

BİOKİMYADAN PRAKTİKUM



A.Ə.QULİYEV
S.N.ÖMƏROVA

AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI TƏHSİL NAZİRLİYİ

BAKİ DÖVLƏT UNİVERSİTETİ

A.Ə.QULİYEV, S.N.ÖMƏROVA

BIOKİMYADAN PRAKTİKUM

Azərbaycan Respublikası Təhsil Nazirliyi

tərəfindən təsdiq edilmişdir

(07.06.2003, № 01-3/424)

BAKİ - 2009

Redaktor: biologiya elmləri doktoru,
prof. Qasimov N.A.

Rəyçilər: biologiya elmləri namizədləri
dos. Tağı-zadə Z.A.,
dos. Məmmədov Z.M.

A.Ə.Quliyev, S.N.Öməröva

Biokimyadan praktikum

Bakı, 2009, 214 səh.

(Dərslik və dərs vəsaitləri seriyasından)

Praktikum 6 bölmədən ibarət olub, 87 yerinə yetirilməsi müxtəlif dərəcədə çətin olan laboratoriya işlərini əhatə edir. Burada amin turşuları, zülallar, fermentlər, nuklein turşuları, karbohidratlar, lipidlər və vitaminlər üçün xarakterik olan kmiyyət və keyfəyyət reaksiyaları öz əksini tapmışdır.

Vəsait universitetin biologiya fakültəsi, tibb və pedaqoji universitetlərinin tələbələri üçün nəzərdə tutulmuşdur. Praktikumdan həmçinin biokimyacılar da istifadə edə bilər.

MÜQƏDDİMƏ

Diqqətinizə çatdırdığımız praktikum Bakı Dövlət Universitetinin Biologiya fakültəsində təhsil alan tələbələr üçün nəzərdə tutulmuşdur. Kitabın ilk nəşri 1976-cı ilə, ikinci nəşri 1990-cı, üçüncü nəşri 2000-ci, dördüncü nəşri – 2005-ci ilə təsadüf edir. Kitabda yeni əlavələr və düzəlişlər edilib, onu yenidən nəşr etmək qərara gəldik.

Praktikumda öz əksini tapmış laboratoriya məşğələlərinin əksər hissəsi keyfiyyət analizi xarakteri daşıyır və müxtəlif maddələrin, onların tərkibinə daxil olan funksional qrupların aşkar edilməsinə, fiziki, kimyəvi xassələrinin müəyyən olunmasına həsr olunmuşdur. Lakin bununla yanaşı, praktikumda bəzi maddələrin miqdarca təyini imkanını verən işlər də möcuddur.

Proqramda olan ardıcılığa uyğun olaraq əvvəlcə «Zülallar və amin turşuları» bölməsi şərh edilmiş, onlar üçün keyfiyyət reaksiyaları, miqdari analitik üsullar işıqlandırılmışdır. Əvvəlki nəşrlərdə olan və artıq hesab etdiyimiz bəzi məlumatlar ixtisar edilmiş və müvafiq düzəlişlər aparılmışdır.

I bölmədə nəzərdə tutulan, vəsfi və keyfiyyət xarakterli, fiziki-kimyəvi göstəriciləri səciyyələndirən işlər göstərilib. Xüsusi yanaşma tələb edən reaktiv və məhlulların hazırlanması haqqında məlumatlar «Əlavələr» bölməsində öz əksini tapmışdır.

II bölmədə nuklein turşuları haqda qısa nəzəri məlumat verildikdən sonra businfi daxil olan üzvi birləşmələri üçün xarakterik olan bir neçə keyfiyyət reaksiyası əlavə olunub.

Fermentlər bölməsində bir neçə işdə müvafiq düzəlişlər və əvəzləmələr aparılıb.

Karbohidratlar və Lipidlər bölmələrində də bəzi işlərin əvəz olunması daha məqsədəuyğun idi.

Praktikumun hər bölməsində verilən bilikləri möhkəmləndirmək məqsədi ilə bölmələrin sonunda suallar bloku verilmişdir. Kitabda verilən materiallara aydınlıq gətirmək üçün oraya çoxlu sayda cədvəl və sxemlər, həmçinin şəkillər salınmışdır.

Praktikumdan digər tibbi və bioloji profilli tədris ocaqlarında təhsil alan tələbələr, eksperimental-biokimyəvi, tibbi tədqiqat müəssisələrinin əməkdaşları da istifadə edə bilərlər.

Kitabın tərtibatı və mövzuların şərhinə aid oxucuların tənqidi fikirləri bizim üçün qiymətli olduğu üçün onlara əvvəlcədən minnətdarıq.

Müəlliflər

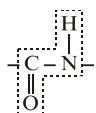
I BÖLMƏ

ZÜLALLAR VƏ AMİN TURŞULARI

Proteinlər adlanan sadə zülalların element tərkibi C, N, O, H, S; mürəkkəb proteidlərinki isə, prostetik qrupun kimyəvi təbiətindən asılı olaraq, əlavə digər kimyəvi elementlərdən ibarətdir. Prostetik qrupu nəzərə almasaq zülallar 17 amin turşusu, 1 imin turşusu (prolin), 2 amid –(asparagin və qlütamin) qalıqlarından ibarətdir.

Şerti olaraq sayca 20 amin turşusu - standart amin turşuları adlanır. Başqa terminlə, onlara proteinogen amin turşuları da deyilir. Zülalların biosintezi prosesində həmin amin turşularını kodlaşdıran DNT tripletləri mövcuddur. Bəzi zülal tiplərində 20 amin turşusunun törəməsi olan qeyri-standart - məsələn 4-hidroksiprolin, 5-hidroksilizin, N-metillizin, - karboksiqlütamin turşusu kimi amin turşuları da mövcuddur. Bunlardan əlavə təbiətdə bəzi məlumatlara görə sayı artıq 400-ü keçmiş qeyri-proteinogen törəmə xarakteri daşıyan, tripleti olmayan amin turşusu müşahidə edilmişdir ki, onlar zülalların tərkibinə daxil olurlar.

Zülalların tərkibinə daxil olan amin turşuları, bir-biri ilə



(peptid) əlaqəsi ilə birləşirlər. Zülal molekullarının quruluş

səviyyəsindən asılı olaraq polipeptid zəncirləri digər - S-S (disulfid), hidrogen, efir, spirt və s. tipli əlaqələr vasitəsilə də birləşir. Zülalı təşkil edən amin turşularının keyfiyyət və kəmiyyət tərkibi, onların tərkibinə daxil olan yan radikallar, prostetik qruplara məxsus digər kimyəvi qruplar, zülal qlobulası səthinin yüklənmə, və nativlik dərəcələri və digər fiziki-kimyəvi amillərdən asılı olaraq istifadə olunan kimyəvi maddələrlə müxtəlif rəngli birləşmələr əmələ gələ bilər. Reaksiya nəticəsində alınan rənglərə, əmələ gələn kompleks maddələrə, çöküntü alındığı halda onun xarakterinə əsasən, təcrübədə işlədilən zülal haqda, onun qrupları haqda müvafiq nəticə çıxarmaq mümkündür. Keyfiyyət analizinin mahiyyəti də elə deyilənlərdən ibarətdir.

Amin turşuları - karbon zəncirlərində hidrogen atomlarından birinin amin qrupu ilə ($-\text{NH}_2$) əvəz olunmuş karbon turşularının törəmələridir. Təbii amin turşularının əksəriyyətində amin qrupu karboksilə ($-\text{COOH}$) nisbətən γ - vəziyyətdədir. Amin turşularının tərkibinə imin ($-\text{NH}$), 2 amin, imidazol, quanidin kimi azotu olan qruplar, sulfhidril ($-\text{SH}$) və kükürd də daxil olur (1-ci cədvələ bax).

Canlı orqanizmlərdə müşahidə edilən, öyrənilmiş 200-ə yaxın, zülalların tərkibinə daxil olmayan, lakin maddələr mübadiləsində mühüm rol oynayan amin turşuları - tripletləri olmayan qeyri proteinogen turşularla yanaşı öyrənilməkdə olan digər turşular da məlumdur.

Proteinogen amin turşuları amin və karboksil olaraq, iki funksional qrupa malikdirlər. Bir və iki əsaslı, mono-, diamin və s. qrupların sayına əsaslanan təsnifat növünün ədəbiyyatlarda ən çox rast gəldiyini nəzərə alaraq, biz aşağıda amin turşularının radikallara əsasən təsnifatını veririk. Bundan başqa amin turşularının ümumi olan bir cəhəti - amin və karboksil qruplarının eyni karbon atomu ilə birləşdiyini; yan zəncirlərin quruluşu, elektrik yükü və həll olma dərəcəsinin isə müxtəlifliyini nəzərə almaqla həmin təsnifatı veririk. Amin turşularının quruluşu ionlaşmış şəkildə göstərilmişdir.

Maddələr mübadiləsində mühüm rol oynayan, lakin zülalın tərkibinə daxil olmayan amin turşularından koferment A-nın, karnozinin və anserinin bir hissəsini təşkil edən, həm də sərbəst rast gələn α -alanin (β -aminopropion t); sidik cövhəri, alkaloidlər, antibiotik qramisidinin biosintezində iştirak edən L-ornitin, (β, α -diaminovalerian t); sidik cövhərinin biosintezi zamanı aralıq məhsul kimi əmələ gələn həmçinin sərbəst rast gələn, qarpız şirəsinin amin turşusu L-sitrullin (δ -amino- α -karbamido-valerian t); bitkilərdə, məməlilərin sinir toxumasında, bəzi suda - quruda yaşayan heyvanlarda, quşlarda tapılmış δ -aminoyağ turşusu

Cədvəl 1

Proteinogen amin turşuları

№	Bir hərifli latınca işarə	Üç hərifli latınca işarə	Trivial və kimyəvi adları	Quruluşu
1	2	3	4	5
Qeyri-polyar (hidrofob) radikallı (R)				
1	A	Ala	Alanin, γ -amino-propion turşusu (t)	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \rightarrow \text{R}$
2	V	Val	Valin, α -amino-izovalerian t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$
3	L	Leu	Leysin, α -amino-izokapron t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \end{array}$
4	I	Ile	İzoleysin, α -amino- α -etil- β -metil-propion t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
5	P	Pro	Prolin, pirrolidin- β -karbon t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{C} - \text{H} \\ / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{N} \quad \text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \end{array}$

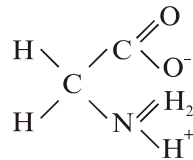
1	2	3	4	5
6	M	Met	Metionin, α -amino- α -metiltioyağ t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{S} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
7	F	Phe	Fenilalanin, γ -amino- α -fenilpropion t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$
8	W	Trp	Triptofan, β -amino- α -indolilpropion t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} = \text{CH} \\ \quad \\ \text{C}_6\text{H}_4 \quad \text{NH} \end{array}$
Mənfi yüklü polyar R				
9	D	Asp	Asparagin turşusu, β -aminokəhrəba t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$
10	E	Glu	Qlutamin turşusu, α -aminoqlutar t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{COO}^- \end{array}$
1	2	3	4	5
Yüklənməmiş polyar R				
11	G	Gly	Qlisin, (-qlisin) - α -aminosirkə t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{H} \end{array}$
12	S	Ser	Serin, α -amino- α -oksipropion t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{C} - \text{OH} \end{array}$

1 3	T	Thr	Treonin, β -amino- α -oksiyağ t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
1 4	S	Cys	Sistein, β -amino- α -merkaptopropion t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{SH} \end{array}$
1 5	Y	Tyr	Tirozin, β -amino- α -hidroksifenilpropion t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array}$

1	2	3	4	5
1 6	N	Asn	Asparagin, β -amino-kəhrəba turşusunun monoamidi	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N} - \text{C} = \text{O} \end{array}$
1 7	Q	Gln	Qlutamin, α -aminoqlutar turşusunun monoamidi	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N} - \text{C} = \text{O} \end{array}$
Müsbət yüklənmiş polyar R				
1 8	K	Lys	Lizin, α, α -diaminokapron t.	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ (\text{CH}_2)_4 \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$

1 9	R	Arg	Arginin, ε-amino- α-guanidil - p-valerian t.	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C} = \text{NH}_2^+ \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $
2 0	H	His	Histidin, δ-amino- α-imidazolpropion t.	$ \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C} - \text{NH} \\ \quad \diagup \\ \text{CH} \quad \text{CH} \\ \quad \diagdown \\ \text{CH} - \text{NH}^+ \end{array} $

və digər amin turşuları da təsvir edəcəyimiz keyfiyyət reaksiyalarında müşahidə edilə bilirlər. Amin turşularında iki funksional qrup - karboksil (–COOH) və amin qrupunun (–NH₂) mövcud olması, onların kimyəvi xassələrini müəyyən edir. Su məhlullarında karboksil qrupunun protonu amin qrupuna keçir və amin turşusu qlisin misalında aşağıdakı şəkildə yazıla bilər:

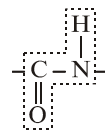


Orqanizmdə həll olmuş halda olan amin turşuları daxilən elə şəkildə ionlaşmışlar ki, eyni molekulda həm amin, həm də karboksil qrupu ionları mövcud olur və molekul bu halda elektroneytraldır. Laboratoriya işlərini yerinə yetirərkən nəzərdə tutmaq lazımdır ki, turşu mühitdə amin turşusu özünü qələvi, qələvi mühitdə isə əksinə, turşu kimi aparır. Çünki birinci halda karboksil qrupunun dissosiasiyası baş verə bilmir və molekul kationa çevrilir. Başqa sözlə müsbət yüklənir. İkinci halda amin qrupu dissosiasiya edə bilmir, anion əmələ gəlir və amin turşusu mənfi yüklənir.

Beləliklə, kimyəvi nöqteyi nəzərdən amin turşuları amfoter elektrolitlərdir.

Amin turşularının zülal molekulunda bir-biri ilə birləşməsi

nəticəsində əmələ gələn peptid əlaqələrinin



xüsusi xarakter daşdığını hələ 1888-ci ildə A.Y.Danilevski qeyd etmişdi. Belə ki, C və N atomlarını birləşdirən kimyəvi əlaqə adi əlaqələrdən fərqli olaraq özünü ikiqat rabitə kimi aparır və qismən qısdır. Onu müşahidə etmək üçün tətbiq olunan biuret reaksiyası aşağıda təsvir olunacaq. Qismən az sayda amin turşuları qalıqlarından təşkil olunmuş peptidlər adlanan polimerləri, daha uzun polipeptidləri və müvafiq konformasiyaya malik sadə və mürəkkəb zülalları müşahidə etmək üçün çoxsaylı keyfiyyət reaksiyaları mövcuddur ki, dediyimiz kimi onların tətbiqi nəticəsində müşahidə olunan molekul haqqında müəyyən məlumat əldə etmək mümkündür. Nəzərdə tutmaq lazımdır ki, istər sadə peptidlər, istərsə də protein və proteidlər mövcud olduqları mühitdən asılı olaraq (məsələn, mühitin pH-ı) mənfi və ya müsbət yüklənə bilirlər. Zülalların müxtəlif dərəcədə həll olması, hidratasiya dərəcəsinin dəyişməsi, ona təsir

göstərən başqa amillər keyfiyyət reaksiyalarının xarakteri, əmələ gələn rənglərin intensivliyi və s. üçün mühüm şərtlərdir.

Beləliklə, aşağıda təsvir edəcəyimiz hər bir iş, amin turşuları və zülallar haqda müəyyən məlumat əldə etmək üçün bu və ya digər dərəcədə əhəmiyyətlidir.

RƏNGLI REAKSIYALAR

Amin turşuları və zülalların ümumi kimyəvi xassələri təkə funksional qruplardan yox, müvafiq reaksiyaya daxil ola bilən radikallardan da asılıdır. Elə ona görə, radikalın xarakterinə görə də məhluldakı amin turşusu haqda məlumat əldə etmək mümkündür. Əvvəlcə funksional qruplardan biri olan β -amin qrupunun müşahidə edilməsinə baxaq.

İŞ 1

α - AMIN QRUPUNUN AŞKAR EDİLMƏSİ

Reaktivlər:

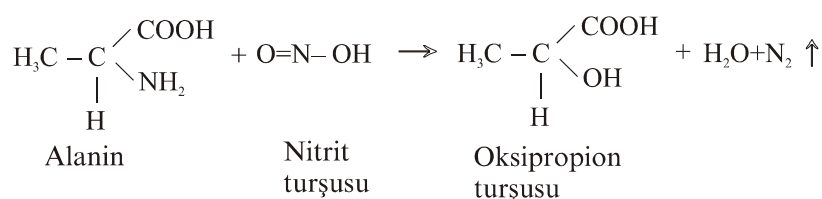
1. 1%-li alanin və ya suda asan həll olan digər amin turşusu - 1 q amin turşusu 99 ml distillə suyunda həll edilir

2. Qatı nitrat turşusu (HNO_3)

3. 3%-li Natrium nitrit (NaNO_2) - məhlul davamsız olduğundan iş günü 3 q duz, 97 ml su hesabından hazırlanır

İşin gedişi

2 sınaq şüşəsindən birinə 3-4 ml amin turşusu məhlulu, digərinə eyni miqdarda distillə suyu tökülür. Sonra hər iki sınaq şüşəsinə 1 ml qatı nitrat turşusu əlavə edilib qarışdırılır və üzərinə 3 ml natrium nitrit məhlulu əlavə edirik. Amin turşusu olan sınaq şüşəsində intensiv şəkildə qabarcıqlar əmələ gələrək ayrılırlar. Bu təcrübədə α -vəziyyətdəki amin qrupu bilavasitə təcrübə zamanı əmələ gələn nitrit turşusu ilə reaksiyaya daxil olur. Distillə suyu olan sınaq şüşəsində də (kontrol varianta) nadir qabarcıqlar əmələ gəlir. Bu nitrit turşusunun parçalanması nəticəsində yaranan azot oksidlərinin əmələ gəlməsi ilə əlaqədardır. Təmiz nitrit turşusu təcrübədə ona görə istifadə olunmur ki, o sərbəst halda davamsızdır. Güclü turşu (bizim halda qatı nitrat turşusu) və nitrit turşusunun natrium duzu qarışığında nitrit turşusu əmələ gəlir və amin turşusu ilə reaksiyaya daxil olur.



Beləliklə nitrit turşusunun parçalanması zamanı ayrılan azot qazı mühitdə α -amin qrupunun olduğunu göstərir.

İŞ 2

FORMOLTITRLƏMƏ

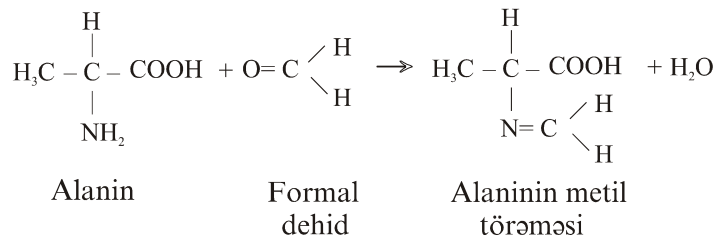
Amin turşusunun tərkibinə daxil olan digər funksional qrup - karboksilin mövcud olduğunu bu reaksiya vasitəsilə müəyyən etmək olar.

Reaktivlər:

1. 5%-li alanin və ya qlisin məhlulu
2. Fenolftaleinin etanolda 0,5%-li məhlulu (100 mq fenolftalein 20 ml spirtdə həll edilir)
3. 0,4%-li NaOH (400 mq NaOH 99,6 ml distillə suyunda həll edilir)
4. Formol qarışıq (əlavələr bölməsi 1)

İşin gedişi

Mikrokimyəvi sınaq şüşəsinə 5 damla amin turşusu məhlulu götürüb üzərinə 1 damla fenolftalein və zəif çəhrayı rəng alınana qədər NaOH əlavə edirik (adətən 1-2 damla kifayət edir). Sonra sınaq şüşəsinə 5 damla formol qarışıq töküüb qarışdırırıq. Bu zaman formaldehid amin qrupunu özünə birləşdirir, məhlulun reaksiyası turşuluğa doğru dəyişir və nəticədə fenolftalein rəngini itirir.



Bu reaksiyada alaninin amin qrupu formaldehidin karbonil qrupu ilə reaksiyaya girir və amin qrupu qələvi xassəsini itirir. Amin turşusunun sərbəst qalan karboksil qrupunu qələvi ilə titrləmək olar. Bunun üçün çəhrayı rəngini itirmiş sınaq şüşəsindəki məhlulun üzərinə NaOH məhlulunu, damlaları saymaqla yenidən çəhrayı rəng alınana qədər əlavə etmək olar.

İŞ 3

NINHIDRİNLƏ REAKSIYA

Bu reaksiya vasitəsilə α -amin turşularını müşahidə etmək olar. Bu reaksiya α -amin turşuları və zülal üçün daha səciyyəvidir. Amin turşuları və zülallar ninhidrinlə göy və ya bənövşəyi məhsullar əmələ gətirirlər. Karbohidrogen radikallarının xarakterindən asılı olaraq çəhrayı, mavi, sarı, göy-bənövşəyi rənglər də əmələ gələ bilər. Turşuların bəzi amin və amidləri də bu reaksiyanı verə bilər. Ona görə reaksiya spesifik deyil.

Reaktivlər:

1. Ninhidrinin 0,2%-li spirtli məhlulu 2. Ninhidrinin asetonda 0,1%-li məhlulu - 100 mq kristallik ninhidrin 127 ml asetonda həll edilir

3. 1%-li yumurta zülalı (əlavələr bölməsi, 2)

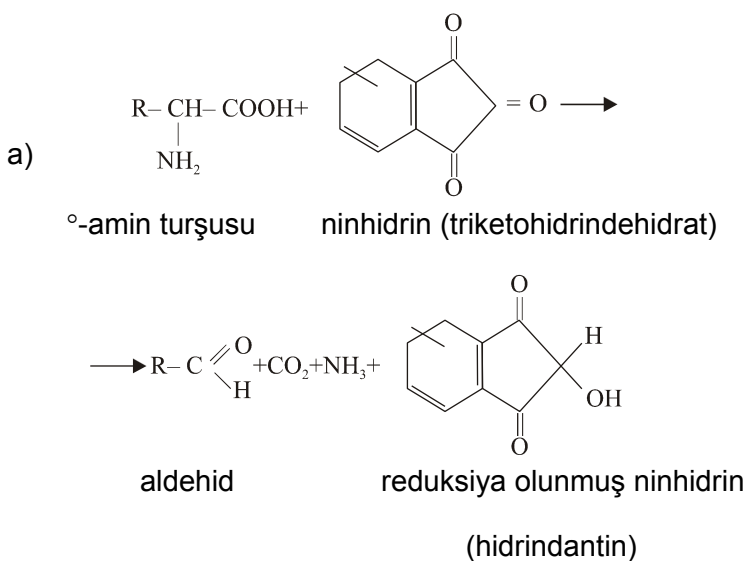
4. 1%-li bitki zülalı (əlavələr bölməsi, 3)

5. 0,1%-li amin turşuları məhlulları - 100 mq amin turşusu 100 ml distillə suyunda həll edilir

İşin gedişi

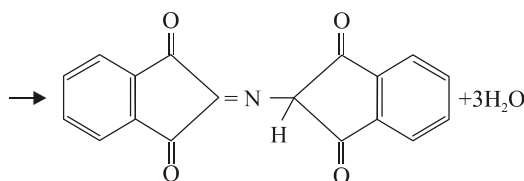
Yumurta, bitki zülalı və amin turşuları məhlullarının sayı qədər sınaq şüşəsinin hər birinə 4 ml müvafiq məhlul götürüb zülal məhlulları olan iki sınaq şüşəsinin hər birinə 1 ml, amin turşuları olan sınaq şüşələrinə isə 0,5 ml ninhidrinin spirtli məhlulunu əlavə edirik. Sınaq şüşələri qaynayan su hamamına və ya termostata (115°C) yerləşdirilir. 10 dəqiqədən sonra sınaq şüşələrini soyudub əmələ gələn rəngləri müqayisə edilir. Eyni təcrübəni bu dəfə ninhidrinin asetonda məhlulu ilə təkrar etmək olar.

Təcrübə zamanı aşağıdakı reaksiyalar baş verir:



b) Reduksiya olunmuş ninhidrin oksidləşmiş ninhidrin və amonyakla kondensasiya reaksiyasına daxil olaraq bənövşəyi-göy və ya Rueman fir-fırı əmələ gətirir. Bu rəng bənövşəyi-göy mureksid tipli birləşmə də adlanır.

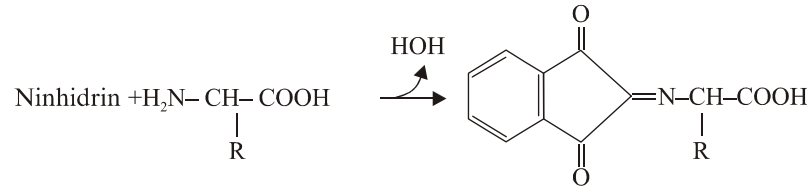
Ninhidrin + hidrindantin + NH₃α



Rueman -göy-bənövşəyisi

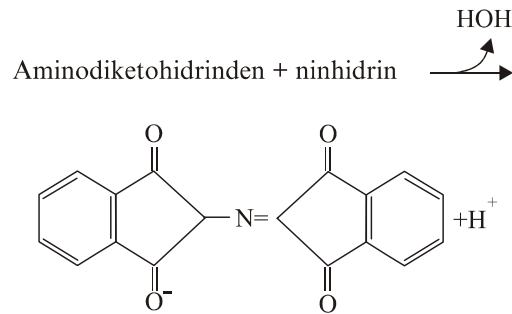
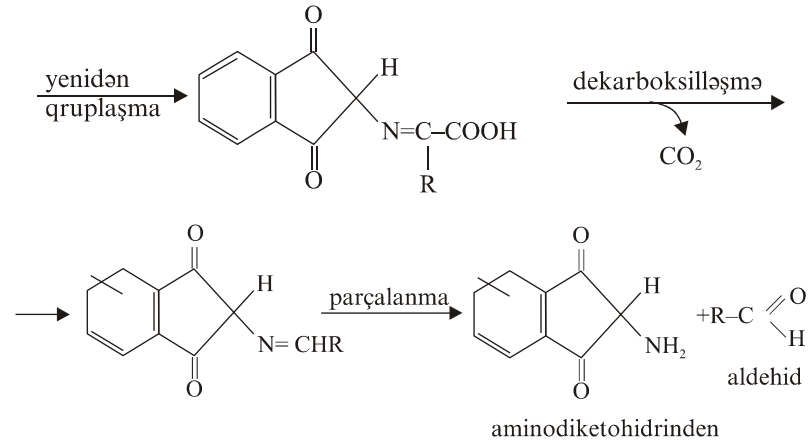
Tədqiq olunan məhlulda →-amin qrupunun qatılığı əmələ gələn rəngin intensivliyi ilə düz mütənasibdir.

Əslində proses aralıq məhsulların əmələ gəlməsilə gedir.



α - amin turşusu

Şiffov əsası

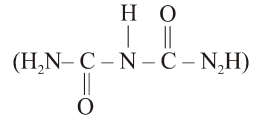


Rueman - göy-bənövşəyisi

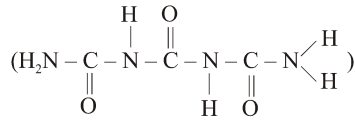
İŞ 4

AMIN TURŞULARININ XELAT

daxil olan - biuret



oksamid

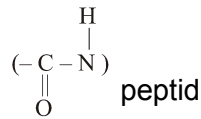


qeyri üzvi birləşmə

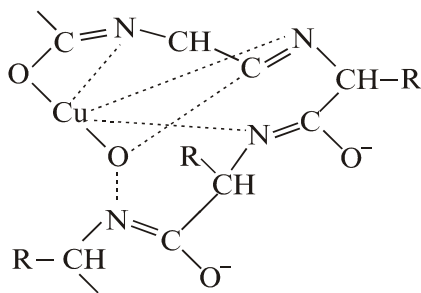
kimi də də bu reaksiyanı verir.

Elə ona görə, bu nümunə Biuret adlandırılmışdır. Təmiz amin turşuları adətən reaksiyanı vermirlər. Histidin, serin, treonin, asparagin istisna təşkil edir. Qələvi mühitdə mis duzlarının iştirakı ilə qızdırma şəraitində aparılan biuret reaksiyasında müvafiq rəng alınması üçün həmin amin turşularının qatı məhlulları tələb olunur. Rəngin alınması üçün tədqiq olunan maddədə ən azı iki peptid əlaqəsi olmalıdır.

Adi kimyəvi əlaqədən qismən qısa olan



əlaqəsinin biuretdə sayı iki, oksamidə 3-dür. Məsələ burasındadır ki, peptid əlaqəsi olan birləşmə və polimerlərdə əsas zəncirin $\text{C}_{2\alpha}$ atomları peptid əlaqəsinə nisbətən bir (sis) və ya iki (trans) müxtəlif tərəfə yönələ bilər. Elə buradan da sis və trans izomerlər əmələ gəlir. C-N əlaqəsinin qismən qısa (1,37 nm) olması, tipik trans vəziyyətin 40% özünü ikiqat rabitə kimi aparması¹ həmin əlaqə ətrafında fırlanmanı da çətinləşdirir və həm sis, həm də trans izomerlərin davamlılığını artırır. Bu nöqtəyi-nəzərdən mühitdə peptid əlaqəsinin miqdarı, başqa sözlə peptid zəncirinin uzunluğu və reaksiya mühitindən asılı olaraq rənglərin intensivliyi və rənglərin özü müxtəlif ola bilər (cəhrayı, bənövşəyi, qırmızı-bənövşəyi). Yuxarıda göstərilən şəraitdə (qələvi mühit, temperatur, mis ionları) aparılan təcrübədə mühitə rəng verən peptid və zülalların peptid əlaqəsi və mis ionlarının iştirakı ilə əmələ gələn mis-azot kompleks birləşmələrdir (iş 4-ə bax).



Mislə kompleks əmələ
gətirmiş polipeptid
zəncirinin fraqmenti

Əslində bu fraqment liqand quruluşdur və 2 sayılı işdə gördüyümüz mis xelatını xatırladır. Kompleksin əmələ gəlməsində peptid rabitələri olan maddə, mis sulfat və natrium qələvisi iştirak edir.

1 1 və ikiqat əlaqənin yaşama müddətinin nisbəti (6:4) peptid əlaqəsinin 60% 1 qat, 40% ikiqat olması deməkdir

Reaktivlər:

1.1%-li mis-2-sulfat (CuSO_4) - CuSO_4 -un tərkibində 5 molekul su olduğunu nəzərə alsaq 1%-li məhlulu dəqiq hazırlamaq üçün 1,56 qr. göy rəngli $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ tərəzidə çəkib, onu çini qabda qaz üzərində qızdırmaqla qurudub, ondan 1 q çəkib 99 ml distillə suyunda həll etmək lazımdır.

2. 10%-li NaOH - 10 q qələvi 90 ml suda həll edilir

3. 1%-li qlisin

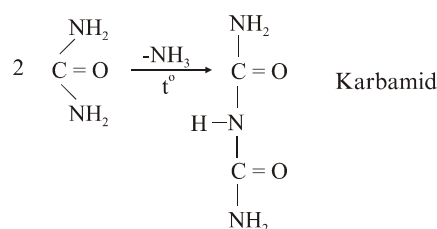
4. 1%-li yumurta zülalı (əlavələr 2)

5. 1%-li bitki zülalı (əlavələr 3)

6. Kristallik sidik çövhəri karbamid $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

İşin gedişi

Çini qaba və ya oda davamlı sınaq şüşəsinə 0,5-1 q kristallik sidik çövhəri götürüb onu alovda qızdırmaqla əritmək və bərkiyəne qədər gözləmək lazımdır. Bu zaman 2 molekul karbamiddən 1 molekul biuret əmələ gətirir



Əriyib bərkimiş karbamid kristalını soyudub onu tam həll edirik. Distillə suyunun miqdarı təxminən 10-15 ml olacaq.

Sonra 4 ədəd sınaq şüşəsinə ardıcıl olaraq eyni miqdarda (3-4 ml) qlisin, yumurta zülalı, bitki zülalı və biuret məhlullarını tökdükdən sonra, şüşələrə 3 ml 10%-li natrium hidrokسيد və 1 ml mis-sulfat məhlullarını əlavə etdikdə əmələ gələn rəngləri müqayisə edib dəftərdə qeyd edirik. Birinci sınaq şüşəsində (qlisin) rəng əmələ gəlmir.

AYRI-AYRI AMIN TURŞULARI VƏ ONLARDAN TƏŞKİL OLUNMUŞ ZÜLALLAR ÜÇÜN SƏCİYYƏVI KEYFİYYƏT REAKSIYALARI

İstər sərbəst, istərsə də zülalın tərkibinə daxil olduqda bəzi spesifik xassələrə malik olan bir qrup amin turşuları həmin xassələrə əsasən müşahidə edilə bilər. Bu reaksiyaların bir qisminə rəngli məhsullar alınır, digərləri müvafiq amin turşusuna qarşı yüksək dərəcədə həssasdırlar. Bu xassələrə əsasən bir qrup amin turşusunun cüzi miqdarını belə həm sərbəst halda, həm də mürəkkəb maddələrin tərkibində müşahidə etmək mümkün olur.

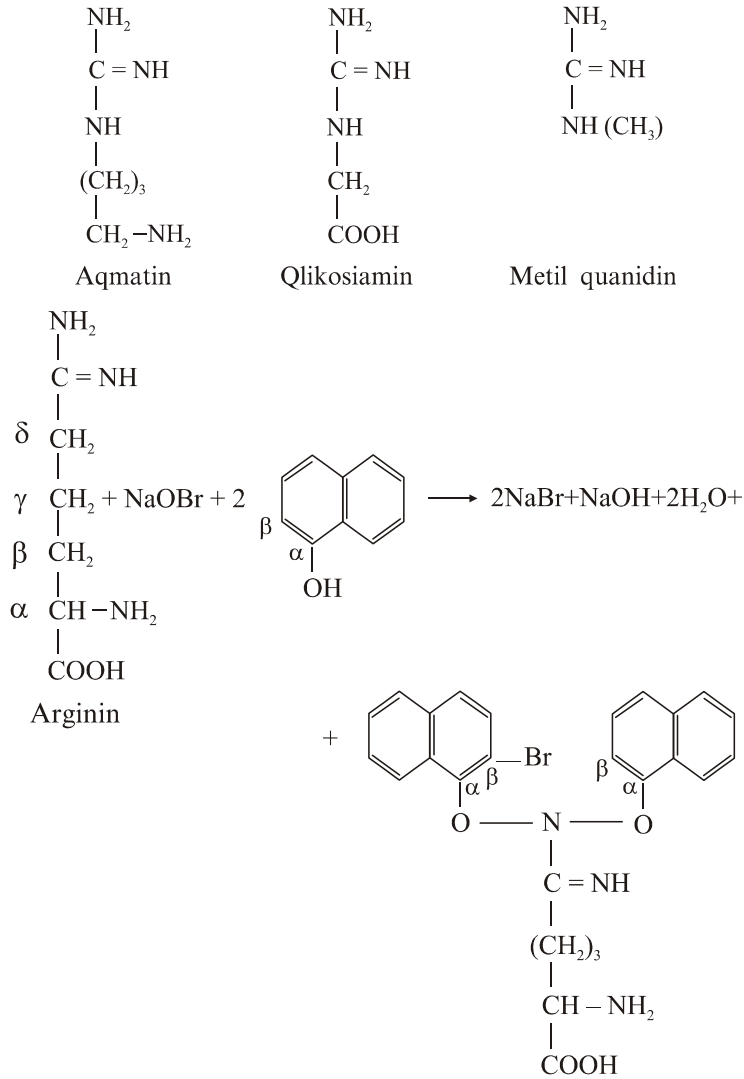
İŞ 6

ARGININ ÜÇÜN SAKAQUÇI REAKSIYASI

Tərkibində guanidin qrupu olan birləşmələr qələvi, hipobromat və -naftolun iştirakı ilə qırmızı rəngə boyanır. Argininin tərkibində guanidin qrupu olduğundan həmin amin turşusu üçün reaksiya spesifik ola bilər. Aqmatin, metil-guanidin, guanidinsirkə turşusu (qlikosiamin) kimi

quanidin qruplu maddələr Sakaquçi reaksiyasını versə də zülalın tərkibində bu birləşmələr yoxdur.

Reaksiya zamanı qırmızı rəngin əmələ gəlməsi oksidləşmiş argininlə α -naftolun kondensasiya məhsulunun sintezi ilə əlaqədardır. Hipobromat burada oksidləşdirici rolunu oynayır.



oksidləşmiş argininin α -naftolla kondensasiya məhsulu

Reaktivlər:

1. 10%-li NaOH məhlulu
2. α -naftolun 0,1%-li spirtli məhlulu
3. 1%-li zülal
4. 2%-li natrium hipobromid (əlavələr 4)

İşin gedişi

Sınaq şüşəsinə 5 damla 1%-li yumurta zülalı, 5 damla 10% NaOH və 3 damla α -naftolun 0,1%-li spirtde məhlulunu götürüb üzərinə damla-damla 2%-li natrium hipobromid əlavə etdikdə,

məhlul qırmızı rəngə boyanır. Məhlulda ammonyak və həddən çox hipobromid olduqda yaxşı nəticə alınmır.

İŞ 7

TƏRKİBINƏ KÜKÜRD (S) DAXİL OLAN AMİN

TURŞULARININ MÜŞAHİDƏ EDİLMƏSİ

Zülalların əksəriyyətinin tərkibində kükürlü amin turşularına (sistein, iki sisteinin əmələ gətirdiyi sistin və metionin) rast gəlinir. Xüsusilə birinci iki amin turşusu uzun müddət qələvi mühitdə qaynadıldıqda kükürd (S) atomunu hidrogen sulfid (H₂S) şəklində itirirlər. Bu maddə isə öz növbəsində qələvi ilə reaksiyaya girərək müşahidə edilə bilən sulfidləri əmələ gətirir. Sulfidləri müşahidə etmək üçün Fol, Makkarti və Sallivan reaksiyaları tətbiq olunur.

Fol reaksiyası - Kükürdü zəif birləşmiş sistein və sistini müşahidə etmək üçündür.

Reaktivlər:

1. Fol reaktivi (əlavələr 5)
2. 0,1-0,4%-li sistein
3. 1%-li yumurta zülalı
4. 50%-li NaOH
5. 1%-li jelatin (əlavələr 6)
6. 1%-li bitki zülalı (əlavələr 3)

İşin gedişi

4 ədəd sınaq şüşəsinə sistein, yumurta zülalı, jelatin və bitki zülalı məhlullarından növbə ilə 3-4 ml götürüb hər sınaq şüşəsinə 1,5-2 ml 50%-li qələvi əlavə edib 5 dəqiqə qaynatmaq lazımdır.

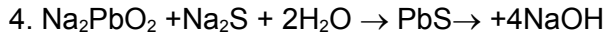
Məhlulu soyudub sınaq şüşələrinə 2 ml fol reaktivi əlavə edilir. Bu zaman qəhvəyi və ya qara rəngli çöküntü alınır.

Bu zaman aşağıdakı reaksiyalar baş verir.

1. $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} + 2\text{NaOH} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COONa} + \text{Pb}(\text{OH})_2$
2. $\text{Pb}(\text{OH})_2 + \text{NaOH-in artıq miqdarı} \rightarrow \text{Na}_2\text{PbO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + \text{NaOH-in artıq miqdarı}$
3. $\text{HS-CH}_2\text{-CH-COOH} + 2\text{NaOH} \rightarrow \text{HO-CH}_2\text{-CH-COOH} +$

NH ₂	NH ₂
sistein	serin

 $+ \text{Na}_2\text{S} + \text{H}_2\text{O}$



4 sınaq şüşəsindəki çöküntülərin rəng intensivliyi, yoxlanılan məhlullarda kükürdün miqdarından asılıdır. Jelatin olan sınaq şüşəsində nəticənin alınmaması onun bioloji dəyərli zülal olmadığını (bütün 20 amin turşusu, o cümlədən kükürlü turşular burada yoxdur) göstərir.

Makkarti və Sallivan reaksiyaları. Kükürd molekulu möhkəm birləşmiş metionin amin turşusunu müşahidə etmək üçündür.

Reaktivlər:

1. 10%-li natrium nitroprussid
2. Xlorid və fosfat turşularının 9:1 nisbətində qarışığı (əlavələr 7)
3. 0,1%-li metionin

İşin gedişi

Sınaq şüşəsinə 3 ml metionin məhlulu və 2 ml 10%-li NaOH götürüb qarışdırdıqdan sonra oraya təzə hazırlanmış natrium nitroprussidin 1 ml məhlulunu əlavə edib temperaturu $40\downarrow\text{C}$ olan su hamamına yerləşdiririk. 10-15 dəqiqədən sonra sınaq şüşəsini buzlu suya yerləşdirir və ya çox soyuduruq. Sınaq şüşəsinə 10-15 ml xlorid və fosfat turşularının qarışığını əlavə edib ehtiyatla qızdırırıq. Məhlulu şüşə çubuqla qarışdırıb soyuq su altında yenə 10-15 dəqiqə soyutduqda tədricən parlaq qırmızı-bənövşəyi rəng əmələ gəlir.

İŞ 8

QLISININ MÜŞAHİDƏ EDİLMƏSİ

(Simmerman reaksiyası)

Spesifik reaksiyalar sırasına daxildir. Sərbəst qlisin və tərkibinə qlisin daxil olan qarışıqlar, zülallarda qlisini müşahidə etmək üçündür. Qələvi mühitdə orto-ftal dialdehid qlisidlə parlaq yaşıl rəng əmələ gətirir. Reaksiya pH-ı 8,0 olan mühitdə yaxşı nəticə verir.

