

G'Siddiqov, I.Mehmonov, Sh.Sulaymonov

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI  
OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI  
NAMANGAN DAVLAT UNIVERSITETI

# BIOORGANIK KIMYO



**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI  
OLIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI**

**NAMANGAN DAVLAT UNIVERSITETI**

**G'Siddiqov, I.Mehmonov, Sh.Sulaymonov**

# **BIOORGANIK KIMYO**

(laboratoriya mashg'ulotlarini o'tkazish bo'yicha o'quv-uslubiy ko'rsatma)

Mazkur o'quv-uslubiy ko'rsatma Namangan davlat universiteti o'quv-uslubiy kengashining 2021 yil 19-maydagi № 10 sonli yig'ilish qaroriga asosan nashr qilishga tavsiya etilgan.

**G'Siddiqov, I.Mehmonov,Sh.Sulaymonov** Bioorganik kimyo. O'quv uslubiy ko'rsatma. O'zbekiston Respublikasi oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi Namangan davlat universiteti. 2021 yil, 40 bet.

Ushbu o'quv ko'rsatmada aminokislotalar, oqsillar, nuklein kislotalar, uglevodlar mavzulari bo'yicha ma'lumotlar va shu mavzularga oid laboratoriya mashg'ulotlarini bajarish uchun ko'rsatmalar berilgan.

Mazkur o'quv uslubiy ko'rsatma 5140500-kimyo yo'nalishi talabalari uchun mo'ljallangan. Bundan tashqari, turdosh oliy o'quv yurtlarining talabalari, ilmiy tadqiqotchilari va tabiiy birikmalar kimyosiga qiziqadigan mustaqil o'quvchilar ham foydalanishi mumkin.

## **КИМЁ ЛАБОРАТОРИЯЛАРИДА ИШЛАШ ТАРТИБИ**

Кимёвий лабораторияда ишлаётган ҳар бир талаба қуйидаги қоидаларга қатъий риоя қилиши керак:

Лабораторияда ҳар бир талабага алоҳида иш жойи белгиланади. Иш жойида тартиб ва тозаликни сақлаш керак;

Лабораторияда халат кийиб ишланади, у ерда овқатланиш, чекиш ва баланд овозда гаплашиш қатъиян ман этилади;

Ҳар бир лаборатория ишидан олдин, талаба шу ишга тегишли назарий материалларни ўрганиши керак ҳамда йўриқнома билан чуқур танишиши, ноаниқ саволларни ҳал қилгандан сўнг тажрибани бошлаши лозим;

Тажриба учун зарур бўлган кимёвий реактивлар ва асбоб-ускуналар мавжудлиги аниқлангандан кейин тажриба ишини бошлаш керак;

Тажрибанинг боришини диққат билан кузатинг, унинг ҳамма тафсилотларини билиб олинг, натижаларни иш дафтаринозга ёзиб боринг. Лозим бўлса асбобнинг расмини чизинг;

Электр токи, газ, сув ва реактивлар тежамкорлик билан ишлатилиши лозим. Тажрибалар учун жуда кам миқдорда моддалар олинг. Ишлатилмай қолган ёки ортиқча олинган реактивларни қайта идишга солиш мумкин эмас;

Ишлатилгандан сўнг барча реактив ва эритмалар сақланадиган идишларнинг қопқоғини ёпиб қўйинг. Реактивларни идишлари билан китоб ва дафтарларнинг устига қўйиш ман этилади. Барча ўтказилган тажрибалар натижалари лаборатория журнаliga (дафтаринозга) ёзилади. Унда айнан шу ишни бажариш учун зарур бўлган назарий маълумотлар, кузатишлар, реакция тенгламалари, ҳисоб-китоблар, саволларга жавоблар, масалалар ечими, анализнинг илмий асосланган натижалари қайд этилади. Журналдаги ёзув тартибли бўлиши ва аниқ ёзилиши керак. Лаборатория журнаlinи тажриба олиб бориш мобайнида тўлдириб бориш лозим. Ҳар қайси иш охирида журнал ўқитувчи томонидан тасдиқланиб борилади.

## **ЛАБОРАТОРИЯ МАШҒУЛОТЛАРИНИ ЎТКАЗИШДА ХАВФСИЗЛИК ЧОРАЛАРИ**

Кимё лабораториясида қўлланиладиган реактивлар, реакцияда ажралиб чиқадиган баъзи бирикмалар теварак-атроф ва инсон учун озми-кўпми зарарлидир. Шунинг учун лаборатория машғулотлари давомида қуйидаги хавфсизлик чораларига риоя қилиш зарур:

Зарарли моддалар билан бажариладиган ишларни мўрили шкафта ўтказиш лозим. Концентрланган кислоталар ва ишқорлар ҳам шу ерда сақланади;

Моддаларни қўлда олмай, балки шпатель ёки чинни қошиқчаларда олиш керак;

Кучли кислоталар, айниқса концентрланган сульфат кислотани суюлтиришда сувни кислотага эмас, балки кислота сувга томчилаб аралаштирилади;

Ажралиб чиқаётган газларни яқин туриб ҳидлаш таъқиқланади. Газни ҳидлаш лозим бўлганда, пробиркани чап қўлга олиб, бурундан пастрокда ушланади ва ўнг қўл билан газ бурун томон елпилади;

Хлор, бром, водород сульфид ва ис гази билан заҳарланганда, дастлаб заҳарланган кишини очик ҳавога олиб чиқиш ва тегишли ёрдам кўрсатиш керак;

Таркибида симоб, мишьяк (маргимуш), барий, кўрғошин бўлган тузлар заҳарли эканини эсда тутиш лозим, улар билан ишлагандан кейин қўлингизни яхшилаб ювинг;

Бир реактивни иккинчисига қўйиш чоғида юзингизга ёки кийимингизга сачрамадлиги учун шу идишнинг тепасига энгашиб қараманг;

Пробиркага бирор реактив солиб қиздирилаётганда, унинг оғзини ўзингизга ёки ёнингизда турган кишига қаратманг;

Юзингизга ёки қўлингизга суюқлик сачраса, тезликда сув билан ювиб, сочиқ билан артинг;

Кислоталар ва ишқорлар тўкилган жойни эҳтиёт бўлиб тезда артинг, сув билан ювиб, кислота тўкилган жойни сода эритмаси билан, ишқор тўкилган жойни эса сирка кислотанинг 5% ли эритмаси билан нейтраллаш керак;

Осон ёнувчи моддалар билан тажрибаларни оловдан узоқроқда ёки мўрили шкафта ўтказиш лозим;

Бензол, бензин ёки эфирлар билан ишлаганингизда олов чиқиб кетса, сув билан ўчиришга уринманг, аланга устига қум сеппиб ўчиринг;

Иситиш асбобларини: муфель ва тигель печи, электр плита ва шунга ўхшаш асбобларни ўтга чидамли материалдан ясалган тагликлар устига қўйиш керак. Ишлаб турган асбобларни асло назоратсиз қолдирманг;

Кумуш тузларининг аммиакли эритмасини узоқ вақт сақлаш мумкин эмас. Чунки вақт ўтиши билан ундан портловчи модда қалдиरोқ кумуш ( $Ag_3N$ ) ҳосил бўлиши мумкин;

Синган пробирка синиқлари ва қоғоз парчаларини махсус идишларга ташлаш лозим;

Лаборатория машғулоти тугагач, ҳар бир талаба идишларни ювиши, иш столларини тартибга солиши, газ ва водопровод жўмрақларини беркитиши, электр асбобларининг ўчганлигини текширишни унутмаслиги лозим. Реактивларни махсус белгиланган жойларга қўйиб, иш жойингизни лаборантга топширинг. Ҳар бир талаба кимё лабораторияларида ишлаш техника хавфсизлиги қоидаларини ўрганганидан кейин, лаборатория ишларини бажаришга қўйилади. Шунинг эсда тутиш керакки, кимёвий лабораторияларда ишлаш: алоҳида эътибор, тартиб, билим ва ишчанликни талаб этади. Булар албатта, ишдаги ютуқлар мезонидир.

## **БИРИНЧИ ЁРДАМ КЎРСАТИШ**

1 Агар терига концентрланган бирор бир кислота сачраса, дарҳол у ерни қўп миқдордаги сув билан ювиб, жароҳатланган жойга эса калий перманганатнинг 3% ли эритмаси шимдирилган пахта қўйилиши зарур;

2 Агар терига ишқор сачраган бўлса, ўша жой аввал сув билан яхшилаб ювилади, сўнгра эса калий перманганатнинг 3% ли эритмаси ёки танниннинг спиртли эритмаси шимдирилган пахта қўйиб боғлаш лозим;

3 Агар кўзга кислота ёки ишқор сачраган бўлса, кўзни яхшилаб сув билан ювиш, сўнгра эса дарҳол шифокорга мурожаат қилиш керак;

4 Агар терига иссиқ буюм, масалан иссиқ шиша, иссиқ металл тегиб куйдирса, куйган жойни калий перманганатнинг 3% ли эритмаси ёки танниннинг спирттаги эритмаси билан ювиб, сўнгра мазь суркаш зарур;

5 Фосфор таъсирдан куйганда ўша жойга мис (II) сульфатнинг 2% ли эритмаси билан ҳўлланган пахта қўйиб боғлаш керак.

6 Хлор, бром, водород сульфид ва ис гази билан заҳарланган беморни дарҳол очик ҳавога чиқариб, шифокорга мурожаат қилиш керак.

7 Реактивлар билан киши организми оғиз орқали заҳарланса, кўп сув ичиши лозим. Металларнинг тузлари билан заҳарланганда сутли маҳсулотлар ичиш ёки тухум ютиш керак. Йод таъсирида заҳарланганда чой, кофе ёки сода эритмаси, ишқор билан заҳарланганда сирка ёки лимон кислотанинг 2% ли эритмасидан бир стакан, кислоталардан заҳарланганда 2% ли сода эритмасидан бир стакан ичиш керак;

8 Куйганда ва заҳарланганда ҳамма вақт зарар кўрган кишига биринчи ёрдам берилгач, дарҳол тиббий муассасаларига мурожаат қилиш лозим.

#### Aminokislota va oqsillarga xos sifat reaksiyalari

Kerakli asbob va idishlar: probirkalar, gaz gorelkasi, suv hammomi, probirka tutqich.

Reaktivlar: tuxum, go'sht va o'simliklardan ajratib olingan oqsil eritmalari, o'yuvchi natriyning 10% li 30% li eritmalari, mis (II)- sulfatning 0,2 % li eritmasi, ningidrinning spirtidagi 0,1% li eritmasi konsentrlangan nitrat kislota, konsentrlangan ammiak, Millon reaktivi, qo'rg'oshin atsetatning 5% li eritmasi,  $\alpha$ -naftolning 70% li spirtidagi eritmasi, natriy gipobromidning 2% li eritmasi, muz sirka kislota, konsentrlangan sulfat kislota.

#### 1 – tajriba. Biuret reaksiyasi

##### Ishning bajarilishi

Probirkaga tuxum oqsili eritmasidan 2 – 3 ml, o'yuvchi natriyning 10% li eritmasidan 2 – 3 ml quyung va unga mis sulfatning 0,2% li eritmasidan bir necha tomchi tomizing. Eritma binafsha rangga bo'yaladi. Bu reaksiyani go'sht, sut, un oqsillari va jelatina bilan ham takrorlang. Ushbu rangli reaksiya peptid bog'I saqlovchi moddalar (oqsillar, polipeptidlar va boshqalar) uchun xosdir.

#### 2 – tajriba. Ningidrin reaksiyasi

Ningidrin reaksiyasi erkin □-amino guruh uchun xos reaksiya hisoblanadi. □-aminokislotalar, peptidlar va oqsillarning molekularida erkin □-aminoguruh bo'ladi. shuning uchun yuqoridagi moddalarning eritmalariga ningidrin qo'shib qizdirilganda ko'k yoki ko'kish – binafsha rang paydo bo'ladi.

Ningidrin tasirida erkin  $\square$  – aminoguruhi bor aminokislota, peptid yoki oqsillar oksidlanish yo'li bilan dezaminlanadi, dekarboksillanadi, natijada aldegid hosil bo'ladi. Bu vaqtda ningidrin qaytariladi va ajralib chiqqan  $\text{NH}_3$  yordamida ikkinchi – qaytarilmagan ningidrin molekulasi bilan bog'lanib ko'k – binafsha, prolin bilan esa sariq rangli kompleks hosil qiladi.

Ningidrin reaksiyasining kimyoviy mohiyatini quyidagicha ifodalash mumkin.

### 3 – tajriba. Ksantoprotein reaksiyasi

#### Ishning bajarilishi

Probirkaga tuxum oqsili eritmasidan 1 ml quying, oq cho'kma yoki loyqa hosil bo'lgunicha 5 – 6 tomchi konsentrlangan nitrat kislota qo'shing. Qizdirganda eritma va cho'kma och sariq rangga bo'yaladi. Bunda deyarli cho'kmaning hammasi eriydi. Aralashmani sovutib va kislotani suyuqlikka ehtiyotlik bilan suyuqlikni chayqatmasdan ishqoriy muhit hosil bo'lgunicha mo'l konsentrlangan ammiak yoki natriy gidroksid tomchilab qo'shing. Dastlab hosil bo'lgan kislotali albuminat eriydi va suyuqlik to'q sariq rangga bo'yaladi.

Tuxum oqsili o'rniga go'sht, sut, un oqsillari va jelatina olib shu tajribani takrorlang. Jelatina bunday reaksiyaga kirishmaydi. Chunki jelatina tarkibida ko'pgina aminokislotalar (tirozin, tiriptofan, fenilalanil) yo'q.

### 4 – tajriba. Millon reaksiyasi

#### Ishning bajarilishi

Probirkaga tuxum oqsili eritmasidan 1 ml quying, oq cho'kma yoki loyqa hosil bo'lgunicha 5 – 6 tomchi konsentrlangan nitrat kislota qo'shing. Qizdirganda eritma va cho'kma och sariq rangga bo'yaladi. Bunda deyarli cho'kmaning hammasi eriydi. Aralashmani sovutib va kislotani suyuqlikka ehtiyotlik bilan suyuqlikni chayqatmasdan ishqoriy muhit hosil bo'lgunicha mo'l konsentrlangan ammiak yoki natriy gidroksid tomchilab qo'shing. Dastlab hosil bo'lgan kislotali albuminat eriydi va suyuqlik to'q sariq rangga bo'yaladi.

Tuxum oqsili o'rniga go'sht, sut, un oqsillari va jelatina olib shu tajribani takrorlang. Jelatina bunday reaksiyaga kirishmaydi. Chunki jelatina tarkibida ko'pgina aminokislotalar (tirozin, tiriptofan, fenilalanil) yo'q.

