши. Тўртта пробирка олиб, биринчисига 4 мл хлорид кислота эритмасидан, иккинчисига 4 мл пепсиннинг хлорид кислотадаги эритмасидан, учинчи пробиркага сода билан нейтралланган пепсиннинг хлорид кислотасидаги эритмасидан 4 мл, тўртинчи пробиркага эса пепсиннинг хлорид кислотадаги эритмасини қайнатилган ва совутилган эритмасидан 4 мл солинади.

Ҳар бир пробиркага фибриннинг кичик-кичик бўлақларидан солинади, сунгра ҳамма пробиркалар бир вақтда 37-40°C ли сув ҳаммомига қўйилади. 30 минутдан кейин реакциялар натижаси текширилади. Биринчи пробиркада фибрин хлорид кислота таъсирида шишиб кетганлиги кузатилади, иккинчи пробиркада пепсиннинг хлорид кислотасидаги эритмаси таъсирида фибрин инкубациядан кейин эриб кетганлигини кўриш мумкин. Учинчи пробиркадаги фибрин узғаришсиз қолади, чунки пепсин нейтрал муҳитда актив ҳолатда бўлмайди, Тўртинчи пробиркадаги фибрин хлорид кислота таъсирида букиб қолади, чунки қайнатилганда пепсин ўз биологик ҳолатини йўқотади.

Ҳамма пробиркалардаги суюқликлар филтрланади, ҳар бир филтрат билан биурет реакциясини бажарилади ва олинган маълумотлардан хулоса ёзилади.

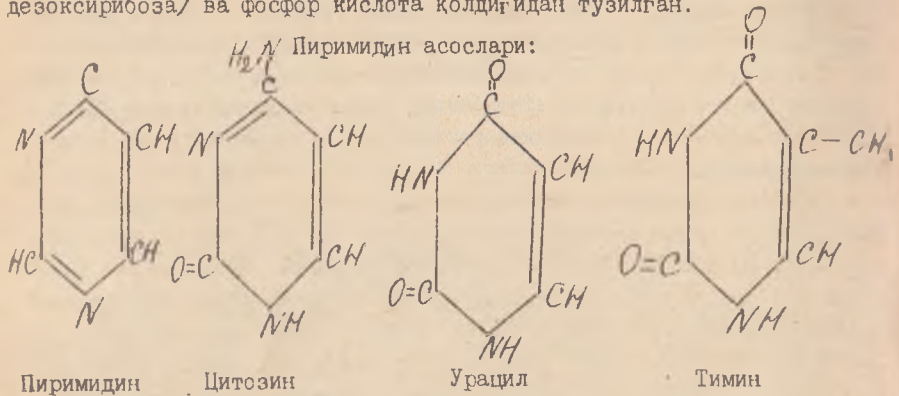
IV боб. Нуклеин кислоталар

Нуклеин кислоталар - ДНК (дезоксирибонуклеин) ва РНК (рибонуклеин) кислоталар организмда ҳамма ирсий белгиларни сақлашда ва оксиллар синтезида асосий роль ўйнайди. Дезоксирибонуклеин кислота эукариотлар (ҳайвонлар ва ўсимликлар)да асосан ядрога жойлашади.

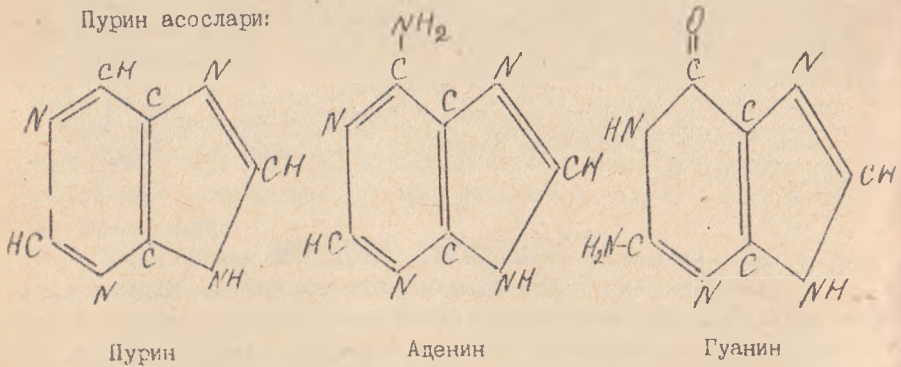
Митохондрияларда ҳам озроқ ДНК мавжуд. Эукариотларнинг ядросида бир неча пикограмм / μg / ДНК бор: сут эмизувчиларда 6 пг, қушларда 2 пг.

Рибонуклеин кислоталарнинг уч тури бор: информацион РНК (и-РНК), транспорт РНК (т-РНК), рибосомал РНК (р-РНК). Булар бири-биридан таркиби, размери, функционал хоссалари ва хужайрадаги жойланишига қараб фарқ қилади. РНК асосан хужайра цитоплазмасида, камроқ миқдорда ядрога учрайди. Хужайрада РНКнинг бажарадиган функцияси оқсил молекулалари синтезида қатнашишдан иборат.

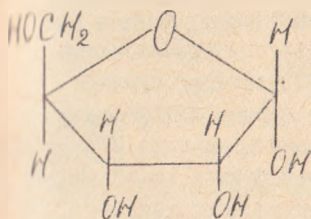
Нуклеин кислоталар (полинуклеотидлар) - нуклеотидлардан тузилган полимерлардир. Нуклеотидлар уч компонентдан: азот асослари (пурин ёки пиримидин), углевод компонентлари - пентоза (рибоза ёки дезоксирибоза) ва фосфор кислота қолдигидан тузилган.



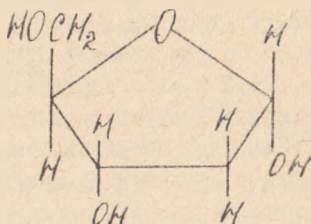
Пурин асослари:



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



Д = рибоза

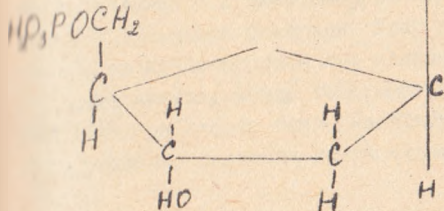
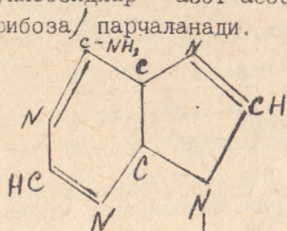


Д=2 = дезоксирибоза

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

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

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



Хайвон туқимасидаги нуклеин кислоталарнинг
умумий миқдорини аниқлаш

Метод нурли ва ипримидин асослари ультрабунафта нурларнинг 250-290 нм тулқин узунлигидаги қисмини ётишга асосланган. Хайвон туқимасидаги умумий нуклеин кислоталарнинг миқдорини аниқлаш мөҳодина А.С. Спирня яратган бўлиб, кислотада эрувчи нуклеотидлар совутилган 0,2 н хлор кислотаси билан ажратиб олинади, нуклеин кислоталарнинг экстракцияси ва гидролизга 0,5 н хлор кислотаси билан 100°C да олиб борилган, экстрактларнинг оптик зичлиги 270 ва 290 нм тулқин узунлигида аниқланади ва формула бўйича ҳисобланади.

Керакли асослар: пробиркалари билан штатив; иштеткалар; центрифуга; спектрофотометр; сув ҳаммоми.

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

Ишнинг бориши. 100-200 мг туқима тортиб, майдаланади ва центрифуга стаканига солиб, унга 5-10 мл совутилган 0,2 н хлор кислотаси эритмасидан қўзилади. Стаканлардаги суюқлик яхшилаб аралаштирилади, сўнгра 3000 айл/мин тезлигида 5 минут центрифуга қилинади. Центрифугат ташлаб юборилади, чўкмага эса 5-10 мл 0,5 н HClO_4 кислотасини эритмасидан қўзилади ва пробиркалар қайнаб турган сув ҳаммомига 20 минут қўзилади.

Гидролизат совутилиб, центрифуга қилинади ҳамда спектрофотометрда 270 ва 290 нм тулқин узунлигида контролб С,5 н HClO_4 эритмасига нисбатан ўлчанади, оптик зичлиги аниқланади. I мл текширилётган эритманинг нуклеин кислотасидаги фосфор миқдори мкг да ҳисобланади.

$$C_{\text{мкг}} F_2 = \frac{D_{270} - D_{290}}{0,19}$$

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

Нуклеин кислоталарнинг миқдори уларнинг таркибидаги фосфорга қараб ҳисобланади ва бунда ўртача ҳисоблаш коэффициенти 10,3 кулланади.

$$C_{\text{мкг НК}} = C_{\text{мкг Р}_2} \cdot 10,3$$

10,3 - ўртача ҳисоблаш коэффициенти

ДНКнинг сифат реакцияси

Дезоксирибозага хос характерли сифат реакцияси натижасида ДНК аниқланади. Бу реакция учун қупинча дифениламин ($C_6H_5-NH-C_6H_5$) қулланади. Дифениламин дезоксирибоза ва ДНК билан кўк рангли бирикма ҳосил қилади. Рибоза ва РНК дифениламин билан яшил рангга киришади.

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

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

Ишнинг бориши. ДНК нинг чуқмасидан озгина пробиркага солинади (ДНК чуқмасини олиш юқорида изоҳланган) ва 1 мл натрий ишқори эритмасидан қушиб эритилади. Тенг ҳажмда дифениламин реактивидан то чуқма эригунча қушилади ва 15-20 минут қайнаб турган сув ҳаммомига қузилади. Натижада кўк ранг ҳосил булади. Нуклеин кислоталарнинг гидролизи ва гидролиз маҳсулотларининг рангли реакциялари нуклео-протеинлар булимида тўла кўрсатилган.

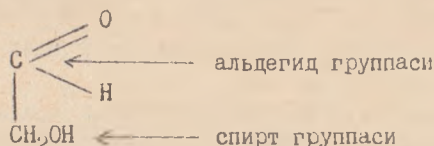
У боб. Углеводлар

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

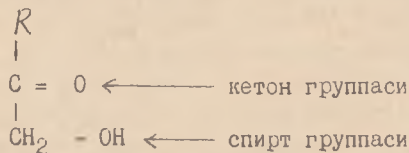
1. Углеводлар организм учун асосий энергиядир. 1 г углеводнинг дегидрогенишида 4,1 ккал энергия ажралиб чиқади. 2. Углеводлар пластик функцияни бажаради. Улар ҳужайралар мембранаси, органоидлари ва нуклеопротеинлар, гликопротеинлар, гликолипидлар, бир қатор витаминлар ҳамда коферментлар таркибига киради.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

ҳайвонларда гликоген углеводларнинг запас шакли ҳисобланади, зарур бўлганда сарф қилиб турилади. Жигар ва мускуллар асосан гликоген-депозитидир. 4. Ҳимоя функцияси, бу функцияни мукополисахаридларнинг асосий вакиллари: гиалуронат кислота, гепарин бажаради. Гиалуронат кислота туқималар ва ҳужайраларо 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 кўра кўп атомли спиртларнинг альдегици ёки кетони ҳисобланади.



Кетонспирт тузилишида кетон ва спирт группаси бўлади:



Углеводлар тузилишига ва хусусиятларига кўра учта группага - моносахаридлар, олигосахаридлар ва полисахаридларга бўлинади.

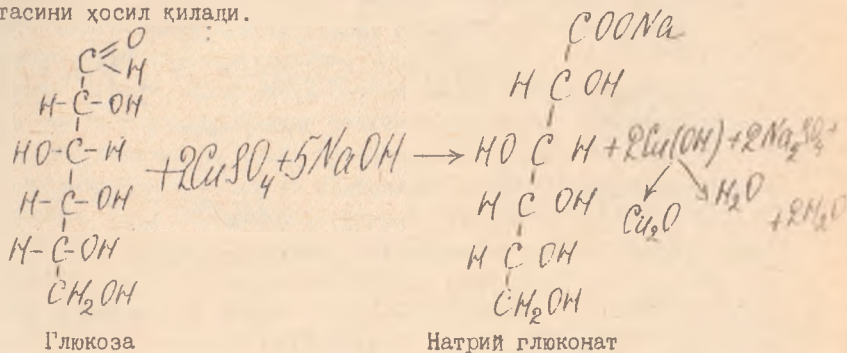
Моносахаридлар

Моносахаридлар таркибидаги углерод атоми сонига қараб, триоза, тетроза, пентоза, гексоза, гептоза ва бошқаларга бўлинади. Буларнинг умумий формуласи - $\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O}_n$. 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 оёқ оксидланиб, карбоксил группасини ҳосил қилади, металл ион-

лари эса қайтариледи.

Троммер реакцияси. Глюкоза ишқорий шароитда мис сульфат тузи билан реакцияга киришиб, мис оксидигача қайтаради ва ўзи глюконат кислотасини ҳосил қилади.

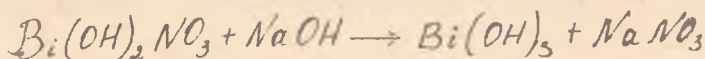


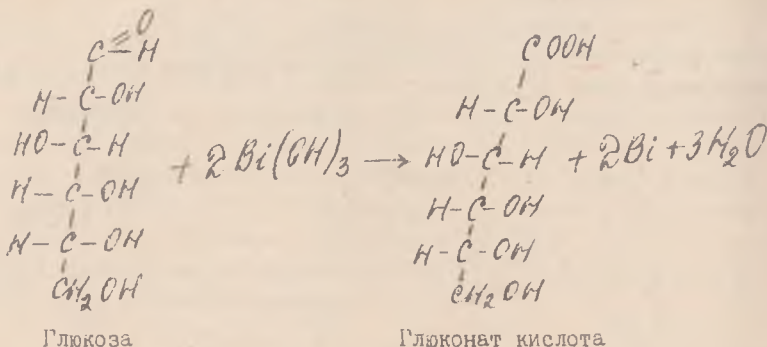
Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1 ва 2 мл ли; шипеткалар, спирт лампаси.

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

Ишнинг бориши. Пробиркага глюкозанинг эритмасидан 3-4 мл солинади ва 1-2 мл 20% ли натрий ишқорининг эритмасидан ва 2-3 томши 5% ли мис сульфат эритмасидан қўшилади. Пробирка чайқатилади ва эҳтиётлик билан қайнатилади. Дастлаб бошланишида мис гидроксидининг $\text{Cu}(\text{OH})_2$ чуқмаси, сунгра Si_2O оксидининг қизил чуқмаси ҳосил булади.

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

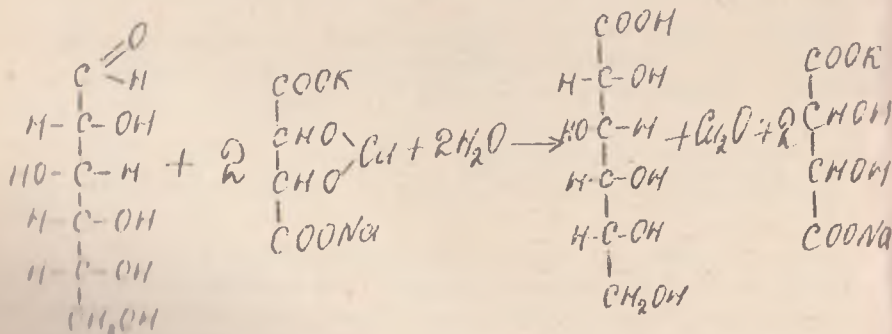




Реактивлар. 1. Глюкозанинг 1% ли эритмаси, 2. Ниландер реактиви, 2 г висмут нитрат ва 4 г калий-натрий-тартарат /сегнет/ тузи 100 мл 20% натрий ишкорининг эритмасида эритилади. Висмут тузини яхши эритиш учун сув ҳаммонида қайнатилади. Совуғандан кейин филтрланади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл глюкоза эритмасидан солиб, унга 1 мл Ниландер реактивидан қўшилади ва 2-3 минут қайнатилади. Пробиркада висмутни қора чўкмасы ҳосил бўлади.

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

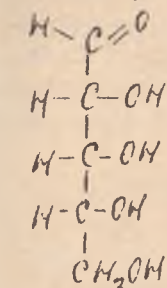


Реактивлар: 1. Глюкозанинг 1% ли эритмаси, 2. Фелинг реактиви: Бу реактив яхши эритилган тайёрланади. 1. 500 мл колбада 34,64 г

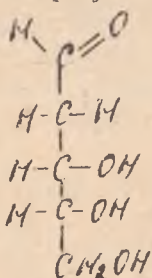
мис сульфат ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) эритилади ва белгисигача сув қўшилади. 2. 500 мл колбага 173 г сегнет тузини солиб, 200-250 мл сувда эритилади ва 100 мл 50% ли натрий ишқори қўшилади, сўнгра колбанинг белгисигача сув қўшилади. Реактив ишлатишдан олдин тенг ҳажмда олиб аралаштирилади.

Ишнинг бориши. Пробркага 3-4 мл 1% ли глюкоза эритмасидан солинади ва тенг ҳажмда Фелинг реактивидан қўшиб, қайнатилади, натижада мис оксидининг қизил чўкмаси ҳосил бўлади.

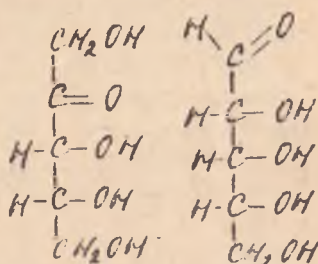
Пентозалар учун реакция. Пентозалар усимлик ва ҳайвон тўқимасида учрайди. Улар ДНК ва РНК, купгина коферментлар (НАД, НАДФ, НАДФ⁺) таркибига киради. Бу группа углеводларга рибоза ва десоксирибоза, килоза, арабиноза, рибулоза киради.



\mathcal{D} = рибоза



\mathcal{D} = дезоксирибоза



\mathcal{D} = рибулоза \mathcal{D} = арабиноза

Пентозалар учун характерли реакция шундан иборатки, улар концентрланган кислоталар билан қиздирилганда сувни йўқотади ва фурфуролга айланади, у ордин билан реакцияга киришиб, яшил ранг, анилин билан реакцияга киришиб, қизил ранг беради.

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

Ишнинг бориши. Пробркага 2 мл пентоза эритмаси ва шунча ҳажмда концентрланган хлорид кислотасидан солинади, сўнгра эҳтиётлик билан қайнагунча қиздирилади. Совуғандан кейин унга 1 мл анилин ва 1 мл сирка кислотаси қўшилади. Эритма қизил рангга киради.

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

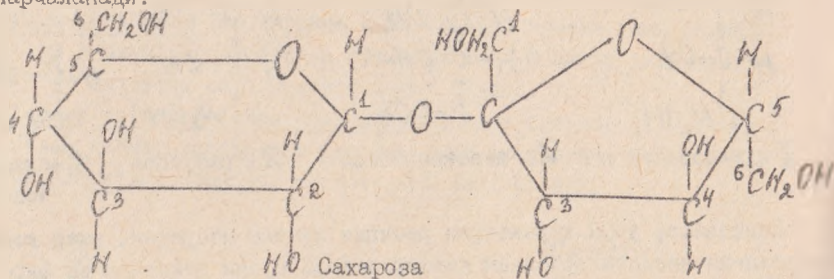
хлорид эритмасидан қушилади. Эритма қоронги ойнали идишда сақланади.

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

Дисахаридлар

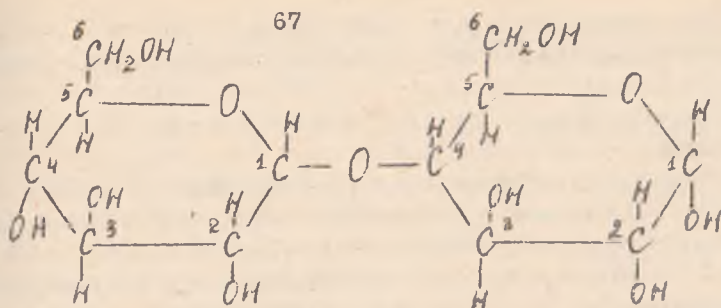
Дисахаридлар иккита моносахарид молекуласидан бир молекула сув ажралиб чиқиши натижасида ҳосил бўлади. Дисахаридларнинг умумий формуласи - $C_{12}H_{22}O_{11}$. Дисахаридларга: сахароза, лактоза, мальтоза, целлобиоза киради.

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



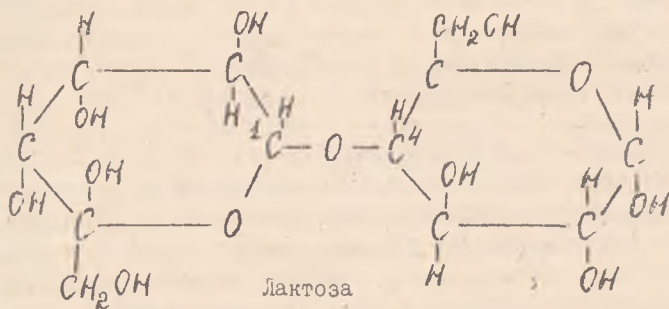
Мальтоза. Парчаланганда икки молекула α -D-глюкопираноза ҳосил булади. Улар 1:4 боғ билан бирикканидан битта глюкоза қолдигида гликозид гидроксил сақлаган бўлгани учун, мальтоза қайтариш қобилиятига эга. Мальтоза табиатда эркин ҳолда бўлмайди, у крахмал ва гликоген тузилишидаги асосий элемент бўлиб,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

Мальтоза фермент иштирокида гидролизланиб, икки молекула глюкоза ҳосил қи ади. Глюкозанинг гидроксил группаси очиқ бўлганлиги сабабли мальтоза қайтарувчанлик хусусиятига эга.



Мальтоза

Лактоза, суг шакари - дисахарид бир молекула α -глюкоза ва бир молекула β -галактозадан тузилган булиб, галактозанинг биринчи углерод атоми билан глюкозанинг тўртинчи углерод атоми орқали бириккан. Лактоза таркибидаги глюкозада эркин глюкозид гидроксил бўлганлигидан 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 ишқорининг 20% ли эритмаси. 5. Мис сульфатнинг 5% ли эритмаси.