Reaktivlər:

1. 0,01-0,1%-li qlisin (10-100 mq amin turşusu 100 ml suda həll edilir)
2. 1%-li yumurta zülalı
3. 1%-li bitki zülalı
4. 10%-li NaOH
5. Orto-ftal dialdehidinin suda məhlulu (~ 0,7%) - 1q orto-ftaldialdehid 150 ml suda həll edilir
6. 1%-li jelatin

İşin gedişi

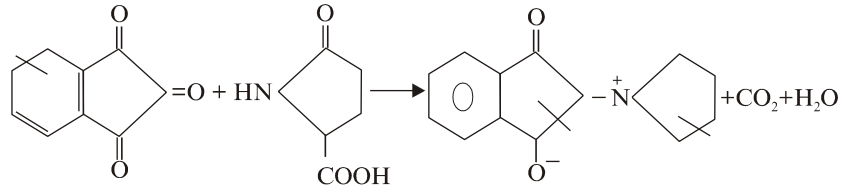
4 ədəd sınaq şüşəsinə növbə ilə qlisin, zülal, bitki zülalı və jelatin məhlullarından müqayisəli nəticə çıxartmaq üçün eyni miqdar (3-4 ml) götürüb hər sınaq şüşəsinə damla-damla qələvi məhlulunu pH-8,0 olana qədər əlavə edirik. Bunun üçün universal indikator kağızın hər sınaq şüşəsində kiçik parçası məhlula batırılmalıdır. Mühit pH-nın 8,0 olması indikator kağızının şkalası ilə müqayisə edilir. Sonra hər sınaq şüşəsinə 0,2 ml o-ftal dialdehid əlavə edildikdə, müxtəlif intensivlikli yaşıl rəng alınır. Bir qədər sonra yaşıl çöküntü əmələ gəlir.

İŞ 9

PROLININ MÜŞAHİDƏ EDİLMƏSİ

Ninhidrin və izatin prolinlə xarakter spesifik rəngli birləşmələr əmələ gətirirlər və məhz bu səbəbdən prolinin müşahidə edilməsi məqsədilə bu iki reagentdən geniş istifadə olunur.

Ninhidrinlə prolin aşağıdakı şəkildə parlaq-sarı rəngli kondensasiya məhsulunu əmələ gətirirlər.

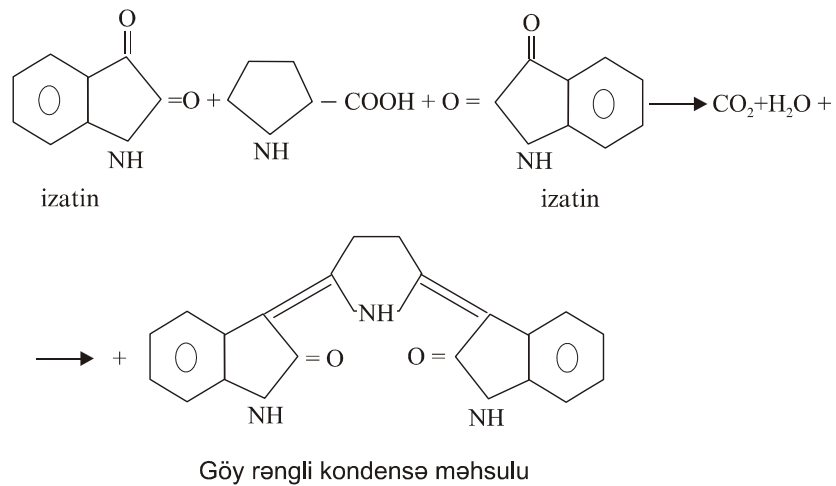


ninhidrin
məhsulu

prolin

sarı rəngli kondensasiya

Prolin amin turşusu müvafiq mühitdə izatinlə göy rəngli kondensasiya məhsulunun əmələ gəlməsinə səbəb olur. Güman olunduğuna görə proses aşağıdakı şəkildə gedir:



Reaktivlər:

1.0,1%-li prolin

2. Buzlu sirkə turşusunda 0,1%-li prolin
3. Ninhidrinin asetonda 0,1%-li məhlulu - 100 ml kristallik ninhidrin 127 ml asetonda həll edilir
4. İzatinin 0,3%-li buzlu sirkə turşusunda məhlulu - 300 mq izatin soyuducu şkaf şəraitində 100 ml buzlu sirkə turşusunda həll edilir

İşin gedişi

a) Ninhidrinlə reaksiya

Sınaq şüşəsinə 3 ml prolin və bir neçə damla ninhidrinin asetonda məhlulunu götürüb qarışdırılır və temperaturu 60-70°C olan su hamamına 5 dəqiqə müddətinə yerləşdirilir. Tədricən parlaq-sarı rəng aydınlaşır.

b) İzatinlə reaksiya

Sınaq şüşəsində 3 ml prolin və soyuducu şkaf şəraitində 1-2 ml izatinin buzlu sirkə turşusunda məhlulunu qarışdırdıqda dərhal göy rəng əmələ gəlir.

Digər sınaq şüşəsində prolinin sulu məhlulu ilə təcrübəni aparmalı.

İŞ 10

TRİPTOFANIN MÜŞAHİDƏ EDİLMƏSİ

Triptofan aldehid qrupu olan bəzi birləşmələrlə müvafiq şəraitdə müxtəlif rənglər əmələ gətirir. Əmələ gələn məhsul bənövşəyi, qırmızı-bənövşəyi rəngdə ola bilər. Aldehid qrupu olan birləşmələrdən qlioxsil turşusu, formaldehid, oksimetilfurfuroidən istifadə etmək olar. Bütün hallarda sərbəst və ya zülal tərkibində olan triptofanı müşahidə etmək üçün aparılan nümunədə qatı sulfat turşusu, digər bir halda xlorid turşusu iştirak edir. Triptofanı aşkar etmək üçün tətbiq olunan reaksiyalar, onları təklif edən müəlliflərin adını daşıyır.

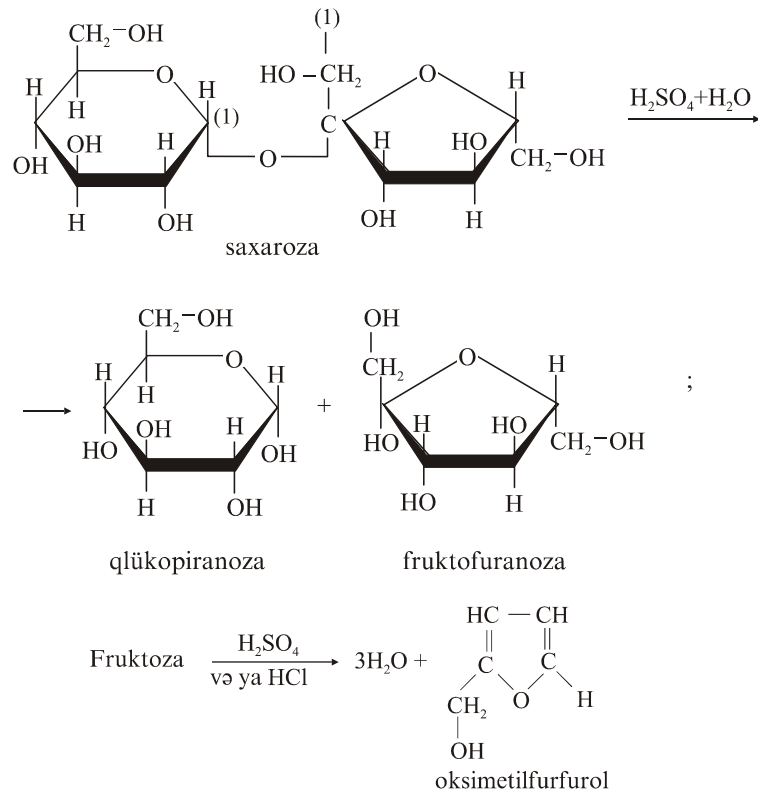
Reaktivlər:

1. 0,1%-li triptofan
2. 1%-li və durulaşdırılmamış yumurta zülalı məhlulları
3. Bitki zülalı məhlulu
4. Qatı sulfat turşusu və ya qatı xlorid turşusu
5. Buzlu sirkə turşusu
6. 1%-li formaldehid (əlavələr 8)
7. 5%-li fruktoza (5q fruktoza 95 ml suda həll edilir)
8. Qlioxsil turşusu preparatı (əlavələr 9)
9. 1%-li mis sulfat (iş 4-ə bax)
10. 10%-li saxaroza

haloxromin hadisəsi baş verir, yeni mavi-bənövşəyi rəng bis-2-triptofanilkarbonil duzunun rəngidir.

C. Şuls-Raspayl reaksiyası.

Burada buzlu sirkə turşusu əvəzinə (və ya qlüksil turşusu preparatı əvəzinə digər bir aldehiddən, məsələn oksimetilfurfuoldan istifadə etmək olar. Bu aldehidi almaq üçün isə fruktoza və ya saxarozadan istifadə edilir. Saxaroza sulfat turşusu təsirindən hidroliz olunub fruktoza və qlükozaya, fruktoza isə 3 molekul su itirərək oksimetil furfurola çevrilir.



Əmələ gələn aldehyd (oksimetilfurfurol) triptofanla qırmızı-bənövşəyi rəngli kompleks əmələ gətirir.

İşin gedişi

Sınaq şüşəsinə bir neçə damla zülal məhlulu və 2 ml 10%-li saxaroza və ya 5%-li fruktoza götürüb şüşənin divarları ilə şüşəyə 1 ml qatı sulfat turşusunu və ya xlorid turşusunu ehtiyatla əlavə edib tədricən əmələ gələn rəngi müşahidə etmək olar. Digər sınaq şüşəsində zülal əvəzinə triptofan məhlulunu götürmək olar.

A, B, C reaksiyaları bitki zülalı ilə də aparılır. Həmin reaksiyaları jelatinlə aparsaq nəticə alınmayacaq.

İŞ 11

VUAZENE REAKSIYASI

Tərkibində triptofan olan zülallarda həmin amin turşusunu müşahidə etmək üçün tətbiq olunur. Bu reaksiyanın mexanizmi Hopkins-Kole və ya Adamkeviç reaksiyasında olduğu kimidir. Hər iki reaksiyada triptofan formaldehidlə reaksiyaya daxil olur.

Reaktivlər:

1. 2,5%-li formaldehid (əlavələr 8 - nisbət 2,5 hissə formalin 37,5 hissə su olmalıdır)
2. Qatı xlorid turşusu (HCl)
3. 1%-li yumurta zülalı
4. 0,5%-li natrium nitrit (NaNO_2)

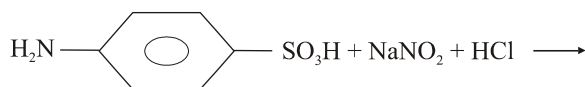
İşin gedişi

Sınaq şüşəsinə 2 ml zülal məhlulu və 1 damla formaldehid götürüb qarışdırılır və oraya 6 ml qatı xlorid turşusu tökülür. Sınaq şüşəsinə yenə qarışdırıb 10 dəqiqə gözləyirik. Sonra sınaq şüşəsinə qarışdırma-qarışdırma 10 damla natrium nitrit məhlulu tökdükdə tədricən intensiv göy-bənövşəyi rəngin əmələ gəlməsini müşahidə edirik.

İŞ 12

PAULI REAKSIYASI

Bu reaksiya diazoreaksiya adı ilə də məlumdur. Reaksiyanın mahiyyəti tirozin və xüsusən histidin amin turşuları qalıqlarında onların radikallarının diazobenzolsulfon turşusu ilə rəngli birləşmələr əmələ gətirməsidir. Birləşmələrin xarakterindən asılı olaraq rənglər sarı, narıncı, qırmızı-albalı ola bilər. Diazoreaksiya dedikdə histidin əsas reaktiv olan sulfanil turşusunun hidrogen xloridli məhlulu və natrium nitrit qarışığı ilə (diazoreaktiv) rəng əmələ gətirməsidir (bax əlavələr 10). Prosesdə tirozin də iştirak edə bilər. Müvafiq şəraitdə Pauli reaksiyası vasitəsilə triptofanı və bəzi fenolları da aşkar etmək olar. Adi şəraitdə Pauli reaksiyası histidin üçün spesifik deyil. Lakin Kassel və Kuçer diazoreaksiyasını istifadə etməklə, xüsusi şərait yaradaraq onu miqdarı analiz üçün tətbiq etmişlər. Bunun üçün tədqiq olunan məhlul və ya hidrolizatda fosforvolfram turşusu vasitəsilə miqdarca arginin, histidin, lizin və az miqdarda sistin çökdürülür. Qalan amin turşuları məhlulda qalır. Çöküntü yuyulur. Histidin və onu müşayiət edən amin turşuları məhlula keçirilir. Kolorimetrik üsulla Pauli reaksiyasına əsasən məhlulda histidin miqdarca təyin olunur. Reaksiyanı apararkən əvvəlcə natrium nitrit vasitəsilə sulfanil turşusunun hidrogen xloridli məhlulunda diazotlaşma prosesi gedir.



sulfanil turşusu

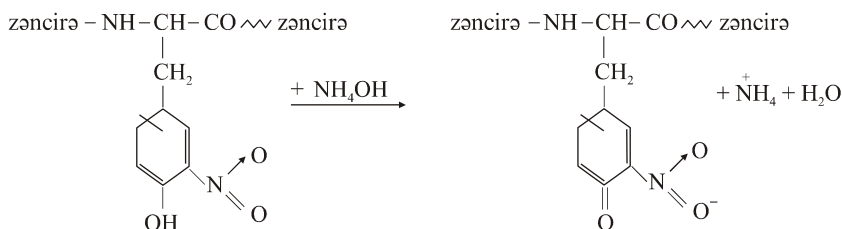
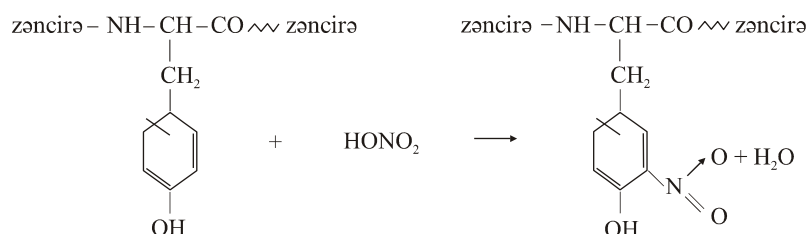
İŞ 13

KSANTOPROTEIN REAKSIYASI

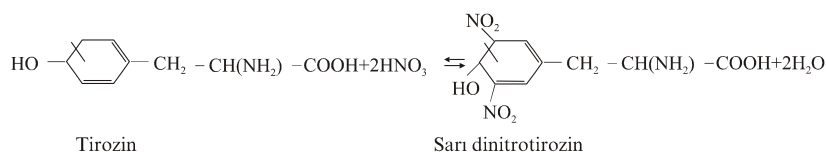
Ayrıca götürülmüş amin turşusunu aşkar etmək üçün tətbiq olunan təsvir etdiyimiz laboratoriya işlərindən fərqli olaraq, bu reaksiya ümumi olan bir xassəyə əsasən bir qrup maddəni aşkar etməyə imkan verir. Ksantoprotein məfumu yunanca *xanthos* -sarı sözündən törənir. Reaksiya tərkibinə aromatik nüvə daxil olan tsiklik amin turşularını aşkar etmək üçün tətbiq olunur. Aromatik nüvə asanlıqla nitrobirləşmə (nitrolaşma) əmələ gətirir. Əmələ gələn nitrotörəmələr adətən sarı rəngli olurlar. Nitrotörəmələr olan mühiti qələviləşdirdikdə narıncı rəngli duzlar əmələ gəlir. Bunun səbəbi xromofor qrupunun əmələ gəlməsidir. Reaksiya tərkibinə fenilalanin, tirozin və triptofan daxil olan zülallarla da müsbət nəticə verir.

Nümunəni jelatinlə apardıqda nəticə alınmır. Çünki bu zülalın tərkibində həmin amin turşuları yoxdur. Jelatin elə buna görə də qida nöqtəyi nəzərindən dəyərli zülal hesab olunmur. Ksantoprotein reaksiyasının mexanizmini zülalda tirozin radikalı üzrə zülalda necə getdiyinə diqqət yetirək. (Qələvi qismində ammonium hidroksid götürdükdə):

I Nitrolaşma

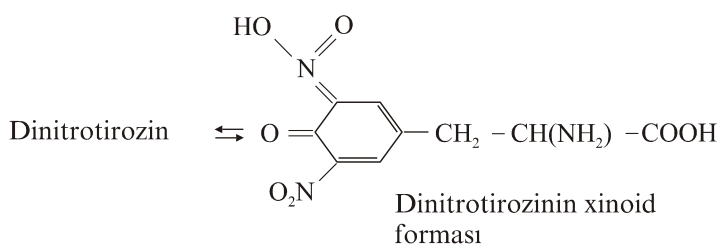


Ayrıca tirozin götürdükdə

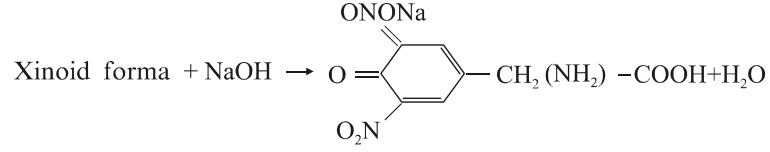


II Duzun əmələ gəlməsi

Dinitrotirozin xinoid formaya keçir



Bu dəfə qələvi (NaOH) mühitdə rəaksiyanı apardıqda:



Dinitrotirozinin natrium duzu

(narıncı rəngli)

Reaktivlər:

1. 0,1%-li tirozin
2. 0,1%li triptofan
3. 1%-li yumurta zülalı
4. 1%-li fenol (C₆H₅OH)
5. Qatı nitrat turşusu
6. 10%-li NaOH

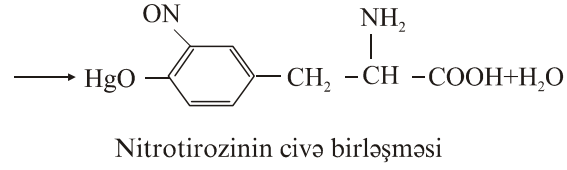
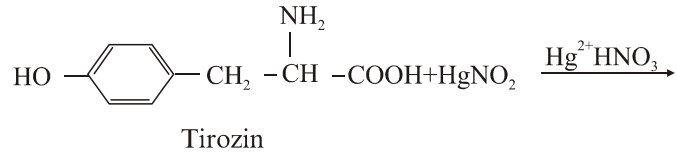
İşin gedişi

Dörd ədəd sınaq şüşəsinin birinə 4 ml tirozin, digərlərinə eyni miqdarda triptofan, zülal və sonuncuya fenol götürüb, məhlulları nitrolaşdırmaq üçün hər bir sınaq şüşəsinə 2 ml qatı nitrat turşusu töküb ehtiyatla qızdırdıqda sarı rəng alınır. Sınaq şüşələrini soyudub hər birinə 3-4 ml natrium hidroksid (ammonium hidroksid də əlavə etmək olar) əlavə edib əmələ gələn narıncı rəngi və onun ayrı-ayrı hallarda intensivlik dərəcəsinə müşahidə etmək və müvafiq nəticəni iş dəftərinə qeyd etmək lazımdır. Reaksiyanı 1%-li jelatinlə aparıb nəticə alınmadığını da yoxlamaq olar.

İŞ 14

MILLON REAKSIYASI

Tirozini təsvir olunan aşağıdakı reaksiya ilə də aşkar etmək olar. Reaksiyanı spesifik hesab etmək olmaz.



Çünki bir sıra fenollar da həmin reaksiyanı verirlər. Civə ilə nitrat turşusu qarışığından ibarət Millon reaktivindən istifadə etdikdə tirozinin fenol nüvəsi və sərbəst hidroksil qrupu, reaktivin tərkibinə daxil olan civə duzları ilə qırmızı rəngli tirozinin civə birləşməsinə əmələ gətirir.

Burada da benzol halqasının nitrolaşması prosesi gedir və proses daha mürəkkəb birləşmə əmələ gəlməsi istiqamətində də gedə bilər. Bütün hallarda qırmızı rəng əmələ gəlir.

Reaktivlər:

1. 0,1%-li tirozin
2. 1%-li zülal
3. Bitki zülalı
4. 1%-li fenol
5. Millon reaktiv (əlavələr 11)
6. 1%-li jelatin

İşin gedişi

Beş sınaq şüşəsinə növbə ilə hərəsi 3 ml olmaqla, tirozin, yumurta zülalı, bitki zülalı, jelatin və fenol götürüb sınaq şüşələrinə növbə ilə 1,5 ml millon reaktivini əlavə edib rəngin əmələ gəlməsini müşahidə etmək olar. Müxtəlif maddələrlə aparılan bu reaksiyalarda rəng yavaş və ya tez əmələ gələ bilər, çöküntü ola bilər və s. jelatin olan sınaq şüşəsində nəticə alınmır.

İŞ 15

ZÜLALIN HIDROLIZI

Zülal məhlulu turşu və ya qələvi ilə qaynadıldıqda peptid əlaqələrinin qırılması və sərbəst amin turşularının əmələ gəlməsi baş verir. Prosesi müşahidə etmək üçün formoltitrlemə üsulunu tətbiq etmək olar (iş 37-yə bax). Formoltitrlemə hidroliz prosesində sərbəst amin qruplarının artmasını müşahidə etməyə imkan verir. Bu işdə isə hidrolizdən əvvəl və sonra formoltitrlemə prosesində sərf olunan qələvinin miqdarını müəyyənləşdirməklə kifayətlənəcəyik.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Sınaq şüşələri
2. Sentrifuqa üçün bölgülü sınaq şüşələri

3. Ştativ
4. Su hamamı
5. Şüşə çubuq
6. pipetkalar
7. Qatı HCl
8. 10%-li NaOH
9. 2%-li HCl
10. 0,05 N NaOH
11. Fenolftalein (spirtde məhlulu) (əlavələrə bax, 12)
12. 10%-li yumurta zülalı
13. Formol qarışıq (Zerensena görə) - əlavələrə bax (1).

Bölgülü sınaq şüşəsinə 2,5 ml zülal və 1 ml qatı HCl töküb şüşə çubuqla qarışdırdıqdan sonra qarışıqdan pipetka ilə 1 ml götürüb sınaq şüşəsinə keçiririk. Sınaq şüşəsinə fenolftalein və çəhrayı rəng alınana qədər damla-damla 10%-li qələvi əlavə edirik. 10%-li qələvi ilə zəif çəhrayı rəngin alınması çətin olduğu üçün aşağıdakı qayda üzrə işləmək lazımdır. Qələvi ilə qırmızı rəng alıb fenolftaleini 2%-li HCl-la zəif çəhrayı rəngə qədər çatdırırıq. Bu zaman 0,05 N NaOH-dan istifadə edilir. Sonra sınaq şüşəsinə 10 damla formol qarışıq əlavə edib qarışdırırıq. Rəng itərsə zəif çəhrayı rəng 0,05 N NaOH-la bərpa edilir. Sərf olunan 0,05 N NaOH-ın damlalarının sayı və ya ml-lə miqdarı cədvələ yazılır. Formol qarışıq tökdükdə çəhrayı rəng itməsə, bu o deməkdir ki, sərbəst karboksil qrupları yoxdur. Bu halda sınaq şüşəsinə qələvi əlavə etmək lazım deyil. Cədvəldə isə (0) yazılır.

Zülalla HCl qarışdırılmış bölgülü sınaq şüşəsində məhlulun həcmi qeyd edilir. Sonra sınaq şüşəsi 1 saat müddətində qaynar su hamamına yerləşdirilir. Sınaq şüşəsinə soyudub əvvəlki həcmə çatana qədər üzərinə su tökürük. Hidrolizədən 1 ml adi sınaq şüşəsinə keçirib yuxarıdakı qayda üzrə fenolftaleinə əsasən məhlulu neytrallaşdırır və 10 damla formol qarışıq əlavə edib 0,05 N NaOH-la titrləyirik. Bu dəfə də qələvinin miqdarı cədvəldə qeyd edilir.

Tədqiq olunan maddə	Formol titrləmə zamanı sərf olunan 0,05 N NaOH-in miqdarı (damla və ya ml-lə)	
	Hidrolizdən əvvəl	Hidroliz başlandıqdan 1 saat sonra
Yumurta zülalı		

İŞ 16

AMIN TURŞULARININ XROMATOQRAFIYA

ÜSULU İLƏ TƏYİNİ

Xromatoqrafik üsulla amin turşuları asanlıqla ayrılır və onları qarışıqda təyin etmək mümkündür. Üsulun mahiyyəti ondan ibarətdir ki, amin turşularının qarışığından və ya zülal hidrolizatından götürülmüş damla filtr kağızından ibarət zolaq üzərində yerləşdirilir və zolağın ucu müvafiq üzvi həll ediciyə salınır. Həll edici zolaq vasitəsilə sorulur və özü ilə bərabər amin turşularını apararaq kağız üzərində paylayır. Amin turşularının yerdəyişmə sürəti onların kimyəvi tərkibi və mütəhərrik və ya qeyri-mütəhərrik həlledicidə həll olmasından asılıdır. Mütəhərrik həlledici kimi, məsələn, su ilə doymuş fenol (və ya n. butil spirti, amil spirti və s.) işlədilə bilər. Qeyri-mütəhərrik həlledici sudur. Suyun buxarları filtr kağızını doydurur (xarici kağız quru qalır). Amin turşuların suda həll olması nə qədər az, fenolda həll olması nə qədər çoxdursa, bir o qədər də onlar üzvi həlledicinin ardınca sürətlə hərəkət edir. Amin turşularının kağız üzərində vəziyyətini ninhidrin rəngli reaksiyasının köməyi ilə müşahidə etmək olar. Bunun üçün qurudulmuş kağız zolağını 0,1-0,2%-li ninhidrinin spirt məhlulu ilə çiləyib quruducu şkafda qızdırmaq lazımdır. Amin turşuları kimyəvi tərkiblərindən asılı olaraq göy, bənövşəyi və ya narıncı ləkələr şəklində aşkar olur. Ayrı-ayrı amin turşularının yerdəyişmə sürəti paylanma əmsalı (R_f) köməyi ilə ifadə oluna bilər. R_f həmçinin mütəhərriklik əmsalı da adlanır (şəklərin xromatoqrafiyası üsullarına bax).

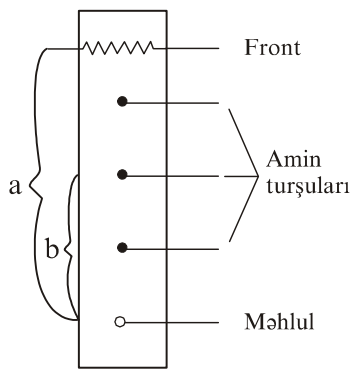
Paylanma əmsalı amin turşusu yerləşdirilən yerdən (çıxış nöqtəsindən) müvafiq amin turşusu ləkəsinin ortasına qədər (a) olan məsafənin (millimetrlə) çıxış nöqtəsindən həlledicinin yoluna (b) (front) olan nisbətində (millimetrlə) deyilir (şək.1).

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

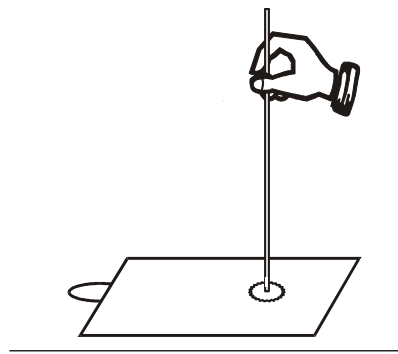
Paylanma əmsalı hər bir amin turşusu üçün səciyyəvi qiymət olub konkret şəraitdə (həlledici, temperatur, kağızın növü və s.) sabitdir.

Reaktivlər:

1. Amin turşularının qarışığı (alanin, leysin və s.)
2. Fenol və ya butanol
3. 0,1-0,2%-li ninhidrin (etanolda)



Şəkil 1.



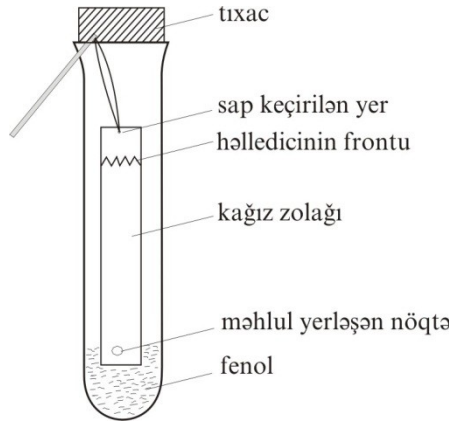
Şəkil 2.

İşin gedişi

Uzunluğu 12-15, eni 1,5 sm olan filtr kağızı zolağı kəsilir. Xromatoqrafiya üçün filtr kağızı hamar, təmiz və kifayət qədər sıx olmalıdır. Kağız yaxşı olduqda ninhidrinlə çiləndikdən sonra amin turşularının ləkələri dairəvi və ya bir qədər ellipsvari alınır. Əks halda ləkələr çox uzunsov olur. Zolağın yuxarı ucundan uzunluğu 15-20 sm olan sap keçirilir və ucu düyünlənir. Aşağı ucda

zolağın kənarlarından 1 sm aralı diametri 3-4 mm olan dairə borunun köməylə tədqiq olunan amin turşularının qarışığı kiçik damla şəklində yerləşdirilir (şək.2). Damla yerləşdirilən nöqtə havada qurudulur. Uzunluğu 18-20, diametri 2-2,5 sm olan sınaq şüşəsinin dibinə divarlarını islatmadan 15-20 damla fenol (və ya butanol) tökülür. Sapdan yapışaraq zolağı 2-3 mm məhlula girənə qədər sınaq şüşəsinə vertikal vəziyyətdə (divarlara dəymədən) tıxac vasitəsilə asırıq (şəkil 3). Tıxacı yaxşı bağlayıb, nümunəni temperaturu 35-40°C olan termostata 1,5-2 saat müddətinə yerləşdiririk. Bu müddət ərzində həlledicinin frontu 10-12 sm

qalxır. Göstərilən müddət keçdikdən sonra zolağı çıxarıb temperaturu 50-100°C olan quruducu şkaftan vertikal vəziyyətdə asırıq. 10-15 dəqiqədən sonra (fenol və ya butanol buxarlanmalıdır) zolağı çıxarıb ştativdə asaraq pulverizatorla ninhidrin məhlulu ilə çiləyib yenidən temperaturu 100-110° olan quruducu şkafa 5-6 dəqiqə müddətinə yerləşdiririk. Kağız zolağı qız



Şəkil 3.

dıqca amin turşuları olan yerlərdə göy və ya bənövşəyi ləkələr əmələ gəlir. Kağız zolağını 20x10 sm ölçülü şüşə lövhə üzərinə qoyub xətkəş vasitəsilə (1-ci şəkilə bax) *a* və *b* məsafələrini ölçüb R_f -i hesablayırıq. Hər amin turşusu üçün paylanma əmsali

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

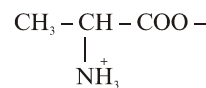
düsturu ilə hesablanır. Ləkələrin hansı amin turşusuna məxsus olmasını hər amin turşusu üçün ayrıca xromatoqrafiya olmaqla kontrol təcrübə yolu ilə müəyyənləşdirirlər.

İŞ 17

AMIN TURŞULARI MƏHLULLARININ

pH-nın TƏYİNİ

Amin turşularının suda məhlullarının reaksiyası, sərbəst amin və karboksil qruplarının miqdarından asılıdır. Monoaminomonokarbon turşularının karboksil və amin qrupları suda bir-birini qarşılıqlı neytrallaşdıraraq, daxili duz əmələ gətirirlər:



Belə amin turşularının suda məhlulunun reaksiyası neytrala yaxın olur. Monoaminodikarbon amin turşuları turş məhlul verir. Çünki bu halda daxili duz əmələ gəlməsi üçün bir COOH qrupu sərf olunur. Digəri isə suda dissosiasiya edərək H^+ ionlarını əmələ gətirir. Diaminomonokarbon amin turşuları, əksinə, qələvi məhlul verir. Daxili duz əmələ gələrkən bir amin qrupu sərbəst qalır. Amin turşuları məhlulunun pH-ı kalorimetrik üsulla təyin oluna bilər.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Universal indikatorla pH-ı təyin etmək üçün şkala universal indikator (əlavələrə bax,13)
2. 0,1%-li qlisin
3. 0,1%-li asparaqın turşusu
4. 0,1%-li lizin

İşin gedişi

Üç mikrokimyəvi sınaq şüşəsinə 3 damla amin turşusu məhlulu götürüb (birinciyə qlisin, ikinciyə lizin, üçüncüyə asparaqın turşusu) hər birinə 5 damla universal indikator əlavə edirik. Qarışdırdıqdan sonra sınaq şüşələrində əmələ gələn rəng şkala ilə tutuşdurulur və nəticə cədvələ qeyd edilir.

Cədvəl 1

Amin turşuları qrupu	Amin turşularının adı	pH
monoaminomonokarbon	qlisin	
monoaminodikarbon	asparaqın turşusu	
diaminomonokarbon	lizin	

Şkala olmadıqda aşağıdakı cədvəldən istifadə etmək olar.

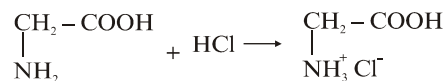
Cədvəl 2

Məhlulun rəngi	pH	Məhlulun rəngi	PH
qırmızı	4	yaşıl	8
narıncı	5	göy-yaşıl	9
sarı	6	göy-bənövşəyi	10
sarı-yaşıl	7	qırmızı-bənövşəyi	11

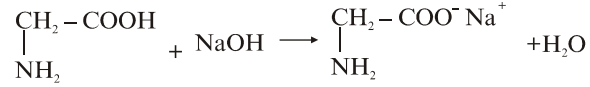
İŞ 18

AMIN TURŞULARININ AMFOTERLIYI

Mühitin reaksiyasından asılı olaraq amin turşuları özlərini turşu və ya əsas kimi apara bilir. Turşu ilə amin turşusu amin qrupu hesabına duz əmələ gətirir.



Qüvvətli turşu mühitində amin turşusunun karboksil qruplarının dissosiasiyası mümkün olmur. Lakin məhlulə qələvi əlavə etdikdə COOH qrupu və qələvi hesabına duz əmələ gəlir.



Yuxarıdakı reaksiyalar amin turşuları məhlullarının yüksək bufer tutumuna malik olmasını izah edir. Amin turşusu məhlulu qələvi və ya turşu ilə titrəndikdə pH suya qələvi və ya turşu əlavə edilən hala nisbətən, daha az dəyişir. Bunu görmək üçün aşağıdakı təcrübəni aparmaq kifayətdir.

Reaktivlər:

1. 5%-li qlisin
2. 0,4%-li NaOH
3. 0,4%-li HCl
4. 0,5%-li fenolftalein spirtdə
5. 0,1%-li metiloranj

İşin gedişi

Dörd mikrokimyəvi sınaq şüşəsini nömrələyib birinciyə 5%-li qlisin, ikinciyə 5 damla su götürürük. Hər iki sınaq şüşəsinə bir damla fenolftalein əlavə edirik. İkinci sınaq şüşəsinə 1 damla NaOH düşən kimi bənövşəyi rəng alınır. Birinci şüşəyə damla-damla NaOH ikinci şüşədəki rəngə uyğun gələncə qədər əlavə edirik. Əlavə olunan damlalar sayılır.

Hər iki sınaq şüşəsində məhlulun həcmnin eyni olması üçün birinci sınaq şüşəsinə titrləmə zamanı tökülən qələvi qədər, ikinci sınaq şüşəsinə damla-damla su tökmək lazımdır. Qlisinə sərf olunan NaOH-ın miqdarı cədvələ yazılır.

Üçüncü sınaq şüşəsinə 5 damla qlisin, dördüncüyə 5 damla su töküb hər birinə bir damla metiloranj əlavə edilir. Dördüncü sınaq şüşəsinə bir damla HCl əlavə etdikdə məhlul çəhrayı rəng alır. Üçüncü sınaq şüşəsindəki qlisin 0,4%-li turşu ilə eyni rəng (çəhrayı) alınana qədər damlaları sayı-saya titrlənir.

Hər iki sınaq şüşəsində məhlulun həcmnin eyni olması üçün titrləmə prosesində üçüncü sınaq şüşəsinə sərf olunan turşu qədər dördüncüyə damla-damla su tökülür və nəticələr qeyd olunur.

Sınaq şüşəsinin möhtəviyyatı	Titrləməyə sərf olunan maddənin miqdarı, damla ilə	
	0,4%-li NaOH	0,4%-li HCl
qlisin	-	-
su	1	1

İŞ 19

AMIN TURŞULARININ FLUORESSENSIYASI

Filtr kağızı üzərinə yerləşdirilmiş amin turşusu, ultrabənövşəyi şüa ilə işıqlandırıldıqda fluorensensiya edir.

Bu hadisə bioloji materialın tədqiqində istifadə edilir.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Lyuminescent lampa
2. Filtr kağızı
3. 0,1 və ya 5%-li qlisin

Filtr kağızı üzərinə bir damla amin turşusu məhlulu yerləşdirib quruduruq. Qaranlıq yerdə lyuminescent lampası qarşısına filtr kağızını yerləşdirsək damla olan yerdə qəhvəyi fluorensensiya müşahidə edərik.

ZÜLALLARIN FİZİKİ-KİMYƏVİ XASSƏLƏRİ

İŞ 20

ZÜLALLARIN HƏLLOLMA QABİLİYYƏTİ

Su ilə yumurta zülalı, qan zərdabı, əzələ ekstraktı və tərkibində albuminlər, qlobulinlər olan bioloji mayelərin qatılığını azaltdıqda birincilər məhlula keçir, ikincilər isə çökürlər. Suda az miqdar qələvi metalların duzları olduqda (NaCl, KCl, NH₄Cl, Na₂SO₄ və başqaları) hər iki zülal fraksiyaları - albumin və qlobulinlər tədricən məhlula keçirlər. Bitki zülallarını ayırmaq üçün tədqiq olunan materialda zülal fraksiyalarının xarakterindən asılı olaraq müxtəlif həlledicilərdən istifadə olunur. Buğda, çovdar və arpa ununun züllaları 0,2%-li NaOH, daha yaxşı qələvinin su spirt məhlulunda (0,2%-li NaOH 50-60%-li etil spirtində) həll olunur. Məhlula albumin, qlobulin, prolamin və qlütelinlər keçirlər. Qlütelinlər tərkiblərində çoxlu dikarbon amin turşuları (qlütamin, asparagin turşuları) olduğundan qələvidə yaxşı həll olur və turşu xarakteri daşıyırlar. Prolaminlər (xüsusən buğda və çovdar qliadini, arpa qordeini), duz məhlulları suda həll olmur. Bunlar üçün həlledici 50-80%-lili spirtidir. Təcrübə işinin nəticəsi cədvəldə qeyd edilir.

Cədvəl 3

Zülalın həllolma qabiliyyəti

Zülalın adı	H ₂ O	5%-li NaCl	0,2%-li NaOH

Həllolmanı (+) zülalın həll olmamasını isə (-) işarə ilə qeyd etmək olar. İşin sonunda isə nəticələr yazılır.

İşin gedişi

1. İki damla yumurta zülalı üzərinə 20 damla su töküb qarışdırır və 3-5 dəqiqə saxlayırıq. Yumurta albumini həll olur, qlobulin isə az miqdar çöküntü verir. Məhlulu əvvəlcədən su ilə isladılmış qatlı filtdən süzüb filtratı çökdürmə reaksiyaları üçün istifadə edirlər.

2. İki damla yumurta zülalı üzərinə 20 damla 5%-li NaCl tökdükdə albumin və qlöbulini olan duz məhlulu alırıq. Belə məhlul dializ üçün istifadə olunur.

3. 200 mq buğda və ya soya ununu farfor həvəngdə 5 ml 0,2%-li NaOH (0,1 N NaOH su ilə 1:1 nisbətində qarışdırılır) məhlulu ilə əzirik. Məhlula albumin, qlöbulin və qlütelin keçir. Alınan qarışıq sınaq şüşəsinə keçirilir, bir qədər qaldıqdan sonra yuxarı bulanıq qat rəngli reaksiyalar və dializ üçün istifadə edilir.

İŞ 21

DIALİZ

Dializ məsamələrindən yüksək molekullu kolloid hissə-ciklərini buraxmayan membranlar vasitəsilə maddələrin ayrılmasının xüsusi üsuludur. Zülallar kolloid, sellofan və başqa maddələrdən ibarət yarımkeçirici membranlardan pis keçir. Zülalın kiçik molekullu birləşmə, məsələn, NaCl-la qarışığını belə membrandan düzəldilmiş kisəciyə keçirib axar suya salsaq (və ya suyu dəyişməklə qaba) zülalı duzdan azad etmək olar.

Reaktiv və ləvazimat:

1. 10 ml-lik sentrifuqa və ya Vasserman sınaq şüşələri ştativlə
2. Bir ucu sellofan və ya kolloidylə örtülmüş, uzunluğu 120 mm, diametri 7 mm olan şüşə boru
3. 10%-li yumurta zülalı məhlulu
4. Doymuş NaCl məhlulu (əlavələr, 14)
5. 1%-li AgNO₃
6. 1%-li CuSO₄
7. 10%-li NaOH

İşin gedişi

Sentrifuqa və ya Vasserman sınaq şüşəsinə 3 ml distillə suyu götürürük. Dializ üçün şüşə boruya açıq tərəfindən üç damla zülal və üç damla NaCl töküüb içərisində su olan sınaq şüşəsinə elə salınır ki, sellofan və ya kolloidlə örtülmüş uc suya daxil

olsun (şəkil 4). 5 dəqiqədən sonra borunu çıxarıb müəyyən edirik ki, xlor ionları membrandan keçmiş, zülal hissəcikləri isə keçməmişdir. Bunun üçün iki mikro sınaq şüşəsinə böyük sınaq şüşəsindən bir neçə damla məhlul götürüb sınaq şüşələrinin birində zülal, digərində xloridlərə aid reaksiya aparılır. Xloridləri müşahidə etmək üçün 5 damla məhlul üzərinə 2 damla gümüş nitrat məhlulu əlavə olunur. Zülalları isə biuret reaksiyası ilə (iş 25) müşahidə etmək olar.



Şəkil 4. Dializi müşahidə etmək üçün cihaz.

İŞ 22

OKSIHEMOQLOBIN KRISTALLARININ

ALINMASI

Zülalların tərkibi və quruluşunu öyrənmək üçün mühüm məsələlərdən biri onların təmiz halda alınmasıdır.

Hazırda əksər zülalların kristallik preparatları alınmışdır. Lakin kristallik zülalların alınması çox vaxt mürəkkəb cihazlar tələb edir. Ona görə də biz kristallik zülal oksihemoqlobinin alınmasının sadə üsulu ilə tanış olaq.

Oksihemoqlobin eritrositlərin tərkibində olur. Əgər eritrositlərin qlafını toluolla dağıtsaq, azad olmuş oksihemoqlobin kristal əmələ gətirir.