### 5 – tajriba. Millon reaksiyasi

#### Ishning bajarilishi

Probirkaga tuxum oqsili eritmasidan 1 ml, o'yuvchi natriyning 30% li eritmasidan 2 ml soling va aralashmani 2 – 3 minutqaynating. Bunda cho'kma hosil bo'ladi (qizdirish davom ettirilsa u eriydi) va ammiak ajraladi (hididan bilsa bo'ladi). Hosil qilingan issiq ishqoriy eritmaga qo'rg'oshin atsetatning 10% li eritmasidan 1 ml qo'shing va aralashmani yana qaynating. Bunda dastlab hosil bo'lgan qo'rg'oshin gidroksidning oq cho'kmasi mo'l miqdor o'yuvchi natriy eritmasida eriydi (natriy plyumbit hosil bo'ladi). Oqsil tarkibidagi oltingugurt esa asta – sekin vodorod sulfid holida ajralib, qo'rg'oshin tuzi bilan reaksiyaga kirishadi va qo'rg'oshin sulfidning qora cho'kmasini hosil qiladi:

Oqsillar o'yuvchi ishqorlar bilan qizdirilganda o'zgarib, peptid bog'laridan qisman gidrolizlanadi. shu bilan birga aminoguruhning bir qismi ammiak holida ajraladi. Bu reaksiyani boshqa oqsillar bilan ham takrorlab ko'rishingiz mumkin. Jelatina tarkibida oltingugurt deyarli yo'q. shuning uchun ham u bu reaksiyaga kirishmaydi.

6-tajriba. Sakaguchi reaksiyasi

Ishning bajarilishi

Probirkaga 1 ml tuxum oqsili eritmasidan solib ustiga 10% li o'yuvchi natriy eritmasidan 1 ml, □ – naftolning 70 % li etil spirtidagi 0,1 % li eritmasidan 3 tomchi va 2 % li natriy gipobromid eritmasidan bir necha tomchi (1 dan 5 gacha) tomiziladi (Natriy gipobromid eritmasi – 2 g bromni o'yuvchi natriyning 5% li 100 ml eritmasida yuttirish yo'li bilan hosil qilinadi). Probirkadagi suyuqlik qizil rangga kiradi.

Ammiakning ishtiroki va ortiqcha miqdordagi gipobromid reaksiyaga xalaqit beradi.

7-tajriba. Adamkevich reaksiyasi

Ishning bajarilishi

Probirkaga bir necha tomchi oqsil eritmasidan quyib, unga 2 ml muz sirka kislota quyung va hosil bo'lgan cho'kma eriguncha biroz qizdiring. Keyin probirkani soviting va probirkani engashtirib, ehtiyotlik bilan probirka devori bo'ylab 1 ml konsentrlangan sulfat kislota qo'shing (bunda ikkala suyuqlik aralashib ketmasligi kerak). Bir oz vaqt o'tgach, suyuqliklar chagarasida qizil – binafsha rangli halqa paydo bo'ladi. Agar probirkalar qaynab turgan suv hammomiga qo'yilsa, rangning rivojlanishi tezlashadi.

Jelatina bu reaksiyaga kirishmaydi, chunki uning tarkibida triptofan qoldig'i yo'q.



## OQSILLARNI TABIIY MANBAALARDAN AJRATIB OLISH

Oqsillarning eruvchanligi

Kerakli asbob va idishlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, chinni hovoncha.

Reaktivlar: tuxum oqsilining 1 % li eritmasi, distillangan suv, osh tuzining 5% li eritmasi, NaOH ning 0,2 % li eritmasi, CuSO<sub>4</sub> ning 1 % li eritmasi.

Ishning bajarilishi

Ikkita probirka olib 2 tomchidan suyultirilmagan tuxum oqsilidan tomizib, birinchisiga 1 ml distillangan suv, ikkinchisiga 1 ml 5 % li NaCl eritmasi qo'shiladi va 3 – 5 minut davomida tindirib qo'yiladi. Birinchi probirkada cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi.

Chinni hovonchaga 200 mg bug'doy uni solib, 5 ml 0,2 % li NaOH quyib, yaxshilab eziladi. Eritmaga albumin, globulin va glyutelinlar o'tadi. Aralashma tingandan keyin bir qismi bilan oqsilga rangli reaksiyalar bajariladi, qolganini cho'ktirish reaksiyalari uchun olib qo'yiladi:

1 – jadval

Oqsilning nomi    H<sub>2</sub>O    5 % li NaCl    0,2 % li NaOH

Eslatma. Jadvaldagi 1-ustunda albumin, globulin, glyutelin yoziladi. Qolganlariga eruvchanlikni ifodalash uchun musbat (+) va manfiy (-) belgilar qo'yiladi.

## OQSILLARNI CHO'KTIRISH REAKSIYALARI

Kerakli asbob va idishlar: probirkalar, gaz gorelka yoki spirt lampasi, 2 ml li pipetkalar.

Reaktivlar: natriy gidroksidning 10 % li eritmasi, sirka kislotaning 1 % li va 10 % li eritmasi, natriy xloridning to'yingan eritmasi, 5 % litemir (III) – xlorid eritmasi, 5 % li qo'rg'oshin atsetat eritmasi, 7 % li mis (II) – sulfat eritmasi, konsentrlangan nitrat kislotasi, konsentrlangan sulfat kislotasi, trixlorisirka kislotaning 10 % li eritmasi, sulfosalitsil kislotaning 10 % li eritmasi, pikrin kislotaning 10 % li eritmasi, taninning to'yingan eritmasi, kaliy ferrotsionidning 5 % li eritmasi, spirtning 96 % li eritmasi yoki atseton, fenolning to'yingan eritmasi, formalinning to'yingan eritmasi.

1 – tajriba. Qizdirilganda oqsillarning cho'kishi.

Ishning bajarilishi

5 ta probirka olib, 10 tomchidan 1 % li tuxum oqsilidan tomizib, birinchisiga bir tomchi distillangan suv, ikkinchisiga bir tomchi 1 % li sirka kislotasi, uchinchisiga 1 tomchi 10 % li sirka eritmasi va 1 tomchi NaCl ning to'yingan eritmasi, beshinchisiga 1 tomchi 10 % li NaOH eritmasi tomizib qaynatiladi. Birinchi, ikkinchi va to'rtinchi probirkalarda neytral, kuchsiz kislotali va elektrolitli muhit bo'lganligi uchun cho'kma hosil bo'ladi. Uchinchi va beshinchi probirkalarda cho'kma hosil bo'lmaydi, chunki ularning birida oqsil molekulasida musbat, ikkinchisida manfiy zaryadlanib qolgan.

Ish natijalari quyidagi jadval ko'rinishida ifodalanadi:

2 – jadval

Neytral muhit      Kuchsiz kislotali muhit      Kislotali muhit      Elektrolit  
Ishqoriy muhit

Xulosa

2 – tajriba. Oqsillarni konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish  
Ishning bajarilishi

2 ta probirka olib, birinchisiga 10 – 15 tomchi konsentrlangan nitrat kislota, ikkinchisiga shuncha miqdor konsentrlangan sulfat kislota quyiladi. Har ikkala probirkani 450 li burchak hosil qilib qiyshaytirib, 10 – 15 tomchi 1 % li oqsil eritmasidan ohistalik bilan tomiziladi. Har ikkala qavat suyuqlik chegarasida yupqa oqsil cho'kmasining pardasi (plyonkasi) hosil bo'ladi.

3 – tajriba. Oqsillarni organik kislotalar bilan cho'ktirish  
Ishning bajarilishi

2 ta probirkaga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili tomizib, birinchisiga 1 – 2 tomchi 10 % li trixlorosirka kislota, ikkinchisiga 1 – 2 tomchi 10 % li sulfosalitsil kislota qo'shib, oq cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi.

4 – tajriba. Oqsilni alkaloid reaktivi bilan cho'ktirish  
Ishning bajarilishi

3 ta probirka olib, birinchisiga 2 tomchi 10 % li pikrin kislota, ikkinchisiga 2 – 3 tomchi tanningning to'yingan eritmasidan, uchinchisiga 2 – 3 tomchi 5 % li kaliy ferrotsianid (sariq qon tuzi) eritmasidan tomizib, ularning ustiga 5 tomchidan 1 % li tuxum oqsili eritmasidan tomiziladi. Uchala probirkada ham cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi.

5 – tajriba. Oqsillarning organik erituvchilar ta'sirida cho'ktirish  
Ishning bajarilishi

5 tomchi 1 % li tuxum oqsiliga 20 – 25 tomchi 96 % li spirt yoki atseton qo'shiladi. Eritma loyqalanadi. Uning ustiga 1 tomchi NaOH ning to'yingan eritmasidan qo'shiladi. Biroz turgach oqsil cho'kmaga tushadi.

6 – tajriba. Oqsillarni fenol va formalin bilan cho'ktirish  
Ishning bajarilishi

2 ta probirka olib, ularga tuxum oqsili eritmasidan 1 ml dan quyiladi. So'ngra birinchi probirkaga formalin eritmasidan 1ml ikkinchisiga esa fenolning suvdagi to'yingan eritmasidan 1ml qo'shiladi. Reaksion aralashmalar 10 – 15 minut tindiriladi. Bunda ikkala probirkada ham cho'kma hosil bo'ladi, biroq fenol tasir ettirilgan probirkada cho'kma tezroq hosil bo'ladi.

7 – tajriba. Og'ir metall tuzlari tasirida cho'ktirish  
Ishning bajarilishi

3 taprobirka olib, hammasiga 5 tomchidan 1% li tuxum oqsili eritmasi, birinchisiga 1 tomchi 5% li  $\text{FeCl}_3$ , ikkinchisiga 1 tomchi  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , uchinchisiga 1 tomchi 7% li  $\text{CuSO}_4$  eritmasidan tomizib, cho'kma hosil bo'ladi.

So'ngra uchala probirkaning har biriga 5 – 10 tomchidan yuqoridagi tuz eritmalaridan qo'shiladi va cho'kmalarning erib ketishi kuzatiladi.

O'tkazilgan tajribalarning natijalari quyidagi jadval ko'rinishida yoziladi.

3 – jadval

Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari

Oqsillarni cho'ktiruvchi moddalar guruhlarining nomi Foydalanilgan reaktivlar Cho'kmaning tabiati va nomi Cho'ktirish reaksiyasining prinsipi va xususiyati

1. Konsentrlangan mineral kislotalar

2. Organik kislotalar

3. Alkaloid reaktivlari

4. Organik erituvchilar

5. Og'ir metall tuzlari

6. Fenol va formalin

Xulosalar

### TUXUMDAN ALBUMININI AJRATIB OLISH

Ishning umumiy izohi. Tuxum oqsilidan bosqichma-bosqich tuz bilan cho'ktirish orqali (oldindan 50%-li to'yintirilishidan tushgan cho'mani olib tashlab), hamda dializ yo'li bilan albumin qismi ajratiladi.

Jixozlar va reaktivlar. 100 ml o'lchagich silindir, stakan, setrifuga (vakuom-filtrlagich qurilmasi), SF-26, ammoniy sulfat, bir dona tovuq tuxumi, dializ uchun kamera (2 l).

Ishning borishi. Tuxum oqsili sarig'idan ajratiladi va o'lchagich silindrga solinadi, so'ngra uning hajmi suv bilan 50 ml gacha etkaziladi va 15,65 g ammoniy sulfat qo'shiladi (asta-sekin aralastirilib). Hamma tuz bo'laklari erigandan so'ng yarim to'yingan tuz eritmasidan tushgan globulinlar cho'kmasi sentrifuga qilinib (3-5 ming ayl/min) yoki qalin filtr qog'oz orqali filtrlab ajratiladi. Filtrat (ustidagi suyuqlik) o'lchagich silindrga yig'iladi, hajmi o'lchanib, tuz erishi qulay bo'lishi uchun stakanga o'tkaziladi va eritmaga ammoniy sulfat tuzining to'yinishi darajasi 70% gacha etkaziladi. Tuzning miqdori formula yordamida hisoblanadi:

bu erda:

X – burilgan to'yinish darajasi uchun olingan tuzning miqdori, grammada;

V - oqsil eritmasining hajmi, ml da;

C1 – tuzning dastlabki to'yinish darajasi (o'nli bo'laklarda 100% = 100)

C2 – berilgan to'yinish darajasi.

Kerakli miqdordagi ammoniy sulfat erigandan so'ng loyqalang anaralashma cho'kma xosil qilish uchun 30 – 40 min qoldiriladi (tindiriladi). Ovalbumin cho'kmasi globulinlar kabi yig'ib olinadi. Cho'kma (agarda filtrlash ishlatilgan bo'lsa – filtr qog'oz cho'kma bilan birga holda) oz hajmdagi suvda suspenziyalanib, dializ qopchasiga solinadi va tuzni chiqarib yuborish uchun

dializ qilinadi. Buning uchun dializ qopchasi iliq suv bilan ho'llanib bir uchi bog'lanadiva voronka yordamida oqsil eritmasi bilan to'ldiriladi. Dializ 4 marta 20 mmol pH 7,4 bo'lgan natriy fosfat bufer eritmasida, har galgi almashish 1soatdan kam bo'lmagan holda olib boriladi.

Dializning dastlabki 2 soatini suv bilan olib borish mumkin. Dializatdagi ovalbuminning konsentratsiyasi 260 va 280 nm da yutilishi bo'yicha aniqlanib, nonogrammaga asosan bitta tuxumdagi oqsil miqdori hisoblanadi.

### QON ZARDOBIDAN IMMUNOGLOBULINLARNI AJRATISH

Ishning umumiy izohi. Hayvon (olam) qoni zardobidan 50% to'yinish darajasida ammoniy sulfat bilan cho'ktirish yo'li orqali immunoglobulinlar qismi cho'ktiriladi, ortiqcha tuzni chiqarib yuborish uchun dializ qilinadi va iloji bo'lsa liofillab quritiladi.

Jihozlar va reaktivlar. 50 ml hajmli stakanlar – 2 dona, sentrifuga (vakuum – filtrlagich qurilmasi), SF – 26, ammoniy sulfat, 10 ml qon zardobi, dializ membranasi, hajmi 1 l bo'lgan dializ uchun kamera.

Ishning borishi. Hayvon yoki odam qoni zardobining immunoglobulinlari oqsillarning geterogen sinfidan iboratdir (IgA, IgM, IgD, IgE, IgG). Ular antitelalar hisoblanadi – “antigen”lar – organizmda begona molekulalar paydo bo'lganida unga qarshi ishlab chiqariladigan moddalardir.

Antitella o'ziga mos kelgan o'ta moyillik bilan sezib, “uni” bog'lab oladi va antigenni neytrallashga, hamda yo'qotishga moslaydi.