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

Сахарозани кобальт тўзи билан реакцияси. Сахароза ишқорий шароитда кобальт йони (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. Концентранган 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 ҳаммомда) 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 юқори молекуляр бирикмалар бўлиб, кислоталар ёки ферментлар билан гидролизланганда олигосахаридлар билан моносахаридларга парчаланаяди. Ҳар бир моносахарид қолдиги ёнидаги моносахарид билан узаро 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 моддлар (аминокислота, ёғ, оқсил ва ҳоказо) ҳам учрайди. Гетерополисахаридларга мукополисахаридлар, гемипеллюлозалар ва бошқалар шўрилади.

Крахмалнинг йод билан реакцияси. Крахмал учун характерли реакцияси йод билан қилиб йодданги эритмаси билан кўк ранг ҳосил

қилишидир. Крахмални йодли реакцияси - мураккаб жараёнدير, натижада ҳосил бўлаётган ранг крахмалнинг тузилишига боғлиқ. Крахмал икки хил полисахарид - амилоза ва амилопектин аралашмасидан иборат. Амилоза молекуласи 1000-6000 - \mathcal{D} = глюкоза қолдиқларидан тузилган бўлиб, уларнинг 1,4 = глюкозид боғ орқали боғланган молекуласи тармоқланмаган формага эга. Тула гидролизланганда \mathcal{D} = глюкоза молекулаларига парчаланadi. Амилоза сувда эрийди ва йод таъсирида тўқ кўк рангни беради. Амилопектин ҳам жуда кўп - \mathcal{D} = глюкоза қолдиқларидан ташкил топган бўлиб, амилозага ухшab 1,4-глюкозид боғлари билан боғланган. Аммо амилопектин занжири жуда тармоқланган бўлиб, тармоқланган қисми 1,6 = глюкозид боғлари билан боғланган. Амилопектин ҳам тула гидролизланганда \mathcal{D} = глюкоза молекулаларига парчаланadi. Амилопектин сувда эримайди, у сувда шишади ва клейстер ҳосил қилади. Йод таъсирида у бинафша рангни ҳосил қилади.

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

Реактивлар. 1. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 2. Йоднинг калий йоддаги эритмаси: 500 мл сувда 20 г калий йод ва 10 г йод эритилади. 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 кўк ранг ҳосил бўлади. Шу пробиркадаги суюқлик учта пробиркага булинади: биринчи пробиркага 1-2 мл натрий гидроксидининг эритмасидан, иккинчи пробиркага 2-3 мл этил спирти солинади, учинчи пробирка эса қиздирилади. Ҳамма ҳолларда ҳам кўк ранг йўқолади. Учинчи пробирка совугандан сўнг яна кўк ранг ҳосил бўлади. Крахмалнинг йод билан ҳосил қилган комплекси спирт, ишқор, юқори температурага нисбатан таъсирчан бўлиб, йод билан гипойодитларни ҳосил қилади.

Крахмални қайтарувчанлик хоссаларини аниқлаш. Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1,2 мл ли пипеткалар; сув ҳаммоми.

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 солинади. Биринчи пробиркага 3-5 томчи концентрланган сульфат

(C₆H₁₀O₅)_n

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 бўлади. Сунгра иккита пробиркага микропипетка ёрдамида /микропипеткалар натрий оксалаг эритмаси билан ювилган бўлиши керак/ 0,1 мл дан қон солинади. Қолган иккита пробиркага 0,1 мл дан дистилланган сув қўйилади, бу **намуналар контрол** ҳисобланади. Ҳамма пробиркалар 3 минут қайнаб турган сув ҳаммомига қўйилади. Натижада қон оксиллари чуқмага тушади. Пробиркалардаги суоқликлар филтрланади, чуқма 2 марта 3 мл дистилланган сув билан ювилади. Ҳосил бўлган филтрат тиниқ рангда бўлиши керак.

Глюкозани аниқлаш. Қонни оксилсиз филтратларига ва контрол намуналарга 2 мл дан калий гексациан = /III/ = ферратнинг содали эритмасидан қўйилади, сунгра қайнаб турган сув ҳаммомида 15 минут қиздирилади. Совуғандан кейин ҳар бир стаканга 3 мл дан хлор-рух-йодли эритмаси ва 2 мл дан сирка кислотасининг эритмаси қўйилади. Пробиркадаги суоқлик ажралиб чиққан йод таъсирида сариқ рангга киради. Ҳамма пробиркаларга 2 томчидан крахмал эритмаси қўйилади ва натрий тиосульфат эритмаси билан кук ранг йуқолгунча титрланади. Титрлаш учун сарф бўлган натрий тиосульфатнинг ҳажми маълум бўлгач I-жадвал ёрдамида глюкоза миқдори аниқланади.

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

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

Бунда:

a - текширилаётган материал таркибидagi углевод миқдори; H - олинган материалнинг миқдори.

Жигар тўқимасидаги гликогенни аниқлаш

Турли хил суг эмизувчиларнинг жигарида 2 дан 8% гача гликоген

I-класс. 0.1 мл концентрированного раствора, мг

Натрий глюколяктинг в виде октаулиа, мг

Натрий глюколяктинг в виде октаулиа, мг	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	0,385	0,382	0,372	0,376	0,373	0,370	0,367	0,364	0,361	0,358
0,1	0,355	0,352	0,350	0,345	0,345	0,343	0,341	0,338	0,336	0,333
0,2	0,331	0,329	0,327	0,325	0,323	0,321	0,318	0,316	0,314	0,312
0,3	0,310	0,308	0,306	0,304	0,302	0,300	0,298	0,296	0,294	0,292
0,4	0,290	0,288	0,285	0,284	0,282	0,280	0,278	0,276	0,274	0,272
0,5	0,270	0,268	0,266	0,264	0,262	0,260	0,259	0,257	0,255	0,253
0,6	0,251	0,249	0,247	0,245	0,243	0,241	0,240	0,238	0,236	0,234
0,7	0,232	0,230	0,228	0,226	0,224	0,222	0,221	0,219	0,217	0,215
0,8	0,213	0,211	0,209	0,208	0,206	0,204	0,202	0,200	0,199	0,197
0,9	0,195	0,193	0,191	0,190	0,188	0,186	0,184	0,182	0,181	0,179
1,0	0,177	0,175	0,173	0,172	0,170	0,168	0,166	0,164	0,163	0,161
1,1	0,159	0,157	0,155	0,154	0,152	0,150	0,148	0,146	0,145	0,143
1,2	0,141	0,139	0,138	0,136	0,134	0,132	0,131	0,129	0,127	0,125
1,3	0,124	0,122	0,120	0,119	0,117	0,115	0,113	0,111	0,110	0,108
1,4	0,106	0,104	0,102	0,101	0,099	0,097	0,095	0,093	0,092	0,090
1,5	0,088	0,086	0,084	0,083	0,081	0,079	0,077	0,075	0,074	0,072
1,6	0,070	0,068	0,068	0,066	0,063	0,061	0,059	0,057	0,056	0,054
1,7	0,052	0,050	0,046	0,047	0,045	0,043	0,041	0,039	0,038	0,036
1,8	0,034	0,032	0,031	0,029	0,027	0,025	0,024	0,022	0,020	0,019
1,9	0,017	0,015	0,014	0,012	0,010	0,008	0,007	0,005	0,003	0,002

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 бориши. 25 мл ли колбага пипетка билан 1 мл сийдик солинади, сўнг унга 9 мл сув ва 1 мл оксалоацетатнинг 0,1 н эритмасидан қўшибрач яхшилаб аралаштирилади, натижада кальций тузлари арамга тушади. Кальций ёки натрий бисульфит эритмасидан 10 томчи қўшиб, аралашма чиққетилди ва колба 15 минут қоронги жойга қўйилди. Шундан кейин 10 томчи крахмал эритмасидан қўшиб, ортикча бисульфатни йоднинг 0,1 н эритмасидан кўк ранг ҳосил булганча томчилаб қўшиб боғланади. Ортикча йодни бартараф қилиш учун натрий гипосульфитнинг 0,1 н эритмасидан то кўк ранг йуқолгунча томчилаб қўшилади, шундан сўнг йоднинг 0,01 н эритмасидан ортикча гипосульфитни боғлаш учун / яна кўк ранг ҳосил булгунча қўшилади. Кейин 10 томчи натрий бикарбонатнинг тўйинган эритмасидан солинади / кўк ранг йуқолади / ва колбадаги суяқликни йоднинг 0,01 н эритмаси билан микробретка оққали қайтадан кўк ранг ҳосил булгунча титрланади.

Сутка давомидаги сийдик таркибидеги пирозуум кислотасининг миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади.

$$x = \frac{Э \cdot A \cdot 0,01 \cdot B}{I}$$

Ҳунда: Э - пирозуум кислотасининг грами эквиваленти;

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

0,01 - йод эритмасини нормаллиги;

B - сутка давомидаги сийдикнинг миқдори, мл;

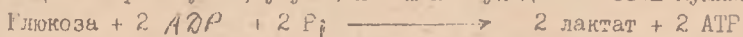
I - текшириш учун олинган сийдикнинг миқдори, мл

Гликолиз

Ушмоқларнинг гликоген ёки глюкозадан бошланиб, анаэроб парчаланиши натижасида сўт кислота ҳосил бўлиш жарафни гликогенолиз деб аталади. Бу жарафн мураккаб бўлиб, жуда кўп ферментлар иштирокида боради.

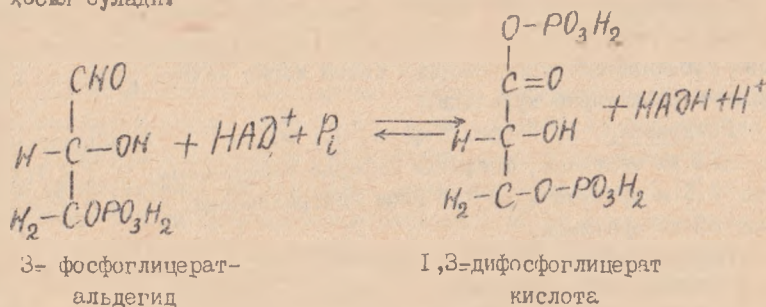
Гликогенининг анаэроб йўл билан парчаланишининг моҳияти,

глюкоза 2 молекула сўт кислотасига парчаланиши ва энергия ажралиб чиқишидан иборат бўлиб, умумий натижани куйидагича 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 фосфогилаза ферменти иштирокида боради. Реакция натижасида глюкоза = 1 = фосфат ҳосил булади, бунга фосфогликомутаза ферменти таъсир этиб, глюкоза = 6 = фосфатни ҳосил қилади. Глюкоза ва гликогендан глюкоза = 6 = фосфат ҳосил бўлгандан кейинги парчаланиш босқичлари бир хил боради.

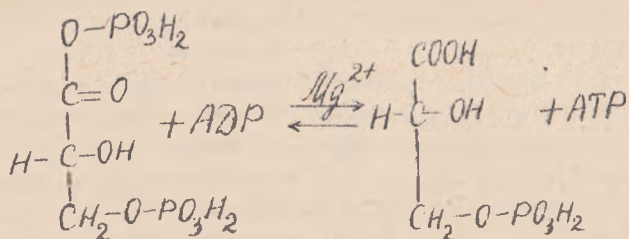
Гликолизнинг асосий реактивларидан бири фосфоглицератальдегиднинг оксидланиш реакцияси бўлиб, реакция глицератальдегид = 3 = фосфатдегидрогеназа ферменти иштирокида боради. Бу фермент мураккаб оқсил бўлиб, кофермент қисми никотинамидаденинни кушоёткидан (NAD^+) иборат. Бунда фосфогицерат = 3 = альдегид NAD^+ ва анорганик фосфор иштирокида ўзига хос оксидланиш реакцияси орқали 1,3 = дифосфогицерат ҳосил булади.



1,3-дифосфогицерат кислота фосфогицераткиназа ферменти иштирокида АДФ билан перефосфорланиш реакциясига кўришади, реакция натижасида 3-фосфогицерат кислота ва АТФ ҳосил булади.

Шундай қилиб, бу реакциялар натижасида фосфогицератальдегиднинг оксидланиш энергияси битта АТФ молекуласининг макроэргик фосфат боғи шаклида тупланеди.

Глицератальдегид = 3 = фосфатдегидрокиназа ферментига моно-подцетат ёки монобромцетат таъсир этирилса, фермент активлигини



3-фосфоглицерат кислота

йуқотади. Инкубацион аралашмага моноиоацетат қўшилса углеводларнинг парчаланиш реакцияси альдолаза босқичида тухтайди, чунки тупланган 3- фосфоглицератальдегид реакцияни фруктоза 1,6-дифосфат ҳосил бўлиши томон боришини таъминлайди.

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

Намуналарда гликолиз жараёни қандай борганлигини, инкубацион аралашмага моноиоацетат иштирокида ва уни қўшмасдан туриб, фруктоза 1,6-дифосфатнинг резорцин билан ҳосил қилган рангнинг интенсивлиги солиштириб кўрилади.

Реактивлар. 1. Фосфат буфери, 0,1 м, pH-7,6. 2. Гликогеннинг

0,5% ли эритмаси, фосфатли буферда тайёрланади. 3. CH_3COOH нинг 0,5 м эритмаси, pH-7,6 гача нейтралланади. 4. $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$ нинг 6% ли эритмаси.

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

Мускул гомогенатини тайёрлаш учун каламуш сўйилади. Мускулни бириктирувчи ёғ туқималаридан ажратилади ва чинни идишга солиб, муз ҳаммомига қўйилади. Сунг қайчи билан майдаланади ва ҳосил бўлган масса тортилади. Тортиб олинган мускул бутқасини гомогенизация қилиш учун гомогенизаторнинг стаканига солинади, 6-7 ҳажмда 1 г мускул бутқасига 6-7 мл/ совитилган фосфат буферилан қўйилади. 1-2 минут гомогенизация қилинади. Гомогенизация + 2⁰ + 4⁰ да олиб борилади. Ҳосил булган мускул гомогенати 4 қаватли дока орқали филтрланади ва тажриба учун ишлатилади.

Тажриба учун учта пробирка олинади. Биринчи пробиркага

мускул гомогенати қўшмасдан олдин 2 мл трихлорсирка кислотасидан солинади ва инкубация қилинмайди.

Тажриба олиб бориш учун қуйидаги схема тайёрланади.

Пробиркалар номери	Гликоген, мл	CH_2XCOOH 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 шиша 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 қилган рангли реакцияга асосланган. Бунинг учун учта пробирка номери 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 концентранган хлорид кислота (солиштирма оғирлиги 1,15) қўшилади. Сунгра шиша таёқча билан аралаштирилади ва 80° сув ҳаммомига 10 минут қўйилади. Намуналардаги пайдо бўлган рангнинг интенсивлигига қараб фруктозадифосфат ҳосил бўлганлигини билиш мумкин.

Ҳосил бўлган фруктозадифосфатнинг миқдорини аниқлаш учун калибланган график тузилади. График тузиш учун турли миқдордаги фруктоза тугувчи 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 390 нм тўлқин узунлигида курилади.

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 уқига, абсцисс уқига фруктозанинг миқдори қўйилади. Теклирилаётган намуналарнинг оптик зичлигига қараб, графикдан қанча миқдор фруктоза борлиги аниқланади.

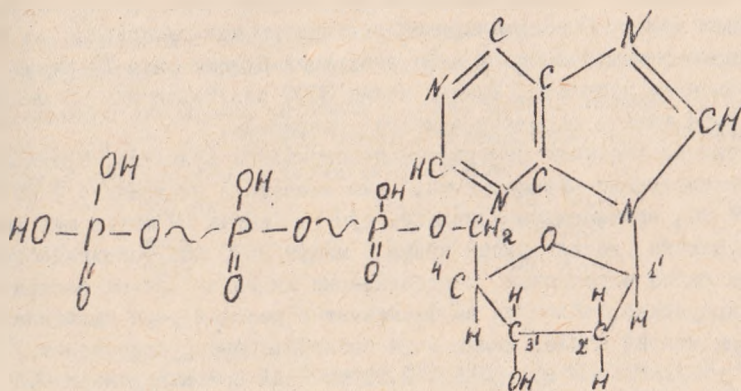
Намуналардаги фруктоза миқдорини аниқлаш учун, фруктозадифосфатнинг оптик зичлиги 1,9 коэффициентига кўпайтирилади. Шундан кейин графикдан тажриба намуналаридаги фруктоза миқдори ҳисоблаб топилади ва бу намуналарда гликолиз реакцияси қандай бorganлиги ҳақида хулоса ёзилади.

Тўқималардаги АТФ миқдорини аниқлаш

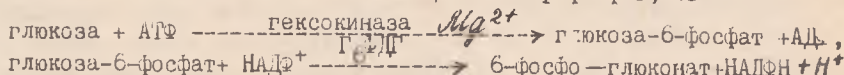
АТФ энергияга бой бўлган муҳим компонентдир. Макроэргрик боғлари, яъни ортофосфат орасидаги пирофосфат боғлари узилганда ҳар бири 1 моль ҳисобига 7000-8000 кал энергия ажратади.

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

Методнинг моҳияти. АТФ миқдорини тўқималарда аниқлаш Лампрехт ва Триггольд (1965) методига асосланган. АТФ гексокиназа иштирокида глюкозани фосфорлайди. Реакция натижасида глюкоза = 6-фосфат ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган глюкоза-6-фосфат глюкоза-6-фосфатнинг қисмига A_6P_6 учун субстрат ҳисобланади.



Аденозин трифосфат, АТФ



Реакция тенгламасидан кўриниб турибдики, реакция учун сарф булган АТФ ning миқдори, глюкоза = 6 = фосфатдегидрогеназа ферменти таъсирида ҳосил булган НАДН миқдорига эквивалент, яъни эквимолардир. У спектрофотометр билан 340 нм тулқин узунлигида улчанади. Бу метод билан яна реакциянинг оралик маҳсулоти, глюкоза-6-фосфат миқдорини ҳам улчаш мумкин.

Керакли асбоблар: центрифуга; спектрофотометр; суюқ азот; муз ҳаммоми; ҳавонча; 0,1 ва 2 мл ли пипеткалар.

Реактивлар. 1. HClO_4 кислотасининг 6% ли эритмаси. 2. K_2CO_3 ning 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.): 10–15 мг гексокиназани кристалидан олиб, 1 мл дистилланган сувда эритилади. 8. Глюкоза = 6 = фосфатдегидрогеназа (КФ 1.1.1.49) 3,3 М аммоний сульфатдаги фермент суспензиясини ишлатишдан олдин дистилланган сув билан 5–10 марта суюлтирилади. 9. Туқима.

Ишнинг бориши. Туқима суюқ азотда музлатилади ва ҳавончада эзилади. Эзилган туқимадан 500 мг олиб, олдиндан 1 мл 6% ли HClO_4 кислотасидан солинган центрифуга пробиркаларига солинади ва муз

хаммомида қўйилади. Намуналардаги туқима: кислота= 1:3,35 нисбатида 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.

Оқсилсиз экстракт центрифуга пробиркасига қўйилади. Ортикчи 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 бўлган 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 қюветасига (1 см) 2,5 мл учэтаноламин буферидан, 0,05 мл НАДФ эритмасидан ва 0,35 мл MgCl_2 эритмасидан солинади, сўнгра 0,1 мл туқима экстрактидан қўшиб аралаштирилади ва 3 минут кейин дастлабки оптик зичлигининг катталиги ўлчанади (E_1). Сўнгра намунага 0,05 мл глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа суспензиясидан қўшилади ҳамда 5 минутдан кейин оптик зичлиги (E_2) ўлчанади. Глюкоза-6-фосфатдегидрогеназа қўшиладигандан кейин намуна оптик зичлигининг ортиши туқима экстракти таркибидаги глюкоза-6-фосфатни оксидланишига боғлиқ.

Қюветага 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 бўлгандан (12-15 минутдан) кейин оптик зичлигини ўлчанади (E_4). 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 ўзгариши, ферментатив реакция системасида АТФ сарфланиши билан оптик зичлик ўзгаради, яъни $\Delta E = E_4 - E_3$ тенг, V - қюветадаги намунанинг охири ҳажми (3,5 мл). K - намунанинг 1 г туқимага нисбатан суюлтириш коэффиценти, бу ҳолатда суюлтириш коэффиценти 41,6 тенг. Суюлтириш коэффиценти қуйидагича ҳисобланади. 1 г туқимадаги оксилларни муқтисом учун 9 мл HClO_4 кислотаси қўйилади. Туқимадаги

сувнинг уртача миқдори ҳам ҳисобга олинади. 6,22-340 нм тулқин узунлигида пиридин нуклеотидларини қайтарилган формаларини микромоль экстинкция коэффиенти. Кюветани кенглик қавати 1 см. Экстинкцияларнинг фарқига қараб $\Delta \epsilon = \epsilon_2 - \epsilon_1$, намунадаги глюкоза-фосфатнинг миқдорини ҳисоблаш мумкин. Қуйида каламуш туқималари таркибидаги 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

VI боб. Липидлар

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

Липидлар бир қатор органик эритувчиларда, масалан - этанол, эфир, хлороформ, бензол ёки петролей эфирида яхши эрийди, сувда эса эримайди. Липидлар химиявий табиатига кўра бир неча гуруҳларга булинади:

I. Ёғ кислоталари.

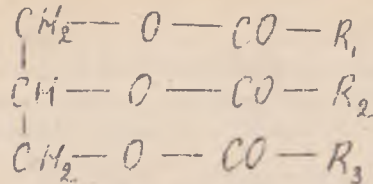
II. Глицеринли липидлар: а/ нейтрал ёғлар; б/ фосфоглицеридлар.

III. Глицеринсиз липидлар: а/ сфинголипидлар; б/ алифатик спиртлар ва мумлар; в/ стероидлар.

IV. Бошқа синф моддалари билан боғланган липидлар: а/ липопротеинлар; б/ протеолипидлар; в/ фосфатидпептидлар; г/ липоаминокислоталар; д/ липополисахаридлар.