Reaktiv və ləvazimat:

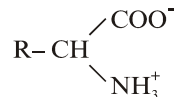
1. Mikroskop
2. Əşya və örtücü şüşələri
3. Şüşə çubuq
4. Toluolda həll edilmiş Kanada balzamu
5. Qan

İşin gedişi

Əşya şüşəsi üzərinə şüşə çubuqla bir damla qan yerləşdirib üzərinə örtücü şüşə qoyuruq. Örtücü şüşənin ətraflarına Kanada balzamu (toluolda) sürtürük. Qan damlası havadan tamamilə təcrid edilməlidir. Alınan preparat 5-6 gün quruyana qədər saxlanılır. Bu müddətdə balzam quruyur, toluol isə balzamdən qan damlasına daxil olaraq eritrositləri hemoliz edir. Ayrılan oksihemoqlobin kristal əmələ gətirir. Bunu mikroskopla baxmaqla müəyyən etmək olar.

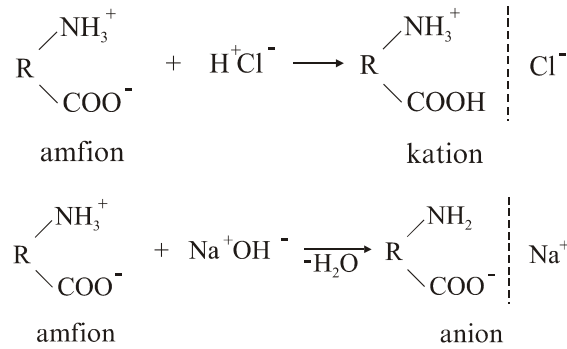
ZÜLALLARIN ÇÖKDÜRMƏ REAKSİYALARI

Məhlulda olan zülal müəyyən şəraitdə çöküntü əmələ gətirmək qabiliyyətinə malikdir. Bu hadisə tədqiq olunan materialda zülal tapılmasında və təmiz halda zülal alınmasında istifadə edilir. Zülal molekulası məhlulda elektrik yükü daşıyaraq su təbəqəsi ilə əhatə olunur. Bu vəziyyət zülalın çökməsinin qarşısını alır. Amin turşuları kimi, zülallar da amfoter elektrolitlər olub məhlullarda amfion əmələ gətirirlər.

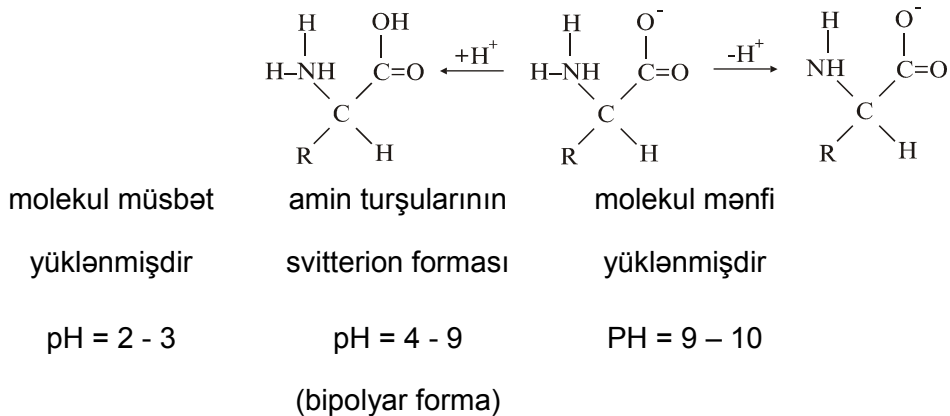


Hər bir zülal üçün ionlaşmış əsasi qrupların miqdarı ionlaşmış turşu qruplarının miqdarına bərabər olan müəyyən pH nöqtə mövcuddur. Həmin pH izoelektrik nöqtəsi və həmin nöqtədə zülalın vəziyyəti izoelektrik vəziyyət adlanır. İzoelektrik nöqtəsində zülal molekulunda ionlaşmış qrupların miqdarı minimal olur, molekul özü ilə elektrik yükü daşımır. İzoelektrik vəziyyətdə zülal molekulunun bütün uzunluğu boyu eyni miqdar turşu və əsasi qruplar yerləşir. Zülal plastik makromolekuldur və müxtəlif adlı yüklərin qarşılıqlı təsiri nəticəsində yumaq şəklinə düşür ki, bu

da zülalın çökməsinə səbəb olur. Əsas zülalların izoelektrik nöqtəsi zəif turş olduğundan tam çökmə effekti üçün məhlullar daha da turşlaşdırılır. Turşunu artıqlamasıyla əlavə etdikdə amin turşuları özlərini əsasi maddə kimi aparırlar. Bu zaman karboksil qruplarının dissosiasiyası zəifləyir. Amin qrupları isə müsbət yük kəsb edir, molekulun ayrı-ayrı hissələri arasında itələmə qüvvələri yaranır, molekul zəncirvari quruluşa qaydır, bu isə zülalın çökməsinin qarşısını alır. Qələvi mühitdə zülal molekulası mənfi yük daşıyır ki, bu da molekulun açılmasına səbəb olur. Ona görə də zülal məhluluna qələvinin əlavə edilməsi çökmənin qarşısını alır. Beləliklə, qüvvətli qələvi və ya qüvvətli turş mühitdə zülal ya qüvvətli müsbət və ya mənfi yüklənir. Bundan başqa, belə şəraitdə zülalın qismən hidrolizi baş verir:



Müsbət yükün artması (turş mühitdə) və mənfi yükün artması (qələvi mühitdə) aşağıdakı formullarla ifadə oluna bilər.



Zülal molekulundakı yüklərin neytrallaşdırılması üçün məhlula bəzi mineral duzların az miqdarını da əlavə etmək olar. Bu üsul zülal məhlulunu azacıq turşu ilə izoelektrik nöqtəsinə gətirməklə yanaşı tətbiq edildikdə daha effektiv olur.

Zülalların çökdürmə üsullarının ən çox effektiv nəticəsi onları əhatə edən su qatının dağıdılması zamanı alınır. Bunu zülal məhlulunu qaynatmaq və ya duzlaşdırma ilə əldə etmək olar. Qaynatma zamanı hidrogen əlaqələrinin dağılması və ikinci quruluşun pozulması baş verir. Adətən qaynatma yolu ilə zülalın çökdürülməsi azacıq turşlaşdırılma və azacıq duzlaşdırma ilə yanaşı aparılır. Zülalların çökdürülməsi üsullarını qayıdan və qayıtmayan çökmə olaraq iki yerə bölmək olar. İkinciləri tətbiq edərkən zülal molekulunun nativ konformasiyası pozulur. Duzlaşdırma, spirtlə və asetonla (soyuqda) çökdürmə zamanı alınan çöküntünü bioloji xüsusiyyətlərini itirmədən həll etmə yolu ilə əvvəlki vəziyyətə qaytarmaq olar. Qaynatma, mineral və üzvi turşularla həmçinin ağır metal duzları ilə çökdürmə zamanı isə zülal öz bioloji xüsusiyyətlərini itirir.

İŞ 23

ZÜLALLARIN QAYNATMA YOLU İLƏ ÇÖKDÜRÜLMƏSİ

İşin məqsədi neytral, turş, qələvi mühitlərində və az miqdar NaCl iştirakı ilə qaynatma yolu ilə zülalın çökdürülməsidir.

Reaktivlər:

1. 10%-li yumurta zülalı
2. 2%-li sirkə turşusu
3. 10%-li qələvi (NaOH)
4. Doymuş NaCl məhlulu (əlavələr, 14)

İşin gedişi

Altı mikrokimyəvi sınaq şüşəsinə 1 ml zülal məhlulu töküb, ikinci, üçüncü sınaq şüşəsinə 1 damla (çox olmaz), dördüncü, beşinci sınaq şüşələrinə 5 damla sirkə turşusu, altıncıya 1 damla qələvi əlavə edirik, üçüncü və beşinci sınaq şüşəsinə əlavə 2 damla doymuş NaCl tökdükdən sonra bütün sınaq şüşələrini qaynayana qədər qızdırırıq. Hansı şüşədə çöküntü əmələ gəldiyini və intensivliyini (+) işarəsi ilə (1 dən 3-ə qədər) qeyd edirik.

Cədvəl 4

Sıra sayı	Sınaq şüşələrinin möhtəviyyəti, damlalar			
	Zülal	CH ₃ COOH	NaOH	NaCl
1	5	–	–	–
2	5	1	–	–
3	5	1	–	2
4	5	5	–	–
5	5	5	–	2
6	5	–	–	–
Alınan nəticələrin izahı				

İŞ 24

ZÜLALIN ÇÖKMƏSİNƏ pH-ın TƏSİRİ

Reaktivlər:

1. 2%-li sirkə turşusu

2. 2,8%-li natrium asetat (CH_3COONa)
3. 10%-li yumurta zülalı
4. Etil spirti

İşin gedişi

Beş ədəd mikrosınaq şüşəsində müxtəlif pH-lı qarışıq hazırlanır. Bunun üçün sirkə turşusu və natrium asetat məhlullarından 5-ci cədvəldə göstərilmiş nisbətlərdən istifadə edilir. Təcrübədən əvvəl natrium asetat və sirkə turşusu üçün istifadə olunan pipetkaların uclarının eyni olmasını yoxlamalı. Əks halda damlalar həcmcə müxtəlif olar. Bufer məhlulları hazırlandıqdan sonra sınaq şüşələrinin hər birinə 2 damla zülal götürüb qarışdırır və 10 damla spirt əlavə edirik. Yenidən məhlulları qarışdırıb 5-10 dəqiqə ərzində maksimal bulanmanı qeyd edirik. Maksimum bulanıq, maksimal çökməyə uyğun olub zülalın izoelektrik nöqtəsinə yaxındır.

Cədvəl 5

Sıra sayı	Sınaq şüşələrinin möh- təviyyatı, damlalar		pH-ın təxmini qiyməti	Bulanma dərəcəsi	Nəti- cələr
	CH_3COOH	CH_3COONa			
1	9	1	3,1		
2	8	2	4,7		
3	5	5	4,7		
4	2	8	5,3		
5	1	9	5,6		

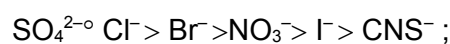
İŞ 25

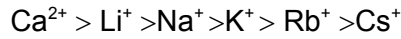
ZÜLALIN DUZLAŞDIRMA YOLU İLƏ

ÇÖKDÜRÜLMƏSİ

Duzlaşdırma, zülalın yüksək qatılıqlı neytral duz məhlulları ilə (NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ və b.) çökdürülməsidir. Duzlaşdırma reaksiyaları zülal makromolekulunun dehidratlaşması və eyni zamanda elektrik yükünün neytrallaşması ilə əlaqədardır. Müxtəlif zülalları çökdürmək üçün eyni duzların müxtəlif qatılıqları tələb olunur.

İri molekullu qlobulinlər, albuminlərə nisbətən asan çökürlər. Qlobulinlər yarım doymuş, albuminlər isə tam doymuş ammonium sulfat məhlulunda çökürlər. NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -ə nisbətən zəif çökdürmə qabiliyyətinə malikdir. Bu isə Hofmeister sırasında vəziyyətləri ilə seçiyənlənən ionların zəif dehidratlaşdırıcı qabiliyyəti ilə əlaqədardır.





Hofmeister sırası

NaCl qlobulinləri 100% doymuş məhlulda çökdürür. Albuminlərin çökməsi üçün isə əlavə olaraq məhlul turşulaşdırılmalıdır. Bu cür çökdürmə qayıdandır. Dializ və ya su ilə qatılığı azaltmaqla zülal çöküntüsünü yenidən həll etmək mümkündür və zülal öz xüsusiyyətlərini itirmir.

Üsul müxtəlif zülal fraksiyalarının ayrılması və kristallik zülalın alınması məqsədilə tətbiq edilir.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Yumurta zülalı (əlavələr, 15)
2. Narın NaCl, toz halında
3. Doymuş ammonium sulfat məhlulu
4. Kristallik toz halına salınmış ammonium sulfat
5. 1%-li sirkə turşusu
6. 10%-li NaCl
7. 1%-li CuSO_4
8. Qıf və pipetkalar
9. Filtr kağızı

İşin gedişi

a) NaCl-la çökdürmə

Sınaq şüşəsinə 20 damla zülal məhlulu və həll olması dayanana qədər tədricən narın NaCl tökülür. Bir neçə dəqiqədən sonra qlobulinlər çökür. Məhlul süzülür. Filtratda albuminlər qalır. Neytral məhlulda hətta qatı NaCl əlavə edildikdə belə filtratdakı albuminlər çökmürlər.

Filtrata damla-damla (cəmi 15-20 damla olmaqla) 1%-li sirkə turşusu əlavə etdikdə turş mühitdə albuminlər çökür. Bir neçə dəqiqədən sonra albumini süzüb filtratda zülal qalmadığını biuret reaksiyası vasitəsilə yoxlayırıq (iş 5).

b) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -lə çökdürmə

15 damla zülal məhlulu üzərinə 15 damla doymuş ammo-nium sulfat məhlulu götürüb qarışdırdıqda yarım doymuş ammonium sulfat məhlulu alınır ki, həmin məhlulda çökmüş qlobulinlər müşahidə edilir. 5 dəqiqədən sonra alınan məhlul süzülür. Filtratda albumin qalır. Filtrata məhlul doyana qədər narın $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ əlavə edirik. Bu halda albuminlər çökür. Süzüldükdən sonra məhlulda zülalın olmadığını biuret reaksiyası ilə yoxlayırıq. Alınan nəticələri (+) və (-) işarələri ilə cədvəl şəklində qeyd etmək olar.

İŞ 26

ZÜLALLARIN AĞIR METAL DUZLARI İLƏ ÇÖKDÜRÜLMƏSİ

Duzlaşdırmadan fərqli olaraq ağır metal duzlarının az miqdarı zülalı çökdürür. Zülallar ağır metal duzları ilə qarşılıqlı təsir zamanı onları adsorbsiya edir və duza bənzər komplekslərin əmələ gəlməsinə səbəb olur. Ağır metal duzları (Pb, Cu, Ag, Hg və b.) zülalı qayıtmayan denaturasiyaya uğradır. Reaksiya nəticəsində əmələ gələn çöküntülər (civə və gümüş komplekslərindən savayı) duzun artıq miqdarında həll olurlar, lakin zülal öz xassələrini bərpa etmir çünki bu zaman zülalın fəza quruluşunun kəskin pozulması (hidrogen və disulfid rabitələrin parçalanması, polipeptid zəncirlərinin fəzada yerləşməsinin dəyişməsi) baş verir. Məhz bu səbəbdən zülalın ağır metal duzlarının təsiri ilə denaturasiyası geri-dönməyəndir. Zülalın ağır metal ionlarını həll olmayan çöküntü halında birləşdirmə qabiliyyəti civə, mis, qurğuşun və b. duzlarla zəhərlənmə zamanı istifadə olunur. Zəhərlənmə baş verdikdə xəstəyə dərhal süd və ya yumurta ağı verilir. Metallar mədəyə çatmamışsa və ya hələ sorulmamışsa müalicə yaxşı nəticə verir. Zülalla birləşmiş zəhərlər xəstəni qusdurma yolu ilə orqanizmdən uzaqlaşdırılır.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Şüşə çubuqlar
2. Pipetkalar
3. Yumurta zülalı məhlulu
4. 10%-li CuSO_4
5. 5-10%-li qurğuşun asetat $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$

İşin gedişi

a) CuSO_4 -lə çökdürmə

1 ml zülal məhlulu üzərinə 5 damla ehtiyatla 10%-li mis sulfat əlavə etdikdə suda həll olmayan solğun göy rəngli çöküntü alınır. Eyni miqdar zülal məhlulu üzərinə əvvəl 1, sonra 10 damla mis sulfat tökdükdə duzun artıq miqdarı çöküntünün həll olmasına səbəb olur.

b) qurğuşun asetatla çökdürmə

1 ml zülal məhluluna 5 damla 5%-li $\text{Pb}(\text{COOCH}_3)_2$ əlavə etdikdə suda həll olmayan, duzun artıq miqdarında həll olan çöküntü alınır. Alınan nəticələri cədvəl şəklində tərtib etmək olar.

İŞ 27

ZÜLALLARIN QATI MINERAL TURŞULARLA ÇÖKDÜRÜLMƏSİ

Qatı mineral turşular zülalı denaturasiyaya uğradırlar. Zülalın çökməsi onun hissəciklərinin dehidratasiyası və turşularla kompleks duzlar əmələ gətirməsi ilə əlaqədardır. Ortofosfat miqdarda turşusu çöküntü vermir. Nitrat turşusundan başqa digər mineral turşular artıq olduqda

çöküntü həll olur. Bununla əlaqədar olaraq sidiyin kliniki tədqiqində nitrat turşusu ilə çökdürmə geniş tətbiq edilir (Geller nümunəsi). Bu reaksiyaya əsasən sidiyin zülalları Robert-Stolnikov-İrandberq üsulu ilə miqdarca təyin edilir.

Reaktivlər:

1. Qatı HCl
2. Qatı HNO₃
3. Qatı H₂SO₄
4. Zülal məhlulu

İşin gedişi

a) Nitrat turşusu ilə çökdürmə

(Geller nümunəsi)

5 damla qatı HNO₃ üzərinə 45>-lik bucaq altında eyni miqdar zülal məhlulu ehtiyatla ele tökülür ki, iki maye qarışmasın. Məhlulların sərhədində ağ halqa əmələ gəlir. Sonra sınaq şüşə-sini qarışdırıb oraya əlavə turşu tökdükdə çöküntünün həll olmadığını müşahidə edirik.

b) sulfat turşusu ilə çökdürmə

Eyni qayda ilə bu dəfə sulfat turşusu ilə çöküntü alınır. Lakin bu dəfə turşunun artıq miqdarında zülal çöküntüsü həll olur. Çökdürməni qatı xlorid turşusu ilə (HCl) yoxlamalı.

İŞ 28

ZÜLALLARIN ÜZVI TURŞULARLA

ÇÖKDÜRÜLMƏSİ

Üzvi turşular zülalları qayıtmayan çökməyə uğradırlar. Üçxlorsirkə turşusu - CCl₃COOH və sulfosalisil turşusu C₆H₃(OH)(COOH)SO₃H təcrübədə geniş tətbiq olunur. Sulfosalisil turşusu təbabətdə sidikdə cüzi miqdar zülalı aşkar etmək üçün tətbiq olunur (reaksiyanın həssaslığı 1:50000-dir). Bu turşu zülallarla yanaşı onların parçalanma məhsullarını da (yüksək molekullu pepton və polipeptidləri) çökdürür. Üçxlorsirkə turşusu isə yalnız zülalları çökdürür. Bununla əlaqədar olaraq qanda olan yüksək molekullu polipeptidləri ayırmaq üçün qan zülalını üçxlorsirkə turşusu ilə çökdürürlər. Qanın qeyri-zülal azotunu təyin etmək üçün bu turşu tətbiq olunduqda, zülal azotu və digər azotlu maddələrin (peptidlər, sidik cövhəri, amin turşuları və s.) azotunu ayrıca təyin etmək mümkün olar.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Yumurta zülalı
2. 20%-li sulfosalisil turşusu
3. 1%-li üçxlorsirkə turşusu
4. Sınaq şüşələri ştativlə birlikdə
5. Pipetkalar

İşin gedişi

1. Sulfosalisil turşusu ilə çökdürmə

Sınaq şüşəsində 1 ml zülal məhlulu üzərinə 5-10 damla 20%-li sulfosalisil turşusu əlavə etdikdə zülalın çöküntüsü alınır.

2. Üçxlorsirkə turşusu ilə çökdürmə

Sınaq şüşəsində 1 damla zülal məhlulu üzərinə 5-10 damla 10%-li üçxlorsirkə turşusu əlavə etdikdə zülalın çöküntüsü alınır.

İŞ 29

ZÜLALLARIN ÜZVI HƏLLEDICILƏRLƏ

ÇÖKDÜRÜLMƏSİ

Spirt, aseton, xloroform və digər üzvi həlledicilərlə zülal həll olmayıb çökür. Zülalın təbiətindən asılı olaraq onun çökdürülməsi üçün müxtəlif qatılıqda spirt tələb olunur. Spirt suyu özünə birləşdirərək zülal misellərinin dehidratlaşmasına və məhlulda davamsız olmasına səbəb olur.

Zülal məhlulu spirtlə çökdürülərkən zəif turş və ya neytral olmalıdır. Reaksiya NaCl elektroliti olduqda daha yaxşı gedir. NaCl zülal hissəciyinin yükünü ləğv edir. Spirtin aşağı temperaturda zülalə təsiri qayıdandır. Çöküntünü tez spirdən azad etsək zülal öz nativ vəziyyətini saxlayır və yenidən suda həll edilə bilər. Spirtin uzun müddətli təsiri nəticəsində zülal denaturasiyaya uğrayır.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Yumurta zülalı məhlulu
2. Etil spirti və ya aseton
3. Doymuş NaCl məhlulu (əlavələr, 14)
4. Sınaq şüşələri ştativlə birlikdə
5. Pipetkalar

İşin gedişi

5 damla zülal məhlulu üzərinə 15-20 damla etil spirti və ya aseton əlavə etdikdə məhlul bulanır. Sınaq şüşəsinə 1 damla qatı NaCl tökdükdə bir az sonra zülal çökür. Sınaq şüşəsinə 10 ml zülal məhlulu 5-6 ml etil spirti və ya aseton götürüb şiddətlə çalxalasaq "mağma" adlanan susuzlaşmış zülal kütləsi alırıq. İş xloroform məhlulu ilə də aparmaq olar.

İŞ 30

ZÜLALLARIN ALKOLOID REAKTİVLƏRİ İLƏ ÇÖKDÜRÜLMƏSİ

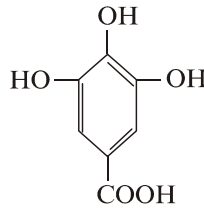
Alkoloidlər zülalları qayıtmayan çökdürməyə uğradır. Alkoloid reaktivləri sırasında tannin, pikrin turşusu, sarı qan duzu, KJ-da civə yodid məhlulu, volfram, fosfor, molibden-fosfor turşuları və s. aiddir. Zülalların alkoloid reaktivləri ilə çökməsi, alkoloidlərdə analogi heterotsikllər azot qruplarının, pirrol, indol, amidazol və s. olması ilə əlaqədardır. Alkoloid reaktivləri ilə zülalın çökmə mexanizmi zülalın əsasi azotlu qrupları ilə həll olmayan duza bənzər birləşmələrin əmələ gəlməsidir. Bu birləşmələrdə zülal kation, alkoloid reaktivləri isə anion vəzifəsini yerinə yetirir. Bu məqsədlə sirkə turşusu ilə zülal məhlulu azacıq turşulaşdırılır. Bu zaman zülal miselisi üzərində müsbət yük əmələ gəlir ki, çökdürücünün mənfi yüklənmiş hissəcikləri ilə asanlıqla reaksiyaya girir. Müsbət yük daşıyan protamin və histon zülalları alkoloid reaktivləri hətta məhlul turşulaşdırmadan da, ilə asan çökürlər.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Yumurta zülalı məhlulu
2. Doymuş tannin məhlulu
3. 1%-li sirkə turşusu
4. Sınaq şüşələri, ştativlə birlikdə
5. Pipetkalar

İşin gedişi

Tannin – mürəkkəb efir olub hidroliz zamanı qlükoza və hal turşuları əmələ gətirir.



hal turşusu

5 damla zülal məhlulu üzərinə 1-2 damla doymuş tannin və 1-2 damla 1%-li sirkə turşusu əlavə olunur. Sarımtıl boz rəngli zülal çöküntüsü alınır. Analogi reaksiyanı pikrin turşusu ilə aparmaq olar.

İŞ 31

ZÜLALLARIN FENOLLA ÇÖKDÜRÜLMƏSİ

Spesifik polisaxaridlər və nuklein turşularını zülaldan ayırmaq üçün bu reaksiya tətbiq olunur (deproteinizasiya). Spesifik polisaxaridlər sırasına insan qanının bu və ya digər qrupa məxsus olmasını müəyyən edən (ABO sisteminin izoantigenləri) maddələr daxildir.

Reaktivlər:

1. Doymuş fenol məhlulu
2. 10%-li yumurta zülalı məhlulu

İşin gedişi

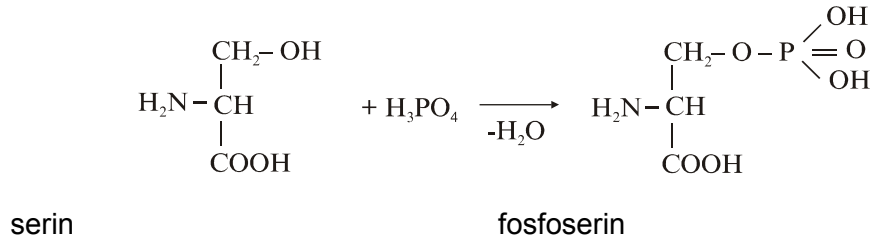
Üç damla zülal məhlulu üzərinə artıqlaması ilə, 10-15 damla fenol əlavə edib sınaq şüşəsini şiddətlə çalxaladıqda məhlul bulanır. Bir qədər sonra bulanıq artır. Bulanığın əmələ gəlməsi zülal çöküntüsünün əmələ gəlməsi ilə əlaqədardır.

MÜRƏKKƏB ZÜLALLAR (proteidlər)

Fosfoproteidlər

Fosfoproteidlər – mürəkkəb zülallar olub, qeyri-zülali prostetik qrupu fosfat turşusu qalığından ibarətdir (0,5-0,9%).

Fosfoproteidlərə südün kazeinogeni, yumurta sarısının vitellini, vitini, balıq kürüsünün ixtulini və s. aiddir. Pepsin, fosfoqlükomutaza, fosforilaza kimi fermentlər də fosfoproteidirlər. Kimyəvi nöqteyi nəzərdən bütün fosfoproteidlər zülal molekulunda fosfat turşusunun əmələ gətirdiyi efir əlaqələri ilə səciyyələnirlər. Fosfat turşusu adətən serin və treoninin oksid qrupu ilə efir əlaqəsi yaradır. Ən çox fosfat turşusu zəncirdə qlutamin turşusu ilə yanaşı duran serinin hidroksil qrupu ilə birləşir.



Fosfoproteidlər inkişaf edən orqanizm üçün mühüm maddələr sırasına daxildir. Məsələn, südün kazeinogeni körpəyə lazım olan bütün əvəz edilməz amin turşularına və fosfor turşusuna malikdir (0,9%). Kazeinogen südün tərkibində həmçinin kalsium duzuna malikdir. Beləliklə körpə orqanizm skeletin inkişafı üçün lazım olan Ca və P elementlərini alır. Hər iki element fizioloji optimal nisbətdə süddə olduğundan orqanizm tərəfindən asan mənimsənilir.

İŞ 32

SÜDDƏN KAZEINOGENİN AYRILMASI

Kazeinogen süddə həll olan kalsium duzu şəklindədir. O süddə turş xassəli olub, suda həll olan anionlar şəklində olur. Kazeinogenin izoelektrik nöqtəsi pH 4,7-dir. Turşulaşdırdıqda süd çürüyərək kazeinogen halında çöküntü verir. Turşunun artıq dərəcədə əlavə edilməsi zülalın yenidən yüklənməsinə, çöküntünün həll olmasına səbəb olar. Süd turşusu həmçinin südü çürüdür və reaksiyanın turş xassəli olmasına səbəb olur. Pepsinin təsirilə süd çürüyərək kazeinogenin kazeinə çevrilməsi ilə nəticələnir. Kazeinin kalsium duzu, əksinə, suda həll olmur. Qatıq və digər süd məhsullarında çürümüş halda kazeinogen vardır.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Süd
2. Qatı sirkə turşusu
3. 1%-li mis sulfat
4. 10%-li NaOH
5. Millon reaktivi (əlavələr, 11)
6. Fol reaktivi (əlavələr, 5)
7. Qıflar
8. Filtrlər
9. Sınaq şüşələri
10. Şüşə çubuq
11. 2 ml-lik pipetka

İşin gedişi

2 ml süd üzərinə eyni miqdar distillə suyu əlavə edib qatı sirkə turşusu vasitəsilə kazeinogen çökdürülür. Çöküntü süzülür və filtrdə 2 dəfə distillə edilmiş su ilə yuyulur. Filtrdən çöküntünün bir hissəsini şüşə çubuqla götürüb onunla zülallara aid rəngli reaksiyaları (biuret, fol, millon) aparırıq.

İŞ 33**KAZEINOGENİN HIDROLİZ MƏHSULLARININ****MÜŞAHİDƏ EDİLMƏSİ**

Kazeinogen qələvi ilə hidroliz edildikdə fosfat və zülal ayrılır. Fosfat spesifik reaksiya vasitəsilə molibden reaktivi ilə müşahidə edilə bilər.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Süddən kazeinogen
2. 10%-li NaOH
3. 10%-li H₂SO₄
4. Molibden reaktivi (əlavələr, 16)
- 5) Fenolftalein (0,5%-li spirt məhlulu)
- 6) 1%-li CuSO₄

İşin gedişi

Kazeinin hidrolizi aşağıdaki kimi aparılır sınaq şüşəsinə kazeinogen və ya hazır reaktiv şəklində narın əzilmiş 30 mq kazein götürüb üzərinə 2 ml 10%-li NaOH tökürük. Asbest setka üzərində hava soyuducusu vasitəsilə 10-15 dəqiqə qaynadıb, soyuduqdan sonra hidroliz məhsullarına aid reaksiyaları aparırıq.

a) Zülalın müşahidə edilməsi

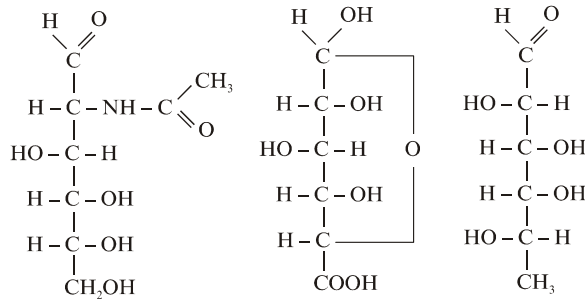
Zülal biuret reaksiyası ilə aşkar edilir. Sınaq şüşəsinə üç damla hidrolizat, bir damla 1% CuSO₄ götürüb qarışdırdıqda çəhrayı-bənövşəyi rəng alınır.

b) Fosfatın müşahidə edilməsi

Yerdə qalan hidrolizat 10 %-li HNO₃ vasitəsilə bir-iki damla fenolftaleinin iştirakı ilə rəng itənə qədər turşulaşdırılır və quru sınaq şüşəsinə süzülür. Beş damla filtratdan götürüb üzərinə 20 damla molibden reaktivi əlavə etdikdən sonra bir neçə dəqiqə qaynadılır. Məhlul sarı rəngə boyanır. Soyuduqda hidrolizatda fosfatın olmasını göstərən sarı rəngli fosfor-ammoniumun molibdenat çöküntüsü aydın müşahidə edilir.

Qlikoproteidlər

Qlikoproteidlər – mürəkkəb zülallar olub, prostetik qrupunun tərkibinə şəkərlər və onların törəmələri daxildir. Bəzi qlikoproteidlərin prostetik qrupu neytral və ya turş mukopolisaxaridlərdən ibarətdir. Mukopolisaxaridlər hidroliz zamanı qlükozamin, asetilqlükozamin, qalaktozamin verir. Turş mukopolisaxaridlərə həmçinin qlukuron turşusu və sulfat turşusu daxildir. Neytral mukopolisaxaridlərin tərkibinə qalaktoza, mannoza, L-fukoza və sial turşuları daxildir.



N - asetilqlükozamin

D - qlükuron

L - fukoza

Turş mukopolisaxaridlərə gialuron turşusu, xondriotinsulfat turşusu və heparin də aiddir. Qeyd etmək lazımdır ki, qlikoproteidlər orqanizmdə dayaq və qoruyucu funksiya daşımaqla demək olar ki, bütün toxumalarda və mayələrdə mövcuddur; onlar musinlər və ya mukoidlər adlanırlar.

İş 34
YUMURTA ZÜLALINDA ŞƏKƏR

KOMPONENTİNİN AŞKAR EDİLMƏSİ

Quru sınaq şüşəsinə beş damla 10%-li yumurta zülalı götürüb orada Moliş reaksiyasını aparmalı (karbohidratlar böl-məsinə bax). Sınaq şüşəsinin dibində qırmızı rəng əmələ gəlir (reaktivlər: 44 sayılı işə bax).

İş 35

TÜPÜRCƏKDƏN MUSİNİN AYRILMASI

VƏ ŞƏKƏR KOMPONENTİNİN AŞKAR EDİLMƏSİ

Musinin tərkibində şəkər komponentini Moliş reaksiyası ilə müşahidə etmək olar.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Tüpürcək
2. Qatı H₂SO₄
3. 1%-li timol (spirtdə)
4. Qatı sirkə turşusu,
5. 1%-li α-naftol (spirtdə)

İşin gedişi

Sınaq şüşəsinə 2 ml tüpürcək yığıb üzərinə 4-5 damla qatı sirkə turşusu əlavə edilir. Turşunun artıq miqdarında çətin həll olan musin çökür. Sınaq şüşəsindəki məhlul ehtiyatla boşaldılır. Yerdə qalan musin kütləsi ilə Moliş reaksiyası aparılır.

I BÖLMƏYƏ AİD SUALLAR

1. Zülal nədir?
2. Rəngli reaksiyaları sadalayın. Zülalın rəngli reaksiyaları hansı kimyəvi qrupların olması ilə əlaqədardır?
3. Amin turşuları zülal molekulunda necə birləşmişlər? Hansı reaksiya ilə əsas əlaqə növünü aşkar etmək olur?
4. Tərkibində benzol halqası olan amin turşularını yazın. Hansı reaksiya vasitəsilə onları aşkar etmək olar?
5. Tərkibində kükürd olan amin turşularını yazın. Hansı reaksiya vasitəsilə onları aşkar etmək olar?
6. Ninhidrin reaksiyasını seçiyələndirin.
7. Zülalın rəngli reaksiyalarının əhəmiyyətini qeyd edin.
8. Zülalın çökməsi nə ilə əlaqədardır?

9. Hansı temperaturlarda zülalları çökdürmək olar?
10. Zülalın izoelektrik nöqtəsi nəyə deyilir?
11. Turş və qələvi xassəli zülallara misal göstərin.
12. Qayıdan və qayıtmayan çökməyə misallar göstərin.
13. Zülalın denaturasiyası nə deməkdir?
14. Zülalların duzlaşdırılması nə deməkdir?
15. Çökdürmə reaksiyalarının təbabət elmi üçün əhəmiyyətinə misal göstərin.
16. Zülalları necə təsnifləşdirirlər?
17. Zülalların denaturasiyası daha hansı reaktivlərlə aparıla bilər? Onlardan təbabət üçün əhəmiyyətli olanlarını təsvir edin.
18. Su məhlulunda zülalın yükü nədən ibarətdir?
19. Alkoid reaktivləri ilə zülalın çökdürülməsini səciyyələndirin.
20. Zülalın hidrolizi nədir və onu necə aparmaq olar?
21. Hidrolizin sonunu necə müəyyən etmək olar?
22. Formol titrləmə yolu ilə karboksil qruplarının təyin olunmasının əhəmiyyəti nədən ibarətdir?
23. Amin turşularının xromatoqrafik üsulla ayrılmasını necə aparmaq olar?
24. Xromatoqrafiya üsulunun mahiyyətini qeyd edin?
25. Xromatoqrafiyanın hansı növləri mövcuddur?
26. Mürəkkəb zülalların təsnifatını yazın.
27. Mürəkkəb zülallar sadə zülallardan nə ilə fərqlənir?
28. Fosfoproteidlərə misal göstərin. Hansı reaksiya ilə onları aşkar etmək olar?
29. Qlikoproteidlərə misal göstərin. Hansı reaksiyalarla onları aşkar etmək olar?

II BÖLMƏ

NUKLEİN TURŞULARI

Nuklein turşuları da, zülallar kimi yüksəkmolekullu birləşmələrdirlər. Onların molekulyar çəkilişi millionlarla daltonadək çata bilər.

Nuklein turşularına DNT və RNT-lər aiddirlər ki, onların quruluşunu, xassələrini və funksiyalarını, əsasən, molekulyar biologiya öyrənir. Nuklein turşuları (NT) həyat fəaliyyəti üçün həddindən artıq böyük əhəmiyyət kəsb edən funksiyaları yerinə yetirirlər. Onlar irsiyyətin maddi əsasını təşkil edərək genetik məlumatın daşıyıcılarıdır, makromolekulların biosintezini həyata keçirirlər, morfogenezin müxtəlif proseslərini təmin edirlər.

Nuklein turşularının təcrübi yolla öyrənilməsi, onların quruluşu, xüsusiyyətləri və hüceyrədə lokallaşması sayəsində meydana çıxan bir sıra çətinliklərlə əlaqədardır. Nuklein turşularının bioloji obyektlərdən ayrılmasının çətinliklərindən biri onunla əlaqədardır ki, onlar hüceyrənin digər komponentləri ilə möhkəm birləşmiş olurlar; ikinci çətinlik hüceyrələrdə fəal nukleazaların mövcud olması və nəticə etibarilə toxumaların homogenizasiyası zamanı NT-lərin bu fermentlərin təsiri altında parçalanması ilə əlaqədardır. Bunları nəzərə alaraq, NT-lərin ayrılması zamanı ilk öncə nukleazaların inaktivləşməsinə və preparatın maksimal dərəcədə müxtəlif qarışıqlardan təmizlənməsinə nail olmaq məqsədəuyğundur.

İŞ 36

RNT VƏ DNT-nin KIRBI-GEORGIYEV

ÜSULU İLƏ ALINMASI

Həmin üsuldən istifadə etməklə bir obyektədən, zülaldan azad olunmuş DNT və RNT preparatlarını almaq mümkündür. Üsul, homogenatın 0,14 M natrium-xlor (NaCl) məhlulu ilə suspenziyalaşdırılmasına əsaslanır.

Su ilə doydurulmuş fenolun əlavə edilməsi zülaldan azad olmağa imkan verir. Həmin proses RNP (ribonukleoproteid) üçün pH=6,0; DNP (dezoksiribonukleoproteid) üçün isə pH=8,3-də baş verir. Eyni vaxtda RNT və DNT ardıcıl və ayrı-ayrılıqda su məhluluna keçirlər ki, sonradan onları ayırmaq mümkün olur. Fenol burada həmçinin nukleazaların inhibitoru rolunu oynayır.

NT ilə iş zamanı ümumi olan bir qayda üzərində xüsusən dayanmaq lazımdır.

NT-lərə aid ayırma, çökdürmə işləri soyuqda (0-3°C) aparılmalıdır. İstifadə olunan bütün qablar əvvəlcədən soyudulmalı və iş prosesində buzda saxlanmalıdır. İstifadə olunan bütün reaktivlər də həmçinin müvafiq temperatura qədər soyudulmalıdır.

Preparatların ayrılması üçün istifadə olunan toxumalar dərhal işlənməyəcəksə onları heyvandan ayırdıqca 2-3 gün ərzində (artıq yox) donmuş vəziyyətdə saxlayırlar.

Ləvazimat:

1. Soyuducusu olan sentrifüqa (5000 g və yuxarı);

Reaktivlər:

1. Su ilə doydurulmuş təzə qovulmuş fenol (əlavələr,

		29)
2. Homogenizator;	2.	0,14 M; 4 M; 1 M NaCl (əlavələr, 30)
3. Çalxalayıcı;	3.	Tərkibində 1 l-də 0,05 M kalium sitrat olan 0,14 M NaCl (əlavələr, 31)
4. Vakuum-eksikator		
5. 50 ml-lik şpris		
6. Çini həvəng-dəstə	4.	Dietil efiri
7. Ölçü silindri	5.	96 %-li etil spirti
8. 100 ml-lik bölücü qıf	6.	Mütləq etanol
9. 100-150 ml-lik Erlenmeyer kolbaları	7.	Buzlu sirkə turşusu
10. Çəkilmək üçün şüşə byukslar	8.	pH-ı 8,3 olan 1 l-də 0,3 M p-aminosalisil turşusu olan su ilə doymuş fenol (əlavələr, 32)
11. Kimyəvi sınaq şüşələri		
12. Tənzif	9.	Quru buz
	10.	Toluol

İş 4 mərhələdə aparılır:

- a) toxumanın ayrılması və homogenatın hazırlanması;
- b) deproteinləşmə (zülal hissədən ayırma);
- c) su məhlulundan RNT-nin ayrılması;
- ç) DNT-nin ayrılması.

İşin gedişi

a) Təcrübə üçün təzə kəsilmiş heyvan toxumasından (qara ciyər, dalaq, beyin) istifadə olunur. Toxuma və ya orqanın ayrılması əməliyyatını mümkün qədər tez aparıb onu quru buza yerləşdirmək lazımdır.

Yaxşı soyudulduqdan sonra texniki tərəzidə 15-20 q toxuma çəkilib, onu doğrayıb çini, dibi buzla döşənmiş həvəngə yerləşdirir, tərkibinə kalium sitrat olan (dezoksiribonukleazanın inhibitoru rolunda) 0,14 M soyudulmuş NaCl məhlulu toxumanı örtənə qədər tökülür. Toxuma həvəngdə 10-15 dəqiqə ərzində homogen hala salınır. Homogenləşdirməni Potter-Elveqeym və ya Uoring homogenizatorunda da aparmaq olar. Suspenziya alınan müddətdə tədricən məhlula kalium sitratlı NaCl -u ümumi həcmi 100 ml-ə çatdırmaqla əlavə edirik. Tərkibində DNT və RNT olan homogenat ikiqat tənzifdən süzülür.

b) Alınmış filtrat DNT və RNT-ni ardıcıl ayırmaq üçün işlədilir. Bu məqsədlə filtrata alınmış həcm qədər pH-ı 6,0 olan su ilə doydurulmuş fenol əlavə edilir. Kolbadakı qarışığı 30-40 dəqiqə

müddətinə çalxalamaq üçün cihaza yerləşdiririk (yadda saxlamaq lazımdır ki, bütün əməliyyatlar soyuqda aparılır). Bu müddət ərzində ribonukleoproteidin (RNP) dağılması baş verir, RNT su məhluluna, ayrılmış proteid hissə isə fenola keçir. İndi qarışığı sentrifuqanın soyudulmuş şüşə sınaq qablarına yerləşdirib 40-50 dəqiqə sentrifuqalaşdırırıq (3000 g; $t^{\circ}=0-3,0^{\circ}\text{C}$). Əməliyyat başa çatdıqda sınaq şüşələrindəki qarışıq 4 qata ayrılır. Birinci (yuxarıdan) su qatında RNT və polisaxaridlər yer tutur. Onu ehtiyatla şpris vasitəsilə sorub soyuğa yerləşdirirlər. İkinci qat özlüdür, ağ rəngdədir, pH=6,0-da fenol təsirindən parçalanmayan dezoksiribonukleoproteid (DNP) və fenolda həll olmayan zülaldan ibarətdir. Bu qat həmçinin ehtiyatla sorulur, onu ikiqat həcmli pH-ı 6,0 olan fenolla qarışdırır və oraya eyni miqdar 0,14 M NaCl əlavə edilir. Alınan qarışığı 30-40 dəqiqə çalxalayıb 35 dəqiqə müddətində sentrifuqalaşdırırıq (3000g, $t^{\circ}=0-3,0^{\circ}\text{C}$). Götürdüyümüz ikinci qat özü 4 hissəyə ayrılır. Yuxarıdakı su qatını sorub birinci su qatı ilə birinci sentrifuqalaşdırılmadan sonrakı qarışdırırıq. İkinci həll olmuş DNT-proteid qatını yenə sorub aşağıda qeyd olunan yolla RNT qalıqlarından təmizləyirik. Həmin qatı pH-ı 6,0 olan fenolla (ikiqat həcm ilə) və eyni miqdar 0,14 M NaCl -la 30-40 dəqiqə çalxalayıb yenə 5000 g və $0-3^{\circ}\text{C}$ -də sentrifuqalaşdırırıq. Bu dəfə tərkibinə DNT-proteid daxil olan ikinci qatı götürüb qalanını atırıq.