Qon zardobi immunoglobulinlarining asosiy massasi IgG dan iborat bo'lib, cho'kmaga 33 – 50 % darajada ammoniy sulfat tuzi bilan to'yintirilganda tushadi. 10 ml qon zardobiga aralastirib turib, asta-sekin 3,13 g ammoniy sulfat tuzi qo'shiladi. Aralashma cho'kma hosil qilishligi uchun 30 - 40 min qoldiriladi. Globulinlar cho'kmasida 15 minut davomida 3 – 5 ming ayl/min. Sentrifugalanib yokifiltrlanib ajratiladi, zardobning dastlabki hajmidagi suv bilan eritiladi va 2 marotaba 1 l suvda (1 – 2 soatdan), 1 marotaba pH 7,4 bo'lgan 10 mol natriy fosfat buferida (1 soat) dializlanadi.

Fraktsiyalarning tozalik darajasini oshirish maqsadida qaytadan cho'ktirish odatdagidek olib boriladi. So'ngida ammoniy sulfat bilan cho'ktirilgan vua buferda dializlangan cho'kma imkoniyat bo'lsa liofillangan holda quritiladi.

Erimani 260 va 280 nm dagi optik zichligi o'lchanadi va IgG ning konsentratsiyasi hamda miqdori aniqlanadi. Globulinlar cho'kmasi ajratib olingandan so'ng ustidagi suyuqlik yoki filtrat yig'ib olinadi va albumin ajratish uchun ishlatiladi.

Agarda immunoglobulinni elektroforetik marker sifatida ajratish vazifasi qo'yilsa, u holda, globulinlarning dializlangan fraksiyasi (50 % li to'yintirish bilan cho'ktirilgan) 33 – 34 % li to'yintirish bilan cho'ktiriladi (2 – jadval, 46 b.ga qarang) va dializdash jarayoni yuqorida ban etilganidek qaytariladi.

Sutdan kazein ajratib olish

Kerakli asbob va idishlar: o'lchov probirkasi, shtativ, probirkalar, pipetkalar, filtr qog'oz, voronka.

Reaktivlar: kazein kukuni, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, sirka kislotaning 10% li eritmasi, mis (II)-sulfatning 1% li eritmasi, konsentrlangan nitrat kislota.

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

Ishning bajarilishi.

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

Kazeinni gidroliz qilish va gidrolizatdagi fosfat kislotani aniqlash

Kerakli asbob va idishlar: probirkalar, shisha nay o‘tkazilgan probka, asbest to‘r, shtativ, gaz gorelkasi, voronka, filtr qog‘oz.

Reaktivlar: kazein kukuni, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, konsentrlangan nitrat kislota, molibden reaktivi.

Ishning bajarilishi

100 mg kazein kukuni 3 ml 10% li o‘yuvchi natriy eritmasida eritiladi. Probirkani shisha nay o‘tkazilgan probka bilan (sovitgich sifatida) berkitiladi va asbest to‘r bilan jihozlangan shtativga mahkamlab, qizdiriladi (7-rasm). 1 soatdan keyin gidroliz to‘xtatiladi va suyuqlik filtrlab olingach, filtdan 2—3 tomchi olib, unga 1 ml molibden reaktivi qo‘shib qizdiriladi. Limon sarig‘i rangli ammoniy-fosfomolibdat cho‘kmasi hosil bo‘ladi.

### QON ZARDOBIDAN ALBUMINNI AJRATISH

Ishning umumiy izohi. Hayvon (olam) qoni zardobidan 50% darajada tuz bilan to‘yintirish yo‘li bilan globulinlar (alfa, betta, gamma) cho‘ktiriladi, so‘ngra cho‘kma ustidagi suyuqlikdan tuz bilan to‘yintirish darajasini 70% ga etkazib turib, zardob albumini cho‘ktiriladi va dializ yo‘li bilan tuzsizlantiriladi.

Jihozlar va reaktivlar. 50 ml o‘lchagich silindr, 50 ml stakan, sentrifuga (vakuum – filtrlagich qurilmasi), SF – 26, 10 ml qon zardobi, ammoniy sulfat, dializ membramasi, hajmi 1 l bo‘lgan dializ uchun kamera.

Ishning borishi. Hayvon yoki odam qoni zardobini tuz bilan to‘yintirilganda tuzning konsentratsiyasi asta-sekin oshirilishga qarab quyidagi fraksiyalar (qismlar) cho‘kishi mumkin:

To‘yintirish darajasi, %	Cho‘kmaga tushayotgan fraksiya	Cho‘kmadagi oqsil miqdori (umumiy oqsilga nisbatan), %	Eslatma
34	$\gamma$ – globulinlar	20	
40	$\alpha, \beta, \gamma$ – globulinlar	15	
50	$\alpha, \beta$ – globulinlar,		

$\alpha$  - mukoproteinlar 14

62 Zardob albumini 32 Kristall holda

68 Albumin, gemokuperin, glikoproteinlar va boshqalar 14

Qon zardobi albuminini globulinlar yig'indisini ammoniy sulfat tuzi bilan 50 % gacha to'yintirilib oldindan cho'ktirilgandan so'ng ajratiladi. Buning uchun 10 ml qon zardobiga 3,13 g tuz qo'shiladi va globulinlar cho'kmasi filtrlanib yoki sentrfugalanib olib tashlanadi, filtrat (cho'kma ustidagi suyuqlik) yig'ib olinadi. Globulinlar cho'kmasi qayta cho'ktirilib fraksiyalash uchun foydalaniladi. Zardob filtrati globulinlar olib tashlangandan so'ng o'lchagich silindrga solinib hajmi o'lchanadi va 60 % gacha to'yintirish uchun quruq tuz qo'shiladi. Ma'lum konsentrsiyagacha kerak bo'lgan tuzning miqdori quyidagi formula bilan aniqlanadi:

Bu erda:

X – tuzning miqdori, g da;

V – eritma hajmi, ml da;

C1 – boshlang'ich to'yinish darajasi

C2 – berilgan

(o'nli bo'laklarda 100% = 1,00);

Kerakli miqdordagi tuz erigandan so'ng, suspenziya 30 – 45 minutgacha cho'kma hosil qilishlik uchun qoldiriladi. Albumin cho'kmasi globulinga o'xshab yig'iladi. Cho'kma (agarda filtrlangan bo'lsa – cho'kma filtri bilan ) oz miqdordagi suvda eritiladi va suvda dializlanadi (3 marotaba, suvning hajmi 1 l, har bir navbati 1 – 2 soatdan). Dializatdagi albumin konsentratsiyasi aniqlanadi, unumi yutilish bo'yicha (280 nm) nomogrammaga asosan topiladi.

## OQSILLARNI TOZALASH, FIZIK-KIMYOVIY XOSSALARINI O'RGANISH

### OQSIL DIALIZI

Kerakli asbob va idishlar: uzunligi 4 – 5 sm, diametri 2,5 – 3 sm li probirka, selofan, shisha tayoqcha, rezina halqa, kimyoviy stakan.

Reaktivlar: kollodiyning spirtli eritmasi, bariy xloridning 1% li eritmasi,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  aralashgan tuxum oqsili eritmasi, NaOH ning 10% li eritmasi,  $\text{CuSO}_4$  ning 1% li eritmasi.

1 – tajriba. Kollodiy xaltacha tayyorlash.

Ishning bajarilishi

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

chekkasidan ajratib olinadi. Kollodiy xaltachaning butunligini tekshirish uchun distillangan suv quyiladi.

2 – tajriba. Oqsilning tuzli eritmasini dializlash

Kollodiy yoki selofan xaltacha (dializator) ning 1/3 hajmiga qadar tuxum oqsilining  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  bilan aralashgan eritmasidan quyiladi.

Xaltachaning og'zi ikkita shisha tayoqcha orasiga olinadi va bu tayoqchalar rezina halqalar bilan qisiladi. Xaltacha distillangan suv solingan stakanga tushiriladi. Xaltachadagi suyuqlik sathi stakandagi suv sathidan pastroqda bo'lishi kerak. 1 – 2 soatdan keyin dializat (tashqaridagi suyuqlik) va dializlanayotgan suyuqlikdan olib, oqsil va sulfat ioniga xos reaksiya qilib ko'riladi, tuz tashqariga chiqqani va oqsil xaltachaning ichida qolganigaishonch hosil qilinadi.

1-rasm. Eng oddiy dializator

1 – tajriba. Dializatda sulfat ioni borligini aniqlash: 10 tomchi dializatga teng miqdorda 1% li  $\text{BaCl}_2$  eritmasidan qo'shiladi va oq rangli  $\text{BaSO}_4$  loyqasi hosil bo'lishi kuzatiladi.

2 – tajriba. Dializatga oqsil borligini aniqlash: 10 tomchi dializat olinib, uning ustiga 5 tomchi 10% li  $\text{NaOH}$ , 1 tomchi  $\text{CuSO}_4$  eritmalari qo'shib chayqatiladi. Aralashmaning ko'k rangga kirishi dializatga oqsil yo'qligidan dalolat beradi.

3– tajriba. Dializlanayotgan suyuqlikda oqsil borligini isbotlash uchun Biuret reaksiyasi o'tkazish

Dializ xaltachasidagi suyuqlikdan 10 tomchi olib, ustiga 5 tomchi 10% liishqor va 1 tomchi 1% li  $\text{CuSO}_4$  eritmalari qo'shiladi. Aralashmaning qizg'ish – binafsha rangga kirishi oqsil dializ xaltachasi ichida qolganidan dalolat beradi.

## OQSILLARNING IZOELEKTRIK NUQTASINI ANIQLASH

Kerakli asbob va idishlar: shtativ, probirkalar, shisha tayoqchalar, pipetkalar.

Reaktivlar:  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ning 0,2 M li eritmasi, jelatina yoki tuxum albuminining 1 % li eritmasi, etil spirti yoki taninning 0,1 % li eritmasi, sirka kislotaning 0,1 n eritmasi, distillangan suv, natriy atsetatning 0,2 M eritmasi, sirka kislotaning 0,2 M eritmasi.

1-tajriba. Tuxum albumini yoki jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Ishning bajarilishi

5 ta probirkaga 5 – jadvalda ko'rsatilgan miqdorda 0,2M natriy atsetat  $\text{CH}_3\text{COONa}$  va 0,2 M atsetat kislota  $\text{CH}_3\text{COOH}$  eritmalaridan quyiladi. Hamma probirkada 1 ml dan bufer aralashma tayyor bo'ladi, uning ustiga 0,5 ml dan 1 % li jelatina yoki tuxum albumini qo'shiladi. So'ngra yaxshilab aralastirilgach, 2 ml dan etil spirt yoki 1 ml dan 0,1 % li tanin qo'shiladi. 5 minutdan keyin qaysi probirkada ko'proq loyqalanish paydo bo'lgani belgilanadi. Agar loyqa bo'lmasa minus (-), aralashma loyqalansa, loyqaning quyuqligiga qarab 1,2 yoki 3 ta plyus (+) qo'yiladi. Qaysi probirkadagi loyqalanish eng yuqori bo'lsa, jadvalga qarab shu probirkadagi suyuqlikning pH darajasi, shunga qarab tekshirilayotgan oqsilning izoelektrik nuqtasi aniqlanadi.

5 – jadval

Jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Probir-ka

№ 0,2 M CH<sub>3</sub>COONaning miqdori (ml da) 0,2 M CH<sub>3</sub>COOH ning miqdori (ml da) Aralash-maning pH qiymati Qo'shilgan jelatina yoki tuxum albuminning miqdori

(ml da) Qo'shilgan taninning miqdori (ml da) Loyqa-lanish darajasi

1

2

3

4

5 0,1

0,2

0,5

0,8

0,9 0,9

0,8

0,5

0,2

0,1 3,8

4,15

4,75

5,35

5,7 0,5

0,5

0,5

0,5

0,5 1

1

1

1

1

## SUT TARKIBIDAGI OKSIDOREDUKTAZANI ANIQLASH

Kerakli asbob va idishlar: probirkalar, gaz gorelkasi, suv hammomi, probirka tutqich.

Reaktivlar: Sigir suti(xom), formaldegid, 0,1% li metilen ko'kning spirtli eritmasi.

Ikkita probirka olib, birinchisiga 5 tomchi qaynatilmagan, ikkinchi probirkaga esa xuddi shuncha qaynatilgan sut soling. shundan so'ng har ikkala probirkaga 3 tomchidan formaldegid va 3 tomchidan 0,1% li metilen ko'ki indikatorining spirtli eritmasidan qo'shing. Har ikkala probirkani 70oC da suv hammomida qizdiring. Bunda bitta probirkadagi rang o'zgarishini kuzatasiz. Sababini tushuntiring.

Xom sutda aldegidodegidrogenaza borligining ochilishi



Uchta probirkaning har qaysisiga 5 ml dan yangi sog'ilgan mol suti quyiladi. Birinchi probirkadagi sut 2 – 3 minut davomida qaynatiladi. Qaynatilgan sut sovigach unga va ikkinchi probirkaga formalinning 0,4 % li eritmasidan 1 ml dan qo'shiladi. Uchinchi probirkaga esa 1 ml suv solinadi. Uchala probirkaga metilen ko'kning 0,1 % li eritmasidan 1 ml dan qo'shiladi va ustiga havo kislorodidan saqlash uchun 3 – 4 tomchidan vazelin moyi solinadi.

Probirkalar 40°C li suv hammomiga qo'yiladi. Bir oz vaqt o'tgach qaynatilmagan sutli probirkada metilen ko'kning rangsizlanishi kuzatiladi. Bu sut tarkibidagi aldegidodegidrogenaza fermentining formaldegiddan vodorodni tortib olib metilen ko'kiga berishi (qaytarishi) natijasidir.

Qaynatilgan sut tarkibidagi ferment termik inaktivlangani uchun faoliyat ko'rsatmaydi (birinchi probirka). Uchinchi probirkada esa vodorod beruvchi substrat – formaldegid yo'qligi tufayli sut aldegido-degidrogenazasi metilen ko'kini qaytara olmaydi (rangsizlantirmaydi).

Bo'yoq (metilen ko'ki) rangsizlangan probirka chayqatilganda havo kislorodi ta'sir etishi hisobiga bo'yoq yana o'z rangiga ega bo'lib qoladi:

#### 4 – tajriba. Kartoshka tarkibidagi tirozinazani aniqlash

Bir bo'lak xom kartoshka qirg'ichdan o'tkaziladi va ozroq suv qo'shib eziladi. Hosil bo'lgan bo'tqani qo'shqavat dokadan o'tkazib filtrlanadi. Filtratdan 1 ml olib (qolganini keyingi tajriba uchun saqlab qo'ying), unga tirozinning 1% li eritmasidan bir necha tomchi tomiziladi va chayqatib 40°C haroratli suv hammomiga qo'yiladi. Aralashmapushti-qizil, so'ngra qo'ng'ir va nihoyat (1-2 soatdan so'ng) qora rangga kiradi, natijada melanin pigmenti hosil bo'ladi. Kartoshkaning tirozinaza fermenti tirozinni havo kislorodi yordamida oksidlaydi:

#### 5 – tajriba. Kartoshka tarkibidagi peroksidazani aniqlash

O'simliklarda peroksidaza fermentlari ko'p uchraydi, ular polifenollar va aromatik aminlarning vodorod peroksid ta'sirida oksidlanish reaksiyalariga katalizatorlik qiladi.