Липидлар туқима ва ҳужайраларда муҳим функцияларни бажаради. Ёғлар организмда оксидланганда энергия ажралиб чиқади (1 г ёғ оксидланганда 9,3 ккал). Липидлар биологик мембраналарнинг структура элементи ҳисобланади. Организмда липидлар оксиллар билан комплекс бирикмалар - липопротеинлар ҳосил қилади.

Стеринлар қатор биологик актив моддалар - витаминлар, гормонлар, ўт кислоталарнинг ҳосил бўлишида иштирок этади. Ёғлар -уч атомли спирт глицерин ва юқори ёғ кислоталарининг мураккаб эфири-дир. Ёғлар қуйидаги умумий тузилишга эга:



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

Табиий ёғлар таркибига тўйинган ва тўйинмаган ёғ кислоталарининг қолдиқлари кирди / пальмитин, стерин, олеин, линолен ва бошқалар/. Таркибда бирдан эртик қўш боғ бўлган тўйинмаган ёғ кислоталар кўпинча ўсимлик мойларида, оз миқдорда ҳайвонлар ёғида ҳам учрайди. Ёғлар таркибидан тўйинмаган ёғ кислоталари - линоленат, арахионат - ҳужайрадаги оксидланиш - қайтарилиш жараёнларининг бориши учун ва шунингдек простагландинларнинг биосинтези учун муҳим роль ўйнайди.

Ёғларнинг сифат реакциялари

1. Ёғларни эрувчанлигини аниқлаш.

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

Реактивлар. 1. Ўсимлик мойлари /пахта, каноп ва бошқа мойлар/.
2. Қаттиқ ёғлар /қўй, мол/. 3. Этил спирти. 4. Бензол. 5. Хлороформ. 6. Дистилланган сув.

Ишнинг бориши. 8 та пробирка олиб, 4 тадан икки қатор қилиб қўйилади. Биринчи қатордаги пробиркаларга 6-8 томчидан ўсимлик мойдан, иккинчи қатордаги пробиркаларга бир бўлақдан 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, тўртинчи пробиркага эса 2 мл дан хлороформ солинади. Ҳамма пробиркалар чайқатилади ва ёғларни эритувчиларда ҳар хил эрувчанлиги кузатилади.

2. Ёғларни эмульсияланиши.

Ёғлар сув билан тургун бўлмаган эмульсия ҳосил қилади, бир неча минута қолдирилганда тезда қатламланади. Ут, оксиллар, фосфатлар /лецитин/, натрий ва калий карбонатлар таъсирида ёғлар тургун эмульсия ҳосил қилади, освуллар таъсирида эса эрийди.

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

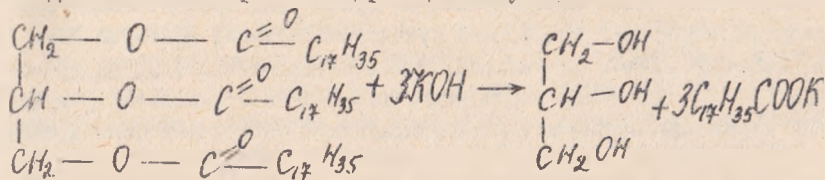
натив.

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

Ишнинг бориши. Олтита пробирка олинади. Биринчи ва иккинчи пробиркаларга 1 мл дан сув, учинчига 1 мл ут, тўртинчисига 1 мл оксил, бешинчисига - 1 мл совун, олтинчисига эса 1 мл натрий карбонат эритмасидан солинади. Иккинчи пробиркага эса бир булак лецитин слинади. Ҳар бир пробиркага 3-5 томчи усимлик мойидан қуйилгач яхшилаб чайқатилади ва қайси пробиркада эмульсия ҳосил бўлганлиги белгиланади.

Ёглари совунланиш сони аниқлал. 1 г мой таркибидаги эркин ва боғланган ёг кислоталарни нейтраллаш учун сарфланган калий ишқорининг миллиграммидаги миқдори ёглarning совунланиш сони деб аталади.

Ёғлар химиявий жиҳатдан бирмунча тургун бирикмалардир, лекин ишқор таъсирида гидролиз қилинганда эфир боғлари осон узилиб, натижада ёг кислоталар ва глицерин ҳосил булади.



Ёғ ва мойларда совунланиш сони қуйидагича бўлиши мумкин:
 мол ёғи - 190-200, қуй - 192-198, қучқа - 193-200, кансп мойи - 187-195.

Керакли асбоблар. 50 мл ли қолба; ҳаво совутгичли пробка; бюретка; 2,1,5 мл ли пипеткалар; сув ҳаммоми.

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

Ишнинг бориши. Биринчи қолбага (таҳриба намунаси) 0,5 г усимлик мойи ёки ҳайвон ёғи, иккинчи қолбага (контрол намунаси) - 0,5 мл дистилланган сув ва ҳар бир қолбага бюретка оркали 15 мл 0,5 н калий гидроксидини эритмасидан солинади. Қолбани ҳаво совутгичли тикан билан беркитилади ва 30-40 минут қайнаб турган сув ҳаммомида

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

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

Бунда: X - совунланиш сони; v - контрол намунани титрлаш учун сарф булган 0,5 н хлорид кислотаси эритмасининг ҳажми, мл; a - тажриба намунасини титрлаш учун сарф булган 0,5 н хлорид кислота эритмасининг ҳажми, мл; 28,05 - калий гидроксидининг молекула миқдори булиб, бу 1 мл 0,5 н хлорид кислотасининг эритмасига тўғри келади; K - 0,5 н хлорид кислотаси эритмасининг титрини тўғрилаш коэффициенти; 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 булса, ёғ шунча суюқ бўлади. Баъзи бир ёғлар ва мойларнинг йодли сони қуйидагича бўлади; молларда 33-46, қуйларда 31-46, чўчқаларда 50-70, пахта мойида 110, зигир мойида 174. Бу сон ёғлар таркибидаги туйинмаган ёғ кислоталар миқдорини кўрсатади, чунки йод молекуладаги қуш бог ўрнига 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 ўлчаб олиб, иккинчи колбага (контрол намунаси) /-

0,1-0,2 мл сув солинади ва ҳар иккала колбага 5 мл дан спирт қўшилади. Мой эригандан кейин колбаларга пипетка билан 10 мл 0,1 н йоднинг спиртдаги эритмасидан қўшиб, колба пробка билан беркитилади ва **чайқатилади** ҳамда 15 минут қоронги жойда сақланади. Сўнг-ра 0,1 н натрий гипосульфит эритмаси билан оч сариқ ранг ҳосил бўлгунча титрланади, кейин 1 мл 1% крахмал эритмасидан қўшиб кўк ранг йўқ бўлгунча титрланади.

Йодли сон $(x, г)$ қуйидаги формула билан аниқланади:

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

Бунда: b - контрол намунани титрлаш учун сарф бўлган 0,1 н натрий гипосульфит эритмасининг ҳажми, мл; a - тажриба намунасини титрлаш учун сарф бўлган 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 ёғ учун ҳисоблаш коэффициенти; C - олинган ёғнинг оғирлиги, г.

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

Бу сон ёғнинг сифатини ифодаловчи **ЭНГ** муҳим курсаткичлардан 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 йиғилади. Кислотали соннинг юқори бўлиши ёғнинг сифатини пасайтишига олиб келади.

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

Реактивлар. 1. Этил спиртининг диэтил эфири билан аралашмаси $(1: \frac{9}{1})$, 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 ўсимлик мойи, 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 бўлгунча** қўшилади.

Кислотали сони қуйидаги формула билан ифодланади:

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

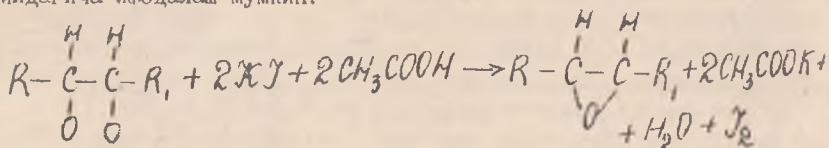
Бунда: x - кислотали сони, мг; a - текширилаётган намунага титрлаш учун сарф булган 0,1 н калий гидроксиди эритмасининг ҳажми, мл; 5,6 - 1 мл 0,1 н калий гидроксиди эритмаси таркибидаги калий гидроксидининг миллиграммдаги миқдори; X - 0,1 н калий гидроксиди эритмасининг тўғрилаш коэффициенти; C - олинган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

Ёғларнинг перексидли сонини аниқлаш

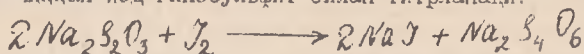
Ёғлар таркибидаги кислоталар липооксидаза ва ҳаводаги кислород, намлик, эрурглик иштирокида қисман оксидланади.

Перексидли сони, 100 г ёғдаги перексидларнинг миқдорини кўрсатиб, у ёғнинг грамм миқдори билан белгиланади.

Методнинг принципи. Перексидли сонини аниқлаш шунга асосланганки, кислотали шарситда 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; I ва 2 мл ли пипеткалар;

Реактивлар. 1. Сирка кислота. 2. Калий йоднинг туйингай 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 қўшилиб, яхшилаб аралаштирилади ва 3 минут қолдирилади. Сунгра ажралиб чиққан йодни 0,01 н гипосульфит эритмаси билан сариқ ранг ҳосил булгунча титрланади, кейин

колбаларга I мл дан I% ли крахмал эритмасидан қўшиб, кук ранг йу-колгунча титрланади.

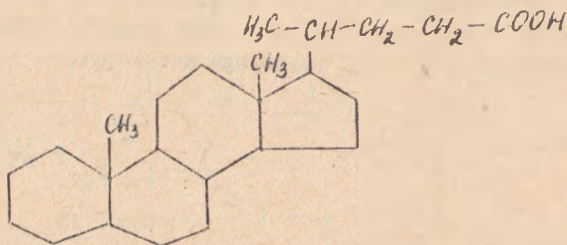
Перексидли сони қуйидаги формула билан ҳисобланади:

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

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

Ўт кислоталарининг сифат реакцияси

Ўт кислоталари стероид тузилишга эга бўлиб, тула тўйинган стерил ҳалқаси ва 5 углеродли ён шохчадан тузилган. Ўт кислоталарининг тузилиши хлестеринга ўхшаш бўлиб, холанат кислотасининг ҳосилларидир.



Холанат кислота

Ўт таркибида асосан холат кислота, цезоксихолат кислота, митохондат кислота, хенодесоксихоланат кислоталари учрайди. Бу ўт кислоталар эркин ҳолда булмай, глицин ёки таурин билан бирикиб, ўш кислоталар шаклида ўт таркибига киради. Уларнинг энг муҳимлари гликохолат, гликодесоксихолат, таурохолат ва тауродесоксихолат кислоталаридир. Ўт таркибига кирувчи ўт кислоталари ёғларнинг ҳазм қилиш жараёнларида муҳим функцияларни бажаради. Улар эмульгаторлар ҳисобланади, липазни активлайди ва ёғ кислоталарининг сурилиш жараёнида иштирок этади.

Ўт кислоталарини очиқда оксиметилфурфурол қўлланилиб, у ўт кислоталари билан қизил ранг ҳосил қилади. Оксиметилфурфурол фр. кислота билан концентрданган HCl ёки H_2SO_4 кислота таъсир этганда

ҳосил бўлади.

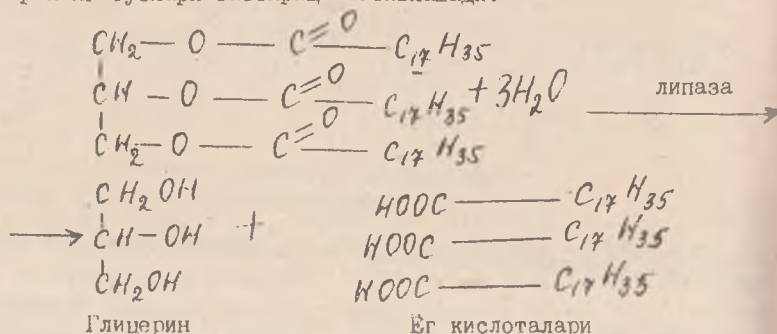
Керакли асбоблар: 1, 2 мл ли пипеткалар пробиркалари билан штатив.

Реактивлар. 1. Утнинг суви эритмаси 1:2/; 2. Сахарозанинг 5% ли эригмаси ёки фруктозанинг 3% ли эритмаси; 3. Концентрланган сульфат кислота.

Ишнинг бориши. Куруқ пробиркага 10 томчи суултирилган ут суюқлиги 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 ҳосил бўлади, кейин қизил бинафша рангини ҳосил қилади.

Липаза активлигига утни таъсири

Сутга озроқ липаза қўшилади ва фенолфталеин иштирокида аралашма пушти ранг ҳосил қилгунча ишқор қўшилади, кейин 37° ли сув ҳаммомига қўйилганда суюқлик аста-секин рангсизланади. Ут қўшилганди рангсизланиш тезлашади. Бу шундан далолат берадики, липаза ут кислоталарининг тузлари таъсирида активлашади.



Глицерин

Ғ кислоталари

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; сув ҳаммоми.

Реактивлар. 1. Қайнатилган сут сувда суултирилади. 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 тозаланади, майда қилиб қирқилади ва 5 марта кўп сув қушиб ҳавончада эзилади. Ҳосил бўлган экстракт дека орқали филтрланади.

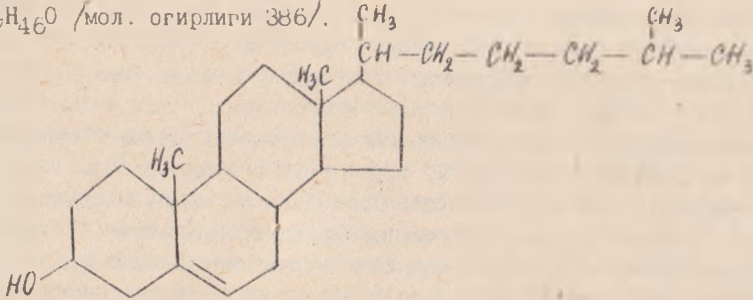
Ишнинг бориши. Иккита пробиркага 1 мл сут солинади ва 1-2

томчидан фенолфталеин эритмасидан қўйилади. Ҳар бир пробиркага то пушти ранг ҳосил бўлгунча натрий карбонат эритмасидан томчи-лаб қўйилади ва айни пайтда 2-4 томчи липаза экстрактидан солина-ди. Биринчи пробиркага бундан ташқари 1-2 томчи ут қўйилади. Про-биркалардаги суяқликлар **чайқатилиб**, 37°C сув ҳаммомига қўйилали, фенолфталеинни утли ва утсиз тажрибаларда рангсизланиш вақтини кузатилади.

Орган ва туқималарда холестерин миқдорини

аниқлаш

Холестерин – циклопентанопергидрофенантренни ҳосиласи бўлиб, таркибида 27 углерод атоми тутациган куп ҳалқали тўйинмаган спирт-дир. Холестерин структурасидаги 3-углерод атомида битта гидроксил, 5 ҳамда 6- углерод атомлари орасида битта қўшбоғ, 10 ва 13 углерод-ларда CH_3 /метил группаси/ группалари, 17- углерод атомида 8 угле-родли углеводород занжири бор. Холестеринни эмпирик формуласи – $\text{C}_{27}\text{H}_{46}\text{O}$ /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 кўпаяди.

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

булган хужайра мембраналарининг тузилишида иштирок этади.

Методнинг принципи. Холестерин миқдорини аниқлаш Либерман-Бунхарднн рангли реакциясига асосланган. Холестериннинг хлороформли эритмаси сирка ангидриди ва концентрланган сульфат кислотаси билан яшил ранг ҳосил қилади, ранг ҳосил бўлишининг интенсивлиги холестерин концентрациясига пропорционалдир.

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

Реактивлар. 1. Этанол-двэтилэфир аралашмаси 3 : 1 нисбатда, 2. Хлороформ. 3. Сирка ангидриди ва концентрланган сульфат кислотаси. 4. Холестериннинг стандарт эритмалари, бу эритманинг 1 мл да 0,1 мг холестерин бор.

Ишнинг бориши. Майда қилиб қирқилган жигар ёки буйрак тўқимасидан 200-300 мг улчаб олиб, ҳажми 25 мл булган қопқокли колбага солинади ва 15 мл спирт эфирли аралашмадан қўшилади. Колбадаги суяқлик аралаштирилгач, қайнатиб олинади. Аралашма қайнагунча сув ҳаммомида қолдирилади. Аралашма совугандан кейин колбага яна спирт-эфирли аралашмадан колба белгисигача қўшилади. Колбадаги аралашма чайқатилади, сўнгра фильтр қоғоз орқали фильтрланади ва қайнаб турган сув ҳаммомида қуригунча парланттирилади.

Парланттириб бўлгандан 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 N_2SO_4 қўшилади. Яхшилаб аралаштирилган аралашма 30 минут қоронги жойда қолдирилади. Ҳосил бўлган рангнинг интенсивлиги оптик зичлик катталигига қараб аниқланади. Оптик зичлиги спектрофотометрда 656 нм тўлқин узунлигида улчанади. Холестерин миқдори калибрланган графикдан аниқланади, калибрланган графикни тузиш учун холестериннинг стандарт эритмасидан турли концентрация олиб, рангли реакцияси бажарилади ва оптик зичлиги улчанади.

Тўқимадаги холестерин миқдори (мг % да) қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$X = \frac{m \cdot V_2 \cdot 100}{V_1 \cdot V_3}$$

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

$\frac{V_2}{V_3}$ - холестерин хлороформдаги эритмасининг умумий ҳажми (10 мл),
 $\frac{V_2}{V_3}$ - рангли реакция учун олинган холестериннинг хлороформдаги эритмаси (5 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 қолдиқлардан сув ёки кучсиз тузларнинг эритмаси билан ювилади, қуритилади ва липидлар чўкмаси аналитик торозиларда ўлчанади. Умумий липидларни аниқлаш Кейте М. (1975) методига асосланган.

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

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

Ишнинг бориши. Центрифуга стаканларига 1 мл қон плазмаси ва 3,75 мл 1-аралашмадан солинади, сунг 30-60 минут давомида чайқатилиб турилади. Сунгра 10 минут 3000 айл/мин тезликда центрифуга қилинади ва экстрактни бошқа пробиркага солинади. Чўкмага 4,75 мл 2-аралашмадан қўшиб экстракция қилинади ҳамда иккала экстрактларни қўшиб юборилади. Шу экстрактга 2,5 мл хлороформ ва 2,5 мл дистилланган сув қўшилади. 10 минут 3000 айл/мин тезликда центрифуга қилинади. Хлороформли кават шприц ёки пипетка билан олинади ва бошқа идишга солинади, ҳажми аниқлангач тенг ҳажмда бензол қўшилади. Хлороформли липидлар эритмаси олдиндан оғирлиги ўлчанган бюксларга ёки стаканларга солинади ва термостатга 60° С га қўйилади. Қуритиш доимий оғирликка эга булгунча давом эттирилади.

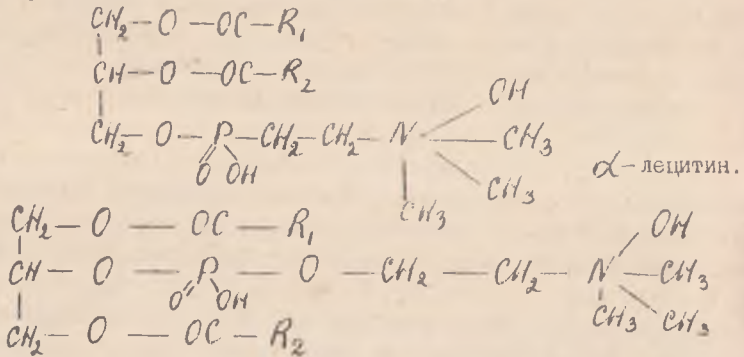
Липид чўкмасининг оғирлиги аналитик торози билан ўлчанади ва улчаб олинган туқимадаги липидларнинг миқдори процент ҳисобида қуйидаги формула билан ҳисобланади.

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

Бунда: m - липидлар чукмасининг оғирлиги, n ; P - липидларнинг анализ қилиш учун олинган туқиманинг оғирлиги, g ;

Товуқ тухуми саригидан лецитинни ажратиб олиш

Лецитин фосфоглицеридларга /фосфатидилхолинларга/ киради. Лецитин гидролизланганда глицерин молекуласи, икки молекула ёғ кислотаси, фосфат кислота молекуласи ва азотли асос холинга ажралади. Холинфосфат кислотаси қоддиганини ҳамла таркибиданги ёғ кислоталарининг бирикшига қараб α ва β - лецитинларга бўлинади.



Бунда: β - лецитин; R_1, R_2 - ёғ кислоталарининг қоддиқлари.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; 100 мл ли стакан, шиша таёқча.

Реактивлар. 1. Товуқ тухумининг сариги. 2. Этил спирти. 3. Ацетон. 4. Кадмий хлориднинг тўйинган эритмаси /спиртда тайёрланади/.

Ишнинг бориши. Стаканга тахминан $1/5$ - $1/6$ тухум саригидан солинади ва шиша таёқча билан аралаштириб туриб 10 мл иссиқ спирт кўшилади. Стакандаги суюқлик совуридан кейин қуруқ пробиркага филтрланади. Филтрат тиник бўлиши керак.

Лецитиннинг шу спиртли филтрати билан бир қатор реакциялар бажарилади.

1. Ацетон билан чуқтириш. Қуруқ пробиркага 2-3 мл ацетон солиниб, лецитиннинг спиртдаги эритмасидан томчилаб кўшилади. Ишнинг бориши ҳосил булади, сабаби лецитин ацетонда эрмайди.

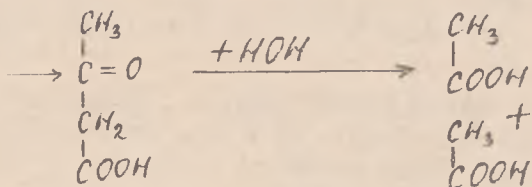
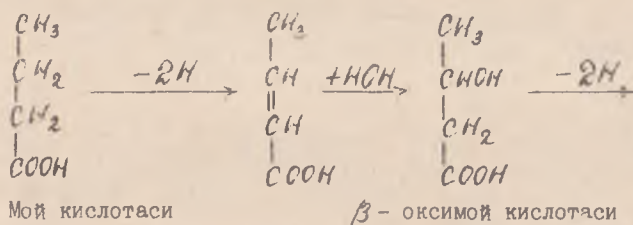
2. Лецитиннинг эмульсия ҳосил қилиши. Бунинг учун пробир-

кага 2-3 мл лецитиннинг спиртдаги фильтратдан солиб, томчилаб дистилланган сув қўшилади. Натижада лецитиннинг сувдаги тургун эмульсияси ҳосил бўлади.