Birinci sentrifuqalaşdırmadan sonrakı 4 qatın üçüncüsünün (fenol qatı) tərkibinə fenolda həll olan zülallar daxildir. Onu da atırıq.

İlk sentrifuqalaşdırmanın dördüncü qatı ən ağır fraksiyadır, az miqdar DNT və denaturasiya olunmuş zülallardan, toxuma qalıqlarından təşkil olunmuşdur. Bu çöküntünü ikinci qatda olduğu kimi işləyib həll olmuş RNT-li su qatını ilkin su qatı məhlulu ilə birləşdiririk. Qalan hissə atılır.

Beləliklə, biz RNT və DNT-ni ayıraraq iki məhlul (xam konsentrat) aldıq. Həmin məhlullarla işləyib NT-ləri ayırma əməliyyatını davam etdiririk.

c) Birləşdirilmiş, sentrifuqalaşdırılmış su məhlulundan RNT-ni ayırmaq üçün onun həcmi ölçüb oraya pH-ı 6,0 olan su ilə doydurulmuş fenoldan, ölçülmüş həcmi yarısı qədər əlavə edirik. Bu, məhluldan zülalları tamamilə ayırmaq üçün edilir. Sonradan artıq tanış olduğumuz sxem üzrə işləyirik: qarışıq 30 dəqiqə çalxalanır, sonra 40 dəqiqə sentrifuqalaşdırılır (3000 g). Yuxarıdakı RNT-si olan su qatını sorub qalanını atırıq. Alınan həcmi ölçüb RNT-ni ölçülmüş həcmi 1,5 miqdarı qədər etanol vasitəsilə çökdürürük. (Məhlulda etanolun sonuncu qatılığı 55-60% olur). Məhlul 60 dəqiqədən çox olmayaraq soyuqda saxlanılır (çox saxladıqda RNT çökə bilər) və sonra 20 dəqiqə 3000 g -də sentrifuqalaşdırılır. Su-spirt qatını atıb çöküntünü az miqdar su ilə həll edirik. Həll olmayan hissəni sentrifuqa və ya süzmə yolu ilə ayırmaq lazımdır. Su hissədən isə, 4 M NaCl ilə bilavasitə yüksəkpolimerli RNT-ni təmiz halda çökdürürük. Bunun üçün su məhluluna ikiqat həcmdə 4 M NaCl töküüb ən azı 2,5-3 saat soyuducuda saxlayırıq. Bu mərhələdə işi saxlayıb məhlulu soyuducuda səhərə qədər saxlamaq olar. Yüksəkpolimer RNT çöküntüsünü aşağıpolimer çöküntüsündən ayıraraq (10 dəqiqə 3000 g) onu suda həll edir və bu vəziyyətdə sonrakı analizlər üçün işlədilir. RNT-ni kristallik halda almaq zərurəti meydana çıxdıqda onu məhluldan ikiqat həcmdə etanol vasitəsilə çökdürür, tam çökməsi üçün 1 saat soyuducuda saxlayır, sonra sentrifuqadan keçirib spirdən azad edir, çöküntünü durulaşdırılmış (85%) spirtlə, ardınca susuz spirt və efirle yuyur (hər yuduqdan sonra 10 dəqiqə 3000 g-də sentrifuqalaşdırmaqla) və sonra çöküntü eksikatora kalsium xlorid üzərində qurudulur. Çöküntü soyuducuda saxlanılır. RNT-nin su məhlulunu da bir neçə gün soyuducuda bir neçə damla toluol tökməklə saxlamaq olar.

ç) DNT preparatını almaq üçün aralıq mərhələdə alınmış su qatından istifadə olunur. Burada DNT proteinləşmiş vəziyyətdə toplanmışdır. Zülal hissədən artıq bizə məlum olan üsulla - tərkibinə paraaminosalisil turşusu daxil olan və pH-ı 8,3 olan su ilə doymuş fenolla çalxalamaqla azad olmaq mümkündür. Fenolu 80-100 ml miqdarında əlavə edib qarışığı eyni

miqdar su ilə durulaşdırır və 30-50 dəqiqə müddətində ehtiyatla çalxalayır. Zülal hissə ayrılır, DNT isə suya keçir. Burada işi dayandıraraq preparatı soyuducuda səhərə qədər saxlamaq olar.

DNT-ni ayırmaq üçün qarışıq sentrifugalıdır (6000 g-də 60 dəqiqəyə qədər). Nəticədə üç qat alınır. DNT yığılmış yuxarı su qatını ehtiyatla sorub soyuq yerə yerləşdiririk. Qalan iki qat 30 dəqiqə 80-100 ml 0,14 M NaCl məhlulu vasitəsilə ekstraksiya edib məhlulu həmin şəraitdə sentrifüqadan keçiririk. Yenə su hissə ayrılır ki, onu birinci ilə birləşdiririk. pH-ı 8,3 olan fenolla təkrar işləməklə tam deproteinləşmə əldə edilir. Fenolu daha sonra 100 ml efir üzərinə 5-10 damla buzlu sirkə turşusu tökməklə alınan turşulaşdırılmış məhlulun ikiqat həcmi vasitəsilə ayırırlar. Efir qatını bölücü qıf vasitəsilə ayıraraq atırlar (qarışıq qatlara pis ayrılırsa yenidən onu sentrifüqadan keçirmək olar). Efirlə iş 2-3 dəfə təkrar olunur.

Su məhlulundan DNT-ni spirtlə saplar halında ayırırlar. Spirti opalessensiya - (məhlulda sayrışma) itənə qədər davam edirlər. Qarışıq bir saatdan çox olmamaqla soyuducuda saxlayıb sentrifüqadan keçirir, çöküntünü ardıcıl olaraq 85%-li etanol, susuz etanol, dietil efiri ilə işləyib onu eksikatora kalsium xlorid üzərində qurudub soyuducuya yerləşdirirlər. Çox təmiz preparat almaq zərurəti olduqda onu 0,14 M natrium xlor məhlulunda təkrar çökdürmə yolu ilə ayırmaq lazımdır. Bu iş böyük həcminə görə və tələbədən kifayət qədər yüksək ixtisas qabiliyyəti tələb etdiyindən böyük ixtisas təcrübəsi dərslərində və ya sərbəst iş şəklində yerinə yetirilə bilər.

İŞ 37

NT-lərin MARMURA ÜSULU İLƏ AYRILMASI

VƏ TƏMİZLƏNMƏSİ

(DNT və RNT-ni bir-birindən ayırma)

Əvvəlki işdə olduğu kimi burada da NT ilə zəngin olan heyvan toxumaları (qaraciyər, dalaq, beyin) istifadə olunur. İşlədilmiş qab və reaktivlər maksimum soyudulmalıdır.

Reaktivlər:

- 1 Duz məhlulu 0,15 M
. NaCl, 0,015 M natrium-sitrat, 0,01 M EDTA (natrium-etilendiamino-tetraasetat) (əlavələr, 33)
- 2 Xloroform:izoamil spirti
. 24:1 (əlavələr, 34)
- 3 Etil spirti:efir 1:1
. (əlavələr, 35)
- 4 Etil spirti 96 % və 70%
. (əlavələr, 36)
- 5 Efir

Ləvazimat:

1. Çini həvəng və ya şüşə stəkanlı homogenizator
37° C-də termostat
2. Sentrifüqa (sınaq şüşəli)
- 3.
4. Sentrifüqatı sormaq üçün incə rezin borulu şlanq
5. Şüşə stəkanlar, şüşə tıxacla bağlanan kolbalar, şüşə çubuqlar, pipetkalar
6. 57 %, 2%-li xlor turşusu HClO₄ (əlavələr, 37)
7. 0,5 N NaOH (əlavələr, 38)

8. 1,0 və 5 N KOH (əlavələr, 39)
9. 20 % natrium dodesilsulfat (əlavələr, 40)
10. 5 M natrium xlorid (əlavələr, 41)

İşin gedişi

Soyuq şəraitdə doğranmış toxumanı çini həvəngə və ya homogenizatorun şüşə stəkanına yerləşdirib oraya tökülən 30-50 ml duz məhlulunda eyni cinsli özlü kütlə alınana qədər əzirik (homogen vəziyyətə salırıq). Homogenləşdirmə prosesində soyudulmuş duz məhlulunu stəkana əvvəlki həcmi nəzərə almaqla cəmi 100 ml-ə çatana qədər əlavə edirik. Alınmış özlü homogenat üzərinə 10-12 ml 20 %-li natrium dodesilsulfat əlavə edilir. Natrium dodesilsulfatın homogenatda son qatılığı 2% olmalıdır. Həvəng və ya homogenatı stəkanla birlikdə temperaturu 37°C olan termostata yerləşdiririk. 25-30 dəqiqədən sonra NT-ləri ayırmaq olar.

NP (nukleoproteid) kompleksinin dissosiasiyası üçün homogenatı 0,5 M NaCl məhlulu ilə aşağıdakı yolla işləmək lazımdır. Homogenat olan qaba son qatılıq həddi 1 M olan 20-25 ml 0,5 M NaCl əlavə edib qarışığı bir neçə dəqiqə ərzində yaxşı qarışdırıb NT-lərin ekstraksiya əməliyyatına başlayırlar. Homogenatı şüşə tıxaclı Erlenmeyer kolbasına (0,5 l) keçirib üzərinə 24:1 nisbətində olan xloroform : izoamil spirtinin 2,5 həcmi olmaqla (330-340 ml) məhlulunu tökdükdən sonra NT-ləri ayırmaq üçün çalxalayıcıya 15-20 dəqiqə müddətində yerləşdiririk. Bu müddət keçdikdən sonra qarışığı şüşə stəkanlarda 30-40 dəqiqə 2500 dövr/dəqiqə rejimində sentrifüqaladıırıq. Bu zaman sentrifüqa sınaq şüşələrində çöküntü üzərindəki məhlul təbəqələrə ayrılır. Yuxarıda NT, ortada zülallar, aşağı xloroform qatında isə lipidlər və digər ağır komponentlər yer tutur. Sentrifüqatın yuxarı qatını ehtiyatla incə rezin borulu şpris vasitəsilə sorub kolbaya keçirir və orada xloroform : izoamil spirti qarışığında şəffaf məhlul alınana qədər daha 2-3 dəfə əməliyyatı təkrar edirik.

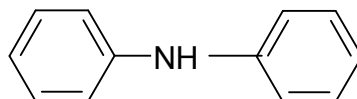
NT-lərin şəffaf məhlulu yavaş-yavaş 96%-li soyudulmuş etil spirtinin ikiqat həcminə tökülür, spirt dairəvi hərəkətlə şüşə çubuq vasitəsilə qarışdırılır. NT-lər incə spirallar şəklində çökür ki, onları şüşə çubuq vasitəsilə soyudulmuş 70 %-li etil spirti ilə stəkana keçiririk (bütün qablar da soyudulmalıdır). NT 2-3 dəfə təzə spirtə keçirilir və nəticədə 1:1 nisbətindəki spirt : efir qarışığı ilə yuyulub, havada otaq temperaturunda qurudulur. NT-lərin quru preparatını bağlı qabda soyuducuda uzun müddət saxlamaq olar.

DNT və RNT-ni bir-birindən ayırmaq üçün 20-30 mq quru NT preparatını 10-15 ml 0,5 N NaOH -da həll edib 37°C-də 18-20 saat saxlayırıq. Məhlulu soyudur, soyudulmuş 57%-li xlor turşusu ilə neytrallaşdırır və sonuncunun qatılığını 2%-ə qədər artırırıq (0,5-1 ml neytrallaşmaya +0,5 ml 2% qatılıq almaq üçün). DNT bu zaman çökür, RNT məhlulda qalır. DNT-ni sentrifüqa vasitəsilə ayırırlar (15-20 dəqiqə 3000 dövr/dəqiqə rejimində). Çöküntü ardıcıl olaraq 2% HClO₄ (2-3 dəfə), 7%-li spirt (2-3 dəfə), 1:1 nisbətindəki spirt:efir və efirlə yuyulur. Hər dəfə DNT çöküntüsünü sentrifüqa vasitəsilə yığmaq lazımdır. Bütün məhlullar soyudulmalıdır. DNT-nin təmiz preparatını havada qurudub soyuducuda saxlayırıq.

İŞ 38

NUKLEİN TURŞULARI ÜÇÜN XARAKTERİK OLAN KEYFİYYƏT REAKSİYALARI

Bu və ya digər obyektə NT-lərin mövcud olmasını rəngli reaksiyalar vasitəsilə müəyyən etmək olar. Ən çox NT-lərin karbohidrat komponentinə məxsus rəngli reaksiyalardan istifadə olunur. Karbohidrat komponenti NT-lərdə pentozə (riboza və dezoksiriboza) olduğundan karbohidratlar üçün səciyyəvi olan reaksiyalarla yanaşı (Fellinq, Trommer və s.), pentozalar üçün səciyyəvi rəngli reaksiyalardan istifadə olunur. Xüsusən onlardan ən geniş yayılanı difenilamin reaksiyasıdır:



difenilamin

Reaksiya ribozə və dezoksiriboza üçün müxtəlif rənglər verdiyindən əlverişlidir. Ribozə və RNT ilə yaşıl, dezoksiriboza və DNT ilə göy rəng alınır.

Reaksiya qızdırıldıqda qüvvətli turşu mühitində gedərək karbohidrat komponentinin azad olması ilə nəticələnir. Turşu mühitdə qızdırılma zamanı ribozə və dezoksiriboza furfurolu, furfurool spirtini, oksilevulin aldehidi və ona yaxın olan xromogenləri əmələ gətirir ki, onlar da difenilaminlə kondensasiya olunaraq rəngli birləşmələr əmələ gətirir.

Reaksiya NT-ləri miqdarca təyin etmək üçün də yararlıdır.

Reaktivlər:

1. DNT və RNT preparatları (əvvəlki işlərə bax);
2. Difenilamin reaktivi
3. 0,01N NaOH

İşin gedişi:

İki sınaq şüşəsinə az miqdarda DNT və RNT preparatı götürüb çöküntünün həll olunması məqsədilə hər birinə 2 ml 0,01N NaOH əlavə edirik. Çöküntü tam həll olmasa qələvini bir qədər də əlavə etmək olar. Alınan məhlulların hər birinə 2 ml difenilamin reaktivini töküb sınaq şüşələrini 25-30 dəqiqə qaynayan su hamamına yerləşdiririk. Vaxt keçdikdən sonra sınaq şüşələrini çıxardıb RNT ilə yaşıl, DNT ilə göy rəngin əmələ gəldiyini müşahidə edirik.

RNT və DNT-nin təmiz preparatları olmadıqda, reaksiyanı aparmaq üçün nukleoproteidlər preparatından da istifadə etmək olar.

İŞ 39

DIŞENİN KOLORİMETRİK ÜSULU İLƏ DNT-NİN

MİQDARCA TƏYİNİ

NT-lərin miqdarca təyini üsulları ya karbohidrat komponenti, ya da fosfat qalığı üçün aparılan spesifik reaksiyalar zamanı alınan rəngli məhsulların kollorimetriyasına, ya da məhlulların ultrabənövşəyi sahədə udma spektrlərinin öyrənilməsinə əsaslanır.

Aşağıda artıq bizə məlum olan difenilaminlə rəngli reaksiya vasitəsilə DNT-nin miqdarca təyini üsullarından biri təqdim olunur.

Reativlər və ləvazimat:

1. Kristallik DNT preparatı;
2. Dişə reaktivi (əlavələr, 42);
3. 0,01 N NaOH;
4. 5%-li xlor turşusu (4,3 ml qatı HClO₄ 93 ml su ilə qarışdırılır);
5. 5%-li üçxlorə sirkə turşusu;
6. FEK;
7. Su hamamı;
8. Kimyəvi sınaq şüşələri;
9. Pipetkalar

İşin gedişi:

Bu və ya digər kollorimetrik üsulun istifadə olunması əvvəlcədən məhlulların optiki sıxlığının DNT qatılığından asılılığı standart əyrisinin qurulmasını nəzərdə tutur. Bunun üçün DNT-nin qatı məhlulu hazırlanır, məhlulda DNT-nin dəqiq miqdarı udma spektrinə əsasən müəyyən edilir, sonra qatılıqları 50 mkq/ml-dən 500 mkq/ml-ə qədər DNT məhlulları seriyası hazırlanır, qatılığı məlum olan hər bir məhlulla difenilamin rəngli reaksiyası aparılır, onlarda optiki sıxlığın qiyməti təyin edilir və, nəhayət, mkq DNT:optik sıxlıq asılılığının əyrisi qurulur. Bu əyrini qurduqdan sonra bilavasitə obyektlərdə DNT-nin miqdarının təyin olunmasına keçmək olar.

DNT qatılığı məlum olan məhlul hazırlamaq üçün 20 mq kristallik DNT preparatını 10 ml 0,01N NaOH-da həll edir, bu məhluldan 30 ml 5%-li xlor turşusu olan kobaya 3 ml götürüb qarışığı su hamamında yarım saat müddətində hidroliz edirlər. Hidrolizat soyudulduqdan sonra optiki aktivlik 270 və 290 nm-də spektrofotometrik təyin olunur. 1 ml ilkin məhlulda DNT qatılığı aşağıdakı tənliklə müəyyən edilir:

$$C_{DNT} = \frac{(E_{270} - E_{290}) \cdot 10}{0,19} \cdot A$$

burada A – ilkin məhlulun durulaşdırma dərəcəsidir (bizim halda A=10).

Aldığımız standart məhluldan qatılıqları 50 – 500 mkq/ml DNT olan məhlullar seriyası, hər qatılıq üçün ümumi həcmi 10 ml olmaqla hazırlanır. Hər sınaq şüşəsinə 5 ml 5%-li üçxlorə sirkə turşusu götürüb, onları su hamamı və ya temperaturu 90°C olan termostata yerləşdiririk. 15-20 dəqiqəlik qızdırmadan sonra bulanıq əmələ gəlmiş halda hidrolizatlar süzülür. Şəffaf məhlullardan pipetka vasitəsilə 2,5 ml hidrolizat götürüb təmiz sınaq şüşələrinə keçirir və hər birinə 5 ml difenilamin reaktivi əlavə edilir. Sınaq şüşələrini 10-15 dəqiqə müddətinə göy rəngin tam şəkildə əmələ gəlməsi üçün qaynayan su hamamına yerləşdiririk. Soyudulduqdan sonra hər məhlul üçün optiki sıxlıq dərəcəsi qeyd olunur (5,08 mm-lik küvet; 9 saylı qırmızı işıq

filtri). Kalibrlemə qrafiki tərtib etmək üçün, absis oxunda DNT qatılıqlarını, ordinat oxunda isə optiki sıxlıq qiymətlərini qeyd etmək lazımdır.

Qatılıqların hesablanması nümunəsi. Tutaq ki, 1 ml standart məhlulda 1,05 mq DNT var. Məhlulun hər 0,048 ml-də 50 mkq DNT mövcuddur. Qatılığı 50 mkq/ml DNT olan 10 ml-lik məhlul almaq üçün dərəcələnməmiş sınaq şüşəsinə 0,48 ml DNT-nin standart məhlulunu götürüb 0,01 N NaOH-la həcmi 10 ml-ə çatdırmaq lazımdır.

Müvafiq olaraq növbəti 100 mkq/ml qatılıqlı məhlul almaq üçün 0,96 ml standart məhlulu 0,01 N NaOH vasitəsilə 10 ml-ə çatdırmaq lazımdır və s.

Kontrol qismində 0,01N NaOH-in təmiz məhlulu istifadə olunur. Həmin məhlulla da difenilamin reasiyası aparılır. Kalibrlemə əyrisi qurulduqdan sonra tədqiq olunan obyektlərdə DNT-nin miqdarını təyin etməyə başlamaq olar. Bunun üçün tədqiq olunan materialdan alınmış qoşqu sapları şəklində olan DNT-proteid 6-10 mq miqdarında çubuğa sarıymış vəziyyətdə açıq tərəfi geniş olan sınaq şüşəsinə (soyuducu rolunu oynayan şüşə boru ilə birləşdirilmiş sınaq şüşəsinin istifadə olunması daha yaxşıdır) keçirildikdən sonra, oraya 10 ml üçxlorşirkə turşusu əlavə edilir. Yuxarıdakı qayda ilə işləyib, qiymətləri alıb qrafikin köməyi ilə qatılıq hesablanır. Alınan nəticəni 100 q nativ toxuma üçün qiymətlə ifadə edirlər.

Bu işin birinci hissəsi xüsusi diqqət tələb etdiyindən, qrafikin hazırlanmasını yuxarı kurs tələbələrinə tapşırmaq və hazır qrafikdən istifadə etmək olar.

İŞ 40

ORLOV VƏ ORLOVA ÜSULU İLƏ DNT-nin

TOXUMALARDA MİQDARCA TƏYİNİ

Bu modifikasiya DNT-nin miqdarının DNT və RNT-ni nuklein turşularının kompleksindən qabaqcadan ayırmadan təyini mümkün edir. Zülalların sonradan kənarlaşdırılması DNT-nin miqdarının birbaşa məhlulda kollorimetrik üsulla təyin olunmasına imkan verir. Bu modifikasiya Şmidt-Tannhauzer üsuluna əsaslanır.

Reaktiv və ləvazimat:

1. 1N NaOH;
2. 20%-li sirkə turşusunda NaCl-un doymuş məhlulu (əlavələr, 43);
3. 0,5N HClO₄;
4. Etil spirti;
5. Sentrifuqa;
6. Termostat;
7. Buz, buz hamamı;
8. FEK;
9. Stəkanlar, kolbalar, pipetkalar, şüşə çubuqları.

İşin gedişi:

0,5-1,0 q toxumaları doğrayıb kiçik kolbaya keçirir, üzərinə 10 ml 1N NaOH töküb 37°C-də 18-20 saat müddətinə termostata yerləşdiririk. Termostatda inkubasiyanı, daha sürətli əməliyyatla, yəni 5-7 dəqiqə qaynayan su hamamında qızdırmaqla, əvəz etmək olar. Hidrolizi başa çatdırıb, zülalları çökdürürlər. Bunun üçün hidrolizati əvvəlcə otaq temperaturuna qədər və

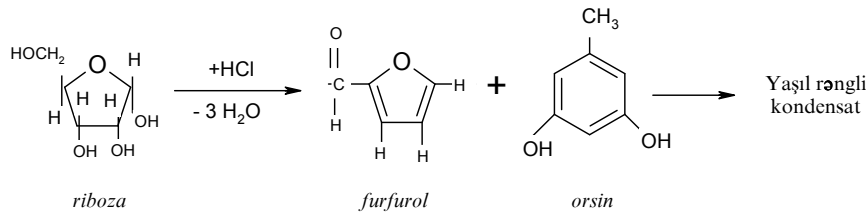
sonra buz hamamında soyuduruq. Hidrolizatda zülalları 5 ml 20%-li sirkə turşusunda NaCl-un doymuş məhlulu vasitəsilə çökdürürlər. 5-7 dəqiqədən sonra məhlulu 10 dəqiqə 3 000 dövr/dəqiqə rejimində sentrifugaladırlar, şəffaf sentrifugat kolbaya keçirilib, çöküntü 10 ml 1N NaOH-da həll edilir, zülallar yenə çökdürülür, sentrifugaladırlar, çöküntünü atıb sentrifugatın ikinci payını birinci ilə birləşdirərək həmin həcmdə DNT-ni 50-60 ml soyudulmuş etil spirti ilə daim qarışdırmaqla çökdürürük. DNT-nin sonradan 3 000 dövr/dəqiqə rejimində 10 dəqiqə sentrifugaladırmayla ayrılmasını təmin etmək üçün məhlulu 2 saat saxlamaqla tam çökməsinə nail oluruq. DNT çöküntüsünü 50 ml 0,5N HClO₄ vasitəsilə hava soyuducusu ilə təchiz olunmuş kolbaya keçirib 15-20 dəqiqə qaynayan su hamamında saxlayırıq. Alınmış məhlul soyudulduqdan sonra, DNT-nin miqdarı Dişə üsulu ilə kolorimetrik yolla difenilamin reaktivi vasitəsilə təyin edilir.

İŞ 41

MEYBAUM ÜSULU İLƏ RNT- nin

MİQDARCA TƏYİNİ

RNT miqdarının kolorimetrik üsulla təyini ribozanın orsinlə əmələ gətirdiyi rəngli məhsulu məhlulunun optiki sıxlığının ölçülməsinə əsaslanır. Ribozə və digər pentozalar üçün səciyyəvi olan reaksiya, onların güclü mineral turşularla (sulfat, xlorid) qızdırıldıqda furfurola çevrilmə qabiliyyətinə əsaslanır. Mühitdə dəmir xloridin izi olduqda furfuroulun orsinlə yaşıl rəng verən kondensasiya məhsulunu əmələ gəlməsi reaksiyası baş verir.



Reaktiv və ləvazimatlar:

1. Orsin reaktivi (əlavələr, 44);
2. RNT məhlulu;
3. Fotoelektrokolorimetr;
4. Sınaq şüşələri;
5. Pipetkalar;
6. Sü hamamı.

İşin gedişi.

Tədqiq olunan obyektlərdə RNT miqdarını müəyyən etmək üçün kalibrlemə əyrisi qurulmalıdır. Bu əməliyyat bundan qabaqkı işdə ətraflı verildiyindən, biz burada bəzi mühüm cəhətlər üzərində dayanacağıq. 10 sınaq şüşəsinin hər birinə 5 ml orsin reaktivi əlavə edərək onları 30 dəqiqə müddətinə, reaksiyanın getməsi və yaşıl rəngin əmələ gəlməsi üçün, qaynayan su hamamına yerləşdiririk. Bundan sonra sınaq şüşələrini soyudur və hər məhlul qırmızı filtr 5,08 mm-lik küvetlə 670 nm-də fotometr əməliyyatından müvafiq qiymətlər almaq üçün keçirilir. Optiki sıxlıq qiymətlərini aldıqdan sonra kalibr əyrisi qurulur. RNT-nin təmiz preparatı olmadıqda,

əyrini həmin üsulu istifadə etməklə ribozanın standart məhlulları seriyası əsasında qurmaq olar. RNT və ya ribozanın su məhlullarını yoxlama qismində istifadə etdikdə, həmin miqdar distillə suyu götürülür, oraya orsin reaktivi əlavə edilir və təcrübə nümunələri ilə paralel fotoelektrokolorimetrdə rəqəmlər alınır. Yüksək dərəcədə dəqiq əyri almaq zərurəti olduqda, rəngli məhsulu eyni miqdar izoamil spirti vasitəsilə ekstraksiya edirlər (əməliyyat yoxlama variantı ilə də aparılır). Spirt fraksiyasını süzür və ya sentrifüqalaşdırılır və həmin şəraitdə şəffaf spirt məhlulunun optiki sıxlığı ölçülür.

Tədqiq olunan obyektlərdən, RNT-nin miqdarını müəyyən etməkdən əvvəl, ribonuklein turşuları fraksiyasını ayıraraq, alınan məhlulda RNT miqdarı təyin olunur və sonra onu 100 q nativ toxuma üçün hesablayırlar. Tədqiq olunan oyyəkdən RNT-proteid preparatı alındığı halda RNT-nin miqdarını təyin etməzdən əvvəl preparatı hidroliz etmək olar (sulfat turşusu mühitində aparmaq olar). Alınan şəffaf məhlulda bundan sonra rəngli reaksiyanı aparmaq olar.

İşin birinci hissəsini bundan qadaqkı işdə olduğu kimi sərbəst iş şəklində ayrıca yeinə yetirmək olar.

İŞ 42

DEZOKSİRİBONUKLEOPROTEİDLƏRİN (DNP) AYRILMASI

NT-lər prostetik qrupp şəklində mürəkkəb zülalların tərkibinə daxil olurlar. Əmələ gələn konqlomerat artıq digər mühüm bioloji, kimyəvi xassələr daşıyır və onlar nukleoproteidlər (NP adlanırlar. NP-lər bütün hüceyrələrdə, xüsusən nüvədə çox miqdarda mövcuddurlar. NR-lər qaraciyər, böyrək, dalaq, qalxanabənzər vəzi, timus, mədəaltı vəzi toxumalarında, viruslarda, göbələklərdə, bakterilərdə, birhüceyrəli yosunlarda, aktiv bölünən və boy prosesləri aktiv gedən bitki toxumalarında və s. çox miqdardadırlar. Ona görə də NP-ləri ayırmaq üçün belə toxumalardan istifadə olunur.

Kimyəvi nöqtəyi nəzərdən NP-lər zəif turş xassəsi daşıyır, qələvilərdə yaxşı həll olurlar. Suda həll olurlar.

DNP hüceyrə nüvəsində çox olduğundan, nüvə membran qatını mexaniki dağıtmaq, qatı duz məhlulları və ya qələvi məhlulları ilə onları ekstraksiya etmək olar. DNP məhlulları turşulaşdırdıqda və ya su ilə çox durulaşdırdıqda onlar uzun saplar şəklində çökürlər.

Reaktivlər və ləvazimat:

1. Təzə və ya donmuş dalaq, qaraciyər və ya böyrək;
2. Çini həvəng-dəstə;
3. 5%-li NaCl;
4. Kimyəvi stəkanlar;
5. 1%-li natrium sitrat;
6. Ölçü silindrləri;
7. Pipetkalar;
8. Sentrifüqa.

İşin gedişi:

Yuxarıda göstərilən toxumaların birindən 1-3 qram çəkib onu soyudula bilən çini həvəngə keçirib, kvarts qummu və ya şüşə tozu ilə homogen vəziyyətə qədər əzib üzərinə 5-15 ml 5%-li NaCl əlavə edirik. DNP, nukleazalar təsirindən dağıla bildiyindən homogen mühitə inhibitor

əlavə olunmalıdır. Bizim halda inhibitor rolunu 1%-li natrium sitrat oynayır. Onu, materialı əzməkdən əvvəl NaCl hər 100 ml-ə 1,5 ml miqdarında əlavə edirlər.

Toxumanı, NaCl məhlulunu hissə-hissə əlavə etməklə təxminən 10-12 dəqiqə əzərək homogen vəziyyətə gətirirlər. Sentrifuqalaşdırdıqdan əvvəl homogenatın ümumi həcmi 90-100 ml olmalıdır. Homogenatı sentrifuqa sınaq şüşələrinə paylayıb, onları bərabərləşdirib və 3 000 g-də 15-20 dəqiqə sentrifuqalaşdırırıq. Sonra çöküntülərin üzərindəki məhlulları bütün sentrifuqa sınaq şüşələrindən ölçü silindrinə və ya stəkana töküüb, çöküntüləri atırıq. Məhlulun həcmi ölçülür və digər stəkana həmin həcmindən 5 dəfə çox su tökürük. Sonra suya yavaş-yavaş incə şırnaqla daima qarışdırmaqla DNP olan sentrifuqatı tökürük. DNP incə ağ saplar şəklində ayrılır. Çökmə başa çatdıqdan sonra sapları taxta çubuğa dolayıb təmiz, quru sınaq şüşəsinə keçiririk. Preparat sonrakı işlər üçün istifadə oluna bilər.

Lazım olduqda onu soyuqda bir neçə gün saxlamaq olar. Sentrifuqatda DNP ayrıldığını təsdiq etmək üçün difenilaminlə DNT-ə keyfiyyət reaksiyasını aparırıq. Bunun üçün 2 ml sentrifuqatı eyni miqdar difenilaminlə qarışdırıb 15 dəqiqə qaynayan su hamamında göy rəngin əmələ gəlib gəlmədiyini müşahidə etmək lazımdır. Bu reaksiya həmçinin DNP-nin təmiz ayrılması üçün test rolunu oynaya bilər. Çünki difenilaminlə yaşıl rəngin əmələ gəlməsi, kifayət qədər RNP-nin (ribonukleoproteid) olduğunu göstərir.

İŞ 43

RNP-nin AYRILMASI

RNP-lərin DNP-dən fərqi onların hüceyrənin sitoplazmasında toplanmasındadır. RNP-lər qələvi məhlullarda yaxşı həll olur və mühiti turşulaşdırdıqda çöküntü alınır. RNP mənbəyi kimi xəmir mayasını g.türmək olar.

Reaktivlər və ləvazimat:

1. Quru və ya təzə maya;
2. Şüşə çubuqlarla təmin olunmuş kimyəvi stəkanlar;
3. Dietil efiri;
4. 0,4%-li NaOH;
5. 4%-li sirkə turşusu (120 ml su + 5 ml qatı turşu);
6. Sentrifuqa;
7. Həvəng-dəstə.

İşin gedişi:

Həvəngə 5-10 q maya götürüb az miqdar su ilə (2-5 ml) onu nəmləşdirib üzərinə eyni miqdarda dietil efiri əlavə edirik. Materialı əzərkən və ya qarışdırarkən dietil efiri hüceyrə qılıfını dağıdacaq. Sitoplazmanın möhtəviyyət, o cümlədən RNP-lər məhlula daxil olacaqlar. Əzmə əməliyyatı zamanı mühitə 5-10 ml 0,4%-li NaOH da əlavə olunur (materialın çəkisindən asılı olaraq qələvinin ümumi miqdarı 50-100 ml ola bilər). Məhlulu 20 dəqiqə sakit qoyub, sonra süzürük. Çox özlü çətin süzülən kütlə alınarsa, onu qələvi ilə durulaşdırmaq olar. Süzməni sentrifuqalaşdırmaqla əvəz etmək olar (10-15 dəqiqə 3 000 g-də).

Sonuncu halda şəffaf filtratı bir qaba yığıb həcmi ölçürük. Filtrata daima qarışdırmaqla oraya kiçik paylarla 4%-li sirkə turşusu əlavə edilir. Turşunun miqdarı filtratın 1 və ya 2 həcmi təşkil edir və onun əlavə olunması RNP-nin tam çökməsindən asılıdır. Məhlul çöküntü ilə birlikdə sentrifüqanın sınaq şüşələrinə keçirilir və 20 dəqiqə 3 000 g rejimində ayrılma əməliyyatı aparılır. əməliyyat başa çatdıqdan sonra çöküntü üstü məhlulu ehtiyatla, çöküntünü dağıtmadan boşaldırıq. Sınaq şüşələrinə 7-10 ml 45-li sirkə turşusu töküb şüşə çubuqla çöküntünü qarışdırıb və yenə də 15 dəqiqə 3 000 g-də sentrifüqalaşdırırıq. Yuma əməliyyatı 2 dəfə təkrar olunur. Nəhayət, çöküntü üzərindəki məhlul atıldıqdan sonra, RNP çöküntüsü sonrakı işlərdə istifadə olunur. Preparat dərhal istifadə olunmursa, onu soyuducuda 10-12 gün 4%-li sirkə turşusunda saxlamaq olar.

İŞ 44

NP-lərin HİDROLİZİ VƏ TƏRKİB HİSSƏLƏRİNİN TƏDQIQI

NP-lər mürəkkəb, çoxfunksiyalı, zülal hissə (protaminlər və histonlar) və prostetik qruplardan (DNT və RNT) təşkil olunmuş birləşmələrdir. Öz növbəsində bu hissələrin hər biri mürəkkəb quruluşludur. Zülal hissə ayrı-ayrı amin turşularından təşkil olunmuş polipeptid zəncirlərindən, nuklein turşuları isə 3 komponentdən – tsiklik azot əsasları, karbohidratlar və fosfat turşusunun qalıqlarından təşkil olunmuşlar.

Hal-hazırda çoxlu üsullar ND-lərin (nukleotidlərin) tərkibinə saydığımız komponentlərin daxil olduğunu göstərir. Geniş yayılmış və asan yerinə yetirilə bilən üsullardan biri hidrolizdir.

ND-lərin hidrolizini turşu mühitdə qızdırılma şəraitində aparırlar. Yumşaq və qismi hidroliz NP-lərin zülal və nukleotidlərə parçalanması ilə nəticələnir. Dərin və ya tam hidroliz isə, NP-lərin tam parçalanması və bütün tərkib hissələrinin azad olmasına gətirib çıxarır ki, onların mövcudluğu müvafiq spesifik reaksiyalar vasitəsilə sübut olunur.

Reaktivlər və ləvazimat:

1. NP-lərin çöküntüsü (əvvəlki işlərə bax);
2. 10 %-li (89,6 ml su + 5,7 ml qatı turşu) və qatı H_2SO_4 ;
3. 10%-li NaOH;
4. 1%-li mis-2-sulfat;
5. Felling reaktivi (əlavələr, 23);
6. Molibden reaktivi (əlavələr, 16);
7. Orsin reaktivi (əlavələr, 44);
8. Difenilamin reaktivi (əlavələr, 42);
9. Timolun spirtə 1%-li məhlulu (12 q timol + 124 ml 96%-li etanol);
10. 1%-li $AgNO_3$ (qaranlıqda saxlamalı);
11. 20-25%-li NH_4OH
12. Su hamamı;
13. Soyuducu borulu hidroliz üçün kolba;
14. Sınaq şüşələri;
15. Pipetkalar.

İşin gedişi:

Əvvəlki işlərdə alınmış NP çöküntüsü (dalaq və ya qaraciyərdən alınmış DNP və ya maya RNP) hidroliz üçün kolbaya 10%-li sulfat turşusu ilə yumaqla keçirilir. İlk çəki və

çöküntünün miqdarından asılı olaraq sərf olunan turşunun ümumi miqdarı 20-30 ml ola bilər. Kolbanı soyuducu borunun tıxacı ilə bağlayıb 15-20 dəqiqə su hamamına yerləşdiririk.

Bu müddət keçdikdən sonra kolbadan 10 ml hidrolizat götürüb hərəsi 5 ml olmaqla iki sınaq şüşəsinə keçirik. Məhlulun qalan hissəsi 1-1,5 saat tam hidroliz üçün su hamamında saxlanılır. Götürülən iki məhlulda zülal və nukleotidlərin olmasını yoxlamaq üçün 2 reaksiya aparırıq. Bunun üçün 1-ci sınaq şüşəsinə 1 ml 1%-li mis-2-sulfat və damla-damla 10 ml 10%-li NaOH tökürük. Hidroliz dərəcəsindən asılı olaraq, məhlul çəhrayıdan göü-bənövşəyi rəngədək boyanır. Nukleotidin olduğunu difenilamin (DNP), orsin (RNP) reaksiyalarını aparırıq. Bunun üçün sınaq şüşələrinə müvafiq olaraq 5 ml difenilamin və 5 ml orsin əlavə olunur. Hər iki sınaq şüşəsinə yenidən 15-30 dəqiqə qaynayan su hamamına yerləşdirir və göy və ya yaşıl rəngin əmələ gəldiyini müşahidə edirik.

Tam hidrolizdən sonra hidrolizat soyudulur və orada:

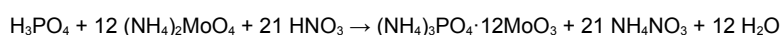
1. amin turşuları;
2. karbohidrat komponentləri;
3. fosfat qalıqları;
4. azot əsaslarının

olduğu sübut edilir (sxemə bax).

1. Sınaq şüşəsinə 5 ml hidrolizat götürüb biuret reaksiyasını aparırıq (5-ci işə bax). Məhlulun rənginə əsasən amin turşularının mövcudluğu haqda nəticə çıxarıyıq.

2. 5 ml hidrolizatı sınaq şüşəsinə götürüb üzərinə 2 ml Felling reaksiivi əlavə edib, qaz üzərində ehtiyatla qızdırırıq. Sınaq şüşəsində narıncı-qırmızı və ya Sarı rəngli çöküntünün alınmasını müşahidə edirik. Felling reaksiivi olmadıqda, difenilamin (orsin) və ya pentozalara məxsus Moliş reaksiyasını (53-cü işə bax) aparmaq olar. Bunun üçün sınaq şüşəsinə götürülmüş 5 ml hidrolizat üzərinə 1 ml 1%-li timolun spirtde məhlulunu və sınaq şüşəsinin divarları ilə ehtiyatla 5-7 ml qatı H₂SO₄ tökürük. Ağır sulfat turşusu sınaq şüşəsinin dibinə keçir və bir müddətdən sonra turşu və məhlulun sərhəddində qırmızı rəngli halqa əmələ gəlir.

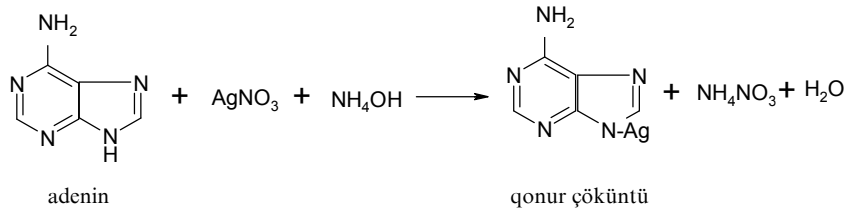
3. Mühitdə fosfat turşusunun qalığının mövcudluğunu sübut etmək üçün Molibden nümunəsini aparmaq olar. Bu reaksiyanın mahiyyəti ondan ibarətdir ki, fosfat və azot turşusu mühitində sarı-limon rəngli kompleks birləşmə aşağıdakı reaksiya üzrə əmələ gəlir:



sarı-limon rəngli kompleks

Reaksiyanı aparmaq üçün 5 ml hidrolizata 5 ml Molibden reaksiivi töküb sınaq şüşəsinə bir neçə dəqiqə qaynatmaqla məhlulun Sarı-limon rəngə büründüyünü müşahidə edirik. Sınaq şüşəsinə soyutduqca Sarı rəngli kompleksin kristallik çöküntüsü əmələ gəlir.