Oldingi tajribada tayyorlangan kartoshka so'rimi (filtrat)dan 4 – 5 tomchi olib, unga pirogalolning 1 % li eritmasidan 1 – 2 ml va vodorod peroksidning 3% li eritmasidan 1 – 2 tomchi qo'shiladi. Vaqt o'tishi bilan purpurogalloinning sarg'ish – qo'ng'ir cho'kmasi hosil bo'ladi:

## FERMENT FAOLLIGIGA AKTIVATOR VA PARALIZATORLARNING TA'SIRI

Kerakli asbob va idishlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Reaktivlar: kraxmalning 0,5% li eritmasi, distillangan suv, NaCl ning 1% li eritmasi, CuSO<sub>4</sub> ning 1% li eritmasi, 5 marta suyultirilgan so'lak, yodning 1% li eritmasi.

Ferment faolligini kuchaytiruvchi yoki to'xtatuvchi moddalar aktivator va paralizator (ingibitor)lar deb ataladi. Aktivator va paralizatorlarning ta'sir mexanizmi to'liq o'rganilgan emas. Ko'pchilik fermentlar aktivatorlari reaksiya muhitida bo'lmasa ta'siri umuman ko'rinmaydi. Masalan, amilaza dializ qilinsa, faolligi yo'qoladi, NaCl eritmasi qo'shilsa tiklanadi. Kinazalar guruhidagi fermentlarning faolligi uchun Mg<sup>2+</sup> ionlari bo'lishi shart.

Paralizatorlar yoki ingibitorlarning ta'sir mexanizmi yoki xarakteri xilma-xildir. Ba'zi hollarda ular ferment aktivatori bo'lgan metall ionlarini biriktirib olsa, ba'zan fermentni denaturatsiyalaydi yoki ferment bilan "yolg'on" ferment – substrat kompleksini hosil qilib, nafaol holatga o'tkazib qo'yadi.

Ishning bajarilishi

3 ta probirka olib, ularga 5 tomchidan 0,5% li kraxmal eritmasidan tomiziladi, birinchi probirkaga 10 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 8 tomchi suv bilan 2 tomchi 1% li NaCl eritmasi, uchinchisiga 8 tomchi suv bilan 2 tomchi 1% li CuSO<sub>4</sub> eritmasi quyiladi, hammasiga 5 marta suyultirilgan so'lakdan 10 tomchidan qo'shib, yaxshilab aralastirib, xona haroratida qoldiriladi. 5 minutdan keyin uchala probirkaga 10 tomchidan distillangan suv, 1 – 2 tomchidan 0,1% li yod eritmasidan aralastiriladi. Ularning ustiga tajribadagi uchala probirkadagi aralashmaning har biridan 2-3 tomchidan alohida probirkalarga tomiziladi. Yod bilan qilinadigan reaksiya 10-15 minutda yana takrorlanadi. Birinchi probirkadagi suyuqlik binafsha yoki qizil rangga, ikkinchi qizil yoki sariq, uchinchi esa ko'k rangga kiradi. Demak, ikkinchi probirkada kraxmal yaxshiroq, gidrolizlangan, uchinchisida esa gidroliz umuman ketmagan. Ish natijasi 10 – jadvalda qayd qilinadi.

Amilaza faolligiga aktivator va paralizatorlarning ta'siri

10 – jadval

Tajriba №	Ferment	Substrat	Fermentning ta'sir vaqti	Reksion
-----------	---------	----------	--------------------------	---------

aralashmalarning yod bilan bergan rangi

H<sub>2</sub>O

bilan NaCl

bilan CuSO<sub>4</sub>

bilan

1	So'lak amilazasi	Kraxmal	5	
---	------------------	---------	---	--

2	So'lak amilazasi	Kraxmal	10	
---	------------------	---------	----	--

3	So'lak amilazasi	Kraxmal	15	
---	------------------	---------	----	--

Xulosa

## SO'LAK AMILAZASINING XOSSALARI

Kerakli asbob va idishlar: probirkalar, suv hammomi, termometr, gaz gorelkasi, pipetka, muzli stakan.

Reaktivlar: kraxmalning 1% li eritmasi, so'lak eritmasi, yodning 0,1% li eritmasi, 0,05 n HCl, 0,05 n CH<sub>3</sub>COOH, 1% li NaCl, 0,1 n li NaOH, 1/15 M li Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> va KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> eritmalari.

## Nuklein kislotalarga xos sifat reaksiyalar

Kerakli asbob va idishlar: chinni hovoncha, pipetka, laboratoriya sentrifugasi, sentrifuga tarozisi, shisha tayoqcha, 20 – 30 sm uzunlikdagi shisha nay yoki qaytar sovutgich, gaz gorelka yoki spirt lampa, sentrifuga probirkalari.

Reaktivlar: dietilefir, 5 % li sirka kislota, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ning 10% li eritmasi, NaOH ning 0,4; 10; 30% li eritmalari, CuSO<sub>4</sub> ning 1; 7% li eritmasi, konsentrlangan ammiak eritmasi, molibden reaktivi, toza qum, quritilgan achitqi.

### Ishning bajarilishi

1 – bosqich. Achitqidan nukleoproteinlarni ajratib olish

Chinni hovonchaga 1 g achitqi solib, uning ustiga 1-2 tomchi efir, 4-5 tomchi suv tomiziladi va 0,2-0,4 g qum solinadi, so'ngra 1-2 minut tuyuladi. shundan so'ng aralashma ustiga o'yuvchi natriyning 0,4% li eritmasidan 4 ml quyib, yana 5 minut tuyuladi. Havonchadagi massa sentrifuga probirkasiga solinadi, ikkinchi shunday probirkaga suv quyib, sentrifuga tarozisida tenglashtiriladi va 10 minut sentrifugalanadi. Sentrifuga pipetka yordamida toza hovonchaga o'tkaziladi va shisha tayoqcha yordamida aralashtirib turgan holda 5 % li sirka kislota eritmasidan 1,5 ml quyiladi. Bunda nukleoproteid cho'kmasi hosil bo'ladi. Hovonchadagi aralashma pipetka yordamida sentrifuga probirkasiga o'tkaziladi va 10 minut sentrifugalanadi. Sentrifugat to'kib tashlanadi, nukleoprotein cho'kmasi esa gidrolizlanadi.

### 2 – bosqich. Nukleoproteinlarni gidrolizlash

Probirkaga nukleoprotein cho'kmasi (yoki 100 mg quritilgan achitqi) solinib, ustiga 10 % li sulfat kislotasi eritmasidan 4 ml quyiladi (2- rasmga qarang). Probirka og'zi sovutgich sifatida uzun shisha nay (25 – 30 sm) o'tkazilgan probka bilan berkitiladi va asbest to'rga qo'yib, kuchsiz alanga yoki elektr plitkasida qizdiriladi. Aralashma bir soat qaynatilgandan keyin qizdirish to'xtatiladi va sovutiladi, so'ngra filtrlanadi. Filtrat bilan polipeptidlar, purin asoslariga, riboza va fosfat kislotaga xos quyidagi reaksiyalar qilib ko'riladi:

a) Polipeptidlarga xos Biuret reaksiyasi. Probirkaga 5 tomchi gidrolizat olib, 10 % li o'yuvchi natriy eritmasidan 10 tomchi va 1% li mis (II) – sulfat eritmasidan 1 tomchi qo'shib, chayqatiladi. Suyuqlik pushti – binafsha rangga bo'yaladi.

b) Purin asoslariga xos reaksiya. 10 tomchi gidrolizatdan olib, uni konsentrlangan ammiakning 1 tomchisi bilan neytrallanadi va unga 1 % li kumush nitrat eritmasidan 5 tomchi qo'shiladi. 3-4 minutdan keyin purin asoslarining kumushli qoramtir cho'kmasi paydo bo'ladi.

v) Riboza va dezoksiriboza xos Trommer reaksiyasi. 5 tomchi gidrolizat olib, unga 30% li NaOH eritmasidan 10 tomchi qo'shib, mis (II)-gidroksid loyqasi hosil bo'lguncha 7% li mis (II)- sulfat eritmasidan tomiziladi. Suyuqlikni aralashtirib, qaynaguncha qizdiriladi. Riboza yoki dezoksiriboza mis (II)- oksidni qizil rangli mis (I) - oksidiga qaytariganligi uchun qizg'ish loyqa hosil qiladi.

g) Fosfat kislotaga xos reaksiya. 20 tomchi molibden reaktivga 2-3 tomchi gidrolizat qo'shib, bir necha minut qizdiriladi. Agar gidrolizatda fosfat kislota bo'lsa,

suyuqlik limon sarig'i rangiga kiradi. Sovitilganda sariq kristall cho'kma paydo bo'ladi.

Nuklein kislotalar (RNK)ni tabiiy manbalar (undirilgan mosh, loviya fasol, no'xat) dan ajratib olish

Ishning umumiy izohi. Fenol – detergent yordamida loviya kurtagidan umumiy RNK ajratib olinib, uning tozalik darajasi va unumini aniqlash.

Jihozlar va reaktivlar. Sentrifuga, hovoncha, aralashtirgich, 50 ml li o'lchov silindri, 10 ml li pipetka yoki 10 – 20 ml li shpritslar, standart tuzli eritma – 0,14 M Na(K) – sitrat, 200 ml etil spirti, suvga to'yingan fenol, pH 6,0 li 10% li Na – dodetsilsulfat (Na - DDS), xloroform, izoamil spirti, 5 g ungan loviya.

Ishning borishi. Loviyaning unib chiqqan qismini vodoprovod suvi bilan va keyin distillangan suv bilan yaxshilab yuviladi. Undan 5 g olib, chinni hovonchada 50 ml standart tuzi eritmasida gomogen holatga keltiriladi va gomogenatni 3 – 4 qavatli dokadan o'tkaziladi. Bu gomogenatga 1 % gacha Na – dodetsilsulfat qo'shiladi va aralashiriladi, uning ko'pirib ketmasligiga e'tibor berib, suvga to'yintirilgan rN 6,0 li fenol qo'shiladi. Aralashmani 60 oC gacha qizdiriladi va 30 minut davomida yaxshilab chayqatiladi, 0 oS – +5 oC atrofida sovitiladi va 15 – 20 minut davomida sentrifugalanadi. Bunda 3 ta qavat hosil bo'ladi: suvli, fenol va cho'kma. Suvli qatlam deproteinlashga uchragan RNK – dan tarkib topgan, uni shprits yordamida ajratib olinadi va teng hajmdagi xloroform va izoamil spirtli aralashmasi (24 : 1) bilan deproteinlanadi. Aralashmani fenol bilan ishlanganidek yaxshilab chayqatiladi, sentrifuga qiltinadi va yuqoridagi suvli qavat ajratib olinadi. RNK suvli qavatdan 2,5 hajmdagi spirt bilan cho'ktiriladi ( - 10 oC). Sentrifuga yordamida cho'kmani ajratib olinadi va 10 – 20 ml standart tuzi eritmasida eritiladi yoki boshqa bufer eritma ishlatish mumkin va 260, 280 va 230 nm – da yutilish qiymatlari aniqlanadi. A260 /A230 va A260 /A280 nisbatlari aniqlanadi. Birinchi nisbat RNK – ning polisaxaridlardan, ikkinchisi oqsillardan tozalanish darajasini belgilaydi ( $\geq 2,00$ ). 260 nm - dagi yutilish yordamida RNK konsentratsiyasi va hosil bo'lgan miqdori aniqlanadi (260 nm – dagi 1 optik birlik qiymatga 42 mkg RNK to'g'ri keladi).

Nuklein kislotalar (DNK)ni tabiiy manba - paxta chigitidan ajratib olish

Ishning umumiy izohi. Oldindan yog'sizlantirilgan paxta chigiti kukunidan DNK – proteidni dodetsilsulfat yordamida eritib olinib, spirt bilan cho'kmaga tushiriladi.

Jihozlar va reaktivlar. 100 ml li o'lchov silindri, hovoncha, sentrifuga, SF – 26 , 100 ml li stakanlar, standart tuzli eritma – STE (0,14 M NaCl, 0,05 M Na – sitrat pH 8,3), suvga to'yintirilgan fenol, 200 ml 65 % li spirt, 10 % li DDS – Na.

Ishning borishi. 10 g yog'sizlantirilgan paxta chigitining kukunini standart tuzli eritma (STE) bilan hovonchada gomogen holatga keltiriladi, bunda eritmaning qovushqoqligi ortadi. Gomogenatga teng hajmda suvga to'yintirilgan fenol qo'shiladi va aralashmani 30 – 40 minut davomida chayqatilib, keyin sentrifugada 15 min aylantiriladi. Bunda 3 ta qatlam hosil bo'ladi: pastki qatlam – denaturatsiyaga uchragan oqsil cho'kmasi, o'rta qatlam – fenol va yuqori qatlam suvli qatlamdan

iborat. Fenol va suv qatlamlari oraliq'ida denaturatsiyaga uchragan oqsilning yupqa qavati hosil bo'ladi. Suv qismida DNK bo'lib, uni pipetka yordamida tortib olinadi. Suv qismidan fenolni yo'qotish uchun efir bilan ishlanadi (1 hajmda ikki marotaba, ammo bu bosqichni qisqartirish mumkin). Suv qismidagi DNK ni 2,5 – 3 hajmdagi sovutilgan 96o li spirt yordamida cho'ktiriladi, buning uchun oldinroq DNK eritmasining ion kuchini 1 M gacha keltiriladi (5 M natriy atsetat yordamida). DNK eritmasini oz-oz miqdorda spirtga qo'shiladi. DNK ipsimon cho'kma holida eritma yuzasiga chiqadi. DNK iplarini 20 ml standart tuzli eritmada eritiladi va unga 1 M gacha natriy atsetatdan qo'shiladi va spirt bilan cho'ktirish qaytariladi. DNK ni shisha tayoqchaga o'raladi va uni filtr qog'oz orasiga olib siqiladi, so'ngra 20 – 30 ml STE - da eritiladi. Eritmaning 260 nm-da optik zichligi o'lchanadi va DNK - ning chiqim miqdori aniqlanadi ( A260 dagi 1 optik birlik 47 mkg DNK ga teng). A260 /A280 va A260 /A230 nisbatlari aniqlanadi. Birinchi nisbat qoldiq oqsil miqdorini (oqsildan tozalangan DNK  $\geq 2,00$ ), ikkinchi nisbat qoldiq polisaxaridlarning miqdorini aniqlaydi.