3. Кадмий хлорид билан чўктириш. Пробиркага I мл лецитиннинг спиртдаги эритмасидан солиб, томчилаб кадмий хлориднинг эритмасидан қўшилади. Лецитин кадмий хлорид билан ҳосил қилиб, оқ ҳолида чўкмага тушади.

Сийдикда ацетонли таначаларни аниқлаш

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



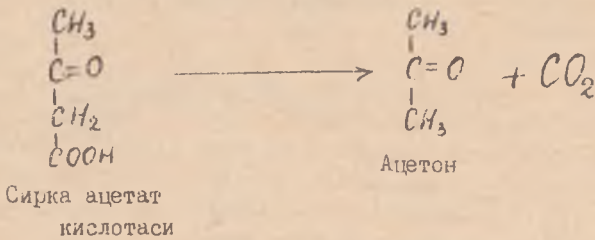
Сиркаацетат кислотаси

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, яъни организмда углеводлар запаси камайганда ёғларнинг оксидланиши тезлашиб, кетон таналар миқдори ортиб кетади. Натижада туқималарда ва қонда β - оксимой кислотаси ва сирка кислотани

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

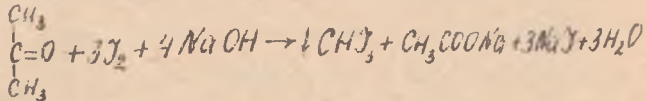
Ацетон сиркаацетат кислотаси ва β - оксимой кислотаси, аце-
тон ёки кетон танаҷалари деб аталади. Ацетон танаҷаларининг қонда
ва сийдикда ортиб кетиши биохимиявий метод билан аниқланади.



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 қўшилади/.

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



Пробиркага 1 мл текширилаётган сийдикдан солинади ва 1-2 том-
чи ватрий ишқорининг эритмасидан ва 3-4 томчи йодни калий йоддаги
эритмасидан солинади. Реакция натижасида сарик чуқма ва йодофор-
манинг характерли ҳиди ҳосил бўлади.

Сирка ацетат кислотасининг сифат реакцияси

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

Реактивлар. 1. Темир хлориднинг 1% ли эритмаси. 2. Сийдик тар-
кибида сирка ацетат кислотаси бўлган /0,5 л сийдикка/ 1 г салицил
кислотаси қўшилади.

Ишнинг бориши. Пробиркага I мл текшириладиган сийдикдан соли-
нади ва томчилаб темир хлорид эритмасидан қўшилади. Натижада
олча қизил ранг ҳосил бўлади.

III боб. Ферментлар

Ферментлар тирик организмларнинг ҳамма ҳужайралари ва туқима-
ларининг таркибига кириб, биологик катализаторлик вазифасини ба-
жарадиган специфик оксиллардир. Тирик организмларнинг фаолияти
ферментларга боғлиқдир. Организм билан ташқи муҳит уртасидаги мод-
далар алмашинуви жараёнларида ферментларнинг гоят катта аҳамияти
бор. Одам ва ҳайвонларнинг ҳазм йўлидаги гидролитик жараёнлар
37°C га яқин тана ҳаётарида урта кислотали /бошқозонда / ёки суёт
ишқорий реакциялар /ичақда/ етарлича содир бўлади. Ҳазм ширалари-
нинг таркибида махсус ферментлар /пепсин, трипсин, липаза ва бош-
қалар/ бор. Озиқ моддаларнинг ҳужайраларда истеъмол қилиниши,
юқори молекулали моддалардан химиявий энергия ажралиши, туқималар-
нинг кислород қабул қилиши, CO_2 ҳосил бўлиши ҳамда туқима ва ҳужай-
ралардаги бошқа процесслар ҳам ферментлар иштирокида боради.

Ферментлар бир қатор умумий хусусиятларга эга. Шулардан бири
ферментлар оксил хоссасига эга бўлиб, жуда беқарордир /лабиль/,
ташқи муҳит узгаришига жуда ҳам сезгирдир. Ферментларнинг ҳам ок-
силларга хос юқори молекула оғирлиги, амфотерлик ва маълум изозлек-
трик нуктага эга, турли таъсирот 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
апофермент, оксил бўлмаган қисми кофермент деб аталади. Кофермент-
ларга турли металл ионлари, нуклеотидлар, витаминлар, гемин груп-
паси ва бошқа бирикмалар киради. Масалан, ҳужайра нафас олишининг
асосий ферментлари - цитохромлар, каталаза, пероксидазаларнинг
простетик группаси - металлопорфиндан иборат.

Ферментларнинг ҳаммаси 6 та асосий синфга бўлинади.

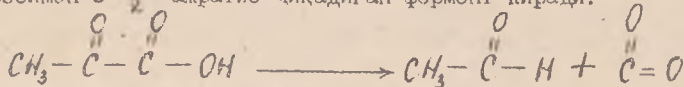
I-синф - гидролазалар. Бу синф ферментлари сув иштирокида молекулалар ичидаги боғларни узиш йўли билан ҳар хил бирикмаларнинг гидролиз жараёнларини таъминлайди.

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

II = синф - трансферазалар. Бу синфга кирувчи ферментлар айрим функционал группаларни молекулалар ўртасида кучиришни таъминлайди. Масалан, аминотрансферазалар - амин группаларини $(-NH_2)$, метил-трансферазалар метил группаларини $(-CH_3)$ кўчиради; креатинкиназа креатинфосфат ҳосил бўлишини катализлайди, гексокиназа гексоза молекуласига фосфат группасини кўчирувчи вазифасини бажаради ва ҳоказо.

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

IV = синф - лиазалар. Лиазалар қандай бўлмасин бирор группани субстратдан гидролитик булмаган йўл билан ажратиб оладиган ферментлардир. Бу синфга кирувчи ферментлар жумласига, масалан, пируват-декарбоксилаза, яъни пирувуз кислотасидаги $-C-C-$ боғини узиб, газсимон $C O_2$ ажратиб чиқадиган фермент киради:

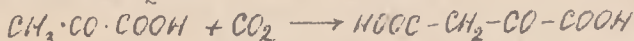


Лиазалар моддалар алмашинуви жараёнларида жуда муҳим роль уйнайди. Масалан, туқима нафас оlishида, карбонат ангидрид ҳосил бўлишида лиазалар иштирок этади.

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 синтетазалар. Аденозинтрифосфат (ATP) ва аналогларининг парчаланиш энергияси ҳисобига синтез реакцияларини лигаза ферментлари катализлайди. Бу синфга мисол

килиб ацил - K_2A - синтезаза, пируваткарбоксилаза ва бошқаларни олиш мумкин. Пируваткарбоксилаза иштирокида пирувум кислотага АТФ қатнашуви билан CO_2 бирикиб, оксалоацетат кислота ҳосил булади.



Ферментларнинг термолабиллиги

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

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

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

Реактивлар. 1. Суюлтирилган сулак /огиз дистилланган сув билан чайиб ташланади, кейин оғизга 10-15 мл сув олиб 2-3 минут ушлаб турилади 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. Мис сульфатнинг ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 5% ли эритмаси.

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

Йоддан эритмасидан солинади, Б қатордаги пробиркаларга эса 20% ли натрий илқоридан 2-3 мл ва 3-4 тамчи 5 % ли мис сульфат эритмасидан солиб қиёздирилади, яъни Троммер реакцияси бажариледи. Таърибада олинган натижалар жадаалга ёзилади ва ферментларнинг термобиллиги хақида хулоса қилинади.

Пробиркаларнинг номери	Фермент	Таъриба шароити	Субстрат	Инкубация	А қатор пробиркалари	
					Йод билан ҳосил бўлган ранг	Троммер реакциясининг натижаси
1	Амилаза	Денатурацияга учраган фермент	Крах- мал	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 ҳосилиги

Ферментлар биологик катализаторлар бўлиб, улар узига хос таъсир қилиш хусусиятига эга. Уларнинг бундай узига ҳосилиги тирик организмларга хос 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 хос моҳияти, фермент субстратга қалит қўлға тушгандай мос келиши зарур.

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

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив: пипеткалар; термостат, спирт лампаси.

Реактивлар. 1. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 2. Сахарозанинг 2% ли эритмаси. 3. Суюлтирилган сулак. 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 суюлтирилган сулак /амилаза/, иккинчи ва тўртинчи пробиркаларга 2-4 мл сахароза ферменти солинади, сунгра пробиркаларни чайқатиб, 20 минут 37°C ли термостатга инкубация учун қўйилади. Инкубациядан кейин 1 ва 2-пробиркаларга 1-2 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, қонда, 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 гидролизининг маҳсулоти (мальтоза ва глюкоза) йод билан кук рангни ҳосил қилмайди. Троммер реакциясида эса моносхаридлар, эркин карбонил группасига эга бўлган 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 суултирилгани). 2. Крахмалнинг 1% ли эритмаси. 3. Йоднинг калий йоддаги эритмаси. 4. Натрий ишқорининг 20% ли 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 суултирилган сулак эритмасидан қўшилади. Пробиркалар чайқатилади ва сув ҳаммомига ёки термостатга 37°C да 20 минут қолдирилади. Инкубациядан сўнг, I-пробиркадаги суюқликни иккига бўлиб, а ва б пробиркага солинади. 2 пробиркадаги суюқликни ҳам а¹ ва б¹ пробиркаларга бўлинади. Пробиркалар а ва а¹ га 2-4 томчи йоднинг калий йоддаги эритмасидан солинади, б ва б¹ пробиркаларга эса 1-2 мл натрий ишқорининг 20% ли эритмасидан, 3-4 томчи мис сульфатнинг 5% ли эритмасидан солиб қиздирилади. Тажриба натижалари асосида хулоса қилинади ва натижалар жадвалга ёзилади.

Пробиркалар номери	Субстрат	Фермент	Инкубация 37°C	Йод билан реакцияси	Троммер Реакцияси
--------------------	----------	---------	----------------	---------------------	-------------------

1 Крахмал Сув 20 мин. а
(контрол)

2 Крахмал Амилаза 20 мин. а¹

Ферментлар активлигига муҳит рН нинг таъсири. Ферментларнинг характерли хусусиятларига уларнинг муҳит рН нинг ўзгаришига сезгирлиги киради. Ферментларнинг активлиги рН қийматига 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 ўзгариши 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 борили. 8 та пробиркага 1 мл дан дистилланган сув солинади, сунгра 1-пробиркага 1 мл 0,2 н ли хлорид кислотаси эритмасидан қушилади ва аралаштирилади. Сунгра шу пробиркадаги суякликдан 1 мл олиниб, 2-пробиркага солинади ва аралаштириб, ундан ҳам 1 мл олинади-да, 3-пробиркага қуйилади ва ҳоказо. 8-пробиркадан 1 мл олиб тукиб ташланади. Шундай қилиб, хлорид кислотанинг ҳар хил концентрацияси ҳосил қилинади, улар муҳитнинг ҳар хил рН қийматига туғри келади. Шундан кейин ҳар бир пробиркага 2 мл дан 1 % ли крахмал эритмасидан ва 1 мл дан суялтирилган сулак эритмасидан қушилади, пробиркалар э чайқатилади ва 20 минут 37°C да термостатга қуйилади. Совугандан кейин ҳамма пробиркаларга 1-2 томчидан 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 ингибаторлар таъсири. Ферментатив реакцияларнинг активлигини оширувчи моддалар активаторлар деб аталади. Купинча катионлар активаторлик вазифасини бажаради. Махсус активаторларга Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Zn^{++} , Cu^{++} каби металл катионлари киради. Анионлар ҳам бир қатор ферментлар активлигига таъсир қилади. Масалан, аденозинтрифосфатаза ферментининг активлиги K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{++} катионлари, амилаза ферментининг активлиги хлор, йод, бром анионлари таъсирида анча ортади.

Ферментатив реакцияларнинг активлигини пасайишига олиб келувчи моддалар ингибаторлар дейилади. Ингибатор субстрат билан фақат

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

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; термостат.

Реактивлар. 1. Суултирилган 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 суултирилган сулак қўйилади ва пробиркалар чайқатилади.

Тажриба натижаларидан хулоса килиниб, жадвалга ёзилади.

Активатор ва ингибиторларнинг сулак
амилазаси активлигига таъсири

Пробиркалар номери	Фермент	Субстрат	Эффектор	Инкубация	Йод қўшигандан кейин эритманинг ранги
1	Амилаза	Крахмал	NaCl	20 мин, 37°C	
2	Амилаза	Крахмал	CuSO_4	20 мин, 37°C	

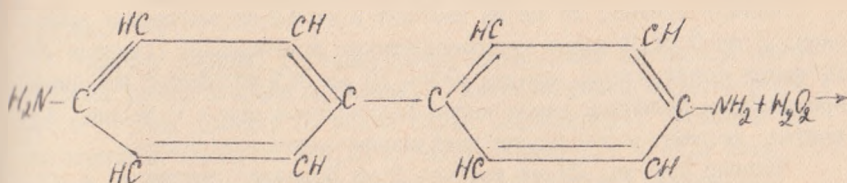
Пероксидаза активлигини аниқлаш

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

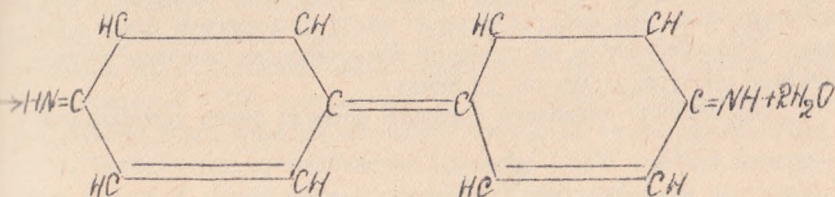
Методнинг принципи. Пероксидаза бензидинни дифенохинонди-мигача оксидлаш реакцияларини каталиэлайди:

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

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

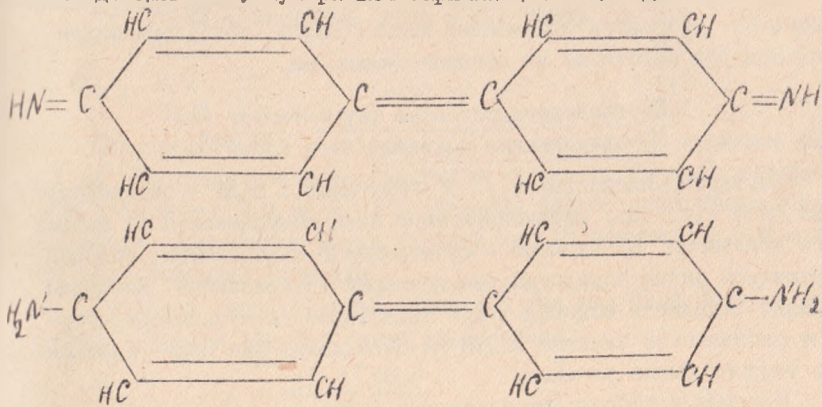


Бензидин



Дифенохинондиимин

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



Бензидин куки

- Бензидиннинг сирка кислотадаги эритмаси. 3. Водород пероксици-
нинг 3% ли эритмаси. 4. Натрий ишқорининг 30% ли эритмаси.
5. 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 қўшилади ва 10 минут қолдирилади, шундан кейин 10 мл 30% ли натрий ишқорини эритмасидан солинади ҳамда колба белгисигача спирт куйилади. Бу эритма фермент активлигини аниқлашдан олдин тайёрланади.

Ишнинг бориши. 25 мл колбага 2 мл бензидин эритмаси, 2 мл 3% ли водород пероксида ва 1 мл суълтирилган қон солинади. Колба чайқатилгач, 3 минутдан кейин 10 мл 30% ли натрий ишқори эритмасидан қўшилади ва колба яна чайқатилади. Буялган чўкма ҳосил бўлади, уни спиртта эритгач колба белгисигача спирт қўшилади. Текшириляётган ва стандарт эритмалардаги рангнинг интенсивлиги спектрофотометрда улчанади.

Ферментнинг активлиги қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$X = \frac{k_2 \cdot 25}{k_1 \cdot 5}$$

Бунда: k_1 - стандарт эритманинг оптик зичлигининг энтөнкияси;
 k_2 - текшириляётган эритманинг оптик зичлигининг энтөнкияси; 25- колбадаги эритманинг ҳажми, мл; 5- колбадаги бензидин, водород пероксида ва қоннинг ҳажми, мл.

Глутаматдегидрогеназа ферментининг активлигини аниқлаш

Глутаматдегидрогеназа / α -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 кўчирилади. Фермент активлигини аниқлаш НАДФН ни оксидланиш ёки НАДФ⁺ қайтарилиш тезлиги билан улчанади.

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

Реактивлар: 1. 0,25 M сахароза эритмаси. 2. 0,05 M Mg^{2+} , K - фосфатли буфер, pH 8,2. 3. 0,5% ли тритон X-100 эритмаси, Mg^{2+} , K - фосфатли буферда тайёрланади. 4. 0,25 M сахароза трис-HCl буфери, pH 8,2. 5. 10^{-3} M ЭДТА эритмаси. 6. 18×10^{-4} M

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

Ишинг бориши. Глутаматдегидрогеназининг активлиги митохондрия фракцияларида аниқланади. Митохондрияни ажратиш учун 0,5 г туқима олинади ва қайчи билан майдаланади. Туқимани гомогенизация қилиш учун 0,25 М сахарозанинг 0,1 М ЭДТА даги эритмаси ишатилади. Туқиманинг 1:10 нисбатдаги гомогенати тайёрланиб, 1200 айл/мин да 10 минут центрифуга қилинади. Чүкми ташлаб юборилади, суяқлик қисмини 12000 айл/мин да 10 минут центрифуга қилинади. Олинган чүкма икки марта 0,25 М сахароза эритмаси билан ювилади, шундан кейин трихон Х - 100 эритмаси билан митохондриянинг мембранаси бузилади, бунинг учун 1 мл тритон Х - 100 эритмасидан ва 1 мл митохондрия фракциясидан олиниб гомогенизация қилинади, сунгра 20 минут музга қуйилади. Митохондрия суспензиясини 30 минут 12000 айл/мин центрифуга қилинади. Чүкма ташлаб юборилади, суяқлик билан глутаматдегидрогеназининг активлиги аниқланади.

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

0,25 М сахароза, трис = HCl буфер	0,6
ЭДТА	0,8
Сув	1,7
НАДФ	0,1

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

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

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

Бунда: $\Delta \varepsilon$ - 1 минут давомидаги эритманинг оптик зичлигининг фарқи; V - намунанинг умумий ҳажми /3 мл/;

λ - намунадаги оксилнинг миқдори, мг; 6,22 - қайтарилган пиридиннуклеотидлар формасининг 340 нм тўлқин узунлигидаги микроляри экстинкция коэффициенти;

Уш боб. Витаминлар

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

Организмда қандайдир витаминнинг бутунлай бўлмаслиги авитаминозга, яъни бутун организмнинг маълум витаминнинг йўқлигига характерли белгилар билан касаллигига сабаб бўлади. Кўпинча витаминларнинг қисман етишмовчилик ҳоллари - гиповитаминозлар учрайдилар, улар бирламчи ва иккиламчи бўлиши мумкин. Витаминлар ҳаддан ташқари кўп истеъмол қилинганда организмнинг интоксикацияси руи беради, бу гипервитаминозлар деб аталади.

Ҳозирги вақтда айрим витаминлар ва уларнинг хиллари уттизга яқин. Витаминлар овқатнинг турли компонентларига боғлиқ бўлишига қараб, фақат эрувчанлиги асосида, иккита катта группага; сувда эрийдиган ва ёғда эрийдиган витаминларга бўлинади.

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

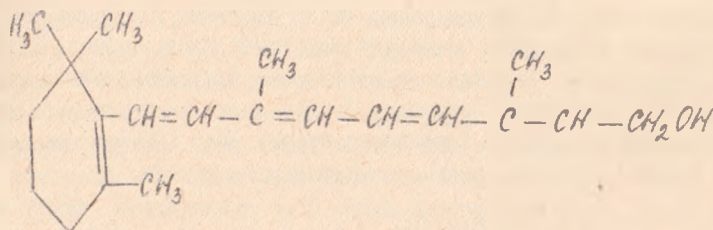
Сувда эрийдиган витаминлар группасига В - витаминлар группаси: В₁ - тиамин, В₂ - рибофлавин, РР - никотинамид, В₆ - пиридоксин, Н - биотин, пантотинат ва парааминобензоат кислота, холин, инозит, фолат кислота, В₁₂ - цианкобаламин, В₁₅ - пангамат кислота; С витамин /аскорбат кислота/; Р витаминлар киради.

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

А группа витаминлари

А витамин ҳайвон туқималарида, айниқса, жигарда куп миқдорда булади. Усимликларда А витаминнинг узи мутлоқо бўлмади, лекин уларнинг таркибида ҳайвон организида А витаминга айланандиган, унинг провитамини – ёгда эрийдиган сариқ рангли бирикмакаротинлар учрайди. Каротинлар тўйинмаган рангли углеводлар – каротиноидлар оиласига киради. Улар ҳайвонлар ичагининг шилимшиқ пардасида парчаланиб, А витаминга айланади, сўнгра жигарда тупланади.

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



А₁ витамин /ретинол/

А витаминга рангли реакциялар.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар.

Реактивлар. 1. Балиқ ёғи. 2. Хлороформ. 3. *Stel's* тўйинган /33 % ли/ эритмаси. 4. Концентрланган 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 қўшилади. Реакция натижасида ҳосил бўлган маҳсулот кўк рангга эга булади. 2. Сульфат кислотаси билан реакцияси. Пробиркага 3-4 томчи балиқ ёғидан солинади, 20-25 томчи хлороформ-

да эритилади ва I томчи концентрланган сульфат кислота қушиб чайқатилади. Натижада кук = бинафша ранг ҳосил бўлади.