4. Azot əsaslarını aşkar etmək üçün əlverişli üsul gümüş nümunəsidir (58-ci işə bax). Bunun 5 ml hidrolizatı 2-3 ml qatı ammoniyakla neytrallaşdırıb üzərinə 2 ml 1%-li gümüş nitrat məhlulu tökürük. Sınaq şüşəsinə ştativdə saxlayıb, 5-7 dəqiqədən sonra azot əsaslarının gümüş duzlarına məxsus az miqdarda qonur rəngli amorf çöküntünü müşahidə edirik. Reaksiya adenin misalında aşağıdakı kimi gedir:



Beləliklə, aparılan iş NP-lərin əmələ gətirdiyi bütün tərkib hissələrini müşahidə etməyə imkan verir.

Nəticələri daha aydın görmək üçün hidroliz məhsullarının öz təmiz məhlulları (zülal, amin turşuları, pentozalar, fosfat turşusu və ya onun duzları, azot əsasları) ilə həmin reaksiyaları hidrolizatla paralel aparmaq olar.

II BÖLMƏYƏ AİD SUALLAR

1. Nuklein turşuları nədir, onların elementar tərkibi nədən ibarətdir?
2. Hansı növ nuklein turşuları var və onlar bir-birindən nə ilə fərqlənilir?
3. Hüceyrədə harada DNT və RNT toplanır? Onların əsas bioloji xüsusiyyətlərini sadalayın.
4. Nuklein turşularını nativ vəziyyətdə ayırmanın hansı xüsusiyyətləri var?
5. Hansı səciyyəvi reaksiyalar vasitəsilə, bu və ya digər obyektə DNT və RNT-ni müşahidə etmək olar?
6. Nuklein turşularını miqdarca təyin etmək üçün hansı kimyəvi reaksiyalar və qaydaları istifadə etmək olar?
7. Bitki obyektlərindən nuklein turşularını ayırmanın hansı xüsusiyyətləri mövcuddur?
8. Mononukleotidlər və polinukleotidlərin nədir? Polinukleotidlərin qurulmasında hansı tip əlaqə əsasdır?
9. Hidroliz nədir (yumşaq və dərin hidroliz)? NT və NP-lərin elementar tərkibinin öyrənilməsində hidroliz prosesi nə kimi imkanlara malikdir?
10. Hansı xarakter reaksiyalar NT və NP-lərdə onun tərkib hissələrinin (karbohidart, fosfat turşusu qalığı, azot əsasları, zülal hissənin) mövcud olduğu sübut edir?
11. Nuklein turşularının hansı quruluş xüsusiyyətləri (birinci, ikinci, üçüncü quruluş) mövcuddur?

III BÖLMƏ

FERMENTLƏR

Bütün canlı aləmə məxsus və kimyəvi təbiətinə görə üzvi maddələr sırasına daxil olan fermentlər – bioloji katalizatorlardır. Onların bir qismi (100-dən çox) yalnız zülal molekulundan ibarət olduğundan sadə fermentlər, qalan minlərlə fermentlər zülal hissə (apoferment, feron) və qeyri zülal təbiətli maddələrdən (prostetik qrup, apon) təşkil olunduğundan mürəkkəb fermentlər adlanırlar. Prostetik qrup kimi burada zülalla birləşən vitaminlər, metallar, mineral maddələr və s. ola bilər. Prostetik qrup suda asanlıqla dissosiasiya edərək ayrılıla bilirsə, onlar fransız biokimyəçi Qabriel Bertranın təklifi ilə koferment adlandırılmışdır.

Canlı orqanizmlərdə baş verən elə bir biokimyəvi proses yoxdur ki, orada fermentlər iştirak etməsin. Təbiidir ki, zülallara məxsus bütün xassələr fermentlərə də aiddir. Onların katalitik aktivliyi zülal molekulunun nativ quruluşunu saxlamaq dərəcəsiindən və bəzi digər amillərdən asılıdır. Külli miqdarda ərzaq məhsullarının, içkilərin, müasir biotexnoloji proseslərin, bioistehsalın təşkili fermentlərsiz mümkün deyil. Ən incə, dəqiq kimyəvi analiz metodları, gen mühəndisliyi, immobilizə olunmuş fermentləri tətbiq etməklə ferment elektrodları, süni ferment gücləndiriciləri, reagentsiz arasıkəsilməz analiz, tibbi diaqnostika, gümüşsüz fotoqrafiya və onlarla belə digər proseslərdə fermentlər tətbiq olunur.

Fermentlərin termolabil olması, bəzi amillərə qarşı həssaslığı onların öyrənilməsi və tətbiqini çətinləşdirsə də müasir fermentologiya (enzimologiya) bir çox sahələrdə mühüm nailiyyətlər əldə etmişdir.

Hər bir ferment üçün temperatur optimumu mövcuddur. Bu temperaturda onlar maksimal aktivlik göstəririlər. Fermentlərin çoxu 40-50°C intervalında maksimal aktivliyə malikdir. Lakin elə fermentlər var ki, intakt hüceyrədə 80°C-də belə aktivlik göstəririlər. Fermentlərin digər xassəsi onların müvafiq pH-da maksimal aktivliyə malik olmalarıdır. Optimal pH dəyişdikcə aktivlik zəifləyir və ya dayanır (inaktivləşmə).

Fermentlərin spesifikliyi onların digər bir xassəsidir. Spesifiklik mütləq, qrup spesifikliyi, stereospesifiklik və s. növlərə bölünür.

Fermentlərin katalitik aktivliyi müxtəlif amillərin təsirindən güclənə və ya zəifləyə bilər. Katalitik aktivliyi artıran maddələr aktivator, azaldanlar isə inhibitor adlanır. Beləliklə fermentin aktivliyi dəyişkən kəmiyyət olub müxtəlif amillərdən asılıdır.

Fermentlərin həm təsiri, həm də aktivliyinin öyrənilməsi dolayı yolla: məsələn, vahid zaman ərzində təsirə məruz qalan substrat (S) azalmasına və ya toplanan reaksiya məhsulunun miqdarına qədər aparılır. Başqa bir yanaşmada, toxumalardan alınmış məhlul halındakı süzüntüyə özlülüyün dəyişməsinin dərəcəsi, polyarizasiya müstəvisinin fırlanması, elektrik ötürücülüüyü, işığın sınıma dərəcəsi, səthi gərilmə və s. göstəricilər əsasında aktivlik haqda nəticə çıxarılır. Belə yanaşma fiziki metodlardır. Əksər hallarda süzüntü aldıqda toxumanın bütövlüyü

pozulduğundan, alınan rəqəmlər nisbi olduğundan, müasir üsulların tətbiqi daha dəqiq nəticələr verir. Bu üsullara misal vakuüm-infiltrasiya metodudur ki, burada toxumanın bütövlüyü pozulmur.

Fermentin aktivliyi müxtəlif vahidlərlə ifadə olunur. Reaksiyanın sürəti (V) zaman vahidində reaksiyaya daxil olan molekulların sayı ilə ölçülə bilər.

Digər bir göstərici standart vahiddir (optimal temperatur, pH, substratın qatılığı şəraitində bir mikromol (mkM) S-ı 1 dəqiqədə çevirə bilən fermentin (E) miqdarı). Standart vahid az tətbiq olunur. Fermentin aktivliyi 1 mq zülalla ilə ölçülə bilər.

Fermentin aktivliyi müasir dövrdə **Katal** adlanan vahidlə ölçülür. 1 katal $6 \cdot 10^7$ standart vahiddir. Yeni aktivlik müvafiq şəraitdə substratı 1 mol/saniyə sürəti ilə çevirən fermentin miqdarı ilə ifadə olunur.

Adi laboratoriya şəraitində yerinə yetirilməsi çox çətin olan daha müasir metodlar mövcuddur. Onlar fermenti kristallik halda təmizləyib almaq üçün tətbiq olunur. Buraya fraksiyalaşdırma, gel-filtrasiya, affin xromatoqrafiya, xromatoqrafiyanın digər müasir üsulları və onların kombinasiyası, immobilizə olunmuş fermentlərə əsaslanan metodlar aiddir.

FERMENTLƏRİN XASSƏLƏRİ

Fermentlərin hamısına məxsus olan termolabillik, təsir spesifikliyi, müvafiq pH-da optimal təsir göstərməsi, böyük sürətlə reaksiyaları aparmaq qabiliyyəti və s. xassələrini müşahidə etmək üçün aşağıdakı reaksiyalarla tanış olaq.

İŞ 45

AMILAZA VƏ PEPSİN FERMENTLƏRİNİN TEMPERATUR OPTIMUMUNUN MÜŞAHİDƏ EDİLMƏSİ

Fermentə təsir göstərən istilik amilinin müddəti, fermentin qatılığı, onun mühiti (*in vitro* yoxsa *in vivo*) və digər amillərdən asılı olaraq onun aktivliyi arta və ya azala bilər və onun denaturasiyaya uğraması da müvafiq temperatur intervalında baş verə bilər. Vant-Hoff qanununa tabe olaraq reaksiyon mühit temperaturunun 10°C artması reaksiya sürətini iki-dörd dəfə artırır. İnsan orqanizmi üçün normal temperatur $35-37^{\circ}\text{C}$ həddində olduğundan burada əksər fermentlərin optimumu ehtə hətmin rəqəmə uyğun gəlir. Temperaturun $40-42^{\circ}\text{C}$ -ə qədər yüksəlməsi fermentativ reaksiyaların sürətini artırır. Reaksiya sürətinin artma effektini orqanizmdən kənar reaksiyon mühidə də müşahidə etmək olar. Lakin temperaturun sonrakı artımı fermentin denaturasiyasına səbəb olur və reaksiya sürəti kəskin aşağı düşərək dayanır. Temperaturun aşağı düşməsi isə reaksiya sürətini azaltsa da, hətta 0°C -də belə denaturasiya baş vermir.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Təzə hazırlanmış ağız suyu (kimyəvi stəkana yığılmış ağız suyunun qatılığını 5-10 dəfə su ilə azaldaraq tənzifdən süzməli)
2. 1%-li nişasta (əlavələr, 17)
3. Lüqol reaktivi (əlavələr, 18)

4. Sd-asetat qarışıđı (lavlr, 19)
5. Hazır mədə řiresi preparatı
6. Qaynayan su hamamı
7. Temperaturu 40°C olan su hamamı
8. Buz
9. Termometr

İřin gediři

İki řtativin hər birinə 4 ədəd üzərində sıra ilə rəqəmlər yazılmıř sınaq řřlrini yerlřdirib 1-ci iki sınaq řřsin 4 ml 1%-li niřasta, o birinə sd-asetat məhlulu gtrrk. Sınaq řřlrini qaynayan su hamamına yerlřdiririk. İki digər sınaq řřsin eyni miqdarda həmin maddələri töküb bu dəfə temperaturu 40°C olan su hamamına qoyuruq. Üçüncü cüt sınaq řřlrini həmin reaktivlərlə řtativd otaq temperaturunda (20-23°C), dördüncü niřasta v süd-asetat mhlullu 2 sınaq řřsini isə içərisində buz olan qabda saxlayırıq. Bütün 4 cüt sınaq řřsi 10-15 dəqiqə mövcud olduđu řraitd qalır və həmin temperaturu qəbul edir. Sonra niřasta olan sınaq řřlrin 1 ml ađız suyu (hər řraitdki bir-bir 4 sınaq řřsi) sd-asetat məhlulu olan o biri sınaq řřlrin isə 0,3 ml mədə řiresi preparatı töküb həmin temperaturlarda 20-30 dəqiqə saxlayırıq. Niřasta olan birinci sınaq řřsind amilaza təsirinin gediřini lqol reaktiv vasitəsilə izləyirik. Bunun üçün filtr kađızı zolađı üzrə sıra ilə nöqtələrə 1 damla hər sınaq řřsindn məhlul damlayıb həmin nöqtələrə 1 damla lqol reaktivi mikropipetka ilə ehtiyatla yerlřdirilir. Ləkələrin rənginə əsasən niřastanın amilaza təsirindən hidroliz dərəcəsi haqda nəticə çıxarmaq olar. Nəzərdə tutmaq lazımdır ki, niřasta tərkib hissələrinə paralandıqca lqol reaktivi onunla rəng əmələ gtirmyck (karbohidratlar bəhsinə bax). Sd-asetat məhlulu olan sınaq řřlrind pepsinin təsirini mřahid etmək üçün həmin ferment vasitəsilə kazeinogenin kazein vrilmsi nəticəsində onun əmələ gəlməsi və toplanmasını mřahid etmək olar.

İř 46

FERMENTLRIN SPESIFIKLIYI

Fermentlərin əsas xassələrindən biri onların yüksək dərəcədə spesifikliyidir. Fermentlər kataliz etdikləri reaksiyanın tipinə v substrata görə spesifikdirlr. Bəzi fermentlər mütləq spesifikdirlr, yəni yalnız bir substratın vrilmsini kataliz edirlər. Fermentlərin bu dərəcədə spesifikliyi, fermentlərin tərkibinə daxil olan yalnız bəzi qrupların ferment substrat kompleksi əmələ gətirməsi ilə əlaqədardır.

Fermentlərin aktiv mərkəzlərini třkil edən amin turřuları, fəzada müəyyən vəziyyətdə olurlar ki, bu da ferment substrat kompleksinin əmələ gəlməsində bilavasitə rol oynayır.

Ađız suyunun tərkibində olan amilaza yalnız niřastanı hidroliz edir, disaxaridlərə isə heç bir təsir göstərmir.

Maltaza maltozanın hidroliz olunmasını srtlndirdiyi halda, bařqa disaxarid - saxarozaya təsir göstərmir.

Saxarozanın tərkibində sərbəst aldehid v keton qrupu və ya sərbəst qlikozid hidroksili olmadıđına görə Trommer reaksiyasını vermir. Saxarozaya özünün tərkib hissələrinə qlükoza və fruktozaya parçalandıqdan sonra Trommer reaksiyasını verir (karbohidratlar bəhsinə bax).

Reaktiv və ləvazimat:

1. Durulaşdırılmış ağız suyu (5 dəfə)
2. 1%-li saxaroza məhlulu
3. 1%-li nişasta məhlulu
4. 10%-li NaOH
5. 1%-li CuSO₄
6. Termostat və ya su hamamı (38°C)
7. 10 ml-lik silindr

İşin gedişi

İki sınaq şüşəsinin hər birinə 5 damla durulaşdırılmış ağız suyu tökülür. Birinciyə 10 damla 1%-li nişasta, ikinciyə isə 10 damla 1%-li saxaroza əlavə olunur. Hər iki kolba 10 dəqiqə termostatda və ya su hamamında saxlanılır və sonra Trommer reaksiyası aparılır. Yuxarıdakı qayda üzrə cədvəl tərtib olunur və nəticələr orada qeyd olunur.

İŞ 47

MÜHİT REAKSIYASININ (pH) FERMENTİN

AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Fermentlərin aktivliyi, mühitdəki hidrogen ionlarının qatılığından kəskin asılıdır. Hər bir ferment pH-ın çox az həddində nisbətən aktivdir. Bu qiymət fermentin optimum pH-ı adlanır (cədvəl 6). pH qiymətinin optimum qiymətdən hansı istiqamətdə dəyişməsindən asılı olmayaraq fermentin aktivliyi kəskin azalır. Optimum pH-ın dəyişməsi, fermentin zülal və prostetik qrupları arasındakı rabitənin qırılmasına və həmçinin fermentlə substrat arasındakı rabitəyə də təsir göstərməsinə səbəb olur.

Reaktiv və ləvazimat:

1. 100 dəfə durulaşdırılmış ağız suyu
2. 0,5%-li nişasta
3. 0,2 M Na₂HPO₄
4. 0,1 M limon turşusu məhlulu
5. 0,2% KJ məhlulunda 0,1% yod məhlulu
6. 1%-li NaCl məhlulu
7. Mikropipetka
8. Termostat və ya su hamamı (38°C), 1 ml-lik pipetkalar

Cədvəl 6

Bəzi fermentlər üçün optimum pH-ın hüdudu

Ferment	PH
pepsin	1,5–2,5
tripsin	8,0–9,0
tüpürcək amilazası	6,9–7,0
bağırsağ saxarazası	6,3
mədə şirəsinin lipazası	6,0
pankreatik lipaza	7,0–8,5
katalaza	7,0

İşin gedişi

Yeddi sınaq şüşəsinə cədvəldə göstərilən (1-7) nisbətdə 0,2 M Na₂HPO₄ və 0,1 M limon turşusu tökülür. Bununla 5,6–8,0 pH-larla bufer məhlulları alınır. Hər sınaq şüşəsinə 10 damla 1%-li NaCl, 10 damla 0,5%-li nişasta və 10 damla ağız suyu əlavə olunur. Sınaq şüşələri 5-10 dəqiqə müddətində termostatda və ya su hamamında 38°C-də saxlanılır.

Cədvəl 7

Mühitin pH-nın amilazanın aktivliyinə təsiri

Sınaq şüşəsi №-si	0,2 M məhlulun miqdarı, ml-lə	0,1 M limon turşusu məhlulun miqdarı, ml-lə	pH	0,5 M nişasta və 1%-li məhlulun miqdarı, ml-lə	Ağız suyunun miqdarı, ml-lə	Yodla rənglənmə
1	0,58	0,42	5,5	10 damla	10 damla	
2	0,63	0,37	6,0	10 damla	10 damla	
3	0,69	0,31	6,4	10 damla	10 damla	
4	0,77	0,23	6,8	10 damla	10 damla	

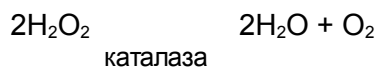
5	0,87	0,13	7,2	damla	10 damla
6	0,94	0,06	7,6	10 damla	10 damla
7	0,97	0,03	8,0	10 damla	10 damla

Bundan sonra sınaq şüşələrinin hərəsinə 1 damla yod məhlulu (0,2%-li kalium yod məhlulunda 1%-li yod məhlulu) əlavə olunur, qarışdırılır və rənglər müşahidə olunur. Rəngə əsasən amilazanın aktivliyinə uyğun gələn pH müəyyən olunur.

İŞ 48

KATALAZANIN AKTİVLİYİNİN TƏYİNİ

Katalaza mürəkkəb ferment olub, zülal hissədən və tərkibində dəmir atomu olan prostetik qrupdan ibarətdir. Katalaza hidrogen-peroksidi suya və molekulyar oksigenə parçalayır və orqanizmin zəhərlənməsinin qarşısını alır.



Reaktiv və ləvazimat:

1. 100 ml-lik kolbalar
2. 100 ml ölçü kolbaları
3. Pipetkalar
4. Byuretka
5. Çini həvəngdəstə
6. CaCO₃
7. 10%-li H₂SO₄
8. 0,1 N KMnO₄

Üsulun prinsipi. Katalazanın aktivliyinin təyini ferment preparatının təsiri nəticəsində parçalanan H₂O₂-nin miqdarının hesablamasına əsaslanır və KMnO₄-lə titrləməklə tapılır.

İşin gedişi

Təzə bitki materialından 5 q götürüb çini həvəngdəstədə şüşə qırıntılarının və 0,3 q CaCO₃-ün iştirakı ilə əzilir, üzərinə 20 ml su əlavə olunur, ölçü kolbasına keçirilib, distillə edilmiş

su ilə cizgiyə qədər doldurulur. 30-40 dəqiqə sonra qarışıq filtr kağızı ilə süzülür və ya sentrifuqada ayrılır. Təmiz filtratdan və ya supernatantdan iki hissə (20 ml) götürüb 100 ml-lik kolbaya keçirilir. Kolbalardan birindəki məhlulu inaktivləşdirmək üçün o, 2-3 dəqiqə qaynadılır, soyudulur. Hər iki kolbaya 20 ml su və ya 3 ml 1%-li hidrogen-peroksid əlavə olunur və 20-30 dəqiqə müddətində inkubasiya olunur. Inkubasiya qurtardıqdan sonra hər iki kolbaya 4-5 ml 10%-li H₂SO₄ əlavə olunur və 0,1 N KMnO₄-la zəif-çəhrayı rəng alınana qədər (rəng 1 dəqiqə müddətində itməməlidir) titrlənir. Kontrol və təcrübə variantları arasındakı titr fərqi əsasən inkubasiya dövrü ərzində parçalanan H₂O₂-nin miqdarı (1 q bitki materialına görə) aşağıdakı tənliklə tapılır.

$$x = \frac{(a - b) \cdot T \cdot 1}{N}$$

burada: x – inkubasiya dövründə katalazanın təsirindən parçalanan 1 q bitki materialında milliqramla miqdarı

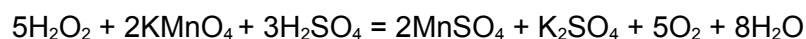
a – inaktivləşdirilmiş üçün 0,1 N sərf olunan KMnO₄,
ml-lə,

b – təcrübə variantına sərf olunan 0,1 N KMnO₄, ml-lə,

T – titrə düzəliş, 1,7–1 ml 0,1 N KMnO₄-ə uyğun gələn H₂O₂-nin milliqramlarla miqdarı,

N – bitki nümunəsinin miqdarı, q-la.

Öyrəndiyimiz işdə aşağıdakı reaksiya gedir:



İŞ 49

PEROKSIDAZANIN AKTİVLİYİNİN TƏYİNİ

Peroksidaza üzvi birləşmələrin hidrogen peroksidi vasitəsilə oksidləşməsini kataliz edən mürəkkəb ikikomponentli fermentdir. Bu fermentin prostetik qrupu qismində dəmir çıxış edir. peroksidaza demək olar ki, bütün bitki hüceyrələrində mövcuddur. heyvan mənşəli hüceyrələrində isə, hemoqlobin, mioqlobin və sitoxromlar da zəif proksidaza fəallığı ilə xarakterizə olunurlar.

Üsulun prinsipi. Peroksidazanın fəallığı bitkilərdən alınmış ferment ekstraktının təsiri ilə benzidinin oksidləşməsi sürətinə əsasən təyin olunur.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Bitki materialı (qırmızı turp, kökümeyvəli və s.)
2. Asetat buferi (pH 4,7)
3. Asetat öuferində benzidin məhlulu
4. 3 %-li H₂O₂

İşin gedişi

Bitki materialından 1 q götürüb, üzərinə 3-5 ml asetat buferini əlavə edib həvəng-dəstədə əzirik, alınmış qarışığı 50 ml-lik kolbaya (silindrə) keçirib həcmi asetat buferi ilə cizgiyə qədər çatdırırıq. 10-15 dəqiqə keçdikdən sonra məhlulu süzürük, ya da 15 dəqiqə ərzində 3000-4000 dövr/dəqiqədə sentrifugaladıırıq və nəticədə alınmış şəffaf məhlulu peroksidaza fəallığını təyin etmək məqsədilə istifadə edirik. Bu məqsədlə fotoelektrokolorimetr (FEK) hazırlanır, ölçümlər 8 №-li işıq filtri ilə aparılır. Açıq örtük və küvetsiz şəraitdə qalvanometrin əqrəbi sıfır vəziyyətinə qurulur. Sonra sol barabanı fırlatmaqla, əqrəbi sağ tərəfə hərəkət edəcək, və beləliklə qabaqcadan optik sıxlığın qiyməti müəyyənləşdirilir (ekstinksiya E 0,250-ə qədər ola bilər). İki küvet götürüb (qatın qalınlığı 2 sm olmaqla) hər birinə 2 ml su, 2 ml benzidin və 2 ml ferment məhlulu əlavə edirik. Küvetlərin birinə (kontrol variant) yenə də 2 ml sutəcrübə küvetinə isə – 2 ml H₂O₂ əlavə edirik. hidrogen peroksidin ilk damlları ilə saniyəölçən işə salınır. Reaksiya getdikcə benzidin göy rəngli oksidləşmə məhsulu toplanacaq, təcrübə məhlulunun optik sıxlığı artacaq və qalvanometrin əqrəbi sıfır istiqamətində hərəkət edəcək. Təcrübə məhlulunun optik sıxlığı sol baraban vasitəsilə qabaqcadan müəyyənləşdirilmiş qiymətə. Əqrəb isə sıfıra çatdıqda saniyəölçən dayandırılır. Reaksiya 20-60 saniyə ərzində getməlidir. Əgər reaksiyanın sürəti çoxdursa (10-15 saniyədən az zaman ərzində gedirsə), bu hala ferment preparatını durulaşdırmaq lazımdır, əgər reaksiyanın sürəti xeyli aşağıdırsa, bu halda tədqiq olunan materialdan 1 q deyil, daha artıq miqdarda götürmək məqsədəuyğundur. Peroksidazanın fəallığı (A) 1 q tədqiq olunan materiala görə şərti vahiddə ifadə olunur:

$$A = \frac{E(V \cdot a)}{2n \cdot t}$$

burada, E- FEK-də qaçaqcadan müəyyənləşdirilən ekstin

ksiyadır;

V - ekstraktın həcmi (bizim halda 50 ml);

a – ekstraktın küvetdə durulaşdırılması dərəcəsi;

n – bitki materialın çəkisi;

t – reaksiya müddəti (san);

2 – küvetdə maye qatının qalınlığı (bizim halda 2 sm)

İŞ 50

ASKORBİNATOKSİDAZANIN AKTİVLİYİNİN

TƏYİNİ

Bu ferment oksidoreduktazalar sinfinə aid olub, askorbin turşusunun dehidroaskorbin turşusuna çevrilməsini kataliz edir. Askorbinatoksidazanın tərkibinə mis elementi daxil olur (vita-minlər bəhsinə bax). Balqabaq, kahı, lobya bitkiləri nisbətən askorbinatoksidaza ilə zəngindir.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Termostat
2. Çini həvəngdəstə

3. 25 və 30 ml-lik ölçü kolbaları
4. 100 ml konusvari kolba
5. 0,01 N KJO₃
6. 10%-li KJ,
7. 0,001 N Na₂S₂O₃
8. 1%-li nişasta
9. Fosfat buferi (0,015 M, pH-7,0)
10. Askorbin turşusu (1 ml-də 1 mq askorbin turşusu olan məhlul)

Üsulun prinsipi. Askorbinatoksidazanın aktivliyi askorbin turşusunun miqdarının yodometrik üsulla təyininə əsaslanır.

İşin gedişi

20 q balqabaq bitkisi çini həvəngdə 10-15 ml pH=7 olan 0,15 M fosfat buferi məhlulununun iştirakı ilə əzilir. 50 ml-lik enliboğaz kolbaya keçirilir və fosfat buferi məhlulu ilə cizgiyə çətdirilir. Sonra məhlul filtrlə süzülür və filtratdan ferment preparatı kimi istifadə olunur.

Preparatdan iki 50 ml-lik ölçü kolbasının hər birinə 10-ml tökülür və bunlardan biri bir-iki dəqiqə qaynadılır (fermentin inaktivləşdirilməsi üçün) və sonra soyudulur. Hər iki kolbaya 10 ml askorbin turşusu əlavə edib termostatda 37°C temperaturda 30 dəqiqə müddətində inkubasiya olunur. Sonra hər iki kolba qaynama temperaturuna qədər qızdırılır. Soyudulduqdan sonra su ilə cizgiyə qədər doldurulur. Şəffaf məhluldan iki 100 ml-lik konusvari kolbanın hər birinə 10-ml tökülür və üzərinə 5 ml 10% KJ, 10 ml 5%-li HCl, 10 damla 1%-li nişasta və 10 ml 0,01 N KJO₃ məhlulları əlavə olunur. 5 dəqiqədən sonra məhlullar 0,001 N Na₂S₂O₃ məhlulu ilə göy rəng itənə qədər titrlənir.

Nəticənin hesablanması. Nəticə aşağıdakı tənliyə əsasən hesablanır:

$$x = \frac{(a - b) \cdot T \cdot 0,1088}{N}$$

burada: x – askorbinatoksidazanın aktivliyi

a – təcrübə variantı üçün sərf olunmuş 0,001 N Na₂S₂O₃ miqdarı, ml-lə,

b – kontrol üçün sərf olunmuş 0,001 N Na₂S₂O₃ miqdarı, ml-lə,

T – titrə düzəliş,

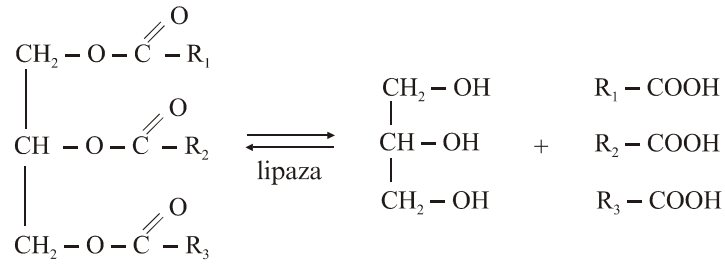
0,088 – 0,001 N Na₂S₂O₃-ə müvafiq olan askorbin turşu- sunun ml-lə miqdarı,

N – nümunənin qr-la miqdarı.

İŞ 51

LIPAZANIN AKTİVLİYİNİN TƏYİNİ

Lipaza qliserinlə yağ turşuları arasındakı mürəkkəb efir rabitəsinin parçalanmasını kataliz edir:



R₁; R₂; R₃ yüksək molekullu yağ turşularının radikallarını göstərir.

Lipaza fermenti bütün bitki orqanizmlərində yayılmışdır. Yağla zəngin olan bitkilərdə lipazanın miqdarı nisbətən çox olur. Müxtəlif bitkilərdən alınmış lipazalar bir-birindən aktivlikləri ilə, pH-in və temperaturun optimumlarına və digər xassələrinə görə fərqlənirlər. Lipaza unu, yarmanı saxlayarkən (xüsusən yüksək rütubətdə və yüksək temperaturda) onun tərkibində olan yağları parçalayır və nəticədə onların turşuluğu artır ki, bu da unun və yarmanın tez xarab olmasına, keyfiyyətin aşağı düşməsinə səbəb olur.

Reaktiv və ləvazimat:

1. 10 sm diametrdə həvəng-dəstə
2. 100 ml-lik və ağızı kip tıxac ilə bağlanan konusvari kolba
3. Təmiz günəbaxan yağı
4. Asetat buferi məhlulu, pH 4,7 (əlavələr, 20)
5. Etil spirti
6. Efir
7. Toluol
8. Timolftaleinin və ya fenolftaleinin 1%-li spirt məhlulu
9. 0,1 N NaOH

İşin prinsipi. Lipazanın aktivliyinin təyini, onun təsiri nəticəsində yağların parçalanmasından alınan yağ turşularını qələvi ilə titrləməyə əsaslanır.

İşin gedişi

İki nümunə götürüb (3 q) həvəngdəstədə kvarts qumunun iştirakı ilə əzilir və 100 ml-lik ağızı kip örtülən konusvari kolbaya keçirilir. Həvəngdəstə 2-3 dəfə az miqdar (2-3 ml) su ilə yuyulur və kolbaya 1 ml təmiz günəbaxan yağı əlavə olunur. Lipazaların çoxunun optimum pH-nın 4,5-5,0 olduğunu nəzərə alaraq kolbaya 5 ml pH=4,7 olan asetat buferi məhlulu və bir neçə damcı toluol əlavə olunur. Kolbadakı məhlul mexaniki qarışdırıcıda qarışdırılır və 20-24 saat müddətində termostatta 30°C-də və ya otaq temperaturunda saxlanılır. Bu müddət ərzində lipazanın təsiri nəticəsində yağlar parçalanır.

Təcrübi variantla yanaşı olaraq, kontrol variant da götürülür. Lakin termostata qoymamışdan əvvəl fermentin inaktivləşdirilməsi üçün 3-5 dəqiqə müddətində qaynadılır. 20-24

saatdan sonra konusvari kolbalara 25 ml spirt və 15-25 ml efir əlavə olunub qarışdırılır. Məhlul sükunət halını aldıqdan sonra 0,1 N NaOH-la 0,5 ml 1%-li timolftaleinin spirdəki məhlulunun iştirakı ilə titrlənir.

Təmiz yağın hazırlanması – 300 qr günəbaxan yağı qıfda 2%-li NaOH məhlulu ilə qarışdırılır və sakitləşdikdən sonra qələvi məhlul tökülür. Qıfda distillə edilmiş su ilə bir neçə dəfə yuyulur (fenolftaleinlə mənfi reaksiya alınana kimi) və qıfdan CaCl₂ buraxılaraq qurudulur.

Nəticənin hesablanması. Lipazanın aktivliyi 10 q toxumaya görə 0,1 N NaOH-la ifadə olunur. Hesablama aşağıdakı tənliklə aparılır:

$$x = \frac{(a \cdot T - b \cdot T) \cdot 10}{N}$$

burada: x – lipazanın aktivliyi

a – təcrübi variant üçün sərf olunmuş 0,1 N NaOH-ın miqdarı, ml-lə,

b - kontrola sərf olunan 0,1 N NaOH-ın miqdarı, ml-lə,

N – nümunənin çəkisi, qramla

II BÖLMƏYƏ AID SUALLAR

1. Fermentlər nədən təşkil olunmuşlar?
2. Koferment və prostetik qrup nə deməkdir?
3. Fermentlərin hansı mühüm xassələrini bilirsiniz?
4. Fermentləri materialdan ayırarkən hansı qaydalara əməl edilməlidir?
5. Amilazanın iştirakı ilə nişastanın parçalanması reaksiyasını yazın.
6. Fermentlərin spesifikliyini hansı təcrübə ilə müəyyənləşdirmək olar?
7. pH fermentin fəallığına necə təsir göstərir?
8. Katalaza və peroksidaza fermentlərinə aid təcrübələri təsvir edin.
9. Askorbinatoksidaza fermentinin fəallığını təyin etmək üçün təcrübə necə aparılır?
10. Lipaza fermenti nə kimi təsirə malikdir?

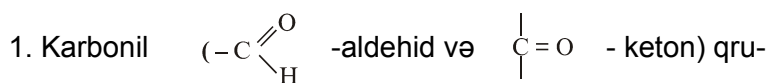
IV BÖLMƏ

KARBOHİDRATLAR

Karbohidratlar təbiətdə, xüsusən bitkilər aləmində ən geniş yayılmış maddələrdir. "Karbohidrat" termininin meydana çıxması bu sinfin nümayəndələrinin öyrənilməsi zamanı ilkin tədqiqatlarda C, H və O elementləri nisbətlərinin C və suyun (H₂O) birləşməsinə uyğun gəlməsi ilə əlaqədardır və C_n(H₂O)_n formulu ilə ifadə oluna bilər. Sonradan məlum oldu ki, karbohidratların hamısı bu formulaya uyğun gəlmir. Buna misal ramnoza (C₆H₁₂O₅), 2-dezoksi-D-riboza (C₅H₁₀O₄), D-diqitoksoza (C₆H₁₂O₄), nadir və şaxələnmiş şəkildə olan streptoza (C₆H₁₀O₅) və s. ola bilər. Sonuncu şəkər molekuluna 2 aldehid və bir metil qrupu daxildir. Metil qrupu diqitoksozada da var. Bundan başqa karbohidratlara aid olmayan sirkə turşusu (C₂H₄O₂) yuxarıdakı formulaya uyğun gəlir. Beləliklə karbohidrat məfhumu tarixi ad kimi saxlanılmışdır.

Çoxatomlu spirtlərin aldehid və ketonları və onların polimerləri olan karbohidratlar energetik, plastik, müdafiə, dayaq, tənzimləyici, ehtiyat və s. kimi mühüm funksiyalar daşıyan maddələr olmaqla yanaşı, orqanizmlərin həyat fəaliyyətini təmin etməkdə əhəmiyyətinə görə heç də zülallardan geri qalmırlar.

Sadə şəkərlər və ya monosaxaridlər (C₃–C₁₀ aldo- və keto şəkərlər) hidroliz olunurlar. Onlardan °-D(+)-qlükopiranoza təbiətdə sərbəst halda rast gələn ən davamlı şəkər kimi istisna olmaqla, qalanları maddələr mübadiləsi proseslərində I və II dərəcəli mürəkkəb şəkərlərdən əmələ gəlir. Fotosintez prosesi təbiətdə mövcud olan karbohidratların əsas mənbəyidir. Bundan başqa çoxlu digər biosintez yolları mövcuddur. Onlardan yağlar və zülallardan başlayan qlükoneogenezlər mühüm yer tutur. I dərəcəli poliozalar (oligoşəkərlər) və ondan çox monozadan ibarət II dərəcəli poliozalar (həqiqi qlikanlar, homo və heteropolisaxaridlər) hidrolizə (qeyri fermentativ və fermentativ yolla) məruz qalaraq monomerləri olan müxtəlif sadə şəkərləri əmələ gətirirlər. Karbohidratlar xüsusən monozalar labil birləşmələrdir və üç əsas tip çevrilmələrə məruz qala bilərlər.



punun iştirakı ilə gedən oksidləşmə-reduksiya, əvəz olunma reaksiyaları, aldon turşularının alınması və s.

2. Hidroksil (spirt—OH) qruplarının iştirakı ilə gedən reaksiyalar. Buraya müxtəlif efirlərin karbonil törəmələrinin, uron turşularının, qlikozidlərin, anhidridlərin, dezoksişəkərlərin alınması ilə əlaqədar olan reaksiyalar aiddir.

3. Karbon skeletinin dəyişməsi ilə əlaqədar olan reaksiyalar. Buraya monoza skeletinin uzanması, qısalması, izomerlər əmələ gətirməsi, müxtəlif törəmələr və üzvi maddələrin digər siniflərinə mənsub olan nümayəndələrinin əmələ gəlməsi və s. misaldır. Monoşəkərlərin reaksiya qabiliyyəti funksional qruplardan, konformasiyalardan, reaksiya mühitindən və s. asılıdır. Aşağıda nəzərdən keçirəcəyimiz keyfiyyət reaksiyaları əsasən karbon skeletinin dəyişməsi karbonil qrupunun iştirakı və bəzi digər spesifik xassələrə əsaslanır.

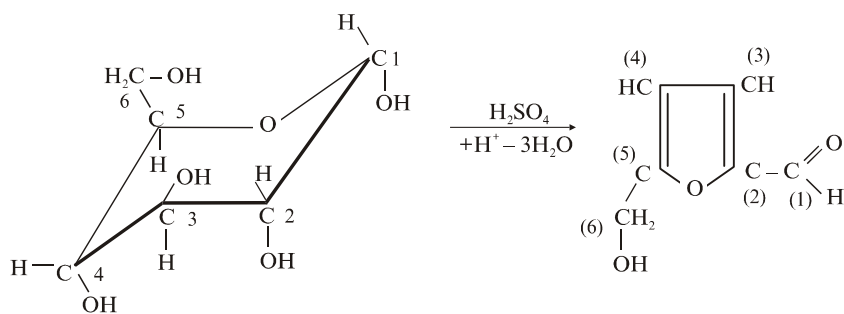
İŞ 52

MONOZALARA AID REAKSIYALAR

PODOBEDOV–MOLIŞ REAKSİYASI

(α -NAFTOLLA REAKSİYA)

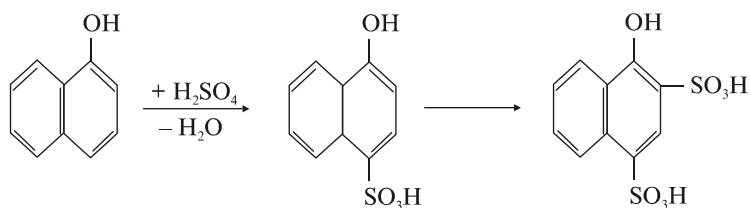
Bu reaksiya şəkərləri müşahidə etmək üçün həssas reaksiyalar sırasına daxildir. Onun vasitəsilə mürəkkəb maddələrin, məsələn zülalların tərkibində olan şəkər komponentlərini də aşkar etmək olur. Reaksiyanın mahiyyəti ondan ibarətdir ki, şəkər komponenti, məsələn qlükoza, mineral turşu (bizim halda sulfat turşusu) təsirindən 3 molekul su itirərək oksimetilfurfurola, ksiloza və ya arabinoza furfurola çevrilirlər. Öz növbəsində α -naftol sulfat turşusu mühitində sulfolaşır və furfurol və ya oksimetilfurfurola xinoid təbiətli rəngli məhsullar emələ gətirir



α - D - qlükopiranoza

oksimetilfurfurol

Yuxarıda α -D-qlükopiranoza ən davamlı konformer şəklində (C-1 konformasiya - *Chair* ingiliscə "kürsü" sözünün baş hərfi) yazılmışdır.



α - naftol
(1-oksinaftalin)

4 - sulfo - α - naftol (1
-oksi - 4
sulfonaftalin)

2,4 - sulfo - α - naftol (1
-oksi - 2,4 sulfonaftalin)

Reaktivlər:

1. 5%-li monosaxarid (qlükoza, fruktoza, mannoza,

qalaktoza, ramnoza, arabinoza, ksiloza və s.)

2. 1%-li α -naftol (spirtdə)
3. Qatı H_2SO_4
4. Timolun 1%-li spirtli məhlulu

İşin gedişi

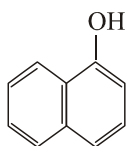
İki sınaq şüşəsinin birinə 5 ml yoxlanılan monosaxarid məhlulu digərinə eyni miqdarda distillə suyu (yoxlama variantı) götürüb hər iki sınaq şüşəsinə 1 ml α -naftol və şüşənin divarı ilə ehtiyatla 3 ml qatı H_2SO_4 əlavə etməli. Çalışmaq lazımdır ki, sınaq şüşələri silkələnməsin. Onlar ştativdə bir qədər qalır, turşu dibə keçir və bir neçə dəqiqədən sonra iki məhlulun sərhəddində qırmızı-bənövşəyi rəngli halqa aydın görünür. Yoxlama variantında belə rəng əmələ gəlmir.

Sınaq şüşəsinə saxaroza (0,1%), zülal məhlulu götürüb təcrübəni bu dəfə timolla təkrar edin və nəticələri dəftərə qeyd edin.