#### Nuklein kislotalar tarkibini o'rganish

Ishning umumiy izohi. DNK 1 n KOH yordamida ribomononukleotidlarigacha bilan gidrolizlanadi, gidrolizat HClO4 bilan neytrallanadi, silikagelli plastinkalarda yupqa qavatli xromaografiya qilinadi, nukleotidlar alohida ekstraksiyalanadi va RNK – ning nukleotid tarkibi aniqlanadi.

Jihozlar va reaktivlar. 10 mg RNK preparati, shlifli probirka, 37 li termostat, sentrifuga, xromaografiya kamerasi, SF – 26, 1 n KON, 50% - li HClO4, universal indikator qog'ozi.

Ishning borishi. 10 mg RNK olib, uni ultratermostatda 37 – 38 oS harotda 12 – 18 soat davomida 0,1 – 0,2 ml 1 n KOH yordamida gidroliz qilinadi. Gidroliz vaqtini 3,5 – 4 soatgacha qisqartirish mumkin, lekin bu sharoitda (4 soat, 60 oS) sitidil kislotasining bir qismi dezaminlanadi va uridil kislotaga aylanadi. Gidroliz vaqti tugagach, gidrolizat sovutiladi va 50% - li HClO4 bilan neytrallanadi. Yomon eriydigan KClO4 cho'kmaga tushishi uchun aralashma muzli suv hammomida qoldiriladi.

Gidrolizatdagi ribomononukleotidlar aralashmasi YuQX yordamida etanol : n-butanol (4:1) sistemasida aniqlanadi. So'ngra plastinkani quritib, shu yo'nalishda suv bilan to'yingan va konsentrlangan ammiak yordamida pH 3,5 – 4,5 – ga keltirilgan izomoy kislotasida xromatografiya qilinadi. Nukleotidlar standartdan boshlab, quyidagi tartibda joylashadi: guanil kislota, uridil, sitidil va adenil kislota. Ultrabinafsha nurida hosil bo'lgan dog'lar aniqlanadi, oddiy qalam bilan chiziladi va pH 7,0 bo'lgan 5 ml 0,3 – 0,5 M K – (yoki Na) fosfat buferi eritmasi yordamida 37 – 45 oS – da bir necha soat davomida elyuatsiya qilinadi. Elyuatlar spektrofotometrda quyidagi to'lqin uzunliklarida tekshiriladi: guanil kislota (GK) 255 nm va 290 nm, adenil kislota (AK) 260 nm va 290 nm, sitidil kislotasi (SK) 270 va 290 nm, uridil kislotasi(UK) 260 va 290 nm. Nukleotidlar mkmollarda quyidagi formulalar bo'yicha aniqlanadi: GK = 0,47 x (E255 - E290), AK = 0,363 x(E280 – E290) SK = 0,73 x

(E270 – E290),  $UK = 0,515 \times (E260 - E290)$ . RNK ni xarakterlash uchun nukleotidlar molyar protsentlarda ifodalanadi.

Nisbatan tez va effektiv ravishda ajratishga DEAE – sellyulozali plastinkalar YuQX da olib borish bilan erishish mumkin. Bunda DEAE – selyuloza gips yordamida plastinkaga mahkamlanadi (plastinkalarga 78,5 g DEAE – selyuloza va 62 ml suvdagi 1 g gipsdan iborat suspenziya qo'llaniladi, 50 oS da 2 soat davomida quritiladi). 0,005 n HCl yordamida xromatografiya qilinadi, elyuatsiya qilish va nukleotidlar miqdorini aniqlash yuqorida bayon etilgani kabi amalga oshiriladi. Nukleotidlarning joylashishi quyidagi tartibda bo'ladi: A – 2 fosfat (0,32), A – 3 fosfat (0,24), G – 2 fosfat (0,18), G – 3 fosfat (0,09), S – 2 fosfat (0,61), S – 3 fosfat (0,50), U – 2 fosfat (0,48), U – 3 fosfat (0,42).

DNK – ning kislotali gidrolizi va xromatografiya yordamida nukleotid tarkibini aniqlash

Ishning umumiy izohi. DNK - ni HClO<sub>4</sub> – ning 72% - li aralashmasi bilan gidrolizlanadi va gidrolizatnisilikagelli yupqa qatlamda xromatografiya qilinadi, asoslarning rangli dog'lari ajratib olinadi va asoslarning miqdorini va nukleotid tarkibini aniqlanadi.

Jihozlar va reaktivlar. 2 M DNK, 72% - li HClO<sub>4</sub>, gidroliz uchun ampula, 100 oS – li termostat yoki suv hammomi, xromatografiya kamerasi, SF – 26, yupqa slikagel qatlamli xromatografiya qog'ozi.

Ishning borishi. 2 mg DNK – ni oz miqdordagi 72% - li HClO<sub>4</sub> bilan (DNK cho'kmasi kislotaga shimdirilsin) bir soat davomida 100 oS – da (suv hammomida) berkitilgan ampulada gidrolizladi. Gidrolizdan keyin, ampula ochiladi va gidrolizatni kerak bo'lganda 1 – 2 tomchi suv bilan suyultiriladi va yupqa silikagelli qavatlarda xromatografiya qilinadi. YUforida ko'rsatilgan sharoitda DNK ozod asoslargacha, ribozagacha (furfuroлга aylanadi) va fosfat kislotaga gidrolizlanadi. To'yingan (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 1 M NaCOOCH<sub>3</sub> : i – propanol =80:18:20 sistemasida xromatografiya qilinganda asoslar quyidagicha taqsimlanadi (boshlang'ich nuqtaga nisbatan) guanin, adenin, timin, sitoziin. 5 mM HCl ishlatilganda asoslarning taqsimlanishi o'zgarmaydi, ya'ni guanin, adenin, timin, sitoziin, ammo timin sitoziindan yaxshiroq ajralib chiqadi.

Metanol: kons. HCl :suv = 7:2:1 sistemasida qog'oz xromatografiyani ishlatilsayaxshi natijalarga erishish mumkin. Pastga yo'naluvchi qog'oz xromatografiyasida asoslar quyidagicha joylashadi: guanin, adenin, sitoziin va timin.

Xromatogrammani issiq havoda quritiladi va UB – nurida kuzatilib, qalam bilan asoslarning dog' chegaralari belgilanadi, silikageldagi yoki qog'ozdagi har ir dog'ni 5 – 6 ml 0,1 n HCl bilan yuviladi. Yuvib olishni tezlatish uchun qog'ozni mayda – mayda qilib qirqiladi va yuvishni bir qancha vaqt davomida 37 – 45 oC – da olib boriladi.

Yuvib olingan eritmalar shisha filtrdan o'tkaziladi va optik zichligi o'lchanadi: guanin 250 va 290 nm – da, adenin 260 va 290 nm – da, sitoziin 276 va 290 nm – da, timin 260 va 290 nm – da. O'simliklardan olingan DNK – ni o'rganishda xromatogrammalarda sitoziin va timin dog'lari orasida yana bir chiziq hosil bo'ladi: u 5 – metilsitozinga to'g'ri keladi. 5 – metilsitozinga to'g'ri keladigan ekstrakti 280 va

300 nm – da tekshiriladi. Olingan optik zichliklarga ko'ra asoslarning miqdori quyidagi formula bo'yicha mkmollarda aniqlanadi:  $G = 0,714 \times (E_{250} - E_{290})$ ,  $A = 0,399 \times (E_{260} - E_{290})$ ,  $S = 0,940 \times (E_{276} - E_{290})$ ,  $5 - MS = 0,893 \times (E_{280} - E_{300})$  va  $T = 0,743 \times (E_{260} - E_{290})$ . Har bir asosning molyar protsenti hisoblab (har bir asosning mkmollar yig'indisi 100% deb olinadi) chiqariladi. Natijalar jadval ko'rinishida rasmiylashtiriladi.

#### Riboza (RNK) va 2-dezoksiriboza (DNK) YuQX usulida aniqlash

1-2 mg RNK minimal hajmdagi 0.75 mg KOH bilan gidrolizlanadi (370 S da 18 soat ichida), gidrolizat 2M sulfat kislota bilan neytrallanadi va yuQX uchun ishlatiladi. Dezoksiribozani topishda kislotali gidroliz qo'llaniladi. Xromatografiyani quyidagi sistemada olib boriladi: etilatsetat-atseton-suv=40:50:10 riboza ( $R_f=0,38$ ). Xromatogrammani anilin – difenilamin reaktivi bilan ochiltiriladi: riboza – yashil, dezoksiriboza – ko'k, glyukoza – kulrang ( $R_f=0,28$ ) – qo'ng'ir dog' beradi.

#### DNK ning kislotali gidrolizi va va nukleotid tarkibini YuQX orqali aniqlash

Ish tavsiloti. DNK ni 72% li HClO<sub>4</sub> bilan gidrolizlanadi, gidrolizat YuQX da silikagel plastinkalar bilan o'tkaziladi, asos dog'lari elyuirlanadi va asoslar miqdori, DNK nukleotid tarkibi aniqlanadi.

Kerakli jihozlar: Xromatografik qog'oz, Silikagelli plastinka, SF-26 xromatografiya uchun kamera, Termostat (1000S ga) yoki suvli hammom, Gidroliz uchun ampula.

Reaktivlar: 2 mg DNK, 72% li HClO<sub>4</sub>

Ishni bajarilishi: 2 mg DNK minimal miqdor 72% li HClO<sub>4</sub> bilan kavsharlangan ampulada 1000S da (suv hammomida) 1 soat ichida gidrolizlanadi (DNK cho'kmasi kislota bilan ho'llanadi). Gidrolizdan so'ng ampula sindiriladi, kerak bo'lsa gidrolizat 1-2 tomchi suv bilan suyultiriladi va silikagel plastinkalarda YuQX o'tkaziladi/ bu sharoitda DNK erkin asoslargacha gidrolizlanadi, shu bilan birga riboza furforolga aylanadi va fosfor kislotalar hosil bo'ladi. YuQX ni to'yingan ammoniy silfat – 1 ml natriy atsetat – n-propanol = 80:18:2 sistemasida o'tkaziladi, startga nisbatan asoslar quyidagicha taqsimlanadi: guamin, timin, adenin, sitozin. 5 ml HCl qo'llanilganda asoslar tarqalishi o'zgaradi: guanin, adenin. Timin, va sitozin, lekin timin sitozindan ko'proq siljiydi. Yahshi ajralish qog'oz xromatografiyasida metanol:kons. xlorid kislota:suv = 7:2:1 sistemasida sodir bo'ladi. Quyiga yo'nalgan xromatografiyada asoslar quyidagi tartibda joylashadi: guanin, adenin, sitozin, va timin.

Xromatogrammalar issiq havo bilan quritiladi va UB-nurlarida kuzatiladi, asoslar chegaralari qalam bilan belgilanadi, qog'oz yoki silikagelga asos dog'i 5-6 ml 0,1 n HCl bilan ekstraksiyalanadi. Ekstraksiyani tezlashtirish uchun kichik bo'laklarga qog'oz kesishadi va bir necha soat 37-450S da ekstraksiya qilinadi.

Ekstraktlar shisha filtr orqali filtrlanadi va optik zichlik aniqlanadi: guanin 250 va 290 nm, adenin 260 va 290 nm; sitozin 276 va 290 nm; timin 260 va 290 nm.da. O'simlik DNK sini xromatografiyalanganda sitozin va timin dog'lar orasida yana bitta dog' -5- metil sitozin paydo bo'ladi: 5-metil sitozinga tegishli ekstrakt 280 va

300 nm da o'lchanadi: optik zichlikga asosan asoslar miqdori mkmol da quyidagi formula asosida hisoblanadi:  $G=0,714 \cdot [E_{250} - E_{290}]$ ,  $A=0,714 \cdot [E_{250} - E_{290}]$ ,  $Z=0,714 \cdot [E_{250} - E_{290}]$ ,  $5-MZ=0,714 \cdot [E_{250} - E_{290}]$  va  $T=0,714 \cdot [E_{250} - E_{290}]$

Har bir asosning molyar prorenti hisoblanadi (mkmol summalari har bir asos uchun 100% deb olinadi). Natijalar jadval shaklida yoziladi.

Uglevodlar uchun sifat reaksiyalar o'tkazish

### MONOSAXARIDLARGA XOS SIFAT REAKSIYALAR

Kerakli asbob va idishlar: probirkalar, suv hammomi (800C), pipetkalar.

Reaktivlar:  $\alpha$ -naftolning spirtidagi 15 % li eritmasi, konsentrlangan sulfat kislota, Selivanov reaktivi, glyukoza, saxaroza, kraxmalning 2% li eritmalari, fruktozaning 2% li eritmasi, asalning 5% li eritmasi, arabinoza (yoki ksiloza, riboza, dezoksiriboza)ning 1-2% li eritmasi, Orsin reaktivi, temir (III)- xloridning 10% li eritmasi, xlorid kislotaning 30% li eritmasi, floroglyutsinning 30% li xlorid kislotadagi 0,2% li eritmasi, 1:1 nisbatdagi xlorid kislota eritmasi, anilin atsetat eritmasi, anilin, difenilamin eritmasi.

1-tajriba. Uglevodlarni  $\alpha$ -naftol yordamida aniqlash (Molish reaksiyasi)

Bu reaksiya hamma uglevodlar uchun xosdir. Uglevodlar va murakkab tarkibli birikmalarning uglevod komponentlarini bilib olish uchun ushbu reaksiya qulay va sezgirdir. Uglevodlar konsentrlangan sulfat kislota ta'sirida parchalanib, pentozalar furfuroлга, geksozalar esa 5- oksimetilfurfuroлга aylanadi:

Hosil bo'lgan moddalar sulfat kislotali sharoitda  $\alpha$ -naftol bilan kondensatlanib rangli kompleks birikmalar hosil qiladi. Masalan, geksozalardan hosil bo'ladigan rangli birikmaning tuzilishi quyidagicha:

Ishning bajarilishi

Probirkaga biror uglevod ( glyukoza, saxaroza, kraxmal) eritmasidan 2 ml yoki tarkibi uglevodli qattiq moddadan 0,1 g olib 1 ml suvda eritiladi, ustiga  $\alpha$ -naftolning spirtidagi 15% li eritmasidan 2 tomchi tomiziladi va probirkani qiyaroq holda ushlab, uning devori bo'ylab ehtiyotlik bilan (aralashmani chayqatmasdan) pipetkadan 1 ml konsentrlangan sulfat kislota quyiladi. Sulfat kislotaning zichligi katta bo'lgani uchun probirka tubiga tushadi va suyuqlik ikki qavatga bo'linadi. Xuddi shu ikkala suyuqlik chegarasida sekin-asta binafsha rangli halqa hosil bo'ladi. Aralashmani qaynab turgan suv hammomida bir oz qizdirilsa, binafsha rangning hosil bo'lishi tezlashadi.