Қон зардобидаги умумий каротиноидларни аниқлаш

Қон зардобидаги умумий каротиноидлар Рачевский методи билан аниқланади.

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

Режктивлар. 1. Қон зардоби. 2. Спирт. 3. Петролейн эфири.

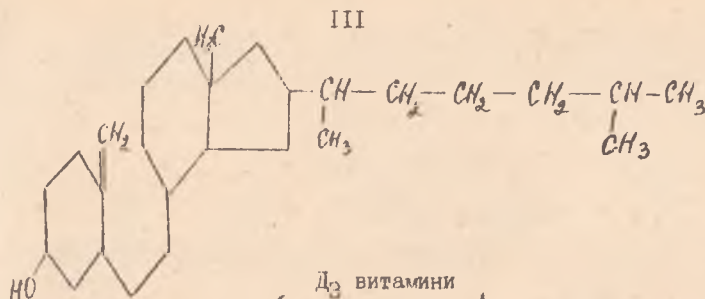
Ишнинг бориши. Булувчи воронкага 0,1 мл қон зардоби ва 2 мл спирт солинади ва аралаштирилади, сунгра 2 мл петролейн эфиридан қушиб, чайқатилади ва 2 мл сувни томчилаб икки қаватга ажралиш ҳосил бўлгунча томизилади. Сунгра сувли қават тулик ажратиб ташланади ва петролейн-эфири қават ҳажми аниқ 2 мл га олиб борилади. Кейин ана шу эритма микробюреткага солинади-да 40°С сув ҳаммомига қўйилган чинни идишга томчилаб томизилади. Томчилар идишга буялган ҳалқа ҳосил бўлгунча қушилади. Буялган ҳалқа ҳосил бўлганда чуқмадаги каротинларнинг миқдори 0,05 мкг га тенг бўлади. Бюреткадаги петролейн-эфиридан қанча ҳажм кетганлиги ҳам белгилаб олинади. Агарда ҳалқа ҳосил бўлиши учун 0,5 мл эфири эритма сарфланган бўлса, унда 100 мл қон зардобидagi умумий каротинларнинг сони қуйидагича бўлади:

$$\frac{0,05 \cdot 2 \cdot 100}{0,5 \cdot 1,0} = 200 \text{ мкг } (0,2 \text{ мг } \%)$$

D группа витаминлари

D группа витаминлари (Кальцифероллар) химиявий тузилишига кура, стероидларга ухшаш бирикмалар булиб, табиатда кўп тарқалган, биологик активлиги энг юқори бўлган витаминлар (D₂ ва D₃) дир.

Эргастерол ва холестерол D₂ ва D₃ витаминларнинг провита-мини ҳисобланади. Ҳайвон организмидаги витаминлар ультрабинафша нурлари таъсирида стероллардан синтезланади. Органида D витамини етишмаса рахит касаллиги пайдо бўлади. Чунки суяк



тукималарида фосфор ва кальций алмашинувини бузади. Бунда ошқозон-ичак йулларида кальций ва фосфорнинг сурилиши бузилади. Натижада суякда анорганик тузлар етишмаганлигидан у юмшайди ва ўз шаклини йўқотади.

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

Д группа витаминларининг рангли реакцияси.

Реактивлар. 1. Анилин. 2. Концентрланган хлорид кислотаси.

3. KSCN нинг 2I-23 % ли хлороформдаги эритмаси. 4. Сирка ангидриди. 5. Витаминлаштирилган балиқ мойининг 10% ли хлороформдаги эритмаси. 6. Бромнинг хлороформдаги эритмаси.

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

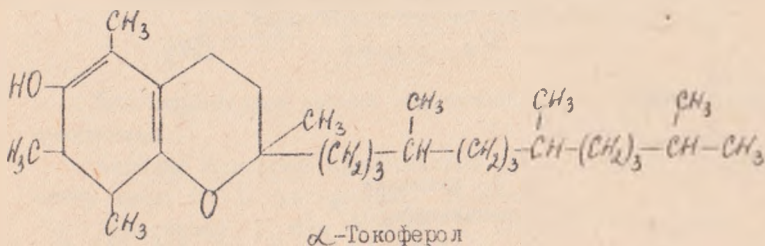
Сурма (Ш) - хлорид билан реакцияси. Куруқ пробиркага 3-5 мл балиқ ёғининг хлороформдаги эритмасидан солиб, 8-10 томчи сирка ангидриди ва шунча миқдорда KSCN нинг хлороформдаги эритмасидан қўшилади. Суюқлик сарик ёки тўқ сарик рангни ҳосил қилади.

Бром билан реакцияси. Пробиркага 8-10 томчи балиқ ёғи солинган ҳолда 1-3 томчи бромнинг хлороформдаги эритмасидан қўшилади. Бир қанча вақтдан сўнг яхши фарқланувчи яшил ёки қўқ-яшил ранг ҳосил бўлади.

Е витамини (Токофероль)

Табиатда токофероллар (Е витамини), кўп бўлиб, биологик аҳамиятга эга бўлганлари α , γ ва δ - токофероллардир.

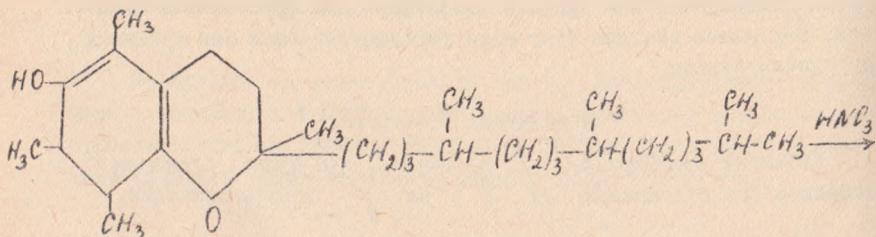
Уларнинг ҳаммаси хроман тузилишининг бензол ҳалқасида метил ва гидроксил группалари ҳамда ён шох-ритол группасини сақлайди.

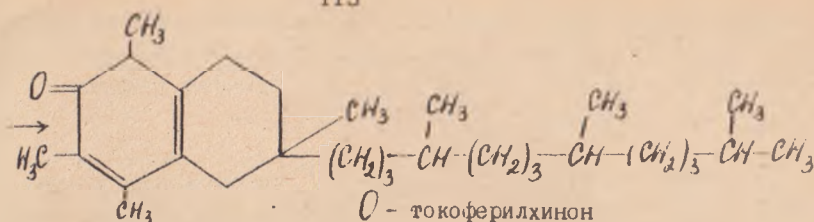


Е витамини усимликлар таркибида, айниқса манжажухори, гуза, бугдой, наматақда учраб, уларнинг яшил қисмларида ҳамда уруғ куртагида кўп бўлади. Е витамини купайиш витамини деб ҳам аталади. Е витамини сувда эримайди. У иссиққа айниқса, чидамли, шунингдек, кислоталар таъсирига ҳам чидамли, ошон аниқланади ва ультрабинафша нурлар таъсирида бузилади. Бу уз навбатида эриқ ва урғочи ҳайвонларнинг жинсий аъзоларида турли патологик узгаришларга сабаб бўлади. Ҳайвонлар организмида Е витамини етишмасе, оқсил, ёғ ва углеводлар алмашинуви бузилади. Е авитаминозининг характерли белгиларидан бири таргил қизикли мускулларда кузатиладиган дистрофия ҳодисадир. Бунда мускулларнинг қизиклари йуқолади, толлари ингичкалашади, емирилади ва нобуд бўлади, натижада улардаги моддалар алмашинувида ҳам маълум бузилишлар рўй беради. Е витамини кўпгина бирикмаларни оксидлаиб кетишдан сақлайди ва антиоксидантлар сифатида ишлатилади.

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

Методнинг принципи. Е витамини концентрланган нитрат кислотаси билан узаро таъсир этиб, яъни α -токоферолдан О-токоферилхинон ҳосил бўлади, натижада бу бирикма қизил рангни беради.



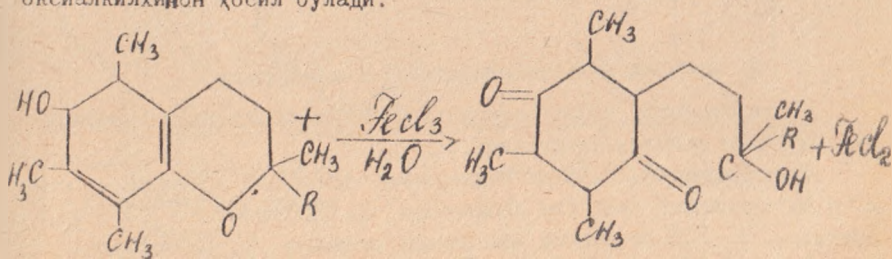


Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; пипеткалар; сув ҳаммоми.

Реактивлар. 1. Концентрланган нитрат кислота. 2. E витамининг 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 қўшилади. Иккала пробирка ҳам қайтаб турган сув ҳаммомида 10 минут қиздирилади. Нитрат кислотаси солинган пробиркадаги витамининг ёгли қавати қизил ёки сариқ-қизил рангга бўялади.

2. Темир хлорид билан реакцияси. Токофероллар темир хлорид билан оксидланади, яъни темир = III-хлориди темир=II-хлоридгача қайтарилади, темирни II валентли иони билан ортофенантропин комплекси $Fe(C_{12}H_8N_2)_3^{2+}$ ионни ҳосил қилади, шунинг натижасида эритма қизил рангга бўялади. Токофероллар темир хлорид билан оксидланганда пиран ҳалқаси узилиб γ -оксиалкилхинон ҳосил бўлади.



α - токоферол

γ - оксиалкилхинон

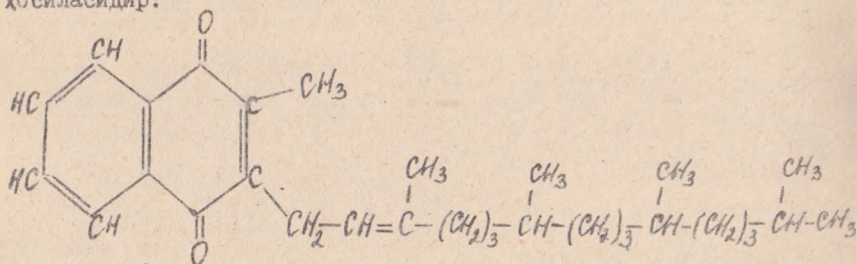
Реактивлар. 1. E витамининг ёгдаги эритмаси. 2. 0,2% ли темир хлориднинг спиртдаги эритмаси. 3. 0,5% ли ортофенантролиннинг спиртдаги эритмаси.

Илнинг 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 /филохинонлар/ етишмаса, тери остига ва мускуллар орасига қон қуолади /геморрагиялар/ ва қоннинг ивиш тезлиги пасаяди. К витаминнинг етишмаслиги асосан, қонда протромбин миқдорининг камайиши билан характерланади. К авитаминозда қоннинг ивишида иштирок этадиган яна бир нечта оқсилнинг жигарда синтези тўхтайди. Агарда К авитаминозга ҳайвонларга витамин берилса қон плазмасида протромбин миқдори ортади ва геморрагик ҳодисалар йўқолади. К витаминлар ҳайвон организмида синтезланмайди. Микроорганизмлар ва усимликларда синтезланади. Улар айникса, беда, исмалок, қарам баргларида кўп бўлади.

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



K₁ 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 анологлари. 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.

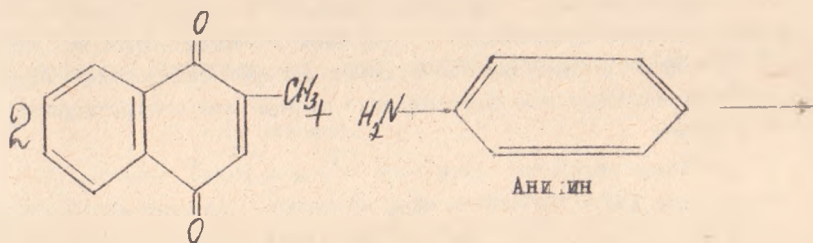
Цистеин билан реакция. Пробиркага 1 мл 0,1% ли викасолнинг спиртдаги эритмасидан солинади. Сунгра 2 томчи 0,025% ли цисте-

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

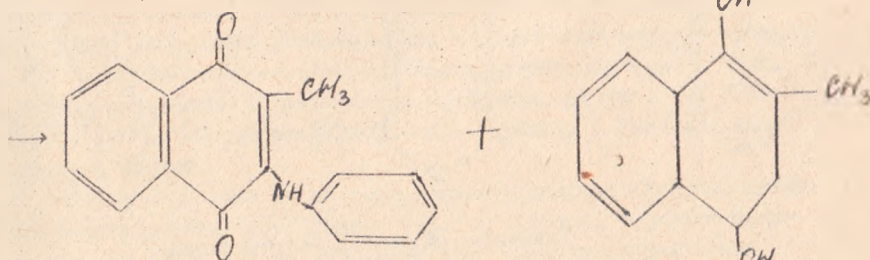
Диэтилмелон эфири билан реакция

Пробиркага 2 мл 0,1% ли викасолнинг спиртдаги эритмасидан солинади ва 0,5 мл 1% ли диэтилмалон эфиридан ва 0,1 мл 1% ли калий 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-диокси-нафталин

Сувда эрийдиган витаминлар

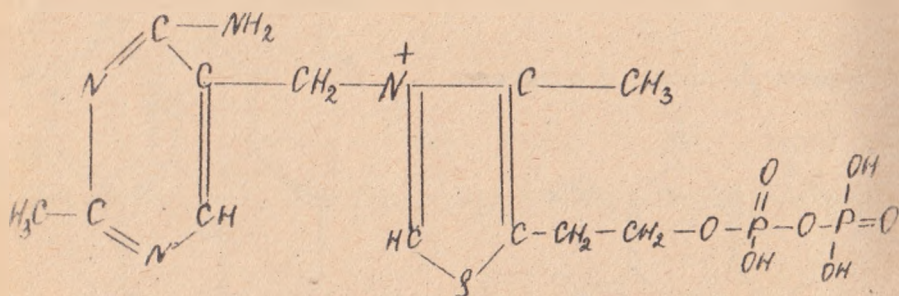
Сувда эрийдиган витаминлар группасига В витаминлар комплекси, С ва Р витаминлари киради. Бу бирикмаларнинг таркиби ва хоссалари ҳар хил бўлиб, уларнинг умумий биологик роли ухшашдир.

улар моддалар алмашинуви ферментлари системаларида кофермент ва-зифасини бажаради.

B₁ витамини

Бу витамин (Тиамин) таркибида олтингугурт (грекча тио) ва аминогруппа сақлайди, шунинг учун тиамин деб аталади. B₁ витамини авитаминозининг энг характерли ва узига хос белгилари: полиневрит, ярак фаолиятининг бузилиши, сув алмашинуви бузилиши, меъда-ичак йулининг секретор функциясининг бузилишидир.

B₁ витамини ҳайвон туқималарида асосан эркин ҳолда бўлмай, балки тиамин пиррофосфат кўринишида учрайди. Ичакдан сўрилиб ўтган эркин витамин туқималарда фосфорланиб, тиаминпиррофосфат шаклини ҳосил қилиб, пиррозум кислотанинг декарбоксилланишини катализ қилувчи карбоксилаза ферментининг коферменти-кокарбоксилазани ташкил қилади.



Тиаминпиррофосфат (кокарбоксилаза)

B₁ витамини ўсимликларда кенг тарқалган (тозаланмаган гуруч, нўхат уни ва бошқалар). B₁ витамин ачитқиларда жуда кўп бўлиб, буларда тиамин пиррофосфат эфир шаклида учрайди.

Ҳайвонлар организмида B₁ витамини яғарда, буйракда, ярак мускули ва мияда ҳаммадан кўп миқдорда учрайди.

B₁ витаминининг сифат реакцияси. Тиамин диазобензолсульфокислотасининг таъсирида бирикма ҳосил қилиб, у бирикма пушти ёки

сарик-пушти рангга эга бўлади.

Керакли асбоблар: приборкалари билан штатив; пипеткалар.

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

Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл натрий гидроксидидан ва 3 мл диазореактив эритмасидан солинади. Ҳосил бўлган аралашмага 24 мл сут қушилади. Натияжада пробиркада сарик-пушти ранг ҳосил бўлади.

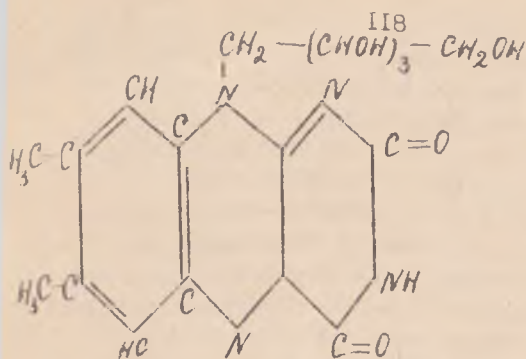
B_2 витамини

B_2 витамин /рибофлавин/ - организмда оксидланиш-қайтарилиш жараёнларида иштирок этадиган ферментларнинг актив гуруппалари таркибига кириб, субстратлардан водород атомининг цитохром системага ёки молекуляр кислородга кучирилишини таъминлайди. Бу ферментлар органик кислоталар, аминокислоталар ва бошқа бирикмаларнинг оксидланиш реакцияларини катализлашда иштирок этади.

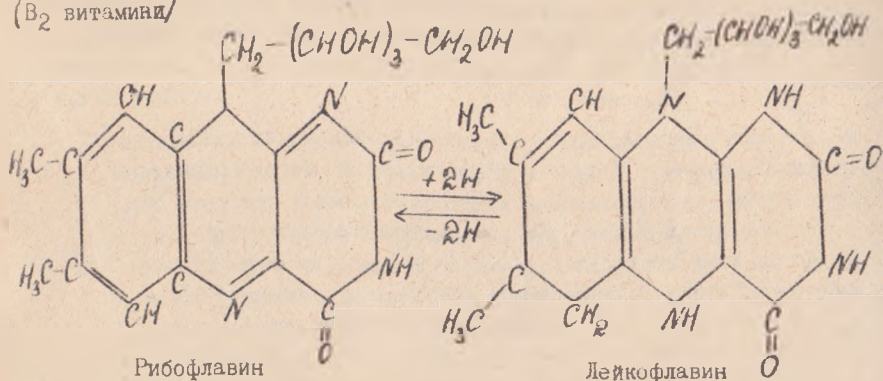
B_2 витаминнинг асосини диметилизоаллоксазин ташкил этиб, риботал спиртининг қолдиги билан боғланган, шунинг учун рибофлавин ёки 6,7 - диметил - 9 /1- d - рибитил/ - изоаллоксазин деб аташ мумкин.

Рибофлавин ўсимлик ва ҳайвон маҳсулотларида кенг тарқалган. Рибофлавин авитаминози бўйнинг ўсишдан тўхташи, терининг яллиғланиши-дерматит, кўз мугуз пардасининг васкуляризацияланиши /кўз мугуз пардасида қон томирларини ўсиб кетиши/, соч тўкилиши, томир уришининг сийракланиши, нерв системасининг фалажланиши билан намоён бўлади.

Рибофлавиннинг сифат реакциялари. Рибофлавиннинг қайтарилиши. Рибофлавин осон оксидланади ва қайтарилди. У водород билан қайтарилганда рангсиз бирикма - лейкофлавин ҳосил бўлади, оксидланганда 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 концентрилланган хлорид кислотаси ҳамда рух металининг булакчаси қушилади, сунгра пробирка тиқин билан беркитилади. Ажралиб чиққан водород витамин билан реакцияга киришиб, уни қайтареди ва эритмани рангини узгартиради (сарик, сунгра қизил ва пушти), кейин рангсизланади.

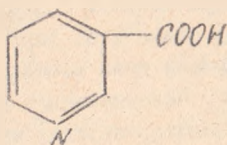
Кумуш нитрат билан реакцияси. Рибофлавиннинг нейтрал эки кучсиз кислотали эритмасига (рН 6,5-7,2) кумуш нитрат таъсир эттирилса, ҳосил бўлган бирикма пушти эки қизил рангда булади.

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

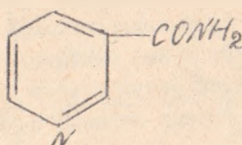
Ишнинг бориши. Пробиркага 1 мл рибофлавиннинг эритмасидан солинади ва 0,5 мл кумуш нитрат эритмасидан қўшилади. Натижада пушти ёки қизил ранг ҳосил бўлади.

B₅ витамини

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



Никотин кислота



Никотин кислота амиди

Организмда B₅ витамини (pp витамини, никотинимид) етишмаса дерматитлар, меъда-ичак фаолиятининг бузилишига ва оғиз ҳамда тил шиллик пардалари яллиғланишига, нерв фаолиятини издан чиқишига олиб келади. Бу витамин ачитқиларда ва бугдой кепагида, мол ва чўчқаларнинг жигарида анча кўп бўлади. Усимликлар ва баъзи микроблар, шунингдек, баъзи ҳайвонлар (каламушлар) ҳам B₅ витаминларини синтезлай олади.

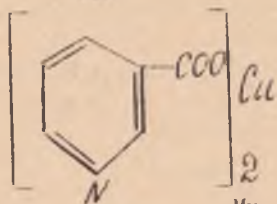
Никотин кислота, унинг амиди, моддалар алмашинувида муҳим роль уйнайди. Тўқиманинг нафас олишини катализлайдиган бир қанча кофермент группаларининг (НАД, НАДФ) таркибига никотин кислота амиди киради.

B₅ витаминининг сифат реакциялари: мис ацетати билан реакцияси.

Никотин кислота, сирка кислотали шароитда мис тузларининг таъсирида, 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 5% ли эритмаси.

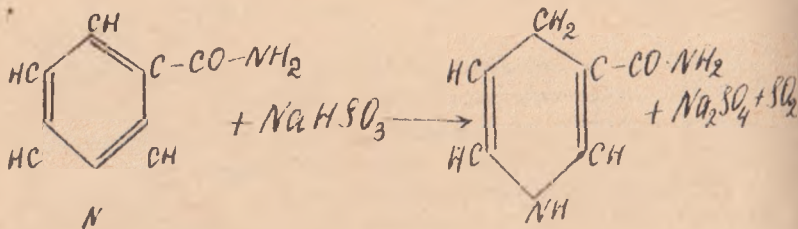
Ишнинг бориши. Пробиркага 2 мл никотин кислотасининг эрит-



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 чўкма никотин кислотасининг мисли тузи ҳосил бўлади.