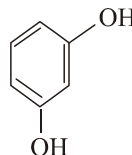
İŞ 53

TOLLENS NÜMUNƏSİ

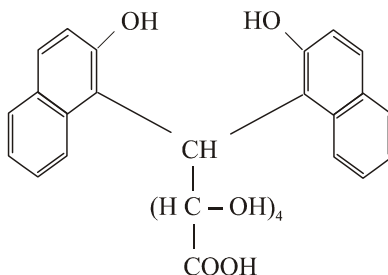
Naftorezorsinlə karbohidratların əmələ gətirdiyi rənglərin xarakterinə görə onları birindən ayırmaq mümkündür. Adətən Tollens nümunəsini uron turşularını müşahidə etmək üçün tətbiq edirlər. Sonuncu spirt qrupunun karboksil qrupuna qədər oksidləşməsi nəticəsində müvafiq monozadan əmələ gələn uron turşusu adətən naftorezorsinlə bənövşəyi rəngli məhlul əmələ gətirir.



α - naftol



rezorsin



Dinaftolqlükuzonat

Adətən şəkərlər oksidləşdiricilərə qarşı qələvi mühitdə həssasdırlar. Çünki qələvi mühitdə şəkər molekulası asanlıqla enollaşır. Karbon skeleti izomerləşə və ya parçalana bilər. Aldon turşuları (aldehid qrupunun karboksilə qədər oksidləşməsi zamanı alınan turşular) və poliollar da şəkərlərə aid olan bəzi xarakterik reaksiyaları verir.

Şəkərlərin həmçinin aromatik sistemlərlə kondensasiya reaksiyasına daxil olması və rəngli məhsullar əmələ gətirməsi artıq bizə məlumdur. Elə qlükuron turşusu da naftorezorsinlə kondensasiya olunub dinaftilglükuronat əmələ gətirir.

Qlükuron turşusu naftorezorsinlə bənövşəyi, maltoza və qalaktoza göy-yaşıl rəngləri əmələ gətirirlər.

Reaktivlər:

1. 5%-li qlükoza, fruktoza, mannoza, qalaktoza, ramnoza, arabinoza, ksiloza, dezoksiriboza məhlulları

2. Etanolda 2%-li naftorezorsin (əlavələr 21)

3. Qatı xlorid turşusu (HCl)

4. Benzol

İşin gedişi

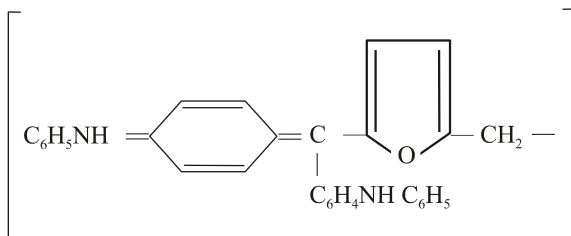
7 sınaq şüşəsinə növbə ilə bərabər miqdarda (5 ml) qlükoza, fruktoza, mannoza, qalaktoza, ramnoza, arabinoza, ksiloza məhlullarını götürüb hər birinə 0,5 ml naftorezorsin və 1 ml qatı xlorid turşusu əlavə edərək onları qızdırır və 1-2 dəqiqə qaynadırıq. Sınaq şüşələrini soyudub onlara eyni miqdar mövcud həcm qədər benzol əlavə edir və qarışdırırıq. Məhlullar tədricən ayrılarkən əmələ gələn rəngləri müşahidə etməli və dəftərdə qeyd etməli. 2-ci, fruktoza olan şüşədə rəng əmələ gəlmir. Qlükoza, mannoza, qalaktoza göy-yaşıl, ramnoza bənövşəyi, arabinoza və ksiloza isə tünd göy rəng verir.

Tollens sınağını apararkən benzol əvəzinə efir də götürmək olar.

Bu nümunə vasitəsilə ayrıca götürülmüş monoza məhlullarından başqa, tərkibinə hər hansı bir monoza daxil olan maddə və ya onun su ekstraktında monozaları da müşahidə etmək olar.

Digər bir təcrübə vasitəsilə qarışıqda reduksiya qabiliyyətinə malik olan şəkərləri aşkar etmək mümkündür. Bunun üçün əvvəlcədən tərəzidə 0,005 q dinitrobenzol çəkib (analitik tərəzidə çəkmək daha məqsədəuyğundur) onu sınaq şüşəsinə keçirir və 5-6 damla efir vasitəsilə həll edirik. Sınaq şüşəsinə mantar tıxacla bağlamaq olar. Sonra həmin sınaq şüşəsinə tədqiq olunan maddədən narın halda az miqdar və ya ekstraktan 1-2 ml töküüb qarışıqda 2 ml su və 2-3 damla 1,0 N NaOH məhlulu əlavə edərək şüşəni qızdırırıq.

Sınaq şüşəsində aşağıdakı quruluşlu müvafiq rəngli birləşmənin əmələ gəlməsi (adətən tünd-bənövşəyi) mühitdə reduksiya qabiliyyətinə malik şəkərin olduğunu göstərir.



KETOHEKSOZALARA MƏXSUS

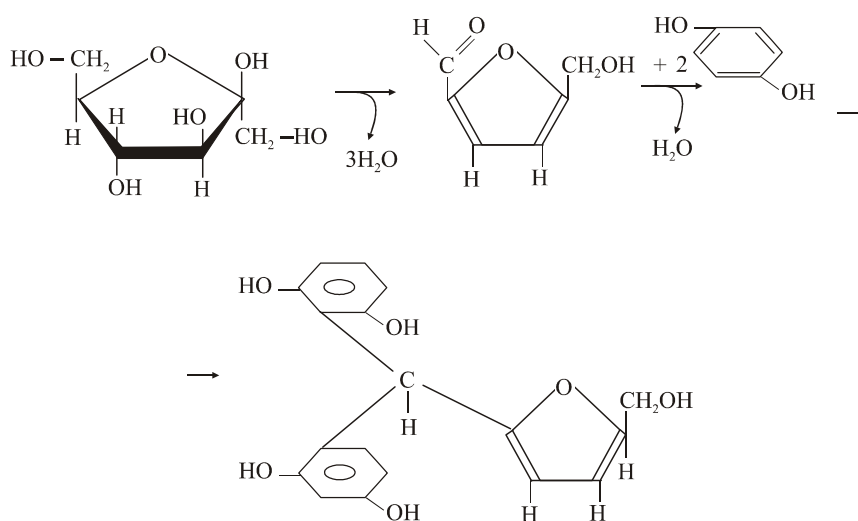
SELIVANOV REAKSIYASI

Fruktoza və digər ketoheksoza məhlullarını xlorid turşusunda həll edilmiş rezorsin məhlulu ilə birlikdə qızdırdıqda qırmızı-albalı rəngli birləşmə alınır. Kondensasiya məhsulunun əmələ gəlməsi üçün fruktoza turşu mühitdə 3 molekul su itirərək oksimetilfurfurola çevrilməlidir (44 sayılı işə bax).

Xüsusi mühit yaradıldıqda (müvafiq temperatur və pH mühitində) aldoheksozalar da bu reaksiyanı verirlər

Reaktivlər:

1. 5%-li fruktoza və qlükoza
2. Selivanov reaktivi (əlavələr, 22)



Güman olunan alizarin tipli rəngli kompleks

İşin gedişi

İki sınaq şüşəsinin hər birinə 5 ml Selivanov reaktivi, birinə 1 ml fruktoza, ikinciyə həmin miqdarda qlükoza əlavə edib onları temperaturu $70-80^\circ\text{C}$ olan su hamamında 3-5 dəqiqə saxlayırıq. Birinci sınaq şüşəsində xarakterik rəng əmələ gəlir.

İŞ 55

KARBOHIDRATLARIN KARBAMIDLƏ

KEYFIYYƏT REAKSIYASI

Aldoza və ketozalar qatı xlorid turşusu mühitində karbamidlə (sidik cövhəri) reaksiyaya girərək onları ayırmağa imkan verən müxtəlif rənglər əmələ gətirirlər. Aldoheksozalar qırmızı, fruktoza isə firuzəyi-göy rəngli maddələrin əmələ gəlməsinə səbəb olur.

Reaktivlər:

1. 5%-li fruktoza və qlükoza
2. Kristallik karbamid
3. Qatı xlorid turşusu

İşin gedişi

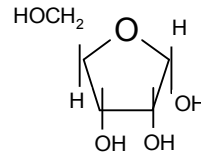
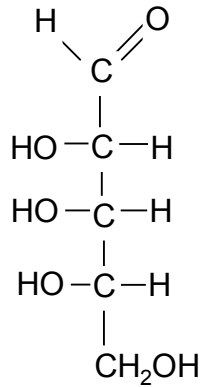
2 çini (oda davamlı) qaba 1,5-2 q kristallik sidik cövhəri kristalları yerləşdirib onu 2,5-3 ml xlorid turşusu vasitəsilə islatmalı. Birinci qaba 2 ml qlükoza, ikinciyə həmin miqdarda fruktoza töküb şüşə çubuq vasitəsilə qarışdırmaqla karbamid kristallarının həll olunmasına nail olmalı. Qabları qaynayan su hamamına yerləşdirib vaxtı qeyd edirik. İndi məhlulu qarışdırmadan 5-10 dəqiqə ərzində qablarda rəngli halqanın əmələ gəlməsini müşahidə edirik. Qırmızı halqa qlükozaya, ikinci qabdakı firuzəyi-göy rəng isə fruktozaya məxsusdur.

İŞ 56

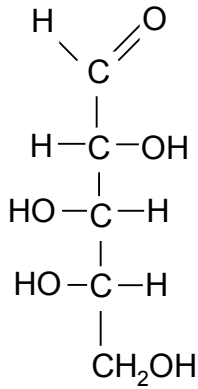
PENTOZALARIN MÜŞAHİDƏ EDİLMƏSİ

(Bial reaksiyası)

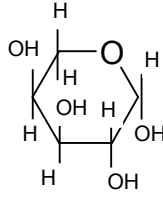
Canlı orqanizmlərdə pentozalar adətən birləşmiş formada olur. Birləşmələrin bu sinfinin iki nümayəndəsi – riboza və dezoksiriboza çox mühüm bioloji əhəmiyyətə malikdirlər, çünki bu pentozalar nuklein turşularının (RNT, DNT), eləcə də, NAD, FAD və NADF kimi vacib kofermentlərin tərkib hissəsidir. Bitki hüceyrələrin qılafları ksiloza və arabinozadan təşkil olunmuş polisaxaridlərdən qurulublar. Ribuloza fotosintez prosesində böyük rola malikdir, çünki fosfat efiri şəklində karbon qazını birləşdirir:



α -D-ribofuranosa



α -arabinoza



α -D-arabinopiranoza

Pentozaların aşkarlanması reaksiyaları əsasən karbohidratların furfurool və oksimetilfurfurola tsiklizasiyasına əsaslanır. Belə ki, pentolazalar güclü turş mühitdə furfurool əmələ gətirirlər ki, sonuncu, öz növbəsində, müvafiq reaktivlərlə müxtəlif rəngli birləşmələr verir. Riboza və digər aldopentozalar, eləcə də aldoheksozalar, qatı xlorid və sulfat turşusu mühitində sidik cövhəri ilə sarı rəngli birləşmələr verirlər.

Reaktivlər:

1. 5%-li riboza (arabinoza, ksiloza, ribuloza)
2. Anilin
3. 0,5%-li floroqlüsin (qatı xlorid turşusu)
4. Orsin reaktivi
5. 0,5%-li α -naftol
6. Sidik cövhəri
7. Buzlu sirkə turşusu
8. Qatı HCl

İşin gedişi

4 ədəd sınaq şüşəsinin hər birinə 3 ml pentoza məhlulu əlavə olunur (ədəd müqayisə məqsədilə bir neçə pentozadan istifadə olunacaqsa, bu halda hər pentoza məhlulu üçün 4 sınaq şüşəsi hazırlanır). 1-ci sınaq şüşəsinə 3 ml qatı xlorid turşusu əlavə olunur, qaynaya qədər qızdırılır və soyudulur. Ayrıca götürülmüş sınaq şüşəsində bilavasitə işdən əvvəl anilin sirkə turşusu ilə qarışığı (1:1 həcmdə) hazırlanır. Tədqiq olunan soyudulmuş məhlulun üzərinə bu qarışıqdan 3 ml əlavə olunur və qırmızı rəngin əmələ gəlməsi müşahidə olunur.

2-ci sınaq şüşəsindəki pentoza məhlulünün üzərinə 5-6 ml floroqlüsünün xlorid turşusunda məhlulu əlavə olunur və qaynaya qədər qızdırılır. Qızdırılma zamanı qırmızı-albalı rəng əmələ gəlir (anilinnə gedən reaksiyanın məhlullarının rəngi ilə müqayisə etmək lazımdır).

3-cü sınaq şüşəsinə 5-6 ml isti orsin reaktivi (ayrıca sınaq şüşədə qızdırılır), 4-cüyə isə – yavaş-yavaş qarışdırmadan 3-5 ml α -naftol məhlulu əlavə olunur. Orsinnə gedən reaksiyada yaşıl α -naftolla isə göy (iki mayenin sərhədində tünd-göy halqa) rəngli məhsullar əmələ gəlir.c

Ayrıca, yalnız aldopentolazaları aşkar etmək imkanını verən, sidik cövhəri ilə reaksiya aparılır. Bu məqsədlə iki farfor (çini) çəşkalərin hər birinə 2 q kristallik sidik cövhəri və 3 ml qatı HCl əlavə olunur. Sidik cövhəri həll olunduqdan sonra çəşkalərdən birinə 2 ml riboza (və ya digər aldopentoza), digərinə isə 2 ml ribuloza (və ya digər pentoza) məhlulu əlavə olunur.

Çaşkalar su hamamına yerləşdirilir, 1-ci çaşkada sarı halqanın əmələ gəlməsi müşahidə olunur, 2-cidə isə reaksiya mənfə olmalıdır.

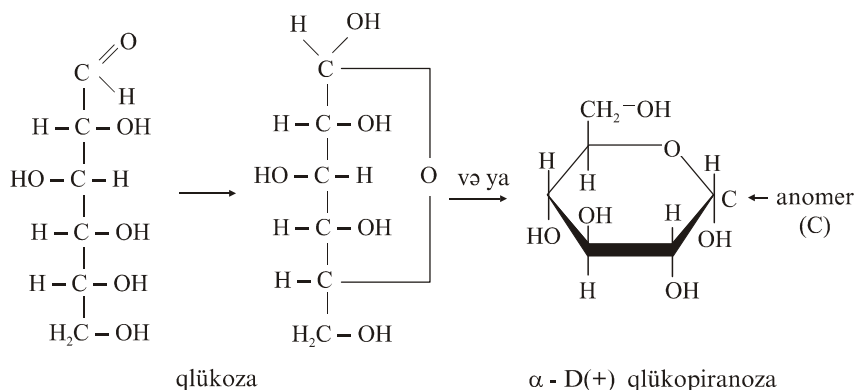
Bütün müşahidələr və nəticələr iş dəftərinə yazılmalıdır.

KARBONİL QRUPU ÜZRƏ KARBOHİDRATLARA

MƏXSUS REAKSIYALAR

Sadə şəkərlərdə karbonil qrupu (sərbəst aldehid və keton qrupları) yüksək reaksiya qabiliyyətlə malik olduğundan onlar ən müxtəlif kimyəvi çevrilmə reaksiyalarına məruz qala bilərlər. Sadə şəkərlərin məhlullarda tsiklik vəziyyətlə (99%) düşməsinə nəzərə alsaq, yarımasetal və ya tautomer formada mövcud olan şəkərdə karbonil qrupunun anomer karbonu (iki oksigen atomu ilə birləşən yeganə "C"- atomu) izafi mənfə yükə ($-^{\circ}$ yük) malik olaraq daha çox aktivləşmiş olur.

Karbonil qrupunun daxil ola bildiyi reaksiyalarına, əvəz olunma, oksidləşmə-reduksiya reaksiyaları, aldona turşuları törəmələrinin alınması, lakton halqasının açılması və s. misaldır.

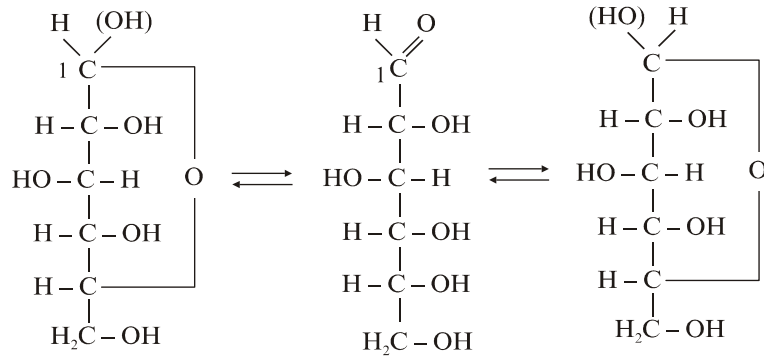


Mühitdən asılı olaraq gedə bilən bu proseslərdən, oksidləşmə reaksiyaları qələvi mühitdə asanlıqla gedə bilər. Bu zaman karbonil qrupu karboksilə qədər oksidləşir və müvafiq aldona turşusu əmələ gəlir. Monosaxaridlərin bir sıra zəif oksidləşdiricilərlə vasitəsilə qələvi mühitdə və yüksək temperaturda asanlıqla oksidləşməsi onların miqdarcə təyin olunması reaksiyalarında geniş tətbiq olunur. Belə oksidləşdiricilərə 2-valentli misin, vismut və gümüşün duzları misaldır. Mis 2-sulfatın (CuSO_4) qələvidə Feliq I adlanan məhlulu miqdari analizdə tətbiq olunan maddələrdən biridir. Eyni zamanda Feliq II mayesi də geniş istifadə olunur.

İŞ 57

ŞƏKƏRLƏRİN REDUKSIYAETMƏ QABİLİYYƏTİ

Tərkibində sərbəst karbonil (aldehid və keton) və ya sərbəst qlükosid hidroksili olan bütün monoşəkərlər, həmçinin qismən mürəkkəb şəkərlər qələvi mühitdə mis, vismut, gümüş və s. metal ionlarını reduksiya etmə qabiliyyətlə malikdirlər.



β -D-qlükopiranoza

D-qlükozanın
aldehid forması

α -D-qlükopiranoza

Qlikozid, başqa sözlə, *yarımasetal hidroksil* şəkərlərin tsiklik formasında aldehid və keton qruplarının yerində əmələ gələn hidroksilə deyilir.

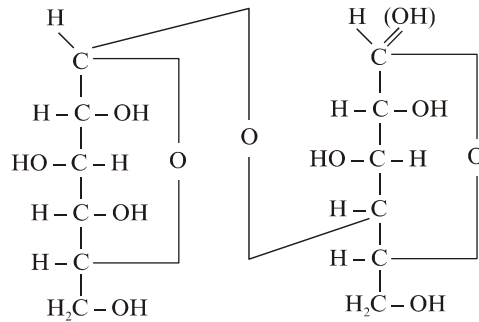
Yuxarıda göstərilən tsiklik formalarda 1-ci karbondakı, OH-

qrupu, $\begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C} \\ \diagup \text{H} \end{matrix}$ qrupunun yerində əmələ gəlir və sərbəstdir,

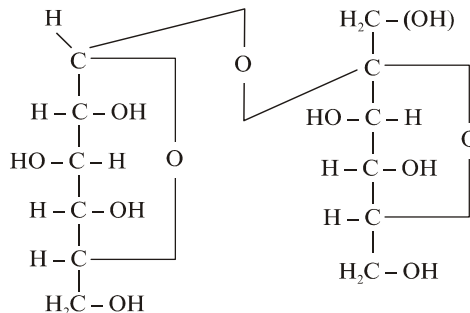
disaxarid maltozaya diqqət yetirsək isə, burada 2 molekul qlükoza birləşərkən qlükozid hidrksillərindən biri sərbəst qalır.

Qlükoza və fruktozadan əmələ gəlmiş saxaroza isə 2 heksoza qlükozanın aldehid və fruktozanın keton qrupu hesabına birləşmiş olduğundan burada sərbəst qlikozid hidrksili yoxdur. Deməli saxaroza reduksiyaetmə qabiliyyətinə malik deyildir.

Reduksiyaetmə prosesinin necə getdiyini mis duzu misalında göstərək.

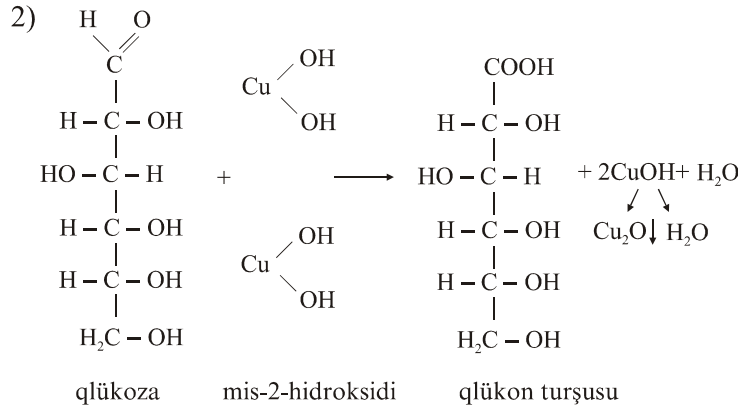
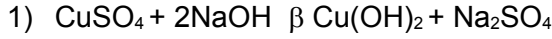


maltoza

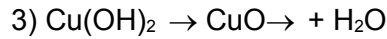


saxaroza

Trommerin təklif etdiyi bu təcrübədə CuSO_4 duzu qələvi mühitdə temperaturun təsirindən şəkərlərin iştirakı ilə mis 1 oksidə (Cu_2O) qədər reduksiya olunur. Reaksiya aşağıdakı kimi gedir:



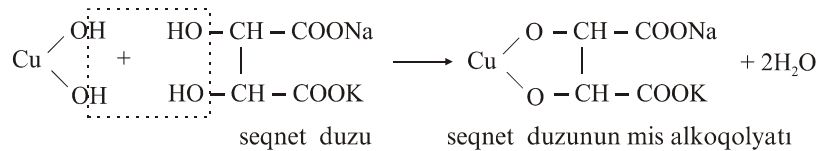
Qırmızı kərpic rəngli mis 1 oksidin əmələ gəlməsi, yoxlanılan şəkərin reduksiyaetmə qabiliyyətinə malik olduğunu göstərir. Trommer reaksiyasının çatışmayan cəhəti ondadır ki, mis duzunun artıq olması, qızdırarkən mis 2 oksidin əmələ gəlməsinə və mühitin bəzən qara rəngə boyanmasına səbəb olur.



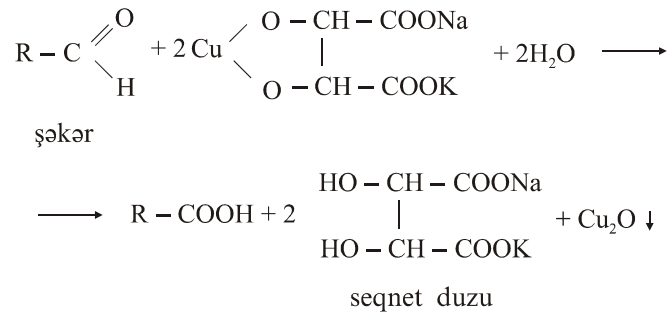
qara rəngdə

Bu hal qələvi çatışmadıqda da baş verir və ya qələvi çox götürüldükdə isə sarı rəngli CuOH alınır.

Xarakterik qırmızı kərpic rəngin, yəni Cu_2O alınması üçün CuSO_4 -lə yanaşı Felinq-2 mayesi adlanan stabilizatorlardan istifadə edirlər. Felinq-2 mayesi seqnet duzunun qələvidə məhluludur. Stabilizatorun mühitə daxil olması ilə reaksiya aşağıdakı şəkildə gedir. 1-ci reaksiyada əmələ gələn Cu(OH)_2 çöküntü verə bilmir və seqnet duzu ilə birləşib kompleks maddə əmələ gətirir. Reaksiya aşağıdakı kimi gedir.



Bu zaman əmələ gələn seqnet duzunun mis alkoqolyatı şəkərlə birləşərək aşağıdakı kimi reaksiyanın getməsinə səbəb olur və nəticədə seqnet duzu ayrılır.



Reaktiv və ləvazimat:

1. Ştativ, sınaq şüşələri və su hamamı
2. Pipetkalar
3. 5-10%-li qlükoza
4. 5-10%-li maltoza
5. 5-10%-li saxaroza
6. 10%-li NaOH
7. 1-5 %-li CuSO₄
8. Felinq-2 mayesi (əlavələr, 23)
9. 10%-li NH₄OH
10. Nilander reaktivi (əlavələr, 24)
11. 5 %-li AgNO₃
12. 5 %-li mis asetat ((CH₃COO)₂Cu)
13. 5 %-li natrium asetat
14. 1 %-li sirkə turşusu (CH₃COOH)

İşin gedişi

A. Trommer sınağı

Təmiz quru sınaq şüşəsinə 1-2 ml yoxlanılan şəkər məhlulu, şəkər məhlulu həcmnin yarısı qədər NaOH və 4-5 damla CuSO₄ məhlulu töküb qaz üzərində qaynayana qədər qızdırırıq. Əmələ gələn rəngi əyani görmək üçün sınaq şüşəsinə maili tutub məhlulun üst səthi qızdırılır. Nəzərdə tutmaq lazımdır ki, həddən çox qızdırma və uzun müddətli qaynatma zamanı reduksiyaetmə qabiliyyətinə malik olmayan şəkərlər də qismən hidrolizə uğrayıb müsbət reaksiya verə bilər. Əmələ gələn rəngi və onun səbəblərini izah etməli.

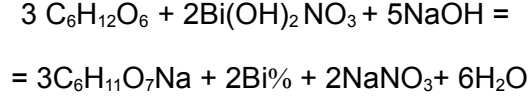
B. Felinq sınağı

Sınaq şüşəsinə 1 ml yoxlanılan şəkər məhlulu, 1 ml Felinq 2 mayesi və 4-5 damla CuSO₄ məhlulu töküb maili vəziyyətdə məhlulun üst səthini qızdırırıq.

Bu dəfə əmələ gələn rəngin nə üçün xarakterik olduğunu izah edin.

C. Nilander sınağı

Bu sınaq bismut duzlarından bismutun metallik formaya qədər reduksiya olunduğunu göstərir. Sınaq şüşəsinə 1-2 ml yoxlanılan şəkər məhlulu götürüb üzərinə bir neçə damla Nilander reaktivi əlavə edib qızdırdıqda qara rəngli metalının bismut çökməsi müşahidə edilir. Reaksiya aşağıdakı şəkildə gədir.



Ç. Gümüş güzgü sınağı

Bu sınaqda gümüş metalının reduksiya olunması göstərilir.

Sınaq şüşəsinə 1-2 ml təzə hazırlanmış $AgNO_3$ məhlulu götürüb, üzərinə damla-damla ammonium hidroksid əlavə edilir və boz rəngli çöküntü alınır. Çöküntü həll olana qədər qələvini əlavə etməli. Daha sonra sınaq şüşəsinə 2-3 ml 5%-li qlükoza əlavə edib qaynar su hamamına yerləşdiririk. Bir müddətdən sonra sınaq şüşəsinin divarlarında gümüşün çökdüyü müşahidə edilir. Bunu daha aydın görmək üçün sınaq şüşəsi soyudulub içərisindəki məhlul atılır.

Bu zaman reaksiya aşağıdakı şəkildə gədir.

- $AgNO_3 + 3NH_4OH = [Ag(NH_3)_2]OH + NH_4NO_3 + 2H_2O$
- $C_6H_{12}O_6 + 2[Ag(NH_3)_2]OH = C_6H_{11}O_7NH_4 + 2Ag\% + 3NH_3 + H_2O$

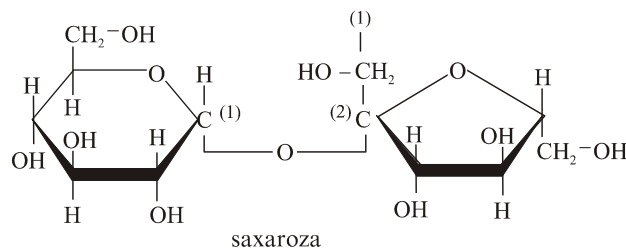
Gördüyümüz kimi burada heksozadan, qlükon turşusunun ammonium duzu əmələ gəlir və gümüş metalı sərbəst olaraq ayrılır.

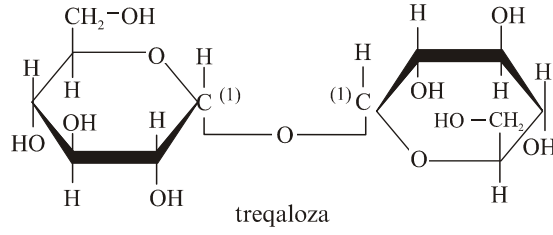
İŞ 58

DISAXARIDLƏR

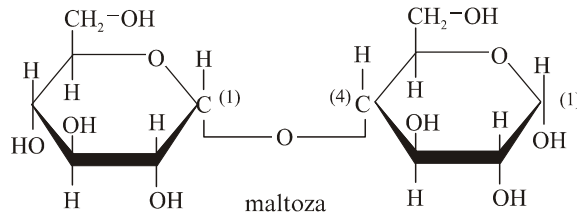
Onlar birinci dərəcəli mürəkkəb şəkərlərə aid olub, oliqo-şəkərlər sırasına daxildirlər. "Oliqos" yunanca bir qədər deməkdir. 2, 3 və 4 monoza qalığından əmələ gələn oliqoşəkərlər müvafiq olaraq di-, tri-, tetrasaxaridlər adlanır. Disaxaridlər, ↓ monozanın qlikozid hidroksili, o birinin hidroksil qrupu hesabına əmələ gəldiyindən, öz mahiyyəti etibarilə qlikozidlərdir.

Reduksiyaetmə qabiliyyətinə görə disaxaridlər 2 tipə: maltoza və treqaloza tiplərinə ayrılır. Treqaloza tipli disaxaridlərdə monozaların birləşməsi qlikozid hidroksilləri hesabına olduğundan onlar reduksiyaetmə qabiliyyətinə malik olmur. Buraya saxaroza və treqaloza aiddir.





Göründüyü kimi saxaroza qlükoza və fruktozadan, treqaloza isə, 2 molekul qlükozadan emələ gəlmişdir. Maltoza tipli şəkərlərdə isə 2 monozanın birləşməsi qlikozid hidrksili hesabına olmadığından onlar reduksiyaetmə qabiliyyətinə malikdir.



Disaxaridlərin digər nümayəndələri - maltoza, melibioza, sellobioza maltoza tipli şəkərlərə aiddir.

Disaxaridlər fermentativ yolla və ya mineral turşular vasitəsilə, onları təşkil edən monozalara qədər parçalanır. Daha doğrusu, hidrolizə uğrayırlar. Bu zaman saxaroza, qlükoza və fruktozaya; treqaloza isə 2 molekul qlükozaya parçalanaraq digər disaxaridlər kimi Feling mayesi ilə müsbət reaksiya verirlər.

Reaktiv və ləvazimat:

1. 5 I-li maltoza, laktoza və saxaroza
2. 5 %-li NaOH
3. 5 %-li CuSO₄
4. Qatı HCl
5. Qatı H₂SO₄
6. 250 ml-lik Erlenmeyer kolbaları
7. Hava soyuducuları
8. Su hamamı
9. Sınaq şüşələri
10. Qırmızı lakmus kağızı

İşin gedişi

a) sınaq şüşəsinə eyni miqdarda (2-3 ml) maltoza, laktoza və saxaroza məhlulları töküb üzərinə 1 ml NaOH və 4-5 damla CuSO_4 əlavə edib Trommer sınağında olduğu kimi məhlulun üst səthi qaynayana qədər qızdırılır.

b) Həmin təcrübəni Felinq 1 və 2 mayelərinin qarışığı ilə təkrar etməli.

c) *Mineral turşularla saxarozanın hidrolizi.* Saxaroza götürülmüş sınaq şüşəsində mis-1-oksidin əmələ gəlmədiyini müşahidə etdikdən sonar, 2 ədəd Erlenmeyer kolbasının birinə 4-5 ml qatı HCl və digərinə qatı sulfat turşusu götürüb hər ikisinə 10-15 ml saxaroza əlavə edirik. Kolbalara müvafiq hava soyuducusu keçirib su hamamına yerləşdiririk. 25-30 dəqiqədən sonra hidrolizin başa çatdığını yoxlamaq üçün əvvəlcə sulfat turşusu götürülmüş kolbadan, sonra isə digərindən 1-2 ml məhlul sınaq şüşələrinə keçirilir. Sınaq şüşələrini əvvəlcə soyudur və qırmızı lakmus kağızının iştirakı ilə NaOH vasitəsilə məhlullar neytrallaşdırılır. Sonra hər 2 sınaq şüşəsində Trommer və ya Felinq sınağı aparılır. Qırmızı kərpici rəngin əmələ gəlməsi hidrolizin başa çatdığını göstərir. Əks halda kolbaları hamamda bir qədər də saxlamaq olar.

Qeyd etmək lazımdır ki, həddən çox və uzun müddət saxarozanın turşularla birlikdə qızdırılması yaxşı nəticə vermir. Çünki bu halda əmələ gələn monoşəkərlər də yana bilər. Xüsusilə bu sulfat turşusu ilə təcrübəyə aiddir. Bu təcrübədə kolbalara tökülən saxarozanın miqdarının azaldılması mümkündür.

İŞ 59

MÜRƏKKƏB ŞƏKƏRLƏR

(ikinci dərəcəli poliozalar)

Buraya əsasən iri molekul kütlələri olan və su ilə kolloid məhlulları əmələ gətirə bilən şəkərlər aiddir. Nişasta, inulin, qlikogen, sellüloza, hemisellülozalar, pektin maddələri, qalaktanlar aqar-aqar, bir qrup selikli maddələr, ksilanlar, qismən az rast gəlinən kalloza, lixenin, dekstranlar və digər şəkər tipli maddələr II dərəcəli poliozalara aiddirlər.

Bu şəkərlərin əksəriyyəti bitkilərdə ehtiyat qida maddəsinin böyük hissəsini təşkil edir. Yüksək mollekullu karbohidratlar bitki və heyvan orqanizmində gedən maddələr mübadiləsində, qidalanmada, bir çox sənaye sahələrində mühüm rol oynayır. Onların xarakterik nümayəndələrindən nişastanı göstərmək olar. Qeyd etməliyik ki, nişastanın şəkər hissəsi 2 mürəkkəb şəkərdən, amiloza və amilopektindən təşkil edilmişdir.

Nişasta bir cinsli maddə olmayıb tərkibində fosfat turşusu, müxtəlif yağ turşuları və s. maddələrə rast gəlinir. Nişastanın mühüm xassələrindən biri, onun kalium yodid məhlulunda həll edilmiş yodla göy rəng əmələ gətirməsidir. Göy rəngin əmələ gəlməsi, görünür nişastanın yodla adsorbsion və kimyəvi birləşmələr verməsilə izah edilir. Soyuq suda nişasta yalnız şişir, lakin həll olmur. Turşu ilə hidroliz zamanı 96,1-97,6% qlükoza əmələ gətirir. Aralıq məhsullar olaraq əvvəlcə müxtəlif molekul kütləli dekstrin adlanan mürəkkəb şəkərlər əmələ gəlir. Hidrolizin ilk məhsulları öz xassələri etibarilə nişastadan az fərqlənir. Sonrakı məhsulların molekul kütlələri get-gedə azalır. Reduksiyaetmə qabiliyyəti artır. Bu dekstrinlər aşağıdakılardır.

1) *Amilodekstrinlər* - 25%-li spirtde həll olan ağ rəngli maddələr olub yodla bənövşəyi göy rəng əmələ gətirirlər.

2) *Eritrodekstrinlər* - mülayim etil spirtində sferik şəkilli kristallar şəklində çöküntü əmələ gətirir. Yodla qırmızı qonur rəng verirlər.

3) *Axroodekstrinlər* - isti 70%-li etil spirtində həll olur və buxarlandırıldıqda sferik kristallar şəklində spirt məhlulundan ayrılır. Yodla rəng əmələ gətirmirlər.

4) *Maltodekstrinlər* - spirt vasitəsilə çökmür və yodla rəng əmələ gətirmirlər. Maltodekstrinlərdən sonra hidroliz davam etdirildikdə maltoza və nəhayət qlükoza molekulları əmələ gəlir.

Reaktiv və ləvazimat:

1. 5 və 10%-li NaOH
2. 1%-li CuSO₄
3. Fellingq reaktiv
4. qatı və 25%-li HCl
5. qatı və 10%-li H₂SO₄
6. 1 və 0,1%-li nişasta
7. Lüqol reaktiv (əlavələr 25)
8. 7.0,1%-li qlikogen
9. Erlenmeyer kolbaları
10. Hava soyuducusu
11. Qırmızı lakmus kağızı

12. Sınaq şüşələri

13. Su hamamı

İşin gedişi

a) Sınaq şüşəsinə 5 ml 1%-li nişasta məhlulu götürüb üzərinə 2 ml 5%-li NaOH, 4-5 damla CuSO₄ əlavə edib su hamamına yerləşdiririk. Mis bir oksidin əmələ gəlib gəlmədiyini müşahidə edirik.

b) Sınaq şüşəsinə 5 ml 1%-li nişasta, 2-3 damla qatı HCl və ya H₂SO₄ töküb 10-15 dəqiqə müddətinə su hamamında yerləşdiririk. Sonra sınaq şüşəsi soyudulur, neytrallaşdırılır və Trommer sınağı vasitəsilə hidrolizin qurtarmasını yoxlayırıq.

c) Nişastanın hidrolizini saxaroza ilə olduğu kimi Erlenmeyer kolbasında aparıb hidrolizin qurtarmasını Trommer sınağı ilə yoxlayırıq.

Nişastanın hidroliz məhsullarının

müşahidə edilməsi.

ç) Məlum olduğu kimi nişasta və onun hidroliz məhsulları yodla müxtəlif rənglər əmələ gətirir. Hidrolizin sonuna yaxın və son məhsulları rəng vermirlər. Hidroliz nəticəsində dekstrinlər, maltoza və nəhayət qlükoza alınır.

Mikrokimyəvi sınaq şüşəsinə 15 damla nişasta və eyni miqdar sulfat turşusu tökürük. Məhlulu qarışdırıb oradan digər sınaq şüşəsinə 2 damla məhlul keçiririk. Həmin sınaq şüşəsində nişasta aşkar edilir. Birinci sınaq şüşəsinə qaynar su hamamına hidroliz üçün yerləşdiririk. Hər dəqiqədən bir sınaq şüşəsindən nümunə götürüb boş sınaq şüşəsinə keçiririk. Nümunə götürülməsi o vaxta qədər davam etdirilir ki, nəhayət heç bir rəng əmələ gəlməsin. Sonra hidrolizi başa çatmış məhlulda qlükozanın olub-olmadığını Trommer və ya Fellingq sınağı vasitəsilə yoxlamaq olar.

Sınaq şüşəsinə 2-3 ml 0,1%-li nişasta və 1 damla lüqol məhlulu əlavə edib əmələ gələn rəng müşahidə edilir. Sınaq şüşəsi qızdırıldıqda (qaz üzərində) məhlul yenidən şəffaflaşır. Soyutduqda rəng bərpa olunur.

d) nişastanı müşahidə etmək üçün bitki məhsullarından istifadə etmək olar. Bunun üçün dəni bitkilərdən taxıllar, paxlalı bitkilərin toxumları, kartof yumrusu və tərkibində nişasta olan başqa materiallar istifadə edilə bilər.

Məsələn, kartof yumrusundan kəsiklər götürüb əşya şüşəsində və ya farfor qabda yerləşdirilir. Kəsiklərin üzərinə 1 damla lüqol reaktivi əlavə etdikdə göy rəng əmələ gəlir.

Bitki toxumalarında digər şəkərlərin olmasını da müşahidə etmək olar.

Məsələn, inulini müşahidə etmək üçün yer armudu yumrusunu əvvəlcədən 14 gün müddətinə 50%-li etanolda saxladıqdan sonra, ondan kəsiklər hazırlayıb mikroskopla baxmaq olar. Hüceyrə divarlarında sferik formada inulin kristallarının ayrıldığını görmək olar.

e) sınaq şüşəsinə 2-3 ml qlükogen və 1-2 damla lüqol reaktivi əlavə edib qarışdırdıqda boz rəng alınır.

ə) inulin fruktofuranoza və az miqdar qlükopiranoza qalıqlarından təşkil olunduğundan, Selivanov sınağını verə bilər. Sınaq şüşəsinə 5 ml 0,1 %-li inulin, 1 ml 25 %-li HCl və bir neçə rezorsin kristalları əlavə edib qızdırırıq. Məhlul qırmızı rəngə boyanır (fruktoza ilə reaksiyaya bax, iş 46).

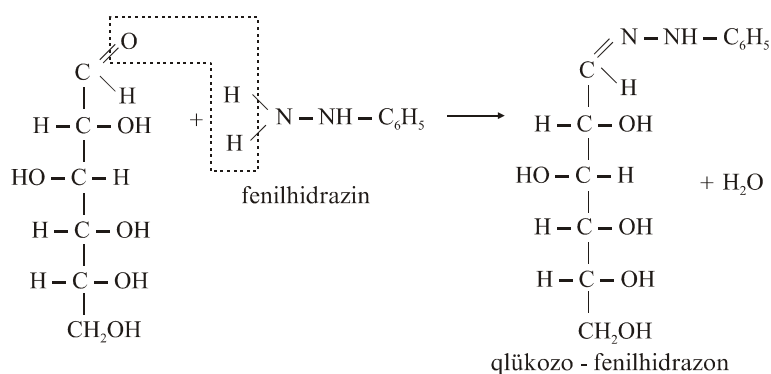
İŞ 60

SADƏ ŞƏKƏRLƏRİN FENILHIDRAZİN

SINAĞI İLƏ AŞKAR EDİLMƏSİ

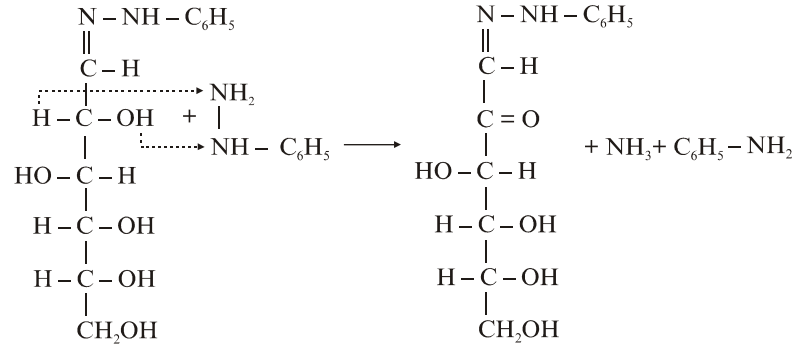
Fenilhidrazin sınağı sərbəst karbonil (aldehid və keton) qrupuna malik olan şəkərlər üçün həssas sınaq olub cüz%i miqdarda reduksiya qabiliyyətinə malik şəkərləri aşkar etməyə imkan verir. Reaksiya zamanı suda həll olmayan ozazonlar alınır ki, bu zaman kristalların formasına əsasən mühitdə hansı şəkər olduğunu müəyyənləşdirmək mümkündür. Məsələn, fenilhidrazin və sirkə turşusunun natrium duzu mühitində qlükoza incə saplaqlardan əmələ gəlmiş süpürgə, ulduz və başqa formalarda toplaşmış iynəvari kristallar əmələ getirir. Reaksiya aşağıdakı 3 mərhələdə gedir.