Bu reaksiyada  $\alpha$ -naftol o'rniga furfuroл hosilalari bilan kondensatlanish reaksiyasiga kirishib, rangli birikmalar hosil qila oladigan boshqa moddalar (timol, rezorsin, difenilamin) ni ham ishlatish mumkin. Bunda timol - qizil, rezorsin- qizil g'isht rang, difenilamin esa ko'k rang hosil qiladi.



Bu reaksiya juda intensiv, unga juda oz miqdorda filtr qog'oz bo'lakchalari(klechatka) aralashgan bo'lsa ham yaxshi natija berishi mumkin. shuning uchun ham tajriba o'tkazayotganda moddada yoki probirkada filtr qog'oz bo'lakchalari bo'lmasligi shart.

## 2 - tajriba.Ketogeksozalarga Selivanov reaksiyasi

Geksozalarni xlorid va sulfat kislotalar bilan qizdirilganda turli moddalar bilan bir qatorda oksimetilfurfurol ham hosil bo'ladi (1- tajribaga qarang). Oksimetilfurfurol o'z navbatida, rezorsin bilan kondensatlanish reaksiyasiga kirishib,  $C_{12}H_{10}O_4$ tarkibli(qizil rangli) mahsulot hosil qiladi.

Tajriba bir xil sharoitda o'tkazilganda ketozalar geksozalarga nisbatan oksimetilfurfurolga 15-20 marta tezroq aylanadi. shuning uchun ham fruktoza eritmasi qizil rangga tez bo'yaladi. Saxaroza eritmasi ham fruktoza singari Selivanov reaksiyasini beradi. Chunki tajriba o'tkazilayotgan vaqtda saxaroza qismanglyukoza va fruktozaga gidrolizlanadi.

1887 yilda F.F.Selivanov tomonidan ochilgan bu raksiya qandlar aralashmasida erkin holdagi, shuningdek, disaxaridlar va polisaxaridlar molekulasida bog'langan holdagi ketozalarni tez aniqlash imkonini beradi. shuning uchun Selivanov reaksiyasi ketogeksozalar uchun spetsifik reaksiya hisoblanadi.

### Ishning bajarilishi

Ikkita probirka olib, birinchisiga glyukozaning suvdagi 2% li eritmasidan 1 ml, ikkinchisiga esa fruktozaning suvdagi 2% li eritmasidan taxminan shuncha miqdorda quyiladi va har ikkala probirkaga yangi tayyorlangan Selivanov reaktivi (0,01g rezorsinning 10 ml suv bilan 10 ml konsentrlangan xlorid kislota aralashmasidagi eritmasi) dan 2 ml quyiladi. So'ngra har ikkala probirka 80oC gacha qizdirilgan suv hammomida 8 minut qizdiriladi (bu vaqt fruktoza rangining ortib borishi uchun yetarli). Bunda fruktozali eritma och qizil rangga bo'yaladi. Glyukoza eritmasi esa biroz sarg'ayadi.

## 3 - tajriba.Asalda fruktoza borligini isbotlash

2- tajribani asal bilan takrorlang. Buning uchun asalning yangi tayyorlangan 5%li eritmasini ishlatasiz.

## 4 -tajriba.Pentozalarni Orsin va floroglyutsin yordamidaaniqlash

Pentozalar konsentrlangan xlorid yoki sulfat kislota ishtirokida qizdirilganda furfurolga aylanadi. Furfurol orsin bilan yashil rangli, floroglyutsin bilan esa to'q qizil rangli kondensatlanish mahsulotlari hosil qiladi.

### Ishning bajarilishi

Tajriba uchun dastlab birorta pentoza (arabinoza, ksiloza, riboza yoki dezoksiriboza) ning 1-2%li eritmasi tayyorlanadi.

Birinchi probirkaga 1-2 ml orsinli reaktiv quyiladi va qaynaguncha qizdiriladi. Issiq eritmaga 4-5 tomchi pentoza eritmasi tomiziladi. Yashil rang paydo bo'ladi

(Orsinli reaktivi: 0,25g orsinni xlorid kislotaning 30% li 125 ml eritmasida eritib tayyorlanadi. Unga temir (III)- xloridining 10%li eritmasidan 1ml qo‘shib, qoramtir shisha idishda saqlanadi). Ikkinchi probirkaga floroglyutsinning 30% lixlorid kislotadagi 0,2%li eritmasidan 1 ml quyiladi va 4-5 tomchi pentoza eritmasi tomiziladi. Aralashma qaynaguncha qizdirilganda to‘q qizil rang paydo bo‘ladi.

#### 5-tajriba.Pentozalarni anilin yordamida aniqlash

Pentozaga kislota qo‘shib qizdirilganda pentoza molekulasida uch molekula suv ajratib chiqaradi va furfurool hosil bo‘ladi, furfurool anilin ta‘sirida kondensatlanib qizil rangli bo‘yoq hosil qiladi.

#### Ishning bajarilishi

Probirkaga arabinoza yoki boshqa pentozaning bir necha donachasidan solib, ustiga ikki marta suyultirilgan konsentrlangan xlorid kislotadan 2 ml quyiladi va aralashma biroz qaynatiladi. Probirka og‘ziga anilin atsetat bilan ho‘llangan filtr qog‘oz tutiladi yoki probirkaga 1-2 ml anilin quyiladi. Eritma ( yoki anilinli qog‘oz) to‘q qizil tusga kiradi.

#### 6-tajriba.Dezoksiribozani difenilamin yordamida aniqlash

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

#### Ishning bajarilishi

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

#### Monosaxaridlarning kimyoviy xossalari

Kerakli asbob va idishlar: 1,2,5 ml li pipetkalar, suv hammomi, byuretkalar (50ml), probirkalar, gaz gorelkasi.

Reaktivlar: glyukoza, fruktoza, laktoza, maltozalarning 1% li eritmalari, Nilander reaktivi, Feling suyuqligi, Barfed reaktivi, mis (II)-sulfatning 5%li eritmasi, kumush oksidning ammiakdagi eritmasi, fenilgidrazin asetat eritmasi, glyukozaning 10% li eritmasi, natriy gidroksidning 10, 40 % li eritmalari.

#### 1- tajriba. Monosaxaridlarning oksidlanishi

Barcha monosaxaridlar oson oksidlanadi. Ketonlar ham xuddi al‘dozalar singari yaxshi oksidlanadi, ular ketonlardan shu bilan farq qiladi, ketonlar aldegidlarga qaraganda ancha qiyin oksidlanadi. Monosaxaridlar ishqoriy muhitda ba‘zi og‘ir metallar ( Cu, Ag, Bi) ning gidroksidlari ta‘sirida oson oksidlanib, metallarni qaytaradi. Bu reaksiyalar monosaxaridlarni sifat va miqdoriy jihatdan aniqlashda qo‘llaniladi. Tarkibida erkin aldegid guruhi bo‘ladigan disaxaridlar – mal‘toza, laktoza va sellobiozalar ham qaytaruvchi xossaga ega. Bu shakarlarning oksidlanishi ishqoriy muhitda oson, neytral sharoitda qiyinroq, kislotali sharoitda esa juda qiyin boradi.

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



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

#### Ishning bajarilishi

Probirkaga 1% li glyukoza eritmasidan 1-2 ml quyib, uning ustiga teng hajmda 10% li NaOH eritmasi qo'shiladi. Aralashmaga chayqatib turgan holatda tomchilatib 5% li mis sulfat eritmasidan mis(II)- gidroksidning ko'k rangli cho'kmasi hosil bo'lgunicha tomchilatib qo'shiladi. Probirka qiya holda ushlab turiladi va aralashmaning yuqori qismi ochiq alangada ehtiyotlik bilan qizdiriladi. Bunda, avval, sariq rangli mis(I)- gidroksid hosil bo'ladi. Qizdirish davom ettirilsa, u qizil rangli mis(I)-oksidga aylanishi kuzatiladi. Bu reaksiyani boshqa monosaxaridlarning eritmaları bilan ham takrorlang.

b) Feling reaksiyasi. Uglevodlarning qaytaruvchanlik xossasini aniqlash uchun ko'p hollarda Feling reaktividan foydalaniladi. Bu reaktiv tarkibidagi ikki valentli mis ioni signet tuzi (vino kislotaning natriy- kaliyli tuzi) molekulasida bog'langan holatda bo'lib, oksidlanish – qaytarilish reaksiyasiga erkin kirisha oladi. Reaksiya mexanizmi Trommer reaksiyasi bilan bir xil bo'lib, faqat aniqlashga xalaqit berishi mumkin bo'lgan mis(II) – oksid hosil bo'lmaydi.

Feling suyuqligi bilan oksidlanganda Segnet tuzi ortiqcha mis(II)-gidroksidni biriktirib, asosiy reaksiya (monosaxaridlarning oksidlanishi) ning borishinitezlashtiradi. Bu reaksiya asosida glyukozeni miqdoriy jihatdan aniqlash usuli ham ishlab chiqilgan:

#### Ishning bajarilishi

Probirkaga 1% li glyukoza eritmasidan 1-2 ml quyib, unga teng hajmda Feling reaktividan qo'shiladi va aralashma ohistalik bilan qaynaguncha qizdiriladi. Reaksiya natijasida qizil rangli mis(I)- oksid cho'kmasi hosil bo'lishi kuzatiladi. Bu reaksiyani boshqa uglevodlar – maltoza, laktozalar ham hosil qiladi, saxaroza va kraxmal bilan esa qizil cho'kma hosil bo'lmaydi, chunki ular qaytaruvchanlik xossasiga ega emas.

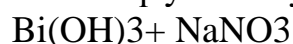
#### v) Kumush oksidining qaytarilishi ( kumush ko'zgu reaksiyasi)

Al'doza va ketozalar ishqoriy muhitda kumush oksid ta'sirida oson oksidlanadi.

#### Ishning bajarilishi

Ikkita toza probirkaga kumush oksidning ammiakdagi eritmasidan(dastlab, qaynoq ishqor eritmasi bilan, so'ngra suv bilan yaxshilab yuvilgan probirkaga kumush nitratning 0,2 n li eritmasidan 1 ml va NaOH ning 2n li eritmasidan 2 ml solinadi. Hosil bo'lgan kumush gidroksid cho'kmasi erib ketgunicha ammiakning 2n li eritmasidan tomchilatib qo'shiladi) oz-ozdan quyilib, ularning biriga glyukozaning 1% li eritmasidan 2 ml, ikkinchisiga fruktozaning 1% li eritmasidan 2 ml qo'shiladi. Probirkalar 70-80oC haroratli suv hammomida 5-10 minut mobaynida saqlanadi. Birinchi probirkaning devorida kumush ko'zgu hosil bo'ladi:

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



Ishning bajarilishi

Probirkaga glyukozaning 1% li eritmasidan 2 ml olib, unga 2 ml Nilander reaktivi quyiladi va 1-2 minut davomida ohista qaynatiladi. Aralashma avval jugar rangga kiradi, vaqt o'tishi bilan vismut metalining qora cho'kmasi hosil bo'ladi.

Nilander reaktivi. 2g vismut gidroksinitrat tuzini o'yuvchi natriyning 10% li eritmasida eritib va 4 g signet tuzi qo'shib tayyorlanadi. Erishni tezlatish uchun suv hammomida isitish mumkin. Eritma sovugach filtrlanadi.

d) Barfed reaksiyasi. Monosaxaridlar mis atsetatning nordon eritmasi ta'sirida ham oksidlanadi, bunday sharoitda disaxaridlar amalda oksidlanmaydi. Bu reaksiyani Barfed topganligi uchun shu olim nomi bilan yuritiladi va biologik obyektlardagi shu ikki guruh shakarlarni bir- biridan farq qilishda qo'llaniladi.

Ishning bajarilishi

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

Tajriba. Monosaxaridlarning smolalanishi

Monosaxaridlar agressiv muhitda (yuqori harorat, kuchli kislota va ishqorlar ta'sirida) smolalanishi, oksidlanishi, polimerlanishi, kondensatlanishi va parchalanishi mumkin. Parchalanish mahsulotlari orasida sut kislota, chumoli kislota va boshqa moddalar ham topilgan.

Monosaxaridlarga suyultirilgan ishqorlar ta'sir ettirilganda, ular enolizatsiyalanadi, so'ngra epimerlarga hamda tegishli ketozalarga aylanadi.

Ishning bajarilishi

Probirkaga glyukozaning (yoki fruktozaning) 10% li eritmasidan 1-2 ml hamda o'yuvchi natriy (NaOH) ning 30-40 %li eritmasidan ham shuncha hajm quyiladi. Aralashmaga "qaynatgich" lar solinadi va 2-3 minut davomida qaynatiladi(ehtiyot

bo'ling). Eritma dastlab sarg'ayadi, so'ngra qo'ng'ir tusga kiradi va kuygan qand hidi keladi.

## DISAXARIDLARGA XOS REAKSIYALAR

Kerakli asbob va idishlar: probirkalar, pipetkalar (1 ml li, 5 ml sig'imli) shtativ, gaz gorelkasi, filtr qog'oz, voronka, lakmus qog'oz, suv hammomi.

Reaktivlar: saxaroza, saxarozaning 1%, 5% li eritmalari, o'yuvchi natriyning 5% li eritmasi, kobalt sulfatning 5% li eritmasi, nikel sulfatning 5% li eritmasi, ohak suti,  $\alpha$ - naftolning 10% li spirtidagi eritmasi, Selivanov reaktivi, Feling reaktivi, Barfed reaktivi, sulfat kislotaning 10% li eritmasi, natriy gidrokarbonat kukuni, laktoza va maltozaning 1% li eritmalari.

### 1 – tajriba. Saxarozaga xos sifat reaksiyalar

shakar molekulasida spirt guruhlari borligi ularning murakkab efirlar va metallarning gidroksidlari bilan saxaratlar (alkogolyatlar tipidagi birikmalar) hosil qilish xususiyati bilan isbotlanadi.

#### Ishning bajarilishi

Ikkita probirkaga saxarozaning 10% li eritmasidan 2-3 ml va ularga o'yuvchi natriyning 5% li eritmasidan 1 ml qo'shiladi. So'ngra probirkalarning biriga kobalt sulfatning 5% li eritmasidan va ikkinchisiga nikel sulfatning 5% li eritmasidan bir necha tomchi tomiziladi. Bunda saxaroza kobalt tuzlari ta'sirida binafsha rang, nikel tuzlari ta'sirida esa yashil rang birikmalar hosil qiladi.