Натрий гидросульфит билан реакцияси. Никотинамидга гидросульфит таъсир этганда сариқ рангли 1,4-дигидропиридин никотинамиди ҳосиласи пайдо бўлади.



Никотин амид

1,4-дигидропиридин
никотинамид ҳосиласи

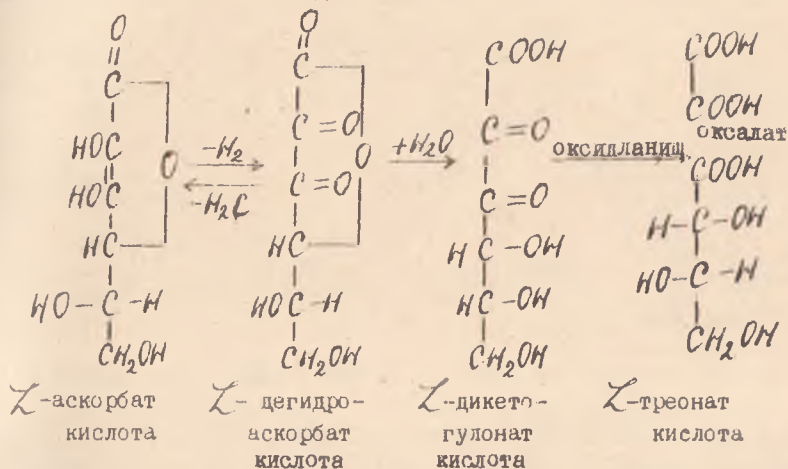
Реактивлар. 1. Никотин кислотаси ёки никотин кислотасининг амиди (кукун ҳолатда). 2. Натрий гидрокарбонатнинг 10% ли эритмаси. 3. Натрий гипосульфитнинг (Na₂S₂O₄ · 2H₂O) 5% ли эритмаси / ишлатиш олдида

Ишнинг бориши. Пробиркага никотин кислотаси ёки унинг амидининг кукинидан солинади ва 1-2 мл натрий гидрокарбонат эритмасидан аралаштирилади, кейин 1-2 мл натрий гипосульфит эритмасидан қушилади. Пробиркадаги суяқлик сариқ рангга бўялади.

С витамини

С витамини \checkmark - аскорбат кислота деб аталади. \checkmark - аскорбат кислота сувда яхши эрийди. \checkmark - аскорбат кислота ва \checkmark нинг

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



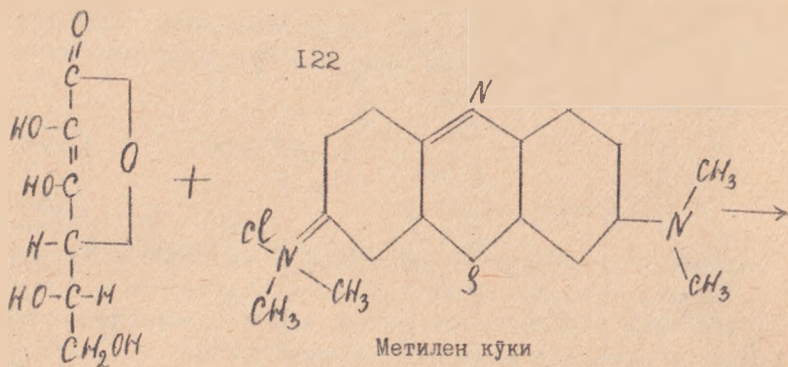
Аскорбат кислотанинг дегидро шакли жуда чидамсиз бирикмалар дикетогулонат кислотарага айланиши қайтмас жараён булиб, оксидланиб парчаланиши билан тугалланади. С витамини оксидловчилар иштирокида нейтрал ёки ишқорий муҳитда қиздирилганда жуда тез парчаланади.

С витамини усимликларда ва кўпчилик ҳайвонлар /одам, маймун ва денгиз чўчқасидан ташқари/ да синтезланади. Сут эмизувчиларнинг жигарида 25 мг % ва буйракларда 12 мг % С витамини булади. Ҳайвон организмда С витамини етишмаса оксидлар алмашинувининг бузилиши, ошқозон-ичак тракти ва нафас олиш йулларини турли касалликларга чидамсизлиги, ички органларда қон талашлар ва тишларнинг тушиб кетиш каби ҳоллари вужудга келади.

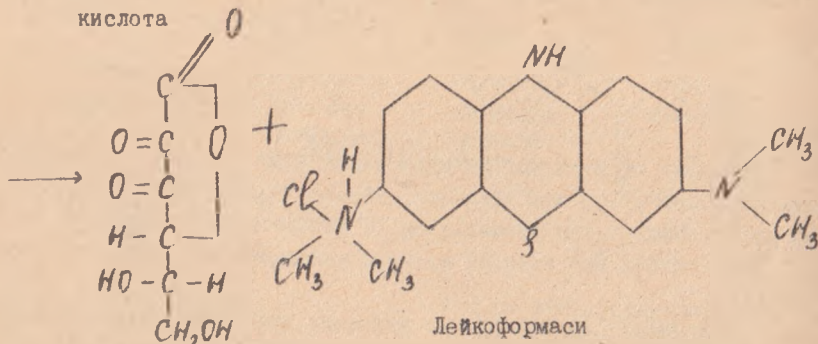
С витаминининг сифат реакциялари: метилен куки билан реакцияси.

Аскорбат кислотаси метилен кукини рангсиз бирикмагача қайтарди /лейкоформсига/, узи оксидланиб дегидроаскорбат кислотасини ҳосил қилади.

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



Аскорбат
кислота

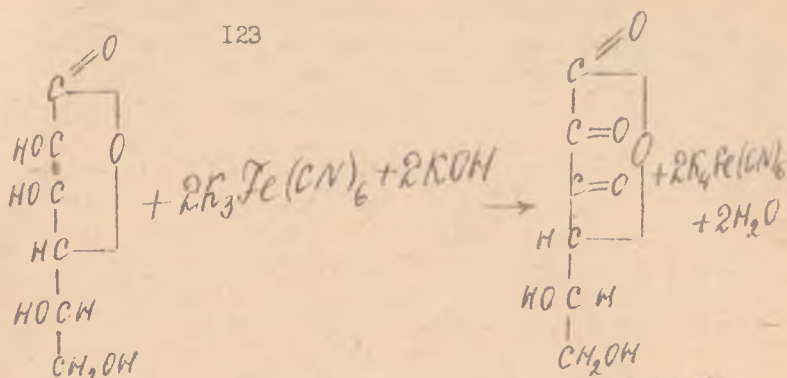


Дегидроаскорбат
кислота

Ишнинг бориши. Пробиркага янги тайёрланган картошка ёки қарам шербатидан 1-2 мл солиб, 1-2 томчиси метилен кўки эритмаси ҳамда 2-3 томчи натрий карбонат эритмасидан қушиб, қиздирилади. Натижада кўк ранг интенсивлиги камаяди.

Калийферрицианид $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ билан реакцияси. Аскорбат кислотаси оксидланиб, калийферрицианид $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ ни то калий ферроцианид $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ гача қайтарди ва уч валентли темир иони билан кислотали шартда темир-III = гексоцианоферроат $\text{Fe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]_2$ ни, яъни Берлин зангорисини ҳосил қилади.

Реактивлар. 1. Картошка ёки қарам шербати. 2. Калий феррицианиднинг 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 шарбатидан, 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 \pm (III) -хлориднинг эритмасидан қушилади. Натижада кук ёки кук-яшил чуқма Берлин зангорисини ҳосил қилади.

Озиқа маҳсулотларида С витаминининг миқдорини аниқлаш.

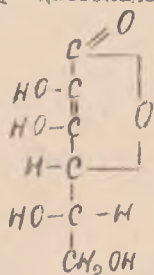
С витамини – ҳайвон ва одам рационининг энг муҳим таркибий қисми ҳисобланади. Куйида усимлик маҳсулотларидаги С витаминининг миқдори кўрсатилган (мг %).

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

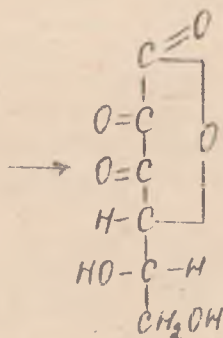
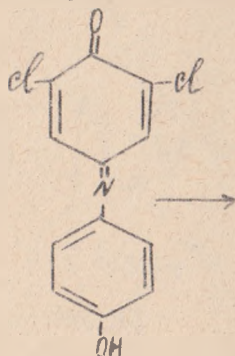
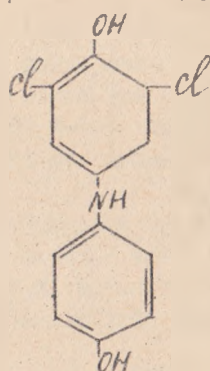
Озиқа маҳсулотларида аскорбат кислотасининг миқдорини аниқлаш учун суултирилган кислоталарда С витамини экстракция қилинади (кислотали шароитга чидамлидир). Сунгра 2,6- дихлорфенолиндофенолнинг эритмасидан олиб титрланади. Экстракт таркибида аскорбат кислотаси бўлса, 2,6- дихлорфенолиндофенолни қайтаради.

Экстрактдаги ҳамма аскорбат кислоталар оксидланиб булгандан 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/.

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



Аскорбат кислота

Дегидроаскорбат
кислота2,6-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; фильтр 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 ҳавсичада 10 мл хлорид кислотасидан қўшиб эзилади. Ҳавончада

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

$$x = \frac{0,088 \cdot a \cdot 100}{5}$$

Бу ерда: X - 100 г маҳсулотдаги С витамини миқдори, мг;
0,088 - аскорбат кислотанинг миқдори бўлиб, бу 1 мл 2,6 = дихлорфенолиндофенол эритмасига тўғри 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 ҳавончада 10 мл сирка кислотаси билан эзилади, ҳосил бўлган экстракт филтёрланади. 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:

$$x = \frac{0,088 \cdot a \cdot 10 \cdot 100}{3}$$

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 йуллари бўлмаган эндокрин безлар ёки ички секреция безларида (грекча *endo* - ички ва *crinen* ажратаман деган сўزلардан олинган) ишлаб чиқарилиб, гуморал йўл билан бошқа тўқималарга етказилади.

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

Ички секреция безларига: калқонсимон без; калқонсимон

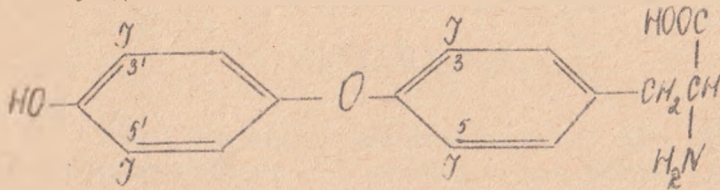
олди безлари ёки паратиреоид безлар; буйрак усти безлари; меъда ости беи - унинг маълум қисмлари; жинсий безлар; уругдон ва тухумдонлар; гипофиз ёки мия ортиги; буқоқ беи киради.

Ички секреция безлари функцияси бузилганда турли касалликлар пайдо бўлади. Улар айрим безлар функциясининг зураиб 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 гурплага бўлиш мумкин.

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

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



Тироксин, $3,5,3',5'$, - тетрайодтиронин (T_4)

Қалқонсимон безга характерли булган оксил тиреоглобулин бўлиб, бу оксилнинг молекуляр огирлиги 600000 га тенг бўлиб, 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 бўлади. Вундай 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

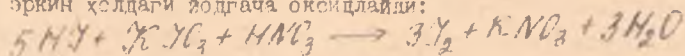
/тупрокда, сувда, усимликларда, озик-овқатларда/ йод етишмаслиги билан боғлиқ. Агар қалқонсимон безнинг функцияси ортиб кетса, гипертиреоз ҳолати рўй беради. Тиреотоксикоз касалликларида моддалар алмашинуви тезлашганидан организмнинг озиб кетиш ҳоллари рўй беради, тебранувчан бўлиб қолади, юраги тез-тез уради. Тиреотоксикоз ҳолатида қалқонсимон безда йод алмашинуви тезлашиб, безнинг қондан йодитни ютиши кучаяди.

Қалқонсимон без гормонлари моддалар алмашинувининг ҳамма турларига таъсир кўрсатади. Қондаги тироксин миқдори гипофизнинг тиреотроп гормони томонидан қатъий тартибга солиниб туради. Қондаги тироксин миқдори билан гипофизнинг тиреотроп функцияси тескари /реципрок/ алоқада бўлади. Қонда тироксиннинг миқдори кўпайиб кетса, унда тиреотроп гормон чиқарилиши камаяди, аксинча, тироксиннинг миқдори камайса, гипофиз гормони кўпроқ ҳосил бўлиб, қалқонсимон безни стимуляциялайди, натижада тироксин анчагина сарф бўлади ва унинг қондаги миқдори ортади. Бу жараёнларга марказий нерв системаси гипоталамус орқали ўзининг регуляцияловчи таъсирини кўрсатади.

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

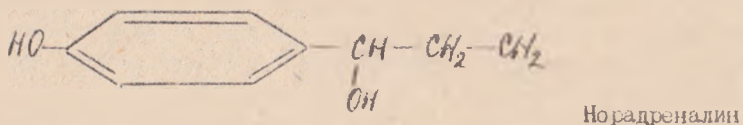
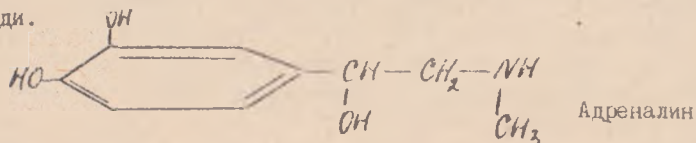
Реактивлар. 1. Тиреоидин таблеткаси /битта таблеткадаги 0,1 г масса таркибида 0,17-0,23 мг йод мавжуд/. 2. Суялтирилган нитрат кислота /1:1/. 3. Калий йодатнинг (KIO_3) 10% ли эритмаси. 4. Хлороформ.

Ишнинг бориши. Тиреоидин таблеткаси майдаланади ва ҳосил бўлган кукунни пробиркага солинади. Шундан кейин 2 мл нитрат кислотасидан кўшиб, қайнаб турган сув ҳаммомида 3-4 минут қиздирилади. 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 қушилади ва яна бир неча марта чайқатилади. Хлороформли пастки қаватни пушти-бинафша ранг эгаллайди. Бу ранг ҳосил бўлишининг сабаби гидролиз натижасида пайдо бўлган йодит кислотани калий йодат эркин ҳолдаги йодга оқсидлайди:



Хлороформ қаватидаги йод пушти-бинафша рангни 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 алмашинувига кучли таъсир курсатади ва моддалар алмашинувини кучайтиради. Адреналин яғар гликогенининг парчаланшини кучайтириб, қонда глюкоза миқдорини кўпайтиради.

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

Адреналиннинг сифат реакциялари

I. Темир =III=хлорид билан реакцияси: адреналинга 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 исбоблар: пробиркалари билан штатив; I, 2 мл ли индикаторлар.

Реактивлар. 1. Адреналиннинг 0,01% ли эритмаси (ампулада);
 2. Темир III -хлориднинг 3% ли эритмаси. 3. Пирокатехиннинг
 0,05% ли эритмаси.

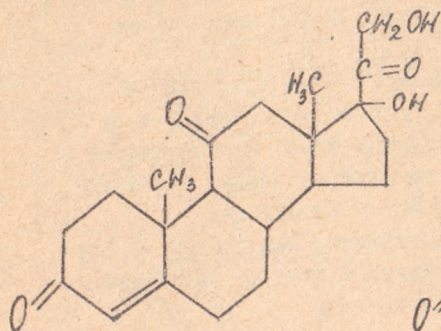
Ишнинг бориши. Биринчи пробиркага 1-2 мл сув, иккинчи про-
 биркага 1-2 мл адреналин эритмаси, учинчи пробиркага 1-2 мл
 пирокатехин эритмасидан солинади. Сунгра ҳамма пробиркаларга
 2-3 томчидан темир хлориднинг эритмасидан қушилади. Адреналин,
 пирокатехинли пробиркаларда яшил ранг ҳосил бўлади.

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.

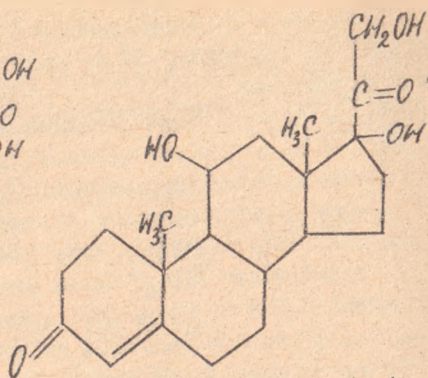
Ишнинг бориши. Пробиркага 0,5 мл адреналиннинг эритмасидан
 солиб унга 1 мл 1% ли калий йодат ҳамда 10 томчи 10% ли сирка
 кислотасининг эритмасидан қушилади. Натижада қизил-бинафша ранг
 ҳосил бўлади.

Буйрак усти безлари пўстлоқ қаватининг гормонлари /Корти-
 костероидлар/. Буйрак усти безларининг пўстлоқ қавати ёғларда
 эрийдиган бир қанча муҳим гормонларни ишлаб чиқаради. Пўстлоқ
 қаватидан олинган экстракт таркибида 34 дан ортиқ стероид аниқ-
 ланиб, шулардан бир нечтаси гормон активлигига эга, қолганлари
 гормонлар синтезида иштирок этадиган оралик бирикмалар, баъзи-
 лари эса таъсир этувчи моддаларнинг парчаланиш маҳсулотларидир.
 Булар асосан циклопентанопергидрофенантреннинг тетрациклик ст-
 руктурасига 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
 асосан дезоксикортикостерон киради. Углевод ва оксил алмашинуви
 регуляциясига жавоб берувчи глюкокортикоидларга альдостерон,
 кортизон, кортизол гормонлари киради.

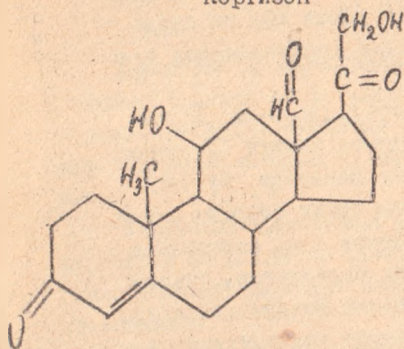
Бу безнинг функцияси пасайганда, қон зардобда Na^+ , Cl^- ,
 бикарбонат ва глюкозанинг камайиши, мускулда Na^+ ни камайиши,
 K^+ ва сув миқдорининг ортиши, зардобда K^+ ва азотнинг ортиши
 билан кузатилади. Жигар ва мускулда гликоген миқдори камаяди.
 Сийдик билан Na^+ , Cl^- ва бикарбонат чиқарилиши кўпайиб K^+ ва
 умумий азот чиқарилиши камаяди.



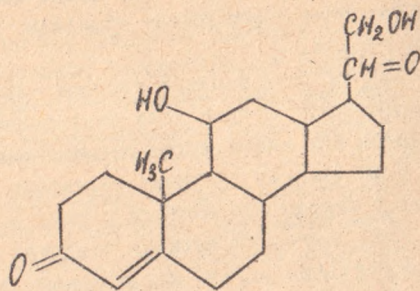
Кортизон



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 пипеткалар; 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 сарик ранг ҳосил

булади.

2. Фелинг реактиви билан реакцияни Натрий ва калий мис оксидигача қайтариш хусусиятига эга.

Реактивлар. 1. Кортизон-ацетат пробирикари, 1. 500 мл колбада 34, 64 г мис сульфиди эритилади ва колба белгисигача дистилланган сув қўрилади.
2. 500 мл колбага 173 г сегнет тузини солиб, 500 мл дистилланган сувда эритилади, сўнг унга 100 мл 30% ни дистилланган эритмасидан солиб, ҳажми сув билан колба белгисигача қўрилади. Реактивни қўлланишдан олдин тенг ҳажмда биричи ва иккинчи эритмалардан олиб аралаштирилади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 10 мг кортизон-ацетати қўрилади, 1 мл метил спиртда эритилади ва 1 мл Фелинг реактивидан қўрилади, сўнгра сув ҳаммомида қиздирилади. Натижада қизил чуқур мис оксиди ҳосил бўлади.

Ошқозон ости бези гормони - инсулин

Ошқозон ости бези гормони - инсулин - Лангерганс ороқчаларининг β - ҳужайраларида ишлаб чиқарилади. Организмда инсулин етишмай қолганда, қонда қанд миқдори кўпаяди (гипергликемия) ва организмдан қандни сийдик билан бирга чиқиб кетиши ортади, бу ҳодиса глюкозурия деб аталади, оқибатда диабет деб аталадиган касаллик келиб чиқади.

Кристалл ҳолдаги инсулиннинг молекуляр оғирлиги 36000 га тенг бўлиб иккита полипептид занжиридан иборат: А /21 та аминокислота қолдиги/ ва В /30 та аминокислота қолдиги бор/. Бу полипептид занжирлари дисульфид боғлари орқали боғланган. Инсулиннинг биологик аҳамияти шундан иборатки, у гликоген синтези учун шароит яратиб беради.

Инсулиннинг сифат реакциялари. Инсулин ҳамма оқсилларга хос бўлган биурет ва олтингугурт тутувчи аминокислotalарга хос реакциясини беради.

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

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

корининг 10% ли эритмаси. 3. Мис сульфатнинг 1% ли эритмаси.
4. Кўрговин 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 қушилади. Натижада бинафта ранг ҳосил бўлади.

2. Олтингулурт тутувчи аминокислоталар учун реакция. Пробиркага 1-2 мл инсулин эритмаси ва тенг ҳажмда натрий ишқори эритмасидан солиб қайнагунча қиздирилади. Сунгра 2-3 томчи кўр-гошин ацетат эритмасидан қушиб қиздирилади. Натижада пробиркада қора чуқма ҳосил бўлади.