Birinci mərhələ

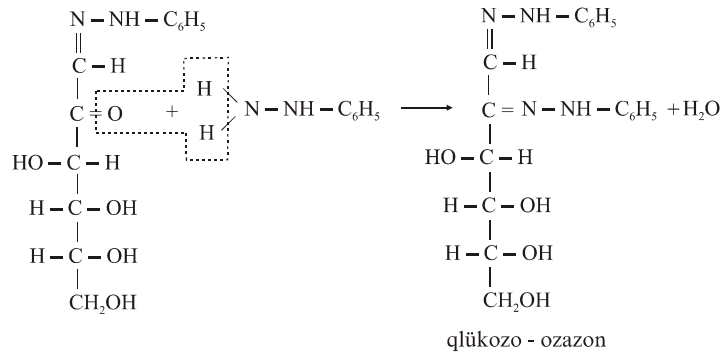


Burada fenilhidrazin qlükoza ilə birləşib qlükozo- fenilhidrazon əmələ gətirir.

İkinci mərhələdə fenilhidrazin əmələ gələn qlükozo-fenilhidrazonu oksidləşdirir. Qlükozofenilhidrazon 2-ci karbon atomunun yanındakı 2 H atomunu itirir və həmin yerdə yeni karbonil qrupu, yeni ketoqrup əmələ gəlir.



Üçüncü mərhələdə əmələ gələn ketoqrup yenidən fenilhidrazinlə reaksiyaya girərək qlükozo-ozazon kristallarını verir.

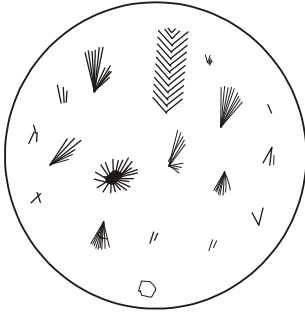


Reaktiv və ləvazimat:

1. Ştativ və sınaq şüşələri
2. Su hamamı
3. Buzlu su
4. Mikroskop
5. Əşya şüşəsi
6. Pipetka
7. Fenilhidrazin
8. Sirkə turşusunun natrium duzu (CH₃COONa)
9. 0,5 %-li qlükoza məhlulu

İşin gedişi

Sınaq şüşəsinə 100-150 mq fenilhidrazin, 200-300 mq CH₃COONa kristalları götürüb üzərinə 2-3 ml qlükoza məhlulu tökülür. Sınaq şüşəsinə qarışdırıb 30-40 dəqiqə müddətinə qaynar su hamamına yerləşdiririk. Arabir sınaq şüşəsinə qarışdırmalı.



Sınaq şüşəsində sarımtıl çöküntü alındıqda onları buzlu suya yerləşdiririk. Çox vaxt sarı çöküntü soyuq suya keçirildikdən sonra alınır. Kristalların formasını müşahidə etmək üçün pipetka vasitəsilə 1 damla məhluldan götürüb əşya şüşəsi üzərinə keçirib və mikroskopla baxırıq (şəkil 5).

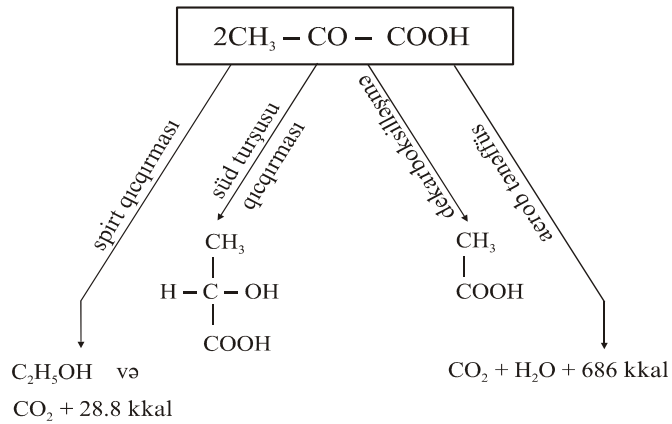
Şəkil 5

Təcrübəni digər şəkərlərlə aparıb kristalları müşahidə etməli. Bu dəfə hansı maddə əmələ gəldiyini reaksiya tənliyi vasitəsilə müəyyənləşdirməli.

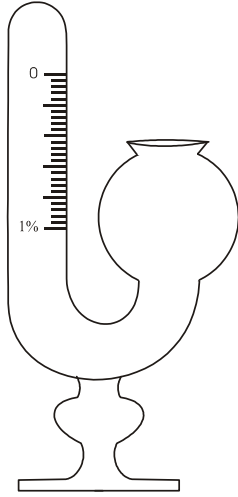
İŞ 61

QIQCIRMA NÜMUNƏSİ

Canlı orqanizmdə əsas tənəffüs materialı olan qlükoza anaerob yolla parçalanarkən əmələ gələn piroüzüm və ya süd turşusu, sonrakı parçalanma və çevrilmələr zamanı ən müxtəlif məhsullar əmələ gətirə bilər. Məsələn, bitki orqanizmində əmələ gələn piroüzüm turşusunun hansı məhsullar əmələ gətirə bildiyini aşağıdakı sxemdən görmək olar.



Beləliklə, orqanizmdə piroüzüm turşusu fermentativ yolla müxtəlif məhsullar əmələ gətirir. Qeyd etməliyik ki, sxemdə qıçırmanın yalnız 2 növü göstərilir. Lakin qıçırma prosesində digər son məhsullar da alınır. Qıçırma prosesi mikroorqanizmlərin təsiri ilə də gedə bilər. Bu proseslərdən şərabçılıqda, çörək bişirmə, pivə, sirkə istehsalı və s. sənayelərində geniş istifadə edilir. Adi maya (xəmir mayası) vasitəsilə qlükozanın etil spirti və karbon qazı əmələ gələnə qədər parçalanmasını Eynhorn cihazında müşahidə etmək olar (şəkil 6).



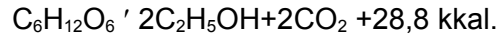
Şəkil 6

Göstərmək lazımdır ki, spirt qıçqırmasına heksoza, trioza və monoza uğraya bilərlər. Qıçqırma qabiliyyəti monoşəkərlərin konfigurasiyası və izomer formalarından da asılıdır. Məsələn, təbiətdə ən çox yayılmış qlükozanın D forması daha asanlıqla qıçqırır. Qıçqırmanı müşahidə etmək üçün burada da Eynhorn cihazından istifadə etmək olar.

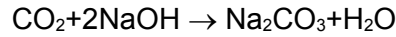
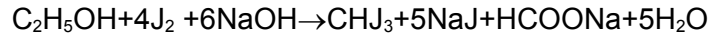
Cihazın içərisinə şəkər məhlulunda qarışdırılmış maya həlməşiyi töküb 30-35°C temperatur mühitinə yerləşdirildikdə mayanın fəallığından asılı olaraq 1-3 saatdan sonra CO₂ qazının köpük şəklində məhluldan

ayrıldığını müşahidə edərik. Proses tədricən getdikdə CO₂ borunun nazik (bağlı) hissəsinin yuxarı tərəfində toplanır.

Xüsusi dərəcələnməmiş cihazlarda toplanmış CO₂-nin həcmə miqdarına əsasən götürülmüş şəkərin faizini müəyyənləşdirmək olar. Qıçqırma zamanı həmçinin etil spirti əmələ gəlir. Prosesin cəm tənliyi belədir:



Boruda etil spirti alındığını, yodoform alınması reaksiyası ilə, CO₂-ni isə qələvi tərəfindən onun udulması ilə müəyyənləşdirmək olar.



Reaktiv və ləvazimat:

1. Təzə və ya quru maya
2. 5 %-li qlükoza
3. «Çaxır daşı» turşusunun 1 %-li məhlulu
4. 10 %-li NaOH
5. J-un KJ -da hazırlanmış məhlulu (Lüqol reaktivi, 25)
6. 2 ədəd Eynhorn cihazı
7. Həvəng-dəstə
8. Ölçü silindri
9. Termostat
10. Termometr
11. Sınaq şüşələri və ştativ
12. Kiçik qıf

İşin gedişi

İş aşağıdakı mərhələlərlə aparılır:

1. 1 q təzə maya, 5 ml distillə suyu ilə birlikdə farfor həvəngdə əzilir və qarışdırıb 30 ml su ilə kimyəvi stəkana keçirilir.

Stəkana 1 ml «çaxırdaşı» turşusunun məhlulu tökülür. Bu zaman pH-ı təxminən 5-6 olan mühit yaranır (lakmus kağızı ilə yoxlamalı). Belə mühidə qıcırma daha yaxşı gedir. Zəif üzvi turşu əvəzinə mineral turşu işlədilsə pH çox aşağı düşə bilər. Stəkandakı məhlulu Eynhorn cihazına maili vəziyyətdə elə boşaldırıq ki, bağlı hissə tamamilə dolsun və orada qabarcıq qalmasın. Cihazı tamamilə doldurmaq lazım deyil. Cihazda olan məhlul yoxlama məhluludur (su ilə). Nəzərdə tutmalı ki, maye tərkibində müəyyən qədər qlükoza ola bilər.

2. Paralel olaraq götürülmüş 1 q maya 5 ml 5 %-li qlükoza məhlulu ilə həvəngdə əzilib 30 ml həmin qlükoza məhlulu və 1 ml üzvi turşu iştirakı ilə kimyəvi stəkana, oradan da yuxarıdakı qayda üzrə Eynhorn cihazına keçirilir. Hər iki cihaz 30-37°C temperaturda termostata yerləşdirilir. Qıcırmanın müddəti maya göbələklərinin fəallığı, miqdarı, optimal mühidə (t° və pH) qlükozanın miqdarı, forması və digər amillərdən asılıdır. Qeyd etmək lazımdır ki, təzə maya olmadıqda fəallığını itirməmiş quru mayadan da istifadə etmək olar. Bu halda maya həvəngdə mülayim su və qlükoza məhlulu ilə əzildikdə daha yaxşı nəticə verir.

3. 30-180 dəqiqədən sonra hər iki cihaz termostatdan çıxarılır. Müddəti müəyyənləşdirmək üçün aradır qıcırmanın hansı sürətlə getdiyinə baxmaq olar. Kontrol cihazda məhlulun tərkibində şəkər olmadığı və ya cüzi olduğu halda cihazın bağlı hissəsində çox az qabarcıq yığılır. Təcrübə variantında isə çoxlu miqdarda CO₂ qazı toplanır.

4. Əmələ gələn qazın CO₂ olduğunu yoxlamaq üçün cihaza tam dolana qədər 10% NaOH məhlulu töküb baş barmaqla cihazı bağlayırıq. Qarışdırıb barmağın əmələ gələn boşluğa doğru sorulduğunu müşahidə edirik. Bu zaman CO₂ qələvi vasitəsilə udulur və vakuum əmələ gəlir.

5. Həqiqətən etil spirti əmələ gəldiyini yoxlamaq üçün cihazdan sınaq şüşəsinə 3-4 ml məhlul süzülür. Məhlula sarı rəng əmələ gələndə qədər Lüqol məhlulu tökülür və sınaq şüşəsi qızdırılır. Bu zaman yodoformun kəskin iyi hiss edilir.

İŞ 62

QIQCIRMA PROSESİNİN FLÜOR IONLARI

İLƏ TORMOZLANMASI

Şəkərlərin anaerob çevrilməsinin səciyyəvi cəhətlərindən biri, bu prosesdə maqnezium ionu və fosfor turşusunun iştirakıdır. Spirt qıcırması və bu prosesdə Mg ionlarının iştirakını, qlükozanın müəyyən temperatur və pH-da fosfat buferində maya ilə qıcırması prosesində karbon qazının ayrılması ilə müşahidə etmək olar. Spirt qıcırmasının tormozlanmasını mühitə natrium flüor əlavə etməklə əldə etmək olar. Güman olunur ki, tormozlanma yenolazanı inaktivləşdirən maqnezium-flüor-fosfat kompleksinin əmələ gəlməsi ilə əlaqədardır. Qıcırmanı yenidən bərpa etmək üçün kalsium xloriddən istifadə edilir.

Təcrübəni aparmaq üçün U şəkilli borulardan quraşdırılmış manometrədən istifadə olunur. Borular diametri 1 sm, hündürlüyü 55-60 sm olub bir ucu açıq, ikinci ucu isə həcmi 80-100 ml-lik iki ədəd hərənlənən retortlu şüşə qaba bərkidilir. Manometrlər metilen abısı məhlulu ilə doldurulur və taxta ştativə bərkidilir. Xüsusi manometrlər olmadıqda təcrübə diametri 0,5-0,6 sm olan adi U şəkilli borularla aparıla bilər. U şəkilli üç ədəd boru metilen abısı ilə doldurulur və hər biri rezin borular vasitəsilə sınaq şüşələri ilə birləşdirilir. Sınaq şüşələri isə kauçuk tıxac ilə möhkəm bağlanır.

Manometrle işlədikdə onun boruları arasında millimetrlı kağız zolağı yapışdırmaqla hesablama aparılır. Qeyd etmək lazımdır ki, yuxarıdakı qayda üzrə qurulmuş manometrin iş prinsipi Varburq cihazına uyğundur.

Reaktiv:

1. pH-ı 6,0 olan fosfat buferi (M/15)
2. 25 %-li qlükoza
3. 1 %-li NaF
4. 10 %-li kalsium xlorid (məhlul doymuş CaCl_2 -dən hazırlanır)
5. Təzə maya

İşin gedişi

Təcrübədən qabaq cihazın qabını və retortunu aşağıdakı qayda ilə doldururuq. Fosfat buferində suspenziya halına salınmış maya süzüntüsü qabın mərkəzi hissəsinə tökülür. Qlükoza məhlulunu yan retortlardan birinə töküb lazım gəldikdə oraya natrium flüor əlavə edilir. CaCl_2 məhlulu müvafiq qabların retortuna (ikinci retort) əlavə edilir. Beləliklə, aşağıdakı tərkibli qarışıqlar alırıq.

Cədvəl 8

Qabın əsas tutumu		Reaksiyon qarışıqlarının tərkibi				
		1-ci yan retorta		2-ci yan retorta		
maya (q-la)	pH-ı 6,0 olan fosfat buferi (ml-lə)	25%-li qlükoza (ml-lə)	1 %-li NaF (ml-lə)	fosfat buferi pH 6,0 (ml-lə)	10%-li CaCl_2 (ml-lə)	fosfat buferi pH-6,0 (ml-lə)
1. 2	6	2	-	1	-	1
2. 2	6	2	0,5	0,5	0,5	0,5
3. 2	6	2	1	-	1	-
4. 2	6	2	1	-	-	1

Qablar doldurulduqdan sonra onları manometrlərə birləşdirib Varburq cihazının vannasına yerləşdiririk. Cihaz temperaturun bərabərləşməsi üçün (açıq kranla) 10 dəqiqə saxlanılır. Sonra birinci retortdakı məhlul (qlükoza və NaF) qabın mərkəzi hissəsinə boşaldılır. Qablardakı məhlullar 5 dəqiqə qarışdırılır və monometrin kranları bağlanılır. 15 dəqiqədən sonra birinci hesabat qeyd edilir. Kranlar açılır, ikinci retortdan CaCl_2 əlavə edilir. Yenə kranları bağlayıb 15 dəqiqədən sonra ikinci hesabat qeyd olunur. Təcrübə 30 və 37⁰ C-də aparıla bilər. Sonuncu halda proses daha intensiv gedir və təcrübə tez başa çatır. Hər hesablamadan sonra manometrlərdə məhlulların səviyyəsinin bərabərləşdirilməsi ondan irəli gəlir ki, həmin şəraitdə spirt qıvcırması kifayət qədər sürətlənir və hər 15 dəqiqədən bir səviyyələrin dəyişməsi demək olar ki, manometrin bütün qolunu tutur.

Təcrübənin nəticəsini aşağıdakı qayda ilə qeydə alırlar: təcrübənin müddəti qızcırmanın CaCl_2 əlavə edildikdən sonra bərpa olunma sürəti ilə müəyyən edilir. Nəticə göstərir ki, birinci qabda gedən normal qızcırma fonunda digər (2, 3 və 4 s-lı) qablarda NaF ionunu özünə birləşdirərək qızcırmanı tormozlayır. İkinci və üçüncü qaba CaCl_2 əlavə edilməsi qızcırmanı əvvəlki qiymətinə qədər bərpa edir. Tormozlamanın gücü və bərpanın sürəti əlavə olunan NaF və CaCl_2 -nin qatılığından asılıdır.

Adi U şəkilli borularla işlədikdə üç sınaq şüşəsinin hər birinə tərkibində 2 q təzə maya olan 6 ml fosfat buferi, 2 ml qlükoza və sınaq şüşələrinin ikisinə 1 ml NaF məhlulu tökülür. Sınaq şüşələrində məhlullar qarışdırılır və təxminən 20 dəqiqədən sonra U şəkilli borulara birləşdirilir. 15-20 dəqiqədən sonra birinci sınaq şüşəsində qızcırma getdiyi, qalan iki sınaq şüşəsində isə qızcırmanın tormozlanması aydın görünür. Sonra hər üç sınaq şüşəsini açıb ikinci sınaq şüşəsinə 1 ml CaCl_2 məhlulu töküüb yenidən U şəkilli borularla birləşdiririk. 20-30 dəqiqədən sonra birinci və üçüncü sınaq şüşəsində əvvəlki (kontrol) qədər qızcırma getdiyi müşahidə edilir. İkinci şüşədə qızcırma dayanır. Üçüncü sınaq şüşələrində qızcırma Ca ionlarının köməyiylə bərpa olunur.

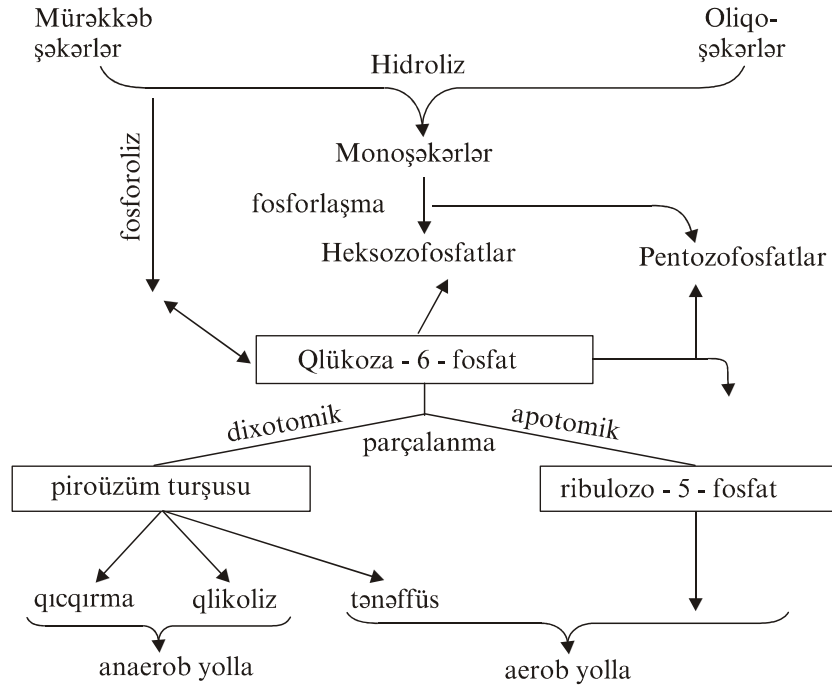
ŞƏKƏRLƏRİN MÜBADİLƏSİ

Çox hallarda maddələr mübadiləsində şəkərlərin funksiyasının onun yalnız kimyəvi reaksiyaları enerji ilə təmin etməsi ilə əlaqələndirirlər. Lakin bu tamamilə belə deyil. Əlbəttə şəkərlərin oksidləşməsi zamanı orqanizmdə çoxlu miqdarda enerji alınır ki, bu enerji ATF molekulunun makroerqik əlaqələrində toplanır və bu enerji kimyəvi reaksiyaların getməsinə sərf olunur. Lakin maddələr mübadiləsində şəkərlər daha mühüm bir vəzifəni yerinə yetirir. Şəkərlər çoxsaylı üzvi maddələrin mənbəyidir. Həmin maddələr lipidlərin, zülalların və nuklein turşularının və digər mühüm maddələrin sintezində iştirak edirlər. İlk üzvi maddələr kimi bitkilərdə sintez olunan şəkərlərdə «C» bir element kimi daxil olur və onlarda enerji toplanır. Demək olar ki, bütün digər maddələri «C» (karbon) və enerji ilə təmin edən şəkərlərin parçalanması prosesidir.

Şəkərlərin orqanizmlərdə sintezi və parçalanma mexanizmləri çox mürəkkəbdir və mühazirə materiallarında bu proses qısa şərh edilir. Bunu nəzərə alaraq biz burada şəkərlərin yalnız parçalanmasının ümumi sxemini verəcəyik.

Göründüyü kimi, qlükozo-6-fosfat bu proseslərdə mərkəzi yer tutur. Sonradan əmələ gələn aralıq məhsullarından mərkəzi yer tutanları piroüzüm turşusu və ribulozo-5-fosfatdır. Şəkərlərin parçalanma yolları qızcırma, qlikoliz, tənəffüs və s. arasında mürəkkəb asılılıq mövcuddur. Bu asılılıq növün bioloji xüsusiyyətləri və orqanizmlərin həyat şəraiti ilə sıx əlaqədardır. Nəinki növ daxilində, hətta eyni orqanizmin müxtəlif toxuma və orqanlarında şəkərlərin parçalanma yollarının bir-birinə nisbəti müxtəlifdir. Buna baxmayaraq, bütün orqanizmlərə müəyyən dərəcədə ümumi qanunauyğunluq xasdır. Məsələn, əksər orqanizmlərdə şəkərlərin aerob parçalanma yolu üstünlük təşkil edir, tənəffüs, qlikoliz və qızcırmanı yavaşdır, şəkərlərin dixotomik parçalanma yolu apotomik yola nisbətən daha mühüm yer tutur və s. Şəkərlərin parçalanması zamanı əmələ gələn aralıq məhsullardan ən mühümləri fosfoqliserin turşusu, fosfoenolpiroüzüm turşusu, piroüzüm turşusu, asetil-koenzim A, eritrozo-4-fosfat, ribulozo-5-fosfat, tri- və dikarbon turşuları tsiklində əmələ gələn quzuqulağı sirkə, ketoqlütar və s. turşulardır. Bu məhsullar amin turşuları, yağ turşuları, qliserin, nukleotidlər və digər çoxlu monomerlərin əmələ gəlməsinə sərf olunur. Həmin maddələrdən sonra zülallar, lipidlər, nuklein turşuları və digər biopolimerlər sintez olunur.

S X E M 1



Şəkərlərin mübadiləsinə aid bir neçə laboratoriya işini nəzərdən keçirək.

İŞ 63

MƏDƏALTİ ŞİRƏNİN AMILAZASI VASİTƏSİLƏ

NİŞASTANIN HƏZMİ

Nişasta və digər mürəkkəb şəkərlər qida ilə birlikdə ağız boşluğunda ağız şirəsinin amilazasının təsirindən qismən parçalanır. Lakin mədə şirəsində amilaza olmadığından, şəkərlər tam parçalana bilməyib onikibarmaq bağırsağa daxil olur və yalnız orada bağırsağ şirəsinin amilazasının təsirindən tam hidrolizə uğrayır. Nişasta və digər mürəkkəb şəkərlər burada aralıq məhsullarına və sonra monozalara qədər parçalanaraq qana sorulur. Nişastanın bu yolla həzmini göstərmək üçün aşağıdakı qaydada işləyirik.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Ştativlə birlikdə sınaq şüşələri
2. Termostat
3. Termometr
4. Tərkibində 0,3 % NaCl olan suda 0,1 %-li nişasta
5. Mədə şirəsindən alınmış süzüntü və ya 0,1 %-li Na_2CO_3 məhlulundan hazırlanmış 0,2%-li pankreatin məhlulu
6. Mədə şirəsi və ya 0,2 %-li HCl-da hazırlanmış 0,1% pepsin (əlavələr, 26)
7. 10 %-li NaOH
8. 5 %-li CuSO_4

9. 10 %-li HCl
10. Lüqol reaktivi

İşin gedişi

1. 3 ədəd sınaq şüşəsinə təxminən 1 ml nişasta məhlulu tökülür.
2. Birinci sınaq şüşəsinə 2-3 ml mədə şirəsindən alınmış süzüntü və ya pankreatin məhlulu, ikinci sınaq şüşəsinə 2-3 ml mədə şirəsi və ya NaOH-la əvvəlcə neytrallaşdırılmış pepsin məhlulu tökülür.
3. Hər 3 sınaq şüşəsi 37-40→C temperaturda 1,5-2 saat müddətinə termostata yerləşdirilir.
4. Hər sınaq şüşəsindən bir qədər götürüb bir və üçüncü məhlulu HCl-la turş mühitə qədər çatdırırıq (əks halda qələvi mühitdə yod rəngini itirir), üzərinə damla lüqol reaktivi əlavə edilir. Birinci sınaq şüşəsində göy rəng əmələ gəlmir. Çünki burada nişasta parçalanır. Lakin birinci sınaq şüşəsində bənövşəyi qırmızı rəng əmələ gələ bilər. Bu isə məhlulda dekstrinlər olduğunu göstərir. İkinci və üçüncü sınaq şüşələrində isə nişasta parçalanmadığından göy rəng müşahidə olunur.
5. Hər üç sınaq şüşəsində Trommer sınağı aparılır. Pankreatin olan sınaq şüşəsində amilaza təsir göstərdiyindən müsbət nəticə alınır. Neytrallaşdırılmış və neytrallaşdırılmamış mədə şirəsi olan sınaq şüşələrində isə qırmızı kərpici rəng müşahidə olunmur ki, bu da mədə şirəsində amilaza olmadığını göstərir.

İŞ 64

ŞƏKƏR MÜBADİLƏSİNİN ARALIQ

VƏ SON MƏHSULLARININ TƏYİNİ

(əzələ ekstraktında süd turşusunun müşahidə edilməsi)

Uffelman nümunəsi

Reaktivlər:

1. Əzələ ekstraktı - 30-50 q siçovul və ya adadovşanının əzələsini əvvəlcə qaşçı vasitəsilə doğrayıb sonra çini həvəngdə 60-100 ml su ilə tam qarışıq halına düşənə qədər əzirik. Əzələni ət maşınından da keçirmək olar. Alınan süzüntünü kolbaya keçirib, 10 dəqiqə qarışdırır və bir neçə qat tənzifdən süzürük.
2. 1 ° -li fenol məhlulu.
3. 1 %- li xlorlu dəmir məhlulu.

İşin gedişi

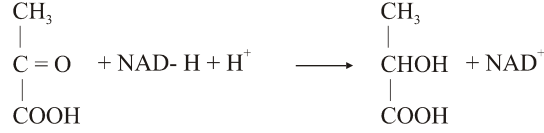
İş zamanı iki ədəd silindrə 50-80 ml fenol və 1-2 ml xlorlu dəmir tökürük. Dəmirin fenollu birləşməsinin əmələ gəlməsi, məhlulların bənövşəyi rəngə boyanmasına səbəb olur. Sonra silidrlərdən birinə əzələ ekstraktını əlavə edirik. Həmin silindrə yaşılımtıl sarı rəngin əmələ gəlməsi, mühitdə süd turşusunun dəmir duzunun alınması ilə əlaqədardır. İkinci silindrə bənövşəyi rəng dəyişmir.

İŞ 65

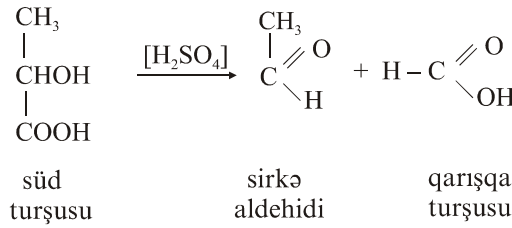
QLİKOLİZ ZAMANI SÜD TURŞUSUNUN

ƏMƏLƏ GƏLMƏSİ

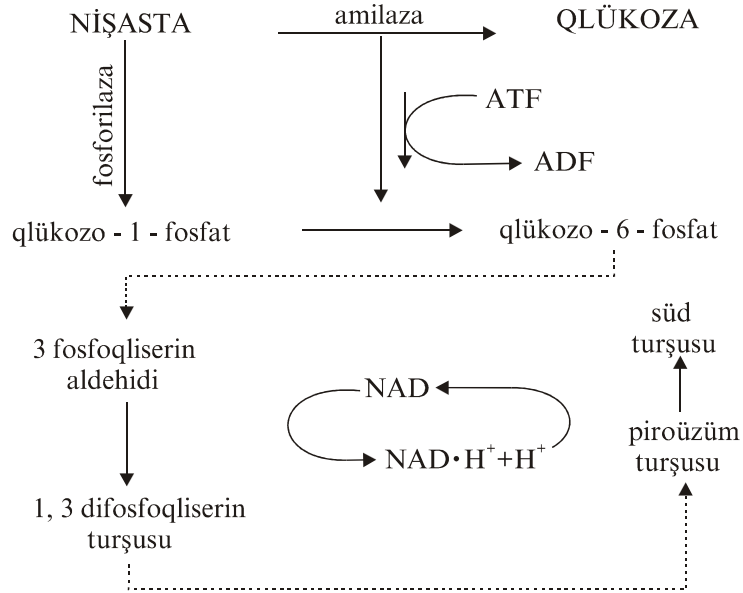
Məlum olduğu kimi anaerob mühitdə fosfotriozalardan əmələ gəlmiş piroüzüm turşusu insan və heyvan orqanizmində süd turşusuna çevrilir.



Qlikoliz zamanı əmələ gəlmiş süd turşusunu, onu sirkə aldehydinə sulfat turşusu vasitəsilə çevirməklə müşahidə etmək olar.



Əmələ gələn sirkə aldehydi veratrolla rəngli birləşmə əmələ gətirir. Süd turşusunun əmələ gəlməsini öyrənmək üçün ferment mənbəyi, piroüzüm turşusu və reduksiya olunmuş NAD olmalıdır. Lakin bahalı qiymətli NAD tapmaq əvəzinə aşağıdakı qaydaya əsasən işləmək olar. Əzələ həlməşiyinə nişasta məhlulu əlavə etsək, həlməşikdə olan fermentlər nişastann piroüzüm turşusuna qədər parçalayar. Bu zaman paralel olaraq əzələdəki NAD⁺. NADH (+H⁺)-a qədər reduksiya olunur. Sonuncu piroüzüm turşusunu süd turşusuna çevirir. Reaksiya aşağıdakı sxemdə gedir.



Reaktiv və ləvazimat:

1. Termometrle su hamamı

2. Buz
3. Şpatel
4. Qıf
5. Filtrlər
6. Bufer məhlulunda hazırlanmış 0,5 %-li nişasta (0,5 M natrium bikarbonatda)
7. 20 %- li üçxlor sirkə turşusu
8. 20%- li mis sulfat
9. Kalsium hidroksid toz şəklində
10. Qatı sulfat turşusu
11. Etil spirtində hazırlanmış 0,2%-li² veratrol (pirokatexinin dimetil efiri)
12. Əzələ həlməşiyi (100 q ada dovşanının əzələsi ət maşınından keçirilir, tənziyə uyulur və sıxılır. Yuyulmuş əzələyə fizioloji məhlul tökülür.

İşin gedişi

İki sınaq şüşəsinə ümumi kütləsi noxuddan böyük olmayan miqdarda əzələ həlməşiyi götürüb sınaq şüşələrini nömrələyirik. Kontrol rolunu oynayan birinci sınaq şüşəsinə fermentləri inaktivləşdirmək üçün 5 damla 3- xlor sirkə turşusu əlavə edirik. Sonra hər iki sınaq şüşəsinə şüşə həcmnin yarısı qədər nişasta məhlulu və anaerob mühit yaratmaq üçün 7 damla vazelin yağı götürüb onları 37°C-də 1 saat müddətinə su hamamına yerləşdiririk. Müddət keçdikdən sonra ikinci sınaq şüşəsinə 5 damla 3-xlor sirkə turşusu əlavə edirik. Sınaq şüşələrindəki məhlullar müvafiq nömrələnmiş təmiz sınaq şüşələrinə süzülür. Süd turşusunun müşahidəsinə mane ola bilən şəkərləri çökdürmək üçün, sınaq şüşələrinə 0,25 q kalsium hidroksid və 10 damla mis sulfat tökürük. 15 dəqiqə müddətində şüşələr arabil çalxalanır. Məhlullar yenidən nömrələnmiş beşinci və altıncı sınaq şüşəsinə süzülür. 5-6 damla süzüntü yığıldıqda sınaq şüşələri buza yerləşdirilib hər birinin üzərinə 15 damla qatı sulfat turşusu əlavə edilir. Sınaq şüşələri 5 dəqiqə qaynar su hamamına yerləşdirilir. Nəhayət sınaq şüşələrini buzda soyudub hər ikisinə iki damla veratrol əlavə edirik. Tədricən təcrübə sınaq şüşəsində qırmızı rəng əmələ gəlir. Kontrol sınaq şüşəsində isə təcrübədən əvvəl əzələdə olan süd turşusunun iştirakı ilə əlaqədar zəif çəhrayı rəng alınır.

İŞ 66

SİDİKDƏ PİROÜZÜM TURŞUSUNUN

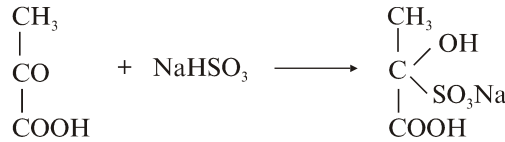
MİQDARCA TƏYİNİ

Piroüzüm turşusu insan orqanizmində şəkər mübadiləsinin aralıq məhsulu kimi əmələ gəlir. Anaerob şəraitdə piroüzüm turşusu yuxarıda göstəriləndiyi kimi süd turşusuna çevrilərək reduksiya olunmuş NAD-H₂-nin oksidləşməsinə səbəb olur. Aerob şəraitdə isə piroüzüm turşusu CO₂ və H₂O-ya qədər oksidləşir. Bu proses ATF tərkibində enerji toplanması ilə əlaqədardır.

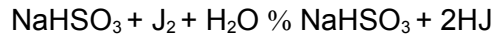
² Veratrolu 0,2%-lm qvayakolla (pirokatexinin monometil efiri) əvəz etmək olar

Normal halda qan plazmasında 0,8-1,5 *mq* ° piroüzüm turşusu olur. Bir sutkada sidik vasitəsilə 10-25 *mq* piroüzüm turşusu ixrac olunur. B₁ avitaminozu və hipovitaminozu zamanı qanda, digər toxumalarda və xüsusilə beyində çoxlu miqdarda piroüzüm turşusu toplanır ki, bu da tərkibində tiamin pirofosfat olan koenzim A-nın sintezinin pozulması ilə əlaqədardır. Koenzim A aerob parçalanmanın ilk mərhələlərində iştirak edir. O, pantoten turşusu, tioetanolamin fosfat turşusu və adenindən ibarətdir.

Piroüzüm turşusunun miqdarca təyini onun turş mühitdə NaHSO₃ və ya KHSO₃ də bisulfit birləşməsinə əmələ gətirməsinə əsaslanır.



NaHSO₃-ün artıq miqdarını J₂ ilə birləşdirməklə reaksiya mühitindən çıxarmaq olar.



Bu zaman sidinin üzvi birləşmələri də oksidləşir. Məhlulə NaHSO₃ əlavə etməklə qələvi mühit yaratmaq üçün piroüzüm turşusunun bisulfit birləşməsi parçalanır. Beləliklə sərbəst ayrılan bisulfitin miqdarı piroüzüm turşusunun miqdarına ekvivalentdir. Bisulfit isə J₂ ilə titrlənir. Sərf olunan yoda görə piroüzüm turşusunun miqdarı hesablanır.

Reaktiv və ləvazimat:

1. 1→-li NaHSO₃ və ya KHSO₃
2. 0,1 N J₂ məhlulu
3. 0,01 HJ məhlulu
4. NaHSO₃ (doymuş məhlul)
5. 0,1 hiposulfit (KNO₃-lə yoxlamalı, əlavələr 27, 27A)
6. Doymuş NaCl məhlulunda hazırlanmış 1%-li nişasta
7. 0,1 N quzuqulağı turşusu
8. Mikrobüretka
9. 1 ml-lik pipetka
10. 10 ml-lik silindr
11. Konusvari kolbalar
12. 200 ml-lik kimyəvi stəkanlar

İşin gedişi

1 ml sidik üzərinə 1 ml 0,1 N quzuqulağı turşusu və 9 ml su tökürük (sidikdə olan kalsiumu çökdürmək üçün).

Alınan məhlulə 10 damla təzə hazırlanmış NaHSO_3 əlavə edib qarışdırır və qaranlıqda 15 dəqiqə saxlayırıq. Bisulfitin artıq miqdarını nişasta iştirakı ilə göy rəng itənə qədər 0,1 N J_2 -lə, J_2 -un artığının isə rəng itənə qədər 0,1 N hiposulfitlə ləğv edirik. Axırda daha dəqiq nəticə almaq üçün məhlulə 0,01 N J_2 məhlulu zəif göy rəng bərpa olunana qədər damla-damla əlavə edilir. Hiposulfit mühitdən kənar edildikdən sonra kolbaya 10 damla doymuş NaHSO_3 məhlulu tökürük (bu zaman göy rəng itir). Kolbadakı məhlul 10-20 saniyə ərzində itməyən göy rəng alınana qədər 0,01 N J_2 -lə titrlənir. Sərf olunan 0,01 N J_2 -un miqdarı piroüzüm turşusunun miqdarı ilə ekvivalentdir.

Hesablama aşağıdakı tənliklə aparılır.

$$X = \frac{CH_3 - CO - COOH \cdot 0,01 \cdot A}{1,0} \text{ sidiyin gündəlik miqdarı}$$

0,01 J_2 -un qatılığı

A - 0,01 N J_2 -un ml-lə miqdarı (titrlənməyə sərf olunan);

1,0 - analiz üçün götürülmüş sidiyin miqdarı. Piroüzüm turşusunun qram ekvivalenti və sutka ərzində əmələ gələn sidiyin miqdarı nəzərə alındıqda bir sutkada əmələ gələn piroüzüm turşusu *mq*-la ifadə olunur.

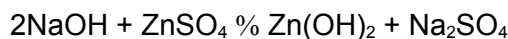
İŞ 67

QANDA ŞƏKƏRİN MİQDARCA TƏYİNİ

Qeyd etmək lazımdır ki, insan orqanizminə şəkərlər əsasən bitki məhsulları vasitəsilə daxil olurlar. Orqanizmə hər gün yağlardan təxminən 10 dəfə çox, 500 q-dan az olmamaq şərtilə şəkər daxil olur. Yuxarıda qeyd etdiyimiz kimi şəkərlərin həzmi əsasən onikibarmaq bağırsaqda və xüsusən nazik bağırsaqda baş verir. Disaxaridlər - maltoza, saxarozə, laktoza və digərlərinin parçalanması nazik bağırsaqda ifraz olunan qlükozidaza (maltaza), %-fruktofuranozidaza (saxaraza) və ya invertaza-qalaktozidaza (laktaza) və digər müvafiq fermentlər vasitəsilə başa çatır. Alınan monoşəkərlər müxtəlif sürətlə (qlükoza və qalaktoza daha tez) qana sorulur. Qarı venası vasitəilə şəkərlər qara ciyəərə gəlir. Qlükozanın bir hissəsi qara ciyərdən keçərək bütün orqanizmə yayılır. Əsas kütlə isə qlikogen şəklində qaraciyərdə toplanır. Qanda şəkərin miqdarı azaldıqda qlikogen parçalanır, yenidən qlükoza əmələ gəlir və qana daxil olur. Orqanizmin bütün hüceyrələri tərəfindən qlükozanın sərf olunmasına baxmayaraq, qanda şəkərin miqdarı eyni səviyyədə (80-120 *mq* /β) qalır.

Xagedorn-Yensen üsulu

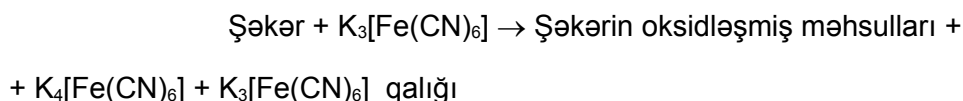
Bu üsul ilə şəkərin miqdarca təyini aşağıdakı prinsipə əsaslanır. Əvvəlcə qələvi (NaOH) məhlulu ilə sink sulfat (ZnSO_4) qarışdırılır.



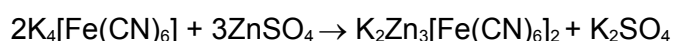
Alınan qarışığa müəyyən miqdar təyin olunan qan tökülür. Bu zaman şəkər məhlulda qalır. Qeyd etmək lazımdır ki, məhlulda digər reduksiya etmə qabiliyyətinə malik olan maddələr də var (məsələn, qlütation, sidik turşusu, kreatinin). Əslində qanda qlükozanın miqdarı bir qədər azdır. İstifadə olunan bu üsulun elə çatışmayan cəhəti də burasındadır. Lakin qlükoza miqdarca digər

reduksiyaedici maddələrdən dəfələrlə çoxdur. Məhz buna görə alınan nəticəni qlükoza kimi qəbul edirlər.

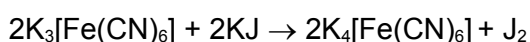
Məhlulda çökmüş zülalı süzməklə, ayıraraq süzüntüyə müəyyən miqdar titrlənmiş qırmızı qan duzu məhlulu əlavə edib qızdırırlar. Bu zaman qanın reduksiyaedici maddələri ekvivalent miqdarda qırmızı qan duzunu sarı qan duzuna qədər reduksiya edir.



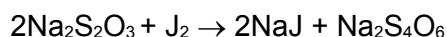
Bundan sonra maye içərisinə sirkə turşusu və sink sulfat (ZnSO_4), kalium yod (KJ) və natrium xlor (NaCl)-dan ibarət qarışıq əlavə edilir. Sink ionu əvvəlcədən əmələ gəlmiş sarı qan duzunu çökdürür.