Saxaroza uchun xos bo'lgan bu sifat reaksiya juda seziluvchan bo'lib, eritmalarda va qandlar aralashmasida saxarozani aniqlashda ishlatiladi. Boshqa qandlar bunday sifat reaksiyalariga kirishmaydi.

### 2-tajriba. Kalsiy saxaratning hosil bo'lishi

Disaxaridlar ham monosaxaridlar singari ayrim metallarning gidroksidlari va oksidlari bilan reaksiyaga kirishib, alkogolyatlar tipidagi tuzsimon birikmalarni(saxaratlarni) hosil qiladi.

#### Ishning bajarilishi

Probirkada 1g saxaroza 5 ml suvda eritiladi va unga chayqatib turgan holda yangi tayyorlangan ohak suti (kalsiy gidroksidning suvdagi 10-15% li suspenziyasi) dan tomchilab qo'shiladi. Qo'shilayotgan dastlabki ohak suti tomchilari eriydi va saxaroza bilan reaksiyaga kirishib, kalsiy saxarat hosil qiladi. So'ngra tiniq eritmaga chayqatilganda erimaydigan cho'kma hosil bo'lguncha ohak suti qo'shiladi va chayqatiladi. Bir necha minutdan so'ng aralashma filtrlanadi. Filtrlangan eritmada  $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 3CaO \cdot 3H_2O$  kalsiy saxarat bo'ladi. Eritma qizdirilganda kalsiy saxarat cho'kmaga tushadi (sovutilganda u yana eriydi).

Qand lavlagidan shakar ishalab chiqarishda shakarni tozalash usuli saxarozaning eruvchan kalsiy saxaratlar hosil qilish xususiyatiga asoslangan.

### 3-tajriba. Saxarozaning gidrolizi ( inversiya)

Saxaroza boshqa uglevodlar singari optic aktivlik xususiyatiga ega bo'lib, qutblangan nur sathini o'ngga buradi. Uning solishtirma burish burchagi +66,5 ga teng. Hidrolizga uchratilgandan keyin esa gidrolizatning qutblangan nurni burish yo'nalishi va burchagi o'zgarib qoladi. Bu hodisa inversiya deb, hosil bo'lgan shakar esa invertirlangan shakar deb yuritiladi. Ikkinchi tomondan, saxaroza qaytaruvchanlik xossasini namoyon qilmagani holda, uning gidrolizati Feling va Barfed reaktivlarini qaytaradi.

#### Ishning bajarilishi

5% li saxaroza eritmasidan 4 ta probirkaga 1 ml dan quyib, birinchisida  $\alpha$ -naftol bilan, ikkinchisida Selivanov reaktivi, uchinchisida Feling, to'rtinchisida Barfed reaktivlari bilan tajribalar o'tkaziladi. shundan keyin alohida probirkaga 5% li saxaroza eritmasidan 5-10 ml quyib, ustiga bir necha tomchi 10% li sulfat kislota qo'shib, probirkani qiya holda ushlab, doimo chayqatib turib, 5-10 minut qizdiriladi. So'ngra gidrolizat sovutiladi va 4 qismga bo'linadi. Birinchi qismiga natriy gidrokarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ) kukuni qo'shib neytrallanadi (lakmus bilan sinang) va Feling reaktivi bilan tajriba o'tkaziladi. Gidrolizatning qolgan qismlari bilan yuqoridagi tajribalar takrorlanadi. Kuzatish natijalari jadval (12 – jadval) ko'rinishida qayd qilinadi:

12 - jadval

Kuzatish vaqti	Bajariladi-gan reaksiyalar	$\alpha$ -naftol bilan reaksiya	Selivanov reaksiyasi	Feling suyuqligi bilan reaksiya	Barfed reaksiyasi
----------------	----------------------------	---------------------------------	----------------------	---------------------------------	-------------------

Gidrolizgacha

Gidrolizdan keyin

4-tajriba. Barfed reaksiyasi

Bu reaksiyani qaytarish xossasiga ega disaxaridlarni monosaxaridlardan farq qilishga yordam beradi. Ushbu reaksiya neytral muhitda olib boriladi bunda disaxaridlar monosaxaridlardan farqli o'laroq deyarli oksidlanmaydi.

#### Ishning bajarilishi

Barfed reaktividan 10 ml olib, ikkita probirkaga bo'linadi va ularning biriga laktoza (yoki maltoza) ning 1% li eritmasidan 1 ml qo'shib 10 minut davomida suv hammomiga qo'yiladi. Monosaxaridlar Barfed reaktivini mis(I)-oksidigacha qaytariladi, disaxaridlar esa bu reaksiyani namoyon qilmaydi. Uzoq vaqt qizdirish mumkin emas, chunki disaxaridlarning termik gidrolizlanishi hisobiga Barfed reaksiyasi ijobiy natija berishi mumkin.

Barfed reaktivi 13,3g mis asetat tuzini 200 ml qaynoq suvda eritish, filtrlash va sovutib, 1,9 ml sirka kislota qo'shish yo'li bilan tayyorlanadi.

#### 5-tajriba. Disaxaridlarning qaytaruvchi xossalari

Maltoza, laktoza va sellobioza molekulalari bittadan erkin karbonil guruhga ega bo'lganligi uchun qaytaruvchi xossaga ega disaxaridlar jumlasiga kiradi.

#### Ishning bajarilishi

Uchta probirka olib, ularning biriga maltoza, ikkinchisiga laktoza, uchinchisiga saxarozaning 1% li eritmalaridan 2-3 ml dan quyiladi. Har qaysi

probirkaga baravar hajmda Feling suyuqligi qo'shiladi va hamma aralashmalar qaynay boshlaguncha qizdiriladi. Bunda laktoza va maltoza oksidlanib, Feling reaktivi tarkibidagi ikki valentli misni bir valentli misgacha qaytaradi. Bunda mis(I)-oksidning qizil cho'kmasi hosil bo'ladi.

Saxaroza eritmasida esa deyarli hech qanday o'zgarish sodir bo'lmaydi va Feling reaktivining ko'k rangi o'zgarmaydi. Bu reaksiya saxarozaning oksidlanmasligini va unda qaytaruvchi xossalari yo'qligini ko'rsatadi.

## POLISAXARIDLARGA XOS RANGLI REAKSIYALAR

Kerakli asbob va idishlar: Probirkalar ( 1,5 ml li) va tomchilatuvchi pipetka, 1 ml, 10 ml li pipetkalar, shtativ, gaz gorelkasi yoki spirt lampa, 25 ml li o'lchov silindri, qaytar sovutgich, termostat, kolba.

Reaktivlar: 0,1% li kraxmal eritmasi, 0,1% li glikogen eritmasi, Lyugol eritmasi, 10% li NaOH eritmasi, etil spirt, 10% li H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eritmasi, Feling reaktivi, distillangan suv, so'lak eritmasi.

### 1-tajriba. Kraxmal uchun sifat reaksiya

Kraxmal molekulasi ikki komponentlidir. Tarmoqlanmagan qismi –amilaza (yod ta'sirida ko'karadi), tarmoqlangan qismi – amilopektin (yod ta'sirida qizil-binafsha tusga kiradi) deb ataladi.

Kraxmal kleystri Lyugol eritmasidan tomizilsa, to'q rang hosil bo'ladi. Qizdirilganda rang yo'qoladi, sovutilganda yana paydo bo'ladi.

Lyugol eritmasi: 1g yod va 2g kaliy yodidning 100 ml suvdagi eritmasidir.

Kraxmal kleystri: 1g kraxmalning ozgina sovuq suvda tayyorlangan bo'tqasiga 80-90 ml qaynab turgan distillangan suv quyib tayyorlanadi.

### Ishning bajarilishi

Probirkaga 1% li kraxmal kleystridan 3 ml solinadi va unga 2-3 tomchi Lyugol eritmasidan tomiziladi. Hosil bo'lgan ko'k rangli eritmani uch qismga bo'lib, biriga teng hajmda 10% li natriy gidroksid eritmasi, ikkinchisiga shuncha miqdorda etil spirt qo'shiladi, uchinchisini esa qaynatiladi. Bu vaqtda uchala probirkadagi suyuqlik rangsizlanadi. Lekin oxirgi probirkadagi suyuqlik sovutilgandan so'ng rangi tiklanadi.

Alohida probirkaga 2-3 ml glikogen eritmasi quyib, unga 2-3 tomchi Lyugol eritmasidan tomiziladi. Probirkadagi suyuqlik qizil-qo'ng'ir rangga kirishi kuzatiladi.

Bu reaksiyada amiloza va amilopektin yod bilan reaksiyaga kirishib, kompleks birikmalarni hosil qiladi. Bundan tashqari ozroq miqdordagi yodni amiloza, ko'p miqdorini esa amilopektinning tarmoqlangan molekullari adsorbsiyalaydi.

### 2-tajriba. Kraxmalning gidrolizlanishi

Kraxmal – yuqori molekulyar polimer birikma, u gidrolizlanganda gidrolitik jarayonning qanday darajada borishiga qarab, molekulasining katta-kichikligi bilan farqlanadigan, dekstrinlar deb ataluvchi polisaxaridlar va eng oxirida maltoza bilan glyukoza hosil bo'ladi. Dekstrinlar to'rt guruhga bo'linadi.

1. Amilodekstrinlar – Lyugol eritmasi bilan ko'k rang hosil qiladi, spirt ta'sirida cho'kadi, tuzilishi jihatdan kraxmalga yaqin. Ularda qaytaruvchanlik xossasi kuchsiz (mal'tozadagiga nisbatan 100 baravar kuchsiz) namoyon bo'ladi.

2. Eritrodekstrinlar - Lyugol eritmasi bilan qizil rang hosil qiladi, spirt ta'sirida cho'kadi, qaytaruvchanlik xossasi amilodekstrinlarnikiga nisbatan 2-3 marta yuqori.

3. Axrodekstrinlar – yod bilan rang hosil qilmaydi, 70% li spirt da eriydi. Qaytaruvchanlik xossasi maltozanikiga nisbatan 10 baravar kuchsiz.

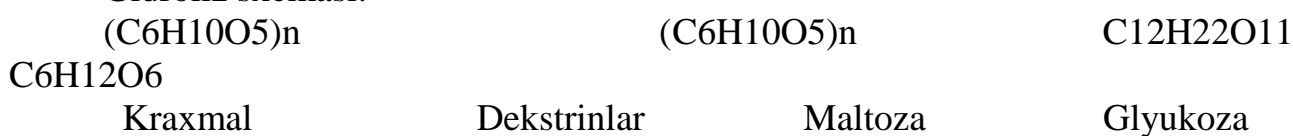
4. Maltodekstrinlar – yod bilan rang bermaydi, spirt ta'sirida cho'kmaydi, qaytaruvchanlik xossasi maltozaga nisbatan ancha kichik.

Kraxmal gidrolizining keyingi mahsulotlari maltoza va glyukoza hisoblanadi. U  $\alpha$ -amilaza ta'sirida fermentativ gidroliz qilinsa, faqat maltoza hosil bo'ladi.

Ishning bajarilishi

20 ta toza probirka olib, har biriga 10 ml dan distillangan suv va 2-3 tomchidan Lyugol eritmasidan tomiziladi, so'ngra probirkalar 10 tadan 2 ta guruhga bo'lib raqamlab qo'yiladi. 2 ta 100 ml li, qizdirishga chidamli kolba olib, 1% li kraxmal eritmasidan 20 ml dan quyib, birinchi kolbaga 5 ml 10% li  $H_2SO_4$  eritmasi, ikkinchisiga esa 5ml 5 marta suyultirilgan so'lak eritmasi quyiladi. Birinchi kolba og'ziga qaytarma sovutgich o'rnatib to'r ustida kuchsiz alangada qizdiriladi, ikkinchisi 400C li termostatga (yoki suv hammomida) qo'yiladi. Har 2-3 minutda ikkala kolbadagi suyuqlikdan 0,5 ml dan olib avval tayyorlab qo'yilgan probirkalardagi yod eritmasi ustiga quyiladi. Probirkalardagi suyuqliklarning rangi birin-ketin o'zgarishi kuzatiladi. Fermentativ gidroliz qilinganda ham shunday ish qilinadi, so'ngra har ikkala gidrolizat bilan Feling reaksiyasi qilib ko'riladi. Buning uchun kislotali gidrolizat sovutiladi va oz-ozdan kalsiy karbonat qo'shish yo'li bilan neytrallanadi. Eritmaning ko'pirishi to'xtagach u filtrlanadi, ya'ni hosil bo'lgan kalsiy sulfat va ortiqcha kalsiy karbonatdan tozalanadi. Gidroliz mahsulotlari orasida qaytaruvchimonosaxarid – glyukoza bo'lgani uchun ham Feling reaksiyasi ijobiy natija beradi:

Gidroliz sxemasi:



## **Tabiiy manbalardan uglevodlar ajratib olish**

**Uglevodlarni quruq mevalar ( mayiz, turshak. meva qoqilari)dan ajratib olish va xromatografiya yordamida o'rganish**



## **Quruq mevalardan eriydigan uglevodlarni ajratish va identifikatsiya qilish**

**Ishning umumiy izohi.** quruq mevalardan ma'lum miqdorda olib, maydalab, suvda gomogenlanadi va ketma-ket distillangan suv bilan ekstraktsiya qilinadi, so'ngra 82°-li spirt bilan 1:10 nisbatda ekstraktsiya qilinadi:

**Jihozlar va reaktivlar.** Maydalangan quruq mevalar (10-15 g), chini hovoncha, suv hammomi, ventilyator, xromatografiya uchun kamera, sillikagelli plastinkalar, anilin reaktivi (100 ml atsetonda eritilgan 1 g analin va 1 g difenilamindan iborat bo'lib, foydalanishdan oldin 10 ml 85% li ortofosfor kislotaga qo'shiladi), etil spirti – 100 ml.

**Ishning borishi.** 10 g oldindan maydalangan quruq mevani kvarts qumli hovonchada 100 ml-gacha suv qo'shib gomogenlanadi (kvarts kum bo'lmagan payda shisha kapillyarlardan ham foydalanish mumkin). Gomogenat kolbaga solinib 30-45 min davomida 75-80°S -da hammomida qizdiriladi. Keyin mahsulotning erimagan qismini fil'trlab byoki tsentrifugalab ajratiladi (2-3 ming ayl/min, 10 min). Cho'kma ustidagi suyuqlikni (fil'trat) bo'g'latib, xajmi eng minimal miqdorgacha kontsentrlanadi (suyuqlik kristallizatorga qo'yiladi, suv hammomi ustiga qo'yiladi, havo ventilyator yordamida yuboriladi). Cho'kma 82°-li spirt bilan ekstraktsiya qilinadi va bug'latib, kontsentrlanadi.