Ҳ босъ Қон

Қон артериялар, веналар ва капиллярда доимо айланиб турадиган суяқлик бўлиб, турли мураккаб физиологик функцияларни бажаради: 1. Органлар ва туқималарни кислород билан таъминлайди ва ажралиб чиққан карбонат ангидридни олиб кетади. 2. Озик моддаларни ичакдан туқималарга ва органларга етказиши. 3. Моддалар алмашинувидаги охириги маҳсулотларни чиқариш органларига /улка, 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 жарраёнларини 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 оксиллар, ёғлар, углеводлар, моддалар алмашинувининг турли оралик маҳсулотлари, гормонлар, витаминлар ва минерал тузлар кирди. Туқималардаги моддалар алмашинувини бузилиши қоннинг таркибини ўзгаритишига олиб келади. Шунинг учун организмнинг соғломлиги қоннинг таркибий қисмларини миқдорий анализ қилиб билинади.

Қон зардобининг оксил фракцияларини аниқлаш

Қон зардоби оксил фракцияларини экспресс-метод билан аниқлаш, оксилларни турли концентрациядаги фосфатли эритмалар билан

чуктиришга асосланган. Маълум оксил фракциялари эритмаларининг оптик зичлиги фотоэлектроколориметр ва спектрофотометр билан аниқланади.

Оксил фракцияларини аниқлашнинг экспресс-методи, маълум шароитда озиқланаётган 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_2PO_4 олиб, 400 мл 33,5 г $NaOH$ тутган эритмада тўлиқ эритилади. Кейин эритма хона температурасигача совути-либ, 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. Олгита 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 суълтирилган 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 сууқлик 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 - қизил ёруғлик фильтри билан аниқланади. 0 рақамли 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 айриб ташланади. Оптик зичликларнинг фарқи альбуминларнинг оптик зичлигига тўғри келади. Иккинчи пробиркадаги аралашманинг оптик зичлигидан учинчи пробиркадаги аралашманинг

Қон зардобидаги кальций миқдорини аниқлаш

Кальций организмда жуда муҳим роль уйнайди. У кўпроқ суяк туқималарида фосфорли, карбонатли, фторли бирикмалари ҳолда учрайди. Суяк туқималарида унинг концентрацияси камайиб кетса, қон орқали яна таъминланиб турилади. Қон зардобидаги кальцийнинг тахминан 40 физи альбуминлар билан боғланган мураккаб комплекс бирикмалар ҳолда учрайди. Кальций икки валентли катион бўлиб, нерв системасининг кўзгалувчанлигини камайтиради, актомиозинни, АТФ азани, лецитиназани активлаштиради ҳамда дегидрогеназа, 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 %).

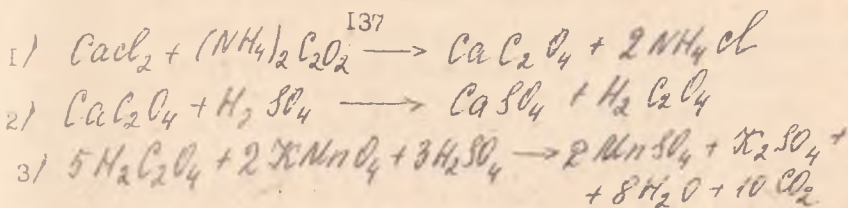
От	12 - 14	Чучка	12 - 14
Сигир	10 - 13	Ит	10 - 12
Тун	11 - 12,5	Товуқ	12 - 22
Эчки	23 - 26		

Организмдаги кальций алмашинуви бир қатор омилларга боғлиқ. Унинг алмашинуви озиқалардаги кальций ва фосфорларнинг нисбати-га, Д витаминнинг ва қалқон олди беши, буйрак усти безларининг физиологик ҳолатига боғлиқ. Бир қатор касалликларда қон зардобидаги кальцийнинг миқдори ўзгаради. Қондаги кальций миқдорининг камайиши / гипокальцемия / яхши овқатланмасликда, рахит, тугма шол каби касалликларда кузатилади.

Гиперпаратиреоз, суяк туқимасини шишларида, Д витамини катта дозада қўлланилганда қонда кальцийнинг миқдори кўпаяди.

Методнинг принципи. Қон зардобидаги кальций оксалатлар ҳолида чуқтирилади. Чукма ювилади, сунгра сульфат кислотада ыритилади ва ажралиб чиққан оксалат кислотаси калий перманганат ыритмаси билан титрланади.

Реакция куйидаги ҳолда боради:



Юқоридаги реакциядан кўришиб турибдики, оксалат кислотасининг оксидланишига кетган калий перманганати миқдори, кальций миқдорига эквивалентдир.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; центрифуга; 2 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 тўйинган 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 4 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 тўкиб 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 қуйилади.

8. Иссиқ эритма 0,01 н калий перманганатнинг эритмаси билан

оч-пушти ранг ҳосил булгунча титрланади (ҳосил булган ранг 30 секунд ва 1 мин. вақт оралигида йўқолмаслиги керак/).

9. Қон зардобдаги кальцийни аниқлаш билан бир вақтда "контрол" тажриба ҳам ўтказилади, 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 зардобда қандай иш олиб борилган бўлса, контрол тажрибада ҳам шундай иш амалга оширилади.

Тажриба намунасини (қон зардобини) титрлаш учун сарф булган калий перманганатнинг миқдоридан, контрол намунасини титрлаш учун сарф булган калий перманганатнинг миқдори айириб ташланади /1 мл 0,01 н $KMnO_4$ 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 $KMnO_4$ эритмасидан 0,95 мл сарф бўлди, контрол намунасини титрлаш учун 0,3 мл 0,01 н $KMnO_4$ эритмаси сарф бўлди. Қон зардобдаги кальцийнинг миқдори қуйидагига тенг бўлади:

$$\left(0,95 - 0,3 \right) \cdot 0,2 \cdot 100 = 13 \text{ мг } \%$$

Қон зардобдаги фосфор миқдорини аниқлаш

Фосфор тўқималарнинг тузилишида энг муҳим структура элементи ҳисобланади. Организмдаги суяк тўқималари таркибининг 85 фоизи га яқинини фосфор ташкил қилади. Фосфор нуклеин кислоталар, нуклеопротеинлар, фосфопротеинлар, бир қатор коферментлар НАД, НАДФ, ФМН, ФАД, 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 ўзгариши 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 кўриш мумкин.

Ҳайвонлар озиқа рақционидаги кальцийнинг фсфсфрга 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 ибсратки, қон зардобидаги анорганик фосфор билан молибдат кислотаси, молибдат кислотасининг фосфорли комплексларини ҳосил қилади, бу маҳсулот реакция натижасида қайтарилганда кук рангни ҳосил қилади. Ранг ҳосил булиши тезлиги текширилаётган объектдаги фосфорнинг миқдорига боғлиқ.

Қайтарувчи сифатида эйконоген, гидрохинон, аскорбин кислотаси ва бошқаларни ишлатиш мумкин.

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив; 1, 2, 5 ва 10 мл ли пипеткалар; филътр қоғози; воронка; 25 мл ли Къедал 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 филтър қоғози оркали 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, сўнгра пробиркадаги солинган моддаларнинг ҳажми сув билан 10 мл га еттирилади ва 5 минут 37° даги сув ҳаммомига қўйилади.

4. 30 минутдан кейин спектрофотометрда 750 нм тулқин узунлигида кўрилади.

Умумий фосфорни аниқлаш. Микрокьелдел колбасига 0,05 мл қон олиб, 0,2 мл 5 н сульфат кислотасидан қўшилади ва тулиқ рангсизленгунча 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 аникланади.

Фосфор миқдорини ҳисоблаш учун калиброванган график тузилади. Бунинг учун, KH_2PO_4 нинг асосий стандарт эритмаси тайёрланади, бу эритманинг 1 мл таржибида 0,04 мг фосфор сақлайди. Олтига пробирка олиб, пробиркаларга куйида 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 кўрилади.

График чизиш учун, ординат ўқига оптик зичлик катталиги, абсисс ўқига эса фосфор миқдори мг ҳисобида кўрсатилади. Анализ қилинаётган 1 мл қон зардобидаги фосфорнинг миқдорини топиш учун қуйидаги формуладан фойдаланилади:

$$X = \frac{C \cdot 100}{V}$$

Бу ерда:

X - аорганик фосфорнинг миқдори /мг % /;

C - калибрланган графикдан топилган фосфорнинг миқдори /мг/;

100 - натижаларни мг % да ҳисоблаш учун коэффициент.

V - филтрат таркибидаги қон зардобининг ҳажми;

Қон зардобидаги умумий фосфорнинг миқдорига қараб умумий фосфолипидларни аниқлаш

Методнинг принципи. Трихлорсирка кислота таъсирида қон оқсиллари билан биргаликда фосфолипидлар чўкмага тушади. Ҳосил булган чўкмадаги 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. Аминонафтосульфен 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, сўнг эритмага эйконоген қўпилади. Эйконоген шиша таёқча билан аралаштирилиб эритилади, озрок 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 суылтирилади. 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.

Ишлатиш учун шу стандарт эритма 100 марта суьлтирилади, 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 шпеткалар; кумли ҳаммом; шиша таёқча; фильтр когози; воронка; спектрофотометр.

Ишнинг бориши. Тажриба 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 тўқиб юборилади ва чўкмасига 1 мл перхлорат кислотасининг 57% ли эритмасидан солинади. Пробирка 20-30 минут 180°C кумли ҳаммомга қўйилади ва аралашма рангсизлангунча қолдирилади. Совугандан кейин тажриба 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 кўпайтирилади.

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 аминоктолсульфон кислотасидан қўшиб, ҳажми сув билан 10 мл га кўпайтирилади. Сунгра пробиркалардаги суюқликлар яхшилаб аралаштирилади ва 20 минутга қолдирилади. Спектрофотометрда 630-690 нм тўлқин узунлигида контролга nisbatan улчанади.

Фосфорнинг миқдори қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$\frac{E_{оп}}{E_{ст}} \cdot \frac{0,02 \cdot 100}{0,2} = \frac{E_{оп}}{E_{ст}}$$

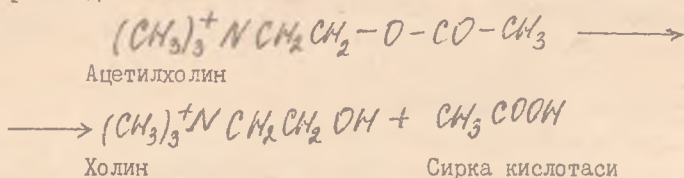
Бу ерда: 0,02 - 2 мл стандарт эритмадаги фосфорнинг миқдори (мг);
0,2 - тажриба намунасидаги қон зардобининг ҳажми. $E_{оп}$ - тажриба

намунасининг /қон зардобининг/ оптик зичлиги. $E_{ст}$ - стандарт эритманинг оптик зичлиги.

Липоидли фосфор фосфолипидлар молекуласининг 4% ни ташкил қилади, фосфолипидларнинг умумий концентрациясини ҳисоблаш учун эса липоидли фосфор концентрацияси 25 га кўпайтирилади

Холинэстераза ферментининг активлигини аниқлаш

Ацетилхолин нерв импульсини ўтказишда медиаторлик ролини бажаради. Холинэстераза ацетилхолинни холин ва сирка кислотасига парчалайди:



Бу реакция натижасида сирка кислотасининг тупланиши ҳисоби-га кислотали муҳит ҳосил бўлади, буни индикатор ёрдамида аниқлаш мумкин. Бу ишда шароитга қараб, ранг ҳосил қилувчи бромтимол кўк индикатори қўлланилади. Рангининг ўзгариш зонаси рН 7,6-6,0 орасида бўлади. Кислотали муҳитда сариқ, ишқорий муҳитда кўк, оралиқда яшил рангни ҳосил қилади.

Фермент билан субстрат турли ҳароратда инкубация қилинади. Ацетилхолиннинг ферментатив гидролизланиши инкубацион аралашма ҳосил қилган рангга қараб аниқланади.

Қўпгина ҳайвон тўқималаридан 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, қон зардоби - холинэстераза ферменти манбаи, 1:50 марта султирилган, бромтимол кўкнинг 0,2% ли эритмаси /2,5 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 бор кислотасининг

эритмасидан қўйилади, сўнгра эритма ҳажми 0,1 М *кол* эритмаси билан колбанинг белгисигача етказилади. Ишлатишдан олдин эритма 2,5 марта суултирилади).

Ишнинг бориши: учта пробирка олинади, ҳар бирига 2,5 мл қон зардоби ва 0,5 мл бромтимол кўк индикаторидан солинади. Биринчи пробирка 40°C ли сув ҳаммомига, иккинчисини – хона ҳароратидаги сув ҳаммомига, учинчисини музли ҳаммомга қўйилади. 10 минутдан кейин ҳамма пробиркаларга 0,5 мл ацетилхолин эритмасидан солиб сууқилгилар аралаштирилади ва яна уша ҳароратларда сақланади. 10–15 минутдан кейин пробиркаларда ҳосил бўлган ранглар белгиланади ва ферментатив реакция ҳароратга боғлиқ эканлиги аниқланади.

XI боб. Сут

* Сут – тиниқ бўлмаган суяқлик бўлиб, мазаси ширинроқ ва кучсизроқ узига хос ҳидга эга. Сутнинг ранги маълум даражада унинг таркибидagi A провитаминонинг миқдорига боғлиқ бўлиб, каротин унга сариқроқ тус беради.

Сут – сут плазмасидан ва ёғдан 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	66,0	14–20	17,0	2,8	1,5

Сутнинг таркибида асосан қуйидаги оқсиллар бор: казеиноген, лактоальбумин, лактоглобулинлар, липопротеинлар, ферментлар ва бoshқалар. Энг муҳим сут оқсилларига – казеиноген = фосфопротеинлар киради. Фосфат кислота оқсил таркибидаги оксиаминокислоталар—

серин ва треонин қолдиги билан боғланади. Казеиноген тулик қий-
 матли оқсил бўлиб, яъни таркибида ҳамма аминокислоталар йигин-
 диси бор. Таркибида етарли миқдорда кальций ва фосфор борлиги
 учун организмда яхши ҳазм бўлади. Сут оқсиллари ҳам биологик
 тулик қийматлидир. Улар қайнатилганда кагуляцияга учрамайди.
 Казеиноген – сут ачиганда денатурацияга учрайди, унинг изоэлек-
 трик нуқтаси $pI = 4,7$. Сут липидларининг асосий қисми – три-
 глицеридлардир. Ёғлар сутда эмульсия ҳолатида учрайди. Сут угле-
 водларининг 99,9% ни лактоза ва 0,1% – глюкоза ташкил қилади.
 Лактоза β -D-галактозидоглюкоза – дисахарид ва сут безлари
 учун хосдир. Организмда лактоза кальций, магний, фосфорнинг
 ҳазм бўлишида ва В гуруҳидаги витаминларнинг синтезида иштирок
 этади.

Сутнинг таркиби каротин ва А витаминларга бой, шунингдек
 ина С, Д, В₁, В₂, В₅, В₆ витаминлари ҳам учрайди. Сутнинг тар-
 кибида 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 камрок нисбат-
 да темир учрайди. Сутнинг таркиби ҳайвонларнинг индивидуал ҳу-
 сусиятларига, зотига, лактация даврининг вақтига ва озиканинг
 характерига боғлиқдир. Организмнинг физиологик ва патологик ҳо-
 лати ҳам сутнинг миқдорига ва таркибига таъсир қилади.

Сутнинг сифат анализи

1. Казеиннинг чуқтириш ва ажратиб олиш. Сутга кислоталар
 /масалан, сирка, сут, хлорид/ ёки аммоний сульфатнинг, натрий
 хлориднинг туйинган эритмаларини таъсир эттириб, казеин ажратиб
 олиш мумкин. Казеин сувда эримади, ишкорий эритмаларда тез эриб
 кетади. Сутдан казеинни ажратиб олинганда унинг зардоби қолади.
 Сут зардоби таркибида лактальбуминлар ва лактоглобулинлар, лак-
 тоза ва минерал тузлар бор. Ёғлар ҳам казеин чуқмаси билан бир-
 галиқда чуқади.

Керакли асбоблар: колбалар; стаканлар; цилиндр 100 мл ли,
 пипетка, шиша таёқча; фильтр қоғоз, воронка.

Реактивлар. 1. Сирка кислотасининг 0,1% ли эритмаси, 2. Натрий ишкорининг 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 суултирилиб яхшилаб аралаштирилади ва унга томчилаб сирка кислотанинг 0,1% ли эритмасидан то казеиннинг оқ чўкмаси ҳосил булиши тамом булгунча қўшилади, ёглар ҳам казеин билан биргаликда чўқади. Кислота керакли миқдорда қўшилади, чунки ортиқча кислотада казеин яхши эрийди. Чўкма филтрлангач 2-3 марта дистилланган сув билан ювилади. Чўкма ва филтрат кейинги ишлар учун ишлатишга олиб қўйилади.

Чўкманинг озгина қисмига /казеин, ёг/ натрий гидроксидининг эритмасидан ёки натрий гидрокарбонатидан таъсир эттирилса казеин эрийди ёг эса муаллақ ҳолатда қолади. Суяқлик ҳўл филтр қогоз орқали филтрланади. Ёг филтр қогозда қолади. Филтрат билан оқсил учун реакциялар бажариб кўрилади /рангли ва чўктириш реакциялари/.

Лактоальбуминлар ва лактоглобулинларни ажратиб олиш.

Керакли асбоблар: 50 мл ли колба: пробиркалари билан штатив: филтр қогоз; воронка.

Реактивлар. 1. Филтрат. 2. Натрий хлориднинг тўйинган эритмаси.

Ишнинг бориши. Казеиннинг сирка кислотаси таъсирида чўктириб олинган филтратидан олиб, натрий хлориднинг тўйинган эритмаси билан аралаштирилади /1:1/ ва қайнатилади. Натижада лактоальбуминлар ва лактоглобулинлар чўкмага тушади ва филтрланади. Чўкмани ювилгач дистилланган сувда эритилади. Ҳосил булган эритма билан оқсиллар учун рангли реакциялар қилиб кўрилади.

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 филтратидан /казеинни чўктириш ва ажратиб олиш/ ишдан/ колбага солинади ва унга 10 мл иссиқ /60-70°C/ натрий салицилатнинг эритмасидан қўшилади. Колба сув ҳаммомига /75-80°C/ қўйилгач, казеин эригунча чайқатиб турила-

2,5 мл натрий фториднинг эритмасидан солинади. Сунгра биринчи колбага /тажриба/ 5 мл сут, иккинчисига /контрол/ - 5 мл дистилланган сув қўшилади. Колбалар чайқатилади ва 30 минутдан кейин филтрланади.

20 мл филтратлардан олиб, 100 мл ли колбаларга солинади ва 20 мл дан йоднинг эритмасидан қўшилади, сунгра тухтовсиз аралштириб туриб 10 мл натрий ишқорининг эритмасидан томизилади. Иккала колба тикин билан беркитилгач, 20 минутдан кейин 10 мл хлорид кислотасининг эритмасидан, 5 томчи крахмал эритмасидан қўшилади ва натрий тиосульфатнинг эритмаси билан эритма рангсизлангунча 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 коэффициентини.

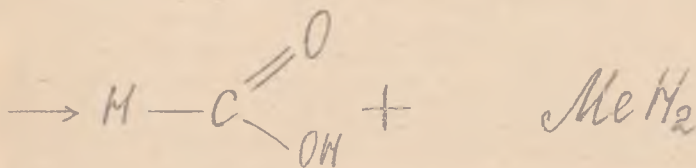
Сигир сутида уртача лактозанинг миқдори 4,6 %.

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 - дихлорфенолиндифенолнинг эритмаси. 3. Сут.

Ишнинг бориши. 10 мл сутга уч ҳажм дистилланган сув қўшиб суьлтирилади. 50-100 мл колбага 1 мл хлорид кислота эритмасидан ва 5 мл суьлтирилган сут солинади, сунгра ҳажми сув билан 15 мл га етказилади. Контрол намуна учун колбага 1 мл хлорид кислотасининг эритмаси ва 14 мл сув солинади. Колбалардаги суьқликлар чайқатилади, сунгра 2,6 - дихлорфенолиндифенол эритмаси билан оч пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади. Контрол намунани титрлаш учун кетган 2,6 - дихлорфенолиндифенолнинг миқдоридан



Чумоли кислотаси

Қайтарилган формаси,
рангсиз

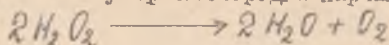
Сутга альдегиддегидрогеназа сут безлари орқали жуда оз миқдорда киради. Сутда микрофлоралар купайганда фермент ҳам куплаб йигилади.

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

Реактивлар: 1. Формальдегиднинг 0,5 % ли эритмаси. 2. Метилен кукининг эритмаси 10,001 % 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 қуйилади - реакциянинг бориши кузатилади. Янги сут солинган пробиркадаги аралашма рангсизланади, қайнатилган сут солинган пробиркадаги аралашма эса рангсизланмайди, чунки қайнатилган сутда бу фермент уз активлигини йукотади.

Каталаза ферментини аниқлаш. Каталаза ферменти таъсирида пергидрол сувга ва молекуляр кислородга парчаланаяди:



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 1/5 қисмини кальцийли бирикмалар ташкил қилади. Ҳайвонлар сутида кальцийнинг уртача миқдори қуйидагича: сигирларда 140 мг%, эчкиларда 142 мг%, отларда 83 мг %.

Сут - кальций ва фосфорга бой бўлган овқат ҳисобланади. Сутдаги 78% кальций анорганик 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 қўшиб аралаштирилади. 2. Оксалат кислотасининг 4% ли эритмаси. 3. Аммиакнинг 2% ли эритмаси. 4. Сульфат кислотасининг 1 н эритмаси. 6. Калий перманганатнинг / KMnO_4 / 0,01 н эритмаси.