Beləliklə, sarı qan duzu sonrakı reaksiyalarda iştirak etmir. Sarı qan duzu çökdürülməsə, o oksidləşib qırmızı qan duzuna çevrilə bilər və nəticə düzgün olmaz. Paralel olaraq KJ reaksiyaya daxil olmayan qırmızı qan duzu ilə reaksiyaya girir, bu zaman qırmızı qan duzunun miqdarına ekvivalent olaraq J_2 ayrılır.



Nəhayət ayrılan yod nişastanın iştirakı ilə (indikator qismində) hiposulfitlə titrlənir.



Titrlənməyə sərf olunmuş hiposulfitin miqdarı qanın şəkəri ilə reduksiya edilməmiş qırmızı qan duzu ilə ekvivalentdir. Sərf olunan hiposulfitin miqdarını bilərək xüsusi cədvəldən qanda şəkərin miqdarını hesablamaq olar.

Qeyd etmək lazımdır ki, şəkərin təyində istifadə olunan reaktivlər reduksiyaedici qabiliyyətə malikdir. Həmin reaktivlər tərəfindən reduksiya olunmuş qırmızı qan duzunun miqdarını nəzərə almaq üçün kontrol təcrübə qoyulur və alınan nəticədən həmin qiyməti çıxırlar.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Sınaq şüşələri və kimyəvi stəkanlar üçün yuvaları olan su hamamı
2. Kimyəvi stəkanlar
3. Qıflar
4. İki ədəd 25-50 ml-lik büretka
5. 2-3 ml-lik mikrobüretka
6. Rezin borulu 0,1 və 0,2 ml lik mikropipetka
7. 2-3 ml-lik pipetkalar
8. Qan götürmək üçün iynə
9. 0,1 N NaOH
10. 0,45 →-li ZnSO_4

11. 0,005 %-li qələvi reaksiyalı qırmızı qan duzu
12. Üçqat məhlul ($ZnSO_4 + KJ + NaCl$) (əlavələr, 27A)
13. 3 %-li sirkə turşusu
14. 0,005%-li hiposulfit (əlavələr, 27)
15. Doymuş NaCl-da hazırlanmış 1%-li həll olan nişasta
16. Distillə suyunda qaynadılmış və suyu sıxılmış pambıq
17. Etil spirti

İşin gedişi

1. 4 ədəd sınaq şüşəsini nömrələyib hər birinə 5 ml $ZnSO_4$ və 1 ml NaOH tökülür.

2. Sol əlin adsız barmağını (çəçələ yanındakı barmaq) spirtlə isladılmış pambıqla silib spirt quruduqdan sonra sterilizə edilmiş iynə ilə barmağı sancırlar. İynə qismən dərinə getməlidir. Qanın birinci damlasını pambıqla təmizləyib ikinci damlasını mikropipetkaya yığmalı. Mikropipetkanı elə vəziyyətdə tutmaq lazımdır ki, qan özü oraya axsın. Belə mümkün olmadıqda pipetkadan havanı sormaqla qanı yığmalı. Lakin belə etmək lazımdır ki, qan içərisinə hava qabarcığı düşməsin. 0,1 ml qan toplayıb pipetkanın ucunu pambıqla sildikdən sonra qan birinci sınaq şüşəsinə üfürməklə boşaldılır. Qan sınaq şüşəsindən yenidən sorulur və yenidən boşaldılır. Bunu üç dəfə təkrar etməli (pipetka bu yolla yuyulur). Yuxarıdakı qayda üzrə ikinci sınaq şüşəsinə də 0,1 ml qan götürülür. Sonra spirtlə isladılmış pambıqla barmaq silinir. Üç və dördüncü sınaq şüşələri kontrol kimi qalır.

3. Bütün dörd ədəd sınaq şüşəsi üç dəqiqə müddətinə su hamamına yerləşdirilir. Bir azdan zülal çökür. Çöküntünü filtratdan ayırmaq üçün dörd kiçik kimyəvi stəkanı nömrələyib hər birinə içərisinə su ilə yuyulmuş pambıq yerləşdirilmiş qıf qoyulur, hər sınaq şüşəsində olan qarışıq müvafiq nömrəli stəkanlara süzülür. Sınaq şüşələri və müvafiq qıflar iki dəfə 3 ml su ilə yaxalanıb qıfdan süzülür. Bütün stəkanlarda filtrat şəffaf olduqda pambıqlar qıflardan çıxarılır.

4. Hər stəkana pipetka ilə 2 ml qırmızı qan duzu əlavə edib onları 15 dəqiqə müddətinə qaynar su hamamına yerləşdirirlər. 15 dəqiqədən sonra stəkanlar əvvəl havada, sonra suda soyudulur.

Hər stəkana pipetka ilə 3 ml üçqat məhlul və 2 ml sirkə turşusu əlavə edilir. Bununla J_2 ayrılır və məhlul sarı rəngə boyanır. Bu zaman əmələ gəlmiş sarı qan duzu mühitdən çıxarılmış olur. Həmçinin KJ-da olan və reaksiyaya daxil olmayan qırmızı qan duzuna ekvivalent miqdarda sərbəst J_2 KJ-dan sıxışdırılıb çıxarılmış olur.

5. Mikrobüretkanı hiposulfitlə doldurub stəkanlardan biri sarı rəng itənə qədər titrlənir. Sonra stəkana bir damla nişasta əlavə etdikdə məhlul J_2 ilə göy rəngə boyanır. Göy rəng əmələ gələrsə titrləməni davam etdirirlər. Bu zaman stəkanı ağ fonda qoymaq lazımdır. Nişasta əlavə etməzdən əvvəl və sonra sərf olunan hiposulfitin ümumi miqdarını qeyd edib ikinci stəkanı titrləyirik. Alınan rəqəmlərdən istifadə edərək hesablama aparılır. Bir və ikinci stəkana birlikdə sərf olunan hiposulfitin orta qiyməti və eyni ilə üç və dördüncü stəkana sərf olunan hiposulfitin orta qiymətini tapıb şəkərin qiyməti cədvəlindən hesablanır. Tutaq ki, təcrübə variantına (qan olan variantlara) sərf olunan hiposulfitin orta qiyməti 1,34 ml-dir ($1,3+0,04$) yoxlama variantınıninki isə 1,98-dir ($1,9+0,08$).

Cədvəl 9

Hipo- sulfid miq- darı, ml-lə	Hiposulfidin miqdarı, $\frac{1}{100}$ ml-lə									
	0,0 0	0,0 1	0,0 2	0,0 3	0,0 4	0,0 5	0,0 6	0,0 7	0,0 8	0,0 9
0,0	38	38	37	37	37	37	36	36	36	35
0,1	5	2	9	6	3	0	7	4	1	8
0,2	35	35	35	34	34	34	34	33	33	38
0,3	5	2	0	8	5	3	1	8	6	3
0,4	33	32	32	32	32	32	31	31	31	31
0,5	1	9	7	5	3	1	8	6	4	2
0,6	31	30	30	30	30	30	29	28	29	29
0,7	0	8	8	4	2	0	8	6	4	2
0,8	29	28	38	28	23	28	27	27	27	27
0,9	0	8	5	4	2	0	8	6	4	2
1,0	27	26	26	26	26	26	25	25	25	25
1,1	0	8	6	4	2	0	9	7	5	3
1,2	25	24	21	21	24	24	24	23	23	23
1,3	1	9	7	5	3	1	0	8	6	4
1,4	23	23	22	22	22	22	22	21	21	21
1,5	2	0	8	6	4	2	1	9	7	5
1,6	21	21	20	20	20	20	20	20	19	19
1,7	3	1	9	8	6	4	2	0	9	7
1,8	19	19	19	19	18	18	18	18	18	17
1,9	5	3	1	0	8	6	4	2	1	9
	17	17	17	17	17	16	16	16	16	16
	7	5	3	2	0	8	6	4	3	1
	15	15	15	15	15	15	14	14	14	14
	9	7	5	4	2	0	8	6	5	3
	14	13	13	13	13	13	13	12	12	12
	1	9	8	6	4	2	1	9	7	5
	12	12	12	11	11	11	11	11	11	10
	4	2	0	9	7	5	3	93	0	8
	10	10	10	10	99	97	95	75	92	90
	6	4	2	1	81	79	77	57	74	72
	88	86	84	83	61	61	59	39	56	54
	70	68	66	65	45	43	41	22	38	36
	52	50	48	47	27	25	24	5	20	19
	34	32	31	29	10	8	7		3	2
	17	15	14	12						

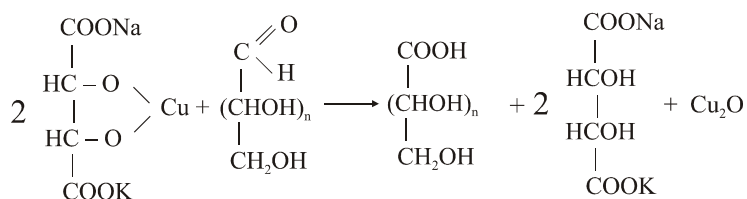
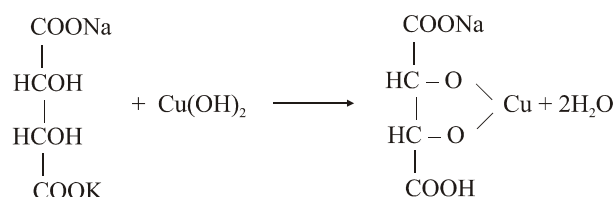
Cədvəldən 1,3 və 0,04 şaquli sətirlərinin kəsişmə nöqtəsində 117 rəqəmini tapırıq, yəni 117 mq % kontrol variant üçün qiymət tapılır. Təcrübədən kontrol variantın qiymətini çıxıb şəkərin qiymətini tapırıq (117-3 = 114 mq/%).

İŞ 68

BERTRAN ÜSULU

(MAKEN-ŞOORLA GÖRƏ MODİFİKASIYA)

Bertran çəki üsulu ilə şəkərlərin miqdarca təyini şəkər nümunəsini Felinq mayesi ilə qaynadarkən mis-1 oksidin (Cu_2O) əmələ gəlməsi və həmin çöküntünün çəkisinin müəyyən edilməsinə əsaslanır. Aldozaların Felinq reaktivi ilə oksidləşmə reaksiyası aşağıdakı sxemlə gedir.



Şəkərləri təyin edərkən əmələ gələn mis oksidi, havanın oksigeni ilə asanlıqla oksidləşdiyindən Bertran üsulunun qaydalarının azacıq gözlənilməməsi səhv nəticələrə səbəb olur. Ona görə də hal-hazırda şəkərləri miqdarca təyin etmək üçün Maken və Şoorlun işləyib hazırladıkları daha dəqiq və sadə həcmi analiz üsulu tətbiq edilir. Bu üsuldə tərkibində misin miqdarı dəqiq məlum olan Felinq mayesindən istifadə edilərək yodometrik üsulla təyin olunmuş sərf olunmayan misin miqdarına əsasən reduksiya olunmuş misin miqdarı hesablanır.

Maken və Şoorl üsulu şəraiti qlükoza, fruktoza, invert şəkər (saxaroza), laktoza, maltoza, qalaktoza, pentoza, arabinoza, ksiloza və ramnoza üçün eynidir.

Reaktivlər:

1. Tərkibində 34,64 q kristallik mis sulfat olan 500 ml həcmdə su məhlulu.
2. Tərkibində 173 q seqnet duzu və 50 q NaOH olan 500 ml həcmində su məhlulu.

İşin gedişi

250 ml-lik odadavamlı konusvari kolbaya pipetka ilə 10 ml 1-ci, sonra 2-ci məhluldan 10 ml töküb üzərinə tərkibində 100 mq-dan çox təyin olunacaq maddəsi olmayan hər hansı bir maddə və ya şəkər 50 ml-ə çatana qədər distillə suyu əlavə edirik. Məhlul elektroplitə və ya qaz üzərinə yerləşdirilmiş asbest lövhə üzərinə qoyulur. Lövhədə diametri 6 sm-ə yaxın dairə çəkilir. Qarışıq üç dəqiqə ərzində qızdırılıb dəqiq 2 dəqiqə aramla qaynadılır ki, kolbada olan məhlulun həcmi azalmasın. Bunun üçün kolbanın ağzına kiçik qıf qoymaq olar.

Qaynatma qurtardıqdan sonra kolba soyuq su ilə 25°C-yə qədər soyudulur və üzərinə 10 ml suda və 10 ml 25%-li sulfat turşusunda (1 həcm turşu, 6 həcm su) 3 q kalium yodid həll edilmiş qarışıq əlavə edilir (cəmi 20 ml). Yuxarıdakı qarışıqdan həmin nisbətdə nümunələrin sayına müvafiq hazırlamaq olar. Qarışıq əlavə edilən kimi aramsız qarışdırma-qarışdırma kolbadakı məhlulu 0,1 N Na₂S₂O₃-lə (natrium tiosulfit) qəhvəyi rəng sarıya keçənə qədər titrəliyirik. Kolbaya 10 ml 0,5-11%-li nişasta töküüb dərhal titrləməni göy rəng tam itənə qədər davam etdiririk. Məhlulun rəngi mis yodidə məxsus sarımtıl (krem rəngi) qalır.

Tamamilə eyni qayda üzrə lakin şəkərsiz kontrol təcrübəsi aparılır. Yoxlamaya sərf olunan natrium tiosulfitin miqdarından (ml) birinci təcrübə variantına sərf olunan Na₂S₂O₃ çıxılır. Alınan nəticəyə əsasən aşağıdakı cədvəldən şəkərin miqdarı hesablanır (cədvəl 10). Saxarozanın miqdarını təyin etmək üçün məhlul əvvəlcə inversiyaya uğradılır. Bunun üçün 5 q şəkər, 50 ml HCl-da həll edilir (5%). Məhlul 30 dəqiqə qaynar su hamamında qızdırılır. Soyudulduqdan sonra 1 ml 1 N NaOH-la neytrallaşdırıb 500 ml-ə qədər qatılığı azaldılır. Sonra lazimi miqdar məhlul götürüb yuxarıdakı qayda üzrə analiz edirik. Alınan nəticə ümumi həcmə hesablanır.

Cədvəldə hər vertikal sıranın sağında (qlükozadan başlayaraq) ikinci sıra rəqəmlər verilmişdir. Bu rəqəmlərdən sərf olunan natrium tiosulfitin ml-lə miqdarı qeyri tam (kəsrlə) ədəd olduqda istifadə edilir.

Məsələn, qlükoza məhluluna titrləmə zamanı 3,5 ml Na₂S₂O₃ sərf edilmişdir. Onda qlükozanın miqdarı belə hesablanır: 3 ml Na₂S₂O₃ 19,1 mq misə və ya 9,4 ml qlükozaya uyğun gəlir. 9,4-dən sonra sağda 3,2 yazılmışdır, fərq 0,5 qədərdir. Bu zaman

$$\begin{aligned} \text{qlükozanın miqdarı} & \qquad \qquad \qquad \text{mq olur.} \\ & = 9,4 \frac{3,2}{2} = 11 \end{aligned}$$

Alınan cavab kolbaya götürülmüş nümunədə olan şəkərin miqdarıdır. Bu miqdara əsasən ümumi çəkiyə, həcmə və s. görə şəkəri %-lə hesablamaq olar.

İŞ 69

ŞƏKƏRLƏRİN MIKROKİMYƏVİ

ÜSULLA TƏYİNİ

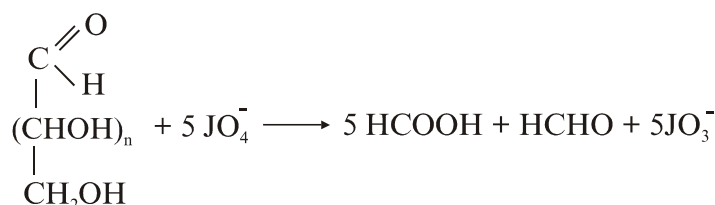
Şəkər molekulları peryodat-ionla oksidləşərək qarışıq turşusu əmələ gətirir. Alınan turşunu titrləmək olar.

Reaktivlər:

1. Monosaxarid (şəkər)
2. 0,25 N NaJO₄
3. Etilenqlikol
4. 0,01 N NaON

İşin gedişi

Hamar, şüşə tıxacı olan ölçüsü 22%3 sm-lik sınaq şüşəsinə 0,2-3 mq şəkər götürüb onu 5 ml suda həll etdikdən sonra 0,25 N NaJO₄-lə oksidləşdiririk (belə məhlulun 1 ml-i 3,9 mq şəkəri oksidləşdirir).



Alınan qarışıq 100×C-də 20-40 dəqiqə qızdırılır. Soyutduqdan sonra sınaq şüşəsinə 0,2 ml NaOH üzərində qovulmuş etilenqlikol tökürük (periyodatın artığını parçalamaq üçün).

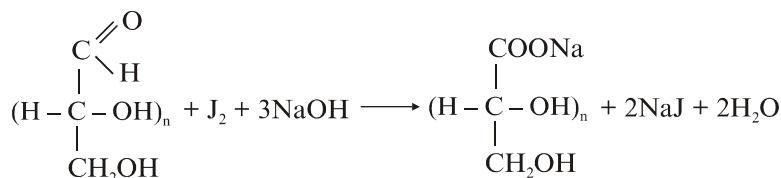
Məhlul qırmızı metil indikatorunun iştirakı ilə 0,01 N NaOH-la titrlənir. Titrləmənin nəticəsinə əsasən şəkərin pentoza, metilpentoza, aldoheksoza, 2-ketoheksoza siniflərinə aid olması müəyyən edilir. 1 mol. oksidləşən monoşəkərə pentoza və metilpentozalar 4 mol., aldoheksozalar - 5 mol, fruktoza və sorboza 3 mol. qarışıqqa turşusu əmələ gətirir.

İŞ 70

VILŞTETTER VƏ ŞEDER ÜSULU İLƏ

ALDOZALARIN MIQDARCA TƏYİNİ

Üsul hipoyoditin qələvi məhlulun köməyi ilə aldozaların aldol turşularına çevrilməsinə əsaslanır.



Reaktivlər:

1. 1%-li aldoza məhluluc
2. 0,1 N J₂
3. 0,1 N NaOH
4. 1N H₂SO₄
5. 0,1 N Na₂S₂O₃

İşin gedişi

Tıxaclı 250 ml-lik kolbaya tərkibində 1°-dən çox aldoza olmayan 10 ml şəkər, 25 ml 0,1 N J₂ qarışdırma-qarışdırma 30 ml 0,1 N NaOH tökülür. Kolbanı bağlayıb 10-15 dəqiqə saxladıqdan sonra 4 ml 1 N H₂SO₄-lə məhlul turşulaşdırılır. Ayrılan J₂-ni 0,1 N Na₂S₂O₃-lə nişastanın iştirakı ilə titrləyirik. Aldozanın miqdarı (və ya aldehid qrupuna ekvivalent miqdar) əlavə olunan yodla (bizim misalda 0,1 N 25 ml J₂) ayrılan J₂-nin (titrləməyə əsasən) fərqiə görə hesablanır. Qələvinin artığı çox deyilsə oksidləşməyə dəqiq 2 q- ekvivalent J₂ sərf olunur.

Bu üsulla müxtəlif aldozaların miqdarını tez təyin etmək olar. Məhlulda saxaroza və fruktozanın olması aldozanın təyin olunmasına mane olur. Analizin dəqiqliyinə qeyri-üzvi duzlar çoxatomlu spirtlər təsir göstərmirlər.

İŞ 71

ŞƏKƏRLƏRİN XROMATOQRAFIYASI

(Analitik üsullar)

Müxtəlif şəkərlərin tədqiqi və sintezi xromatoqrafiyanın tətbiqindən sonra geniş inkişaf etməyə başlamışdır.

Aşağıda təsvir edəcəyimiz kağız və nazik təbəqəli xromatoqrafiya üsulları alınan maddələrin təmizliyini aşkar etmək və şəkər formalarını müəyyənləşdirmək üçün analitik kimyada istifadə olunan müasir üsullardır.

Şəkərlərin kağız üzərində xromatoqrafiyası

Bu üsulda kağız sellülozada adsorbsiya olunmuş qeyri mütəhərrik faza - suyun daşıyıcısı vəzifəsini görür. Mütəhərrik faza sifətilə su ilə üzvi həlledicilərin qarışıqları istifadə olunur. Şəkərlərin ayrılması üçün aşağıdakı həlledicilər tətbiq edilir:

1. Butanol sirkə turşusu : su (4:1:5)
2. Butanol : etanol : su (45:5:50)
3. Su ilə doydurulmuş fenol
4. Su ilə doydurulmuş butanol
5. Piridin : amil spirti : su (35:35:30)
6. Butanol : piridin : su (5:4:3)
7. Etilsirkə turşusu : sirkə turşusu : su (3:1:3)
8. Etilsirkə turşusu : piridin : su (4:2:4)
9. Butanol : etanol : su (4:1:1)
10. Butanol : sirkə turşusu : su(4:1:1)

Bəzi həlledicilərin hazırlanması üsulları.

Butanol : sirkə turşusu : su (4:1:5). Bu həlledici yuxarıya doğru hərəkət edən xromatoqrafiya üçün tətbiq edilir. Həlledicini 1,5 litrlik bölücü qıfda 400 ml n-butanol, 100 ml buzlu sirkə turşusu və 500 ml distillə suyunu yaxşı qarışdırmaqla hazırlayırlar. Bir qədər keçdikdən sonra qarışıq 2 fazaya ayrılır ki, fazanın aşağı qatı kənara boşaldılır. Qalan həlledici bulandıqda qıfda şəffaf rəng alınana qədər damla-damla sirkə turşusu əlavə etmək lazımdır. Məhlul çox saxlandıqda qıfın dibində su təbəqəsi əmələ gəlir ki, onu da boşaltmaq lazımdır.

Etil sirkə turşusu : piridin : su (4:2:4). Bölücü qıfda 200 ml etilsirkə turşusu, 100 ml piridin və 200 ml distillə edilmiş su yaxşıca qarışdırılır. Təbəqələr ayrıldıqdan sonra aşağı

təbəqə boşaldılır. Yuxarı təbəqə isə aşağıya doğru hərəkət edən xromatoqrafiya üçün tətbiq edilir.

Kağız. Şəkərləri ayırmaq üçün adətən 1 və 2 nömrəli xromatoqrafiya kağızı tətbiq edilir. Düzgün əməliyyat aparmaq üçün götürülmüş kağızda kapilyarların vəziyyətini təyin etmək lazımdır. Bunun üçün kağızın kənarlarından başlayaraq qarşılıqlı perpendikulyar istiqamətdə eni 4 mm, uzunluğu 70-75 mm zolaq kəsilir. Əgər kapilyarlar zolağın uzunluğuna, yeni perpendikulyar vəziyyətdə yerləşmişsə kənarından tutulmuş zolaq öz ağırlığı nəticəsində əyilmir. Kapilyar horizontal vəziyyətdə olduqda zolaq qövs şəklində əyilir.

Xromatoqrafiya zamanı maddənin əsas səciyyəvi xüsusiyyəti mütəhərriklik əmsalı R_f -dir. R_f maddənin keçdiyi yolun həlledicinin keçdiyi yola nisbətini ifadə edir. Mütəhərriklik əmsalı, şəkərlərin quruluşu, həlledicinin tərkibi, kağızın keyfiyyəti, mühitin temperaturu və digər amillərdən asılıdır. Müxtəlif şəkərlər üçün R_f qiyməti aşağıdakı cədvəldə verilir.

Cədvəl 11

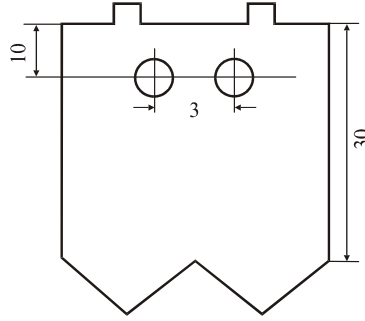
Müxtəlif qatışıqlarda monozaqlar üçün R_f -in qiymətləri

Mono- şəkərlər	Q a t ı ş ı q l a r	
	etilsirkə t : su : : piridin : su (2 : 1 : 2)	butanol : sirkə turşusu : su (4 : 1 : 5)
arabinoza	0,23	0,56
ksiloza	0,28	0,76
riboza	0,33	0,84
ramnoza	0,36	1,0
qalaktoza	0,175	0,41
qlükoza	0,195	0,49
mannoza	0,24	0,62
fruktoza	0,24	0,62

Ramnoza üçün 0,37-yə bərabər R_f vahid qəbul edilmişdir. Yarımşpirtlər üçün propanol : etilsirkə turşusu : su (7:1:2) qarışığı tətbiq edildikdə R_f 0,11 (inozit), 0,31 (sorbit, dulsit), 0,44 (arabit), 0,34 (mannit), 0,58 (qliserin) olur. Bir ölçülü yuxarıya doğru hərəkət edən xromatoqramma almaq üçün kapilyarları vertikal vəziyyətdə yerləşmiş uzunluğu 40-50 sm olan xüsusi kağız götürülür. Kağızın eni onun üzərinə yerləşdirilmiş nümunələrin sayından asılıdır. Kağızın kənarından ensiz hissə boyu bir-birindən 2,5-3 sm aralı qara karandaşla (kimyəvi karandaş olmaz) başlanğıc (start) xətti çəkilir. Xromatoqrafiya üçün başlanğıc xətt üzərinə qatılığı 0,1-1% olan 0,01 ml şəkər məhlulu kapilyar pipetka ilə 1 damla yerləşdirilir. Şəkər 50-80% -li etanolda hazırlanır. Damla ləkəsinin diametri 5-6 mm-dən çox olmamalıdır. Ləkələr arasındakı məsafə 2-3 sm olur. Bu əməliyyatdan sonra kağız qurudulur. Sonra kağız dibində həlledici olan (məsələn, 60 ml butanol - sirkə turşusu - su 40:10:50 nisbətində) hermetik bağlı qaba yerləşdirilir. Bu zaman zolaq qabın divarlarına dəyməməli və ucu damcılar yerləşən xəttədən aşağı həllediciyə salınmalıdır. Kağızın kənarına qədər həlledicinin qalxmasına yol

vermək olmaz. Proses adətən 15-20 saat davam edir. Sonra kağız zolağı qabdan çıxarılıb qurudulur və şəkərlər aşkar edilir.

Aşağı doğru hərəkət edən xromatoqrama almaq üçün kağız zolağını horizontal vəziyyətdə yerləşmiş kapilyarlar boyu uzununa kəsmək lazımdır. Nümunələr üzərinə kənardan 10 sm məsafədə yerləşdirilir. Kağızın aşağı hissəsi həlledicinin axması üçün dişçiklər şəklində kəsilir (şəkil 7).



Şəkil 7

İri ölçülü şüşə silindr içərisinə kiçik başqa silindr yerləşdirib üzərinə həlledicisi olan Petri qabları qoyulur. Qabın içərisinə məhlula ensiz kəsikli ucları olan kağız salıb üzərinə saat şüşəsi yerləşdirilir (kağızın düşməməsi üçün). Nümunə nişanı qoyulmuş nöqtələr həllediciyə çətməməlidir. İri silindrin dibinə içərisində həlledici olan stəkanlar yerləşdirilir. 1 nömrəli kağızda xromatoqrafiya 30-40 saat davam edir. Sonra kağız qurudulur və müəyyən üsulla tədqiq olunan maddələr aşkar edilir.

Mürəkkəb birləşmələri fraksiyalara ayırmaq üçün eyni kağız zolağına analiz olunan qarışıqda tapılacağı güman edilən maddələr (müəyyənləşdirici maddələr) damcı vasitəsilə yerləşdirilir. Müəyyənləşdirici (başqa sözlə, bu maddələr "şahidlər" də adlanır) tədqiq olunan maddə ləkələrinin hər iki tərəfindən çıxış xətti üzərinə damcı vasitəsilə yerləşdirmək məsləhətdir. Bəzi hallarda mürəkkəb maddə çətin ayrılırsa xromatoqrafiya əməliyyatı təkrarlanır. Bunun üçün birinci əməliyyatdan sonra kağız qurudulur (maddələr aşkar edilmədən), ikinci dəfə xromatoqrafiya əməliyyatı aparılır və yalnız bundan sonra şəkərlər aşkar edilir.

Reduksiyaedici və reduksiya etməyən karbohidratlar

üçün ümumi aşkaredicilər

Ammonium molibdenat: 3 ml qatı xlorid turşusu üzərinə qarışdıraraq-qarışdıraraq 20 ml 10%-li ammonium molibdenat əlavə etməklə reaktiv hazırlanır. Sonra reaktivə 5 q ammonium xlorid tökülür. 70°C-də 20 dəqiqə müddətdə qurudulur, nəticədə ağ fonda abı ləkələr alınır.

Şəkərlərin qurğuşun tetraasetatla aşkar edilməsi

Benzolda 1 q qurğuşun tetraasetat həll edilir. Lazım gəldikdə məhlul fəallaşdırılmış ağac kömürü vasitəsilə ksilol, sonra isə hazırlanmış məhlulla çilənir. Bir neçə dəqiqədən sonra qəhvəyi fonda ağ ləkələr əmələ gəlir.

$KMnO_4 - NaJO_4$ vasitəsilə aşkar edilmə.

2°-li $NaJO_4$ və 2%-li natrium karbonatın suda məhlulunda 1%-li $KMnO_4$ hazırlayıb iş zamanı məhlullar (4:1) nisbətində ($KMnO_4 - 1$ həcm, $NaJO_4 - 4$ həcm) qarışdırılır. Çiləndikdən sonra kağız otaq temperaturunda 10-15 dəqiqə saxlanılır. Nəticədə şəkərlərin sarı-yaşıl ləkələri əmələ gəlir.

Reduksiyaedici şəkərlər üçün ümumi aşkaredicilər

Gümüş nitratin amonyaklı məhlulu. 5%-li gümüş nitrat üzərinə damla-damla qatı NH_4OH əmələ gələn çöküntü həll olana qədər əlavə edilir. Məhlulu daim iş zamanı təzə hazırlayıb işin sonunda artığını tullamaq lazımdır. Əks halda məhlul uzun müddət qaldıqda partlayıcı fulminatlar əmələ gələ bilər. Yuxarıdakı qarışıqla xromatoqramı çiləyib kağızı quruducu şkafda $100\text{-}110^\circ\text{C}$ -də 10-15 dəqiqə saxlayırlar. Nəticədə zəif qəhvəyi fonda tünd ləkələr əmələ gəlir.

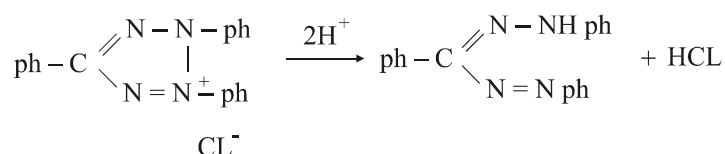
Gümüş nitrat və NaOH məhlulu. Xromatoqrammanı aşkar etmək üçün 2 məhlul hazırlanır:

1 məhlul - 20 ml asetona 0,1 ml gümüşün suda doymuş məhlulu töküb üzərinə həll olana qədər damla-damla su əlavə edilir.

2 məhlul - 4 ml suda 2 q NaOH həll edilmiş məhluluna 100 ml etanol əlavə edilir.

Qurudulmuş xromatoqrama birinci məhluldan cəld keçirilərk qurudulur və ikinci məhlulla çilənir. Bərpa olunma qurtardıqdan sonra qismən nəm xromatoqrammanı 15 dəqiqə müddətinə 15%-li hiposulfit məhluluna salmaqla gümüş nitratin artığı çıxarılır. Sonra axar suda 1 saat müddətində xromatoqrama yuyulur. Əmələ gələn qəhvəyi və ya qara ləkələrin aydın olması üçün xromatoqrammanı H_2S məhluluna salmaq olar. Bu üsul həmçinin poliolları müşahidə etmək üçün də yararlıdır.

Trifeniltetrazolxlorid. Üsul trifeniltetrazolxloridin rəngsiz duzunun rəngli həll olmayan formazana qədər aşağıdakı tənlik üzrə reduksiya olunmasına əsaslanır.



Hər gün 1 N HCl-də təzə 0,5-2%-li trifeniltetrazolxlorid məhlulu hazırlanır. Xromatoqrama çilənir, 5 dəqiqə müddətində qa-ranlıqda $100\% \text{C}$ -də qızdırılır. Trifeniltetrazolxloridin artığı suda çoxlu yumaqla kənar edilir. Əmələ gələn rəng piridin vasitəsilə ekstraksiya olunub intensivliyi 490 nm -də ölçülür (spektrofotometrə).

Anilinfталat. Su ilə doydurulmuş 100 ml etanol və ya butanolda 1,66 q ftal turşusu və 0,93 q qovulmuş anilin həll edilir. Alınmış məhlulla xromatoqrama çilənir, 20 dəqiqə ərzində 100°C -də qızdırılır, nəticədə aldopentozalar parlaq albalı-qırmızı, aldoheksozalar isə qırmızı-qəhvəyi rəng əmələ gətirirlər. Reaktiv, ketozalara nisbətən aldozalar üçün daha həssasdır.

Müxtəlif siniflərə məxsus şəkərlər üçün aşkaredicilər

Rezorsin nümunəsi. Etanolda həll edilmiş 1° -li rezorsinin 10 ml-i üzərinə 90 ml 2 N HCl əlavə edib qarışdırırıq. Xromatoqrama alınan məhlulla çilənib $85\text{-}90\% \text{C}$ -də 10 dəqiqə qurudulur. Cəhrayı fonda ksiloza və arabinoza - göy, ramnoza - sarı, qalaktoza, qlükoza, mannoza - boz rəng verir.

Anizidin nümunəsi. 2 ml qatı sulfat turşusuna 0,5 q p-anizidin əlavə edib 50 ml spirtlə qarışdırırıq. Alınan qarışıqla xromatoqrammanı çiləyib, 3-5 dəqiqə ərzində 95°C -də qızdırırıq. Bu zaman aldopentozalar - tünd qəhvəyi, aldoheksozalar - zəif qəhvəyi, uron turşuları - qırmızı, heksulozalar - sarı limon rəngi verir.

° - **naftilamin və dəmir ionu (Fe³⁺) nümunəsi.** 50 ml 95β-li etanolda 100 mq % - naftilamin həll edib üzərinə 50 ml butanol, 0,4 ml 3,8 N HCl və 1 damla 10β-li dəmir sulfat əlavə edilir. Xromatoqrammanı çiləyib, 10 dəqiqə 160-170°C-də quruduruq. Fruktosa sarı, sarı-çəhrayı, pentozalar - çəhrayı-qırmızı, metilpentozalar - zəif sarı, heksozalar - açıq qəhvəyi rəng verir.

p-dimetilaminobenzaldehyd nümunəsi. 1°-li p-dimetilaminobenzaldehyd (etanolda) qatı HCl-da 4:1 nisbətində qarışdırılır. Alınan qarışıqla xromatoqrama çilənir və 30 saniyə müddətində 90°C-də qızdırılır. Dezoksişəkərlər və qlikanlar göy və ya boz rəngə boyanır. Qlikanlar adətən əvvəlcə çəhrayı rəng verir.

Hidroksilamin nümunəsi. 1 N hidroksilamin (turş xassəli) metil spirtində və 1,1 N KOH-ın, həmçinin metil spirtində məhlulların bərabər həcmdə qarışdırıb həmin qarışıqla xromatoqrammanı çiləyir və havada 10 dəqiqə ərzində qurutduqdan sonra tərkibində 1° FeCl₃ və 1% HCl olan qarışıqla yenidən çiləyirik.

Əgər maddə sərbəst turşu halında olarsa əmələ gəlməzdən əvvəl onu eterifikasiya edirlər. Bunun üçün içərisinə diazometanın efir məhlulu qoyulmuş bağlı qabda xromatoqrama alınır. Metil efiri 10-15 dəqiqə ərzində əmələ gəlir. Laktonlar aldol və uron turşularının efirləri göy və ya al ləkələr əmələ gətirir.

Orsin nümunəsi. Su ilə doymuş 100 ml butil spirtində 0,5 q orsin (3,5 dioksitoluol) və 15 q 3-xlorsirkə turşusu həll edilir. Reaktiv soyuducuda 1 sutka qala bilər. Xromatoqrama alınan məhlulla çilənib 20 dəqiqə ərzində 105°C-də qurudulur. Heptulozalar - göy, pentulozalar göy-yaşıl, heksulozalar sarı rəng əmələ gətirir. Aldoheksozalar, uron turşuları və oksiturşular rəng vermir.

Anilinüçxlorsirkə turşusu nümunəsi. 8,5 N 3-xlorsirkə turşusunun suda məhlulundan 32 ml və 50 ml soyudulmuş mibbi spirt götürüb qarışdırır və məhlulu buz üzərinə yerləşdirib üzərinə 8 ml soyudulmuş rəngsiz anilin əlavə edirik. Qarışığı 100 ml soyudulmuş tibbi spirtlə qarışdırırıq. Alınan məhlulla xromatoqrama çiləndikdə şəkərlər rəngli ləkələr əmələ gətirir. Poliollar isə rəng vermir. Nümunə poliolları ayırmaq üçün istifadə edilir.

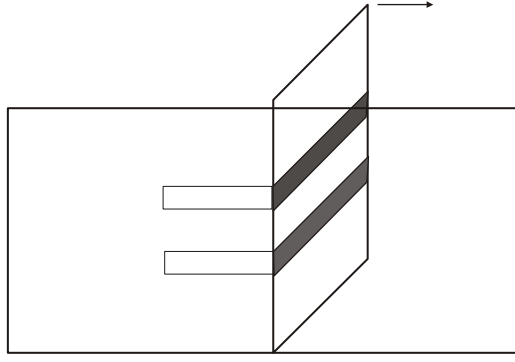
İŞ 72

ŞƏKƏRLƏRİN NAZIK QATLI

XROMATOQRAFIYASI

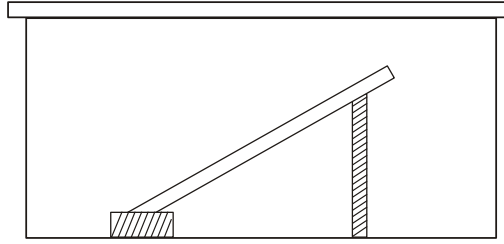
Son illər ərzində N.K.Koçetkov və əməkdaşları tərəfindən təklif olunan bu üsullar şəkərlərin kimyasının öyrənilməsində geniş tətbiq edilir.

Xromatoqrafiya uzunluğu 20 sm olan kənarları hamarlanmış şüşə lövhə üzərində aparılır. Lövhə üzərinə dörd qat məsaməli kaprondan ələnmiş 1 mm qalınlığında alüminium oksidi çəkilir. Hamar təbəqə (qat) almaq üçün üzərlərinə lazımi qalınlığı olan rezin halqa keçirilmiş şüşə boru və ya lövhədən istifadə edilir (şəkil 8).



Şəkil 8

Xromatoqrafiya üçün Brokmana görə ikinci dərəcəli aktivliyə malik olan alüminium oksidindən istifadə olunur. Maddə lövhə üzərinə aşağı kənarlarından 3-4 sm, bir-birindən 1,5-2 sm aralın vəziyyətdə yerləşdirilir. Xromatoqrafiya əməliyyatını yuxarı doğru hərəkət etmə üsulu ilə aparırıq. Bunun üçün hermetik kamerada lövhə 15-20⁰ bucaq altında qoyulur: həlledici bilavasitə kameraya tökülə bilər və ya Petri qabında yerləşdirilə bilər (şəkil 9).



Şəkil 9

Xromatoqrafiya əməliyyatı təxminən 20 dəqiqə çəkir. Sonra pulverizatorun köməyi ilə lövhə qatı H₂SO₄-lə çilənib infraqırmızı lampa ilə qızdırılır. Alüminium oksidin açıq fonunda kömürlənmiş şəklərin tünd ləkələri əmələ gəlir. Bu üsulun dəqiqliyi 10 mq-a bərabərdir.

İş üçün aşağıdakı həlledicilər istifadə olunur:

- A. Petrolein efiri : benzol (1:1)
- B. Benzol
- C. Xloroform
- Ç. Xloroform : metanol (19:1)
- D. Xloroform : etanol (49:1)
- E. Benzol : xloroform (2:3)
- Ə. Benzol : metanol (9:1)
- F. Etilsirkə turşusu
- G. Xloroform : metanol (1:1)

Hidroksil qrupları tamamilə əvəz edilmiş şəkərlər üçün A və B həllediciləri tətbiq edilir. Tərkibində bir (OH) qrupu olan şəkərlər üçün C, Ç, D, E, Ə, 2 və çox hidroksili olan şəkərlər üçün isə C, Ç, F, G həllediciləri tətbiq edilir. Hidroksilləri tamam əvəz edilmiş ° formalar üçün B, C, Ç, D, merkaptanlar üçün A, B, C həllediciləri tətbiq edilir.

Sərbəst (OH) qrupu olan şəkərlər və törəmələri üçün xromatoqrafiya əməliyyatında aşağındakı həlledicilər sistemi işlədilir.

1. Etilsirkə : n:propanol : su (10:2:1),
 2. Etilsirkə : n:propanol : su (20:7:4),
 3. Etilsirkə : n:propanol : su (10:5:3).
- Aşkaredici - qatı sulfat turşusudur.

Sellüloza üzərində nazik qatlı xromatoqrafiya

Əvvəlcə sellüloza tozu hazırlanır. Bunun üçün 800 q pambıq sellülozu tibbi etanolda hazırlanmış 5 l 10 %-li HCl məhlulunda 20-25 dəqiqə qaynadılır, əvvəlcə su ilə sonra metanolla yuyulub havada qurudulur.

Alınmış sellüloz poroşokundan 5 q götürüb, 0,3 q gips və 15 ml su ilə qarışdırıb pasta hazırlanır. Alınmış pasta ölçüsü 13x18 sm olan şüşə lövhə üzərinə çəkilib 5-10 saat ərzində otaq temperaturunda və 45 dəqiqə - 104-106°C qurudulur. Belə təbəqə çiləmə zamanı tökülmür. Rf-in kənarlanması 5 %-dən çox deyildir.

Aşağıdakı həlledicilər sistemi tətbiq edilir:

1. Tret-butanol : n-propanol : su (8:2:3)
2. Tret-butanol : etilsirkə : su (6:13:3)
3. Flüor-butanol : etilsirkə : su (8:12:3)
4. Propanol : 2-etilsirkə : su (25:65:11)
5. n