Kontsentrlangan ekstraktlar alohida sillikagelli plastinkalarda quyidagi sistemada xromatografiya qilinadi: etilatsetat:atseton:suv = 40:50:10; glyukoza ( $R_f = 0,28$ ), saxaroza ( $R_f = 0,16$ ), fruktoza ( $R_f = 0,21$ ) - guvohlar bilan tekshiriladi. Dog'lar xolatini anilin reaktivi purkalib aniqlanadi, bunda uglevodlar xolati 5-10 min. davomida 120 °S-da qizdirilishi natijasida har xil rangli dog'lar ko'rinishida namoyon bo'ladi. Laktoza ko'kish-kulrang, saxaroza – jigar kulrang, galaktoza qizg'ish-kulrang, fruktoza –jigar rang, glyukoza - qizg'ish-kulrang va nihoyat ksiloza – ko'k rangli dog'lar hosil hiladi. Anilin reaktivi bo'lmaganda xromatogrammadagi dog'larni 30%-li H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bilan qizdirish yordamida ham ko'rish mumkin. Ekstraktidagi uglevodlar aralashmasi qog'oz xromatografiyasi yordamida ham n-butanol:sirka kislotasuv = 4:1:5 sistemasidan foydalanib ajratilishi mumkin. Bu sistemada eriydigan uglevodlar quyidagicha taqsimlanadi: rafinoza ( $R_f = 0,05$ ), laktoza ( $R_f = 0,08$ ), mal'toza ( $R_f = 0,11$ ), saxaroza - ( $R_f = 0,14$ ), galaktoza - ( $R_f = 0,16$ ), glyukoza ( $R_f = 0,18$ ), mannoza ( $R_f = 0,20$ ), arabinoza ( $R_f = 0,22$ ), fruktoza ( $R_f = 0,23$ ), ksiloza ( $R_f = 0,25$ ), riboza ( $R_f = 0,31$ ).

## 2-ish

### **Kartoshkadan kraxmalning ajratilishi, YuQX yordamida kraxmalning kislotali gidroliz mahsulotlarini o'rganish**

**Ishning umumiy izohi.** Kartoshkadan kraxmal ajratiladi, suyultirilgan NSI bilan gidroliz qilinadi, suv hammomida qaynash vaqtiga bog'liq ravishda gidroliz darajasi o'rganiladi. Gidroliz darajasi gidrolizatning Lyugolʼ reaktivi bilan reaksiyasi va silikagelʼ plastinkalarda YuQX yordamida izohlanadi.

**Jihozlar va reaktivlar.** CHinni hovoncha, 100 °S-li termostat (suv hammomi), qaytar sovutgich, 0,5 l-li stakan, doka filʼtr, silikagelli plastinkalar (bor kislotasi bilan tayyorlangan), rezortsinli reaktiv (10 ml 1%-li rezortsin 90 ml 2 n NSI bilan aralashtirib, tayyorlanadi.)

**Ishning borishi.** Kartoshka atalasimon holatga keltiriladi, sovuq suvli chini hovonchaga solinadi va doka filʼtr orqali filʼtrlanadi. Atalani yana 2 marta sovuq suv bilan ishlanadi va uni tashlab yuborib, olingan suyuqlik 30-40 min qo'yib qo'yiladi, so'ngra ehtiyotkorlik bilan kraxmaldan suv fazani dekantatsiya qilinadi. Kraxmal cho'kmasini 3-5 hajm 10%-li tuz eritmasi bilan 2 marta oqsillar va eriydigan uglevodlardan tozalash uchun ishlanadi, keyin esa shu tuzdan tozalash uchun birnecha marta distillangan suvda yuviladi. Yuvishning oxirigacha borganini  $SI^-$  ioniga reaksiya bermasligi orqali tekshiriladi. Kraxmal cho'kmasi spirt bilan yuvilib, havoda quritiladi.

Ajratib olingan kraxmalning suvdagi 1-2%-li eritmasi tayyorlanadi. Kraxmalning 20 ml eritmasiga teng hoida 2 n NSI qo'shiladi va qaytar sovutgich bilan qaynayotgan suv hammomida gidroliz qilinadi. Gidrolizatdan 1 ml-dan 10 min, 1 soat va 3 soat keyin 2 tadan namuna olinadi. Xar bir namuna bilan (1%-li kraxmal bilan NSI qo'shib qizdirilmagan namuna bilan tekshirgan holda Lyugolʼ reaktivi (1,5 % -li kaliy yodda 1,5 % yod bo'lgan eritma) ishtirokida reaksiya o'tkaziladi. Amiloza yod bilan ko'k, amilopektin esa qizg'ish-binafsha rang beradi, gidroliz mahsulotlarida malʼtoza va dekstrinlar rang hosil qilmaydi. Turli vaqtlarda olingan namunalar silikageli plastinkalarda Yu+X qilinadi. Bu plastinkalar quyidagicha tayyorlanadi: chinni xovonchada silikagelʼ 1g:2ml nisbatgacha 1 n  $N_3VO_3$  eritmasida aralashtiriladi. Aralashtirishning umumiy vaqti 2 min.dan oshmasligi kerak. Olingan suspenziya gorizontall plastinkaga qo'yiladi, avval xavoda, keyin 110 °S da bir soat davomida quritiladi. Xromatografiya quyidagi sistemada olib boriladi:

Butanol:atseton:suyuq 4:5:1. +andlarning xolati rezortsin reaktivi yoki 30%-li  $N_2SO_4$  yordamida qizdirib aniqlanadi. Guvoxlar – glyukoza, malʼtoza. va saxaroza.

### 3-ish

#### **Saxaroza va kraxmalning kislotali gidrolizi mahsulotlarini YuQX yordamida solishtirish, oʻrganish**

**Ishning umumiy izohi.** Kraxmal qaytar sovutgichli suv hammomida 1 n NSI yordamida qizdirib, gidrolizlanadi, saxaroza ham xuddi yuqoridagi usul bilan va 6 n NSI yordamida 1 soat davomida gidrolizlanadi. 3 ta gidrolizatning uglevodlar tarkibi YuQX yordamida oʻrganiladi, gidrolizatlarining efirli ajratmalaridagi furfurol rezortsin reaktivi yordamida aniqlanadi (2 n NSI bilan 0,1 %-li rezortsindan iborat, -betga qaralsin).

**Jihozlar va reaktivlar.** Kraxmal, saxaroza, xromatografiya uchun kamera, suv hammomi, qaytar sovutgich, rezortsin reaktivi, silikagelʼ,  $N_3VO_3$ , gidroliz uchun kolbalar.

**Ishning borishi.** kraxmalning suvdagi 2%-li eritmasiga teng hamda 2 n NSI qoʻshib, qaytar sovutgichli suv hammomida 3 soat davomida gidroliz qilinadi. Saxarozani xudi kraxmal kabi va parallel ravishda yuqoridagi sharoitda 6 n NSI taʼsirida 1 soat davomida gidrolizga uchratiladi.

3 ta gidrolizatning har biri kontsentrlangan qon yordamida neytrallanadi va monosaxarid tarkibi alohida komponentlarni koʻz bilan chamalash orqali aniqlanadi, bunda fruktoza miqdorining oʻzgarishiga eʼtibor berish kerak. YuQX  $N_3VO_3$  va silikageli plastinkalarda butanol:atseton:suv = 4:5:1 sistemasida olib boriladi (plastinkalar tayyorlash uchun – betga qaralsin). Guvohlar – saxaroza, glyukoza, malʼtoza va fruktoza.

3 ta gidrolizatning ham efir bilan ekstraktsiya qilinadi, suv qismidan ajratilib, buglantiriladi va mineral kislotalar taʼsirida pentoza (fruktoza)-dan hosil boʻlgan furfurol miqdori rezortsin reaktivi yordamida aniqlash. Koʻz bilan chamalab, hosil boʻlgan furfurl miqdori orasidagi farq aniqlanadi.

Xromatogramma rezortsin reaktivi yoki analin reaktivi yo sulʼfat kislota ishtirokida yoritiladi (-betga qarang).

**Estlama:** Gidrolizni xudi shunday kontsentratsiyadagi  $H_2SO_4$  yordamida ham olib borish mumkin, u holda  $Sa(ON)_2$  yoki  $Va(ON)_2$  bilan neytrallash bir vaqtda gidrolizatni tuzsizlanishiga ham olib keladi.

Tuzlarining bo'lishi YuQX – da ajratish sifatiga salbiy ta'sir ko'rsatadi.

### **Kartoshkadan kraxmalning ajratilishi, YuQX yordamida kraxmalning kislotali gidroliz mahsulotlarini o'rganish**

**Ishning umumiy izohi.** Kartoshkadan kraxmal ajratiladi, suyultirilgan NSI bilan gidroliz qilinadi, suv hammomida qaynash vaqtiga bog'liq ravishda gidroliz darajasi o'rganiladi. Gidroliz darajasi gidrolizatning Lyugolʼ reaktivi bilan reaksiyasi va silikagelʼ plastinkalarda YuQX yordamida izohlanadi.

**Jihozlar va reaktivlar.** CHinni hovoncha, 100 °S-li termostat (suv hammomi), qaytar sovutgich, 0,5 l-li stakan, doka filʼtr, silikagelli plastinkalar (bor kislotasi bilan tayyorlangan), rezortsinli reaktiv (10 ml 1%-li rezortsin 90 ml 2 n NSI bilan aralashtirib, tayyorlanadi.)

**Ishning borishi.** Kartoshka atalasimon holatga keltiriladi, sovuq suvli chini hovonchaga solinadi va doka filʼtr orqali filʼtrlanadi. Atalani yana 2 marta sovuq suv bilan ishlanadi va uni tashlab yuborib, olingan suyuqlik 30-40 min qo'yib qo'yiladi, so'ngra ehtiyotkorlik bilan kraxmaldan suv fazani dekantatsiya qilinadi. Kraxmal cho'kmasini 3-5 hajm 10%-li tuz eritmasi bilan 2 marta oqsillar va eriydigan uglevodlardan tozalash uchun ishlanadi, keyin esa shu tuzdan tozalash uchun birnecha marta distillangan suvda yuviladi. Yuvishning oxirigacha borganini  $SI^-$  ioniga reaksiya bermasligi orqali tekshiriladi. Kraxmal cho'kmasi spirt bilan yuvilib, havoda quritiladi.

Ajratib olingan kraxmalning suvdagi 1-2%-li eritmasi tayyorlanadi. Kraxmalning 20 ml eritmasiga teng holda 2 n NSI qo'shiladi va qaytar sovutgich bilan qaynayotgan suv hammomida gidroliz qilinadi. Gidrolizatdan 1 ml-dan 10 min, 1 soat va 3 soat keyin 2 tadan namuna olinadi. Xar bir namuna bilan (1%-li kraxmal bilan NSI qo'shib qizdirilmagan namuna bilan tekshirgan holda Lyugolʼ reaktivi (1,5 % -li kaliy yodda 1,5 % yod bo'lgan eritma) ishtirokida reaksiya o'tkaziladi. Amiloza yod bilan ko'k, amilopektin esa qizg'ish-binafsha rang beradi, gidroliz mahsulotlarida malʼtoza va dekstrinlar rang hosil qilmaydi. Turli vaqtlarda olingan namunalar silikageli plastinkalarda  $Yu+X$  qilinadi. Bu plastinkalar quyidagicha

tayyorlanadi: chinni xovonchada silikagelъ 1g:2ml nisbatgacha 1 n  $N_3VO_3$  eritmasida aralashtiriladi. Aralashtirishning umumiy vaqti 2 min.dan oshmasligi kerak. Olingan suspenziya gorizontal plastinkaga qo'yiladi, avval xavoda, keyin 110 °S da bir soat davomida quritiladi. Xromatografiya quyidagi sistemada olib boriladi: Butanol:atseton:suyuq 4:5:1. +andlarning xolati rezortsin reaktivi yoki 30%-li  $N_2SO_4$  yordamida qizdirib aniqlanadi. Guvoxlar – glyukoza, malъtoza. va saxaroza.

## **Saxaroza va kraxmalning kislotali gidrolizi mahsulotlarini YuQX yordamida solishtirish, o'rganish**

**Ishning umumiy izohi.** Kraxmal qaytar sovutgichli suv hammomida 1 n NSI yordamida qizdirib, gidrolizlanadi, saxaroza ham xuddi yuqoridagi usul bilan va 6 n NSI yordamida 1 soat davomida gidrolizlanadi. 3 ta gidrolizatning uglevodlar tarkibi YuQX yordamida o'rganiladi, gidrolizatlarning efirli ajratmalaridagi furfurool rezortsin reaktivi yordamida aniqlanadi (2 n NSI bilan 0,1 %-li rezortsindan iborat, -betga qaralsin).

**Jihozlar va reaktivlar.** Kraxmal, saxaroza, xromatografiya uchun kamera, suv hammomi, qaytar sovutgich, rezortsin reaktivi, silikagelЬ,  $N_3VO_3$ , gidroliz uchun kolbalar.

**Ishning borishi.** kraxmalning suvdagi 2%-li eritmasiga teng hamda 2 n NSI qo'shib, qaytar sovutgichli suv hammomida 3 soat davomida gidroliz qilinadi. Saxarozani xudi kraxmal kabi va parallel ravishda yuqoridagi sharoitda 6 n NSI ta'sirida 1 soat davomida gidrolizga uchratiladi.

3 ta gidrolizatning har biri kontsentrlangan qon yordamida neytrallanadi va monosaxarid tarkibi alohida komponentlarni ko'z bilan chamalash orqali aniqlanadi, bunda fruktoza miqdorining o'zgarishiga e'tibor berish kerak. YuQX  $N_3VO_3$  va silikageli plastinkalarda butanol:atseton:suv = 4:5:1 sistemasida olib boriladi (plastinkalar tayyorlash uchun – betga qaralsin). Guvohlar – saxaroza, glyukoza, malЬtoza va fruktoza.

3 ta gidrolizatning ham efir bilan ekstraktsiya qilinadi, suv qismidan ajratilib, buglantiriladi va mineral kislotalar ta'sirida pentoza (fruktoza)-dan hosml bo'lgan furfurool miqdori rezortsin reaktiai yordamida aniqlash. Ko'z bilan chamalab, hosil bo'lgan furfurl miqdori orasidagi farq aniqlanadi.

Xromatogramma rezortsin reaktivi yoki analin reaktivi yo sulЬfat kislota ishtirokida yoritiladi (-betga qarang).

**Estlama:** Gidrolizni xudi shunday kontsentratsiyadagi  $H_2SO_4$  yordamida ham olib borish mumkin, u holda  $Sa(ON)_2$  yoki  $Va(ON)_2$  bilan neytrallash bir vaqtda gidrolizatni tuzsizlanishiga ham olib keladi. Tuzlarining bo'lishi YuQX – da ajratish sifatiga salbiy ta'sir ko'rsatadi.