Ишнинг бориши. Битта центрифуга пробиркасига 1 мл суўлтирилган сут, иккинчи пробиркага 1 мл сув солинади, сўнг иккала пробиркага 0,5 мл аммоний оксалатнинг эритмасидан қўшиб аралаштирилади ва 30 минутга қолдирилади. Кейин эса 10-15 минут центрифуга /2500 айл/мин/ қилинади. Филтрат тукиб юборилгач иккала пробиркадаги чўкмага 4 мл дан аммиакнинг 2% ли эритмасидан солинади ва яна 8-10 минут центрифуга қилинади. Кальций оксалат чўкмаси ишқорий шароитда эримаиди, минерал кислоталарда эса яхши эрийди. Иккала пробиркага 1 мл дан сульфат кислотасининг 1 н эритмасидан солинади ва шиша таёқча билан яхшилаб аралаштирилади. Сўнгра пробиркалар /таёқлари билан/ 3-4 минут қайнатилган сув ҳаммомига қўйилади. Иссиқ эритмаларни 0,01 н KMnO_4 эритмаси билан пушти ранг ҳосил бўлгунча титрланади.

Сутдаги кальций миқдори / мг % / қуйидаги формула билан ҳисобланади:

$$X = \frac{0,2 \cdot V - K}{0,1} \cdot 100$$

- 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 5Мл O_4 нинг
эритмасига тўғри келади, мг;
100- мг % ҳисоблаш учун;
0,1- сувлантирилган сутнинг таркибидаги сутнинг миқдори,
мл.

Сутнинг кислоталилигини аниқлаш

Сутнинг кислоталилигини аниқлаш уни айнаб қолмаганлигини билишда катта амалий аҳамиятга эга. Сут узоқ муддат сақланганда ачийди ва натижада сут кислотаси йиғилади. Сутнинг кислоталилиги градусларда ифодаланади. 100 мл текшириладиган сутни нейтраллаш учун сарф булган 0,1 н ишқорнинг мл даги миқдори 1° га тўғри келади. Янги сигир сути $15-18^{\circ}$, тузиб қолган сут - $20-22^{\circ}$, қайнатилганда ивиб қолган сут - $24-27^{\circ}$ га эга.

Керакли асбоблар: 50-100 мл лм колбалар; пипеткалар; бюретка.

Реактивлар. 1. Натрий гидроксиднинг 0,1 н эритмаси. 2. 0,1% ли фенолфталеиннинг спиртдаги эритмаси. 3. Сут.

Ишнинг бориши. Колбага 10 мл текшириладиган сут, 20 мл дисцилланган сув ва 2-3 томчи фенолфталеиннинг эритмасидан солинади, сунгра колба 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 кўрсатади.

XII боб. Мускул тўқимаси

Мускул тўқимаси - гўштнинг муҳим компоненти ҳисобланиб учга бўлинади: таргил чизикли; силлик ёки чизиксиз ва юрак мускули. Мускуллар масалан, қон айланишида, нафас олишда, томирлардаги тонусларни бир хилда ушлаб туриш ва бошқа жараёнларда жуда муҳим физиологик функцияларни бажаради. Мускул таркиб куйидагича 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, гликогенолиз ва трикарбон кислоталар цикли/, витаминлар, макро ва микроэлементлар / - I, -I,5 /.

Оқсиллар - мускул тўқимасининг энг муҳим таркибий қисмларидан бири бўлиб, улар саркоплазматик, миофибрилляр ва строма оқсилларига бўлинади. Саркоплазматик оқсилларга миогенлар, миоальбуминлар, миоглобулинлар ва миоглобинлар киради. Миогенлар - оқсилларни, яъни мускул оқсилларининг 30% ни ташкил этади. Миогенлар иккига бўлинади: 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 ўхшаб, 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 моцдалар осон сувли эритмага ўтади.

Мускул тўқимасининг таркибида турли хил ферментлар: масалан, катепсинлар, липазалар, оксидоредуктазалар бор.

Миозинни ажратиш

Миозин (актимиозин) - мускул оқсилли бўлиб, мускул тўқимасидан тузали эритмалар ёрдамида экстракция қилинади. Ҳосил булган экстрактлар сув билан суялтириб ёки диализ қилиб, чўкмага туширилади. Миозин мускул оқсилларининг 55% ини ташкил этади. Бу оқсилнинг изоэлектрик нуқтаси pH 5,5 да намоён бўлади.

Керакли асбоблар: муз ҳаммоми; қайчи; 1000 мл ли колбалар; центрифуга; дока.

Реактивлар. 1. 0,15 М фосфат буфери, 0,3 М KCl эритмасида тайёрланади pH 6,5. 2. $0^{\circ}C$ гача совитилган дистилланган сув.

Ишнинг бориши. Янги сўйилган ҳайвон мускули тўқимасидан олиб майдаланади. Бу жараён $-2^{\circ}C$ 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 ҳароратидаги сувдан қўшиб, ҳажми 1000 мл га етказилади ва дока орқали филтрланади. Сунгра филтратни мешалка билан актомиозин чўкмаси ҳосил булгунча аралаштириб туриш /бир-икки соат/ лозим. Чўкма центрифуга қилиниб, ажратиб олинади. Шундан кэин суюқликка $0^{\circ}C$ совитилган 1500 мл дистилланган сув 10 минут давомида аралаштириб қўшилади - да $0^{\circ}C$ да 2 соат қолдирилади. Сунгги жараёнда миозиннинг чўкмаси центрифуга қилиниб миозин ажратиб олинади ва унинг изоэлектрик нуқтаси аниқланади.

Мускул тўқимасидаги креатин ва креатин-фосфатни аниқлаш

Креатин - кўндаланг таргил мускулнинг муҳим таркибий қисми ҳисобланади. Скелет мускулларининг таркибида креатиннинг миқдори 400-500 мг %, юрак мускулида креатин 2-3 марта кам бўлади. Мия тўқимасида тахминан 100 мг %, паренхиматоз органларда 10-50 мг % миқдорда креатин бор.

Мускул тўқимасида креатин эркин ҳолатда ва фосфорли ҳосилалари /креатинфосфат, фосфокреатин/ ҳолатида учрайди. Креатинфосфат мақр эргик бирикма бўлиб, ҳужайрада энергия манбаи ҳисобланади.

Мускулларнинг қисқариши доимо энергия ҳисобига содир бўлади,

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 -нафтолнинг ишқордаги эритмасидан ва 0,5 мл 0,05% ли диацетил эритмасидан солинади. Намуналарнинг ҳажми дистилланган сув билан 5 мл га етказилади, сўнгра яхшилаб аралаштирилади ва 30 минут хона ҳароратида қоронгу жойда қолдирилади. Кейин спектрофотометрда 540 нм тўлқин узунлигида оптик зичлиги ўлчанади. Олинган натижалардан график чизилади.

Текширилаётган 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 кислотасидаги эритмаси таъсирида аорганик фосфат кислота ва креатинга парчаланadi. Ишқорий муҳитда пикрин кислотаси билан ҳосил қилган рангнинг оптик зичлиги спектрофотометрда ўлчаб 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 оқсилсиз 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 тўлқин узунлигида оптик зичлиги ўлчанади. 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 микомл 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;

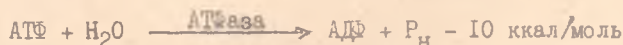
100 - процентда ҳисоблаш коэффициенти;

2 - аниқлаш учун олинган фильтратнинг ҳажми;

C - мускул тўқимасининг оғирлиги, мг.

Мускул тўқимасида аденозинтри-
фосфатазанинг активлигини
аниқлаш

Mg^{2+} - АТФ аза ферменти АТФ нинг гидролитик парчаланишини катализлайди ва бу реакция натижасида энергия ажралиб чиқади:



Бу ферментнинг активлиги тўқималарда сарфлаган АТФ нинг миқдорини кўрсатади.

Методнинг принципи. Ферментатив реакциянинг активлиги, АТФ аза таъсирида АТФнинг парчаланишидан ҳосил бўлган неорганик фосфат кислотанинг миқдорига қараб аниқланади.

Керакли асбоблар: гомогенизатор; аналитик тарози; қайчи; 1 ва 2 мл ли пипеткалар пробиркалари билан штатив; воронкалар; фильтр 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, *NaCl* - 0,58 М, ЭДТА - 0,01 М, *MgCl_2* - 0,02 М, АТФ - 0,02 М; 5. Буфер аралашма, рН - 4 - бу буфер аралашма: 0,2 М сирка кислотаси ва 0,4 М $CH_3COO\ Na \cdot 3H_2O$ эритмасидан тайёрланади. 6. Аммоний молибдатнинг 1% ли эритмаси. 7. 1% ли асворбин кислотасининг 1 мМ мис сульфатдаги эритмаси.

Ишнинг бориши. 100 мг мускул тўқимаси майдаланади ва 5 мл 0,025 М сахарозанинг Трис - HCl /рН-7,4/ эритмаси билан гомогенизация қилинади. Ҳосил бўлган гомогенат дока орқали-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 қўйилади. Сунгра пробиркалардаги суяқликнинг ҳажми 0, 25 М сахарозанинг эритмаси билан 10 мл га етказилади ҳамда 10 минут 2500 айл/минут тезликда центрифуга қилинади. Чукма тўкиб юборилади, суяқлик 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 буферидан қўйилади. Эритмалар аралаштирилгач, 30 минутга қолдирилади. Шундан кейин ҳосил бўлган рангнинг интенсивлиги спектрофотометрда 750 нм тўлқин узунлигида ўлчанади.

АТФаза ферментининг активлиги микромоль миқдори билан белгиланади ва бу 1 г тўқима таркибидаги фермент 1 минутда қанча АТФ ни парчалай олишини кўрсатади. АТФаза ферментининг активлиги қуйидагича ҳисобланади /мкмоль/Р_i/г/мин/.

$$E = \frac{/a - b/ \cdot 5}{0,031 \cdot C \cdot 30}$$

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 - Р_i нинг миқдори /мг/ бўлиб, бу бир мкмоль АТФ ни АТФаза таъсирида парчаланишидан ҳосил бўлади;

5 - гомогенатнинг ҳажми, мл;

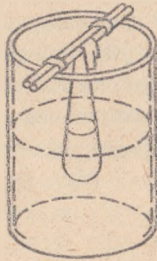
С - тўқиманинг оғирлиги, г;

30 - инкубация вақти.

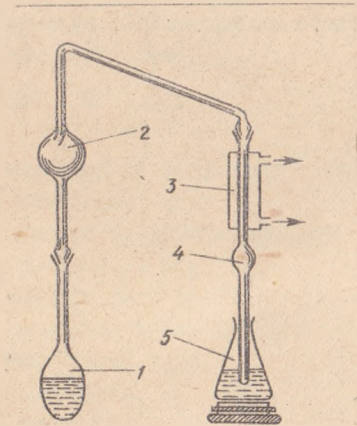
Калибрланган графикни тузиш. Бунинг учун стандарт эритма тайёрланади, бу эритманинг 1 мл да 0,025 мг фосфор бор. Шу

эритмадан фосфорнинг турли концентрацияси тайёрланади: 0,0123 мг; 0,025 мг; 0,0373 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 кўрилади ва 30 минутдан кейин оптик зичлиги спектрофотометрда 750 нм тулқин узунлигида ўлчанади. Сунгра натижалардан калибрланган график тузилади. Шу графикдан тажриба ва контрол намуналардаги фосфорнинг миқдори топилади.

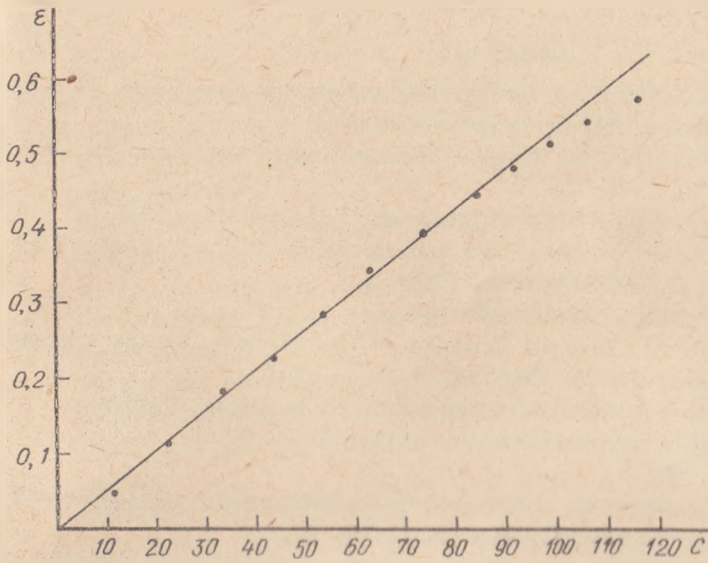


1-расм. Диализатор.



2-расм. Кьелдаль ҳайдаш аппарати.

1-ҳайдаш колбаси; 2-томчиларни тутувчи колба;
3-совуткич; 4-узайтиргич; 5-қабул қилувчи колба.



3-рaсм. Калибpланган гpафик. Абцисса $у$ қида - намуналардаги оксиллар миқдори, мкг ($с$);
Ордината $э$ қида - оптик зичлик (E).



1-рaсм. Оксиллар электрофореграммаларининг кўpиниши.

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. Малый 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 концентрациясини аниқлаш	6
Универсал индикатор ёрдамида рН ини аниқлаш	8
Потенциометрик усул билан рН ини аниқлаш	9
II боб. Оқсиллар	10
Оқсилларни аммоний сульфат таъсирида чуқтириш	12
Оқсилларни натрий хлорид таъсирида чуқтириш	12
Оқсилларни минерал кислоталар таъсирида чуқтириш	13
Оқсилларни органик эритувчилар билан чуқтириш	13
Оқсилларни органик кислоталар билан чуқтириш	14
Оқсилларни оғир металл тузлари таъсирида чуқтириш	14
Оқсилларни алкалоидлар реактиви билан чуқтириш	15
Оқсилларни юқори ҳарорат таъсирида чуқмага тушириш	16
диализ	17
Оқсилларнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш	18
Оқсиллар ва аминокислоталарнинг рангли реакциялари	21
III боб. Мураккаб оқсиллар	28
Нуклеопротеинлар	28
Хромопротеинлар	31
Гликопротеинлар	35
Фосфопротеинлар	36
Тўқималардаги оқсил миқдорини аниқлаш методлари ва оқсиллар алмашинуви	38
Переамицланиш реакцияси	53
Оқсилларни пепсин ферменти таъсирида парчаланиши	56

	бет
IV боб. Нуклеин кислоталар	57
Хайвон туқимасидаги нуклеин кислоталарнинг умумий миқдорини аниқлаш	60
ДНК нинг сифат реакцияси	61
У боб. Углеводлар	61
Моносахаридлар	62
Дисахаридлар	66
Дисахаридларни қайтарувчанлик хусусиятини текши- риш	67
Полисахаридлар	68
Биологик сувқликларда 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
UI боб. Липидлар	83
Ёғларнинг сифат реакциялари	84
Ёғларни пероксидли сонини аниқлаш	88
Ўт кислоталарининг сифат реакцияси	89
Линза активлигига ўтти таъсири	90
Орган ва туқималарда холестерин миқдорини аниқлаш	91
Туқималардан умумий липидларни ажратиш ва миқдорини ни аниқлаш	93
Товуқ туҳуми саригидан лецитинни ажратиш олиш	94
Сийдиқда ацетонли таначаларни аниқлаш	95
Сирка ацетат кислотасининг сифат реакцияси	96
UII боб. Ферментлар	97
Ферментларнинг термолабиллиги	99
Ферментларнинг ўзига ҳослиги	100
Крахмалнинг ферментатив гидролизи	101
Пероксидаза активлигини аниқлаш	104
Глутаматдегидрогеназа ферментининг активлигини аниқлаш	106

Уш боб. Витаминлар	I08
А группа витаминлари	I09
Қон зардобидаги умумий каратиноидларни аниқлаш	I10
Д группа витаминлари	I10
Е витамини /Токофероль/	I11
К витамини	I14
Диэтилмелон эфери билан реакция	I15
Сувда эрийдиган витаминлар	I15
В ₁ витамини	I16
В ₂ витамини	I17
В ₅ витамини	I19
С витамини	I20
IX боб. Гормонлар	I25
Адреналиннинг сифат реакциялари	I28
Кортизоннинг сифат реакциялари	I30
Ошқозон ости беzi гормони – инсулин	I31
X боб. Қон	I32
Қон зардобининг оксил фракцияларини аниқлаш	I32
Қон зардобидаги кальций миқдорини аниқлаш	I36
Қон зардобидаги фосфор миқдорини аниқлаш	I38
Қон зардобидаги умумий фосфорнинг миқдорига қараб умумий фосфолипидларни аниқлаш	I41
Холинэстераза ферментининг активлигини аниқлаш	I43
XI боб. Сут	I44
Сутнинг сифат анализи	I45
Сут қандининг сифат реакциялари	I47
Сутдаги С витамини миқдорини аниқлаш	I48
Сутнинг ферментлари	I49
Сут таркибидаги кальций миқдорини аниқлаш	I51
Сутнинг кислоталилигини аниқлаш	I52
XII боб. Мускул туқимаси	I52
Миозинни ажратиш	I54
Мускул туқимасида аденозинтрифосфатазанинг активлигини аниқлаш	I57
Адабиётлар	I62

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 мудири Р.О. Мирзаев
Кичик муҳаррир Н. Каримова
Бадий муҳаррир И. Кученкова
Техн. муҳаррир Н. Сорокина
Корректор М. Ғозилова

ИБ № 934

Босишга рухсат этилди 29.12.89. Р 09021. Формати 60x84¹/₁₆.
№ I босма қоғозга офсет усулида босилди. Шартли босма л. 9,76.
Шартли кр.отт. 9,97. Нашр л. 10,0. Тиражи 5000. Заказ № 658
Баҳоси 40 т.

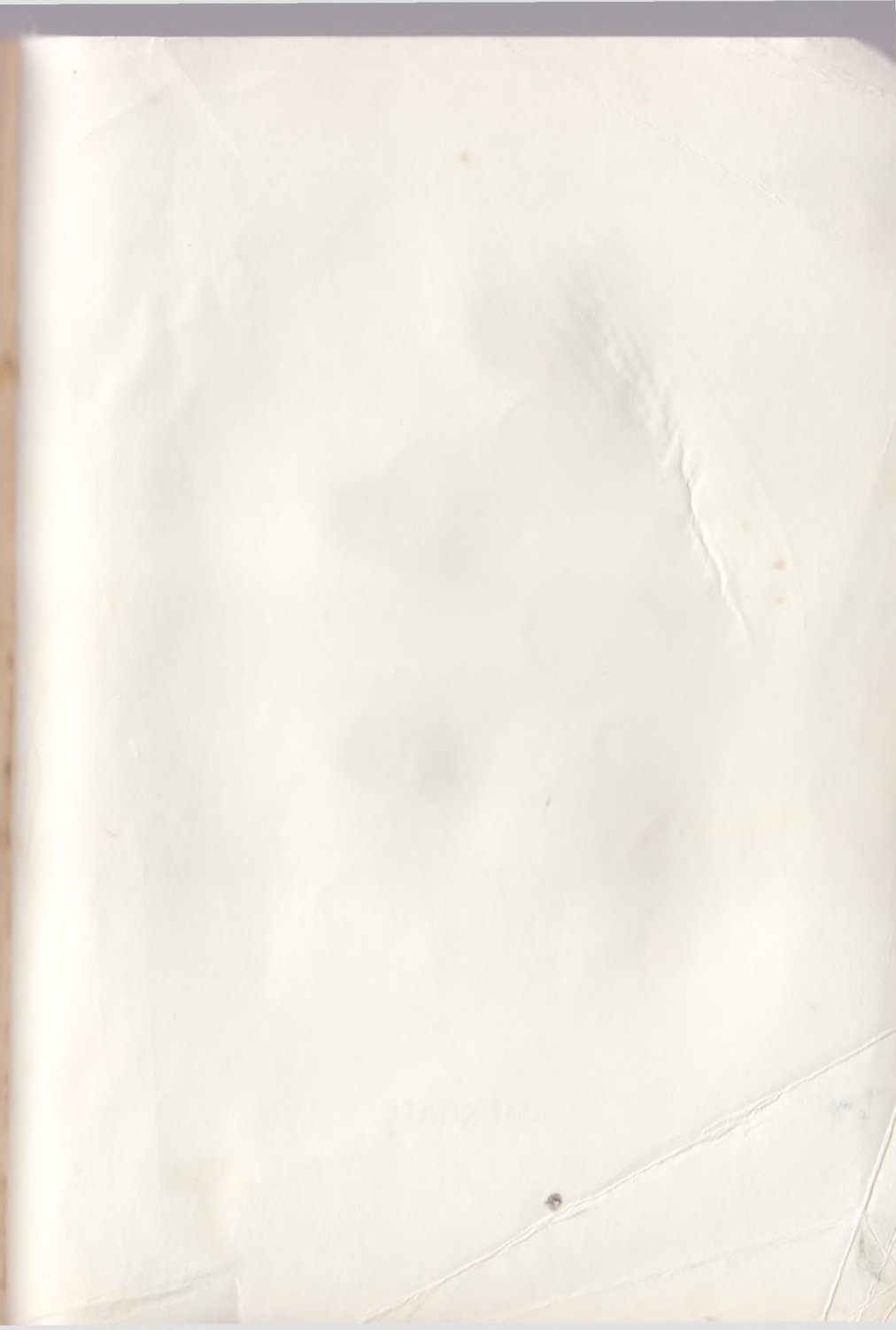
"Меҳнат" нашриёти. 700129, Тошкент, Навоий кучиси, 30.
Шартнома № 165-89.

Ўзбекистон ССР нашриётлар, полиграфия ва китоб сандоси ишлари
Давлат комитети Тошкент "Матбуот" полиграфия ишлаб чиқариш бир-
лашмасига ёраши 4-босмахонаси. Тошкент, Радиальный кучаси, 10.

Мирҳамидова П. ва бошқ.
М 53 Ҳайвонлар биохимияси /амалий машгу-
лотлар/. П. Мирҳамидова, С. Ҳолиқов, Л. Раби
Л. Рабинович. Т. "Меҳнат", 1990. 168 бет.

И.И,2 Автордош
Мирҳамидова П. и др. Биохимия живот-
ных /практикум/.

ББК 28.902



40 т.

«МЕХАТ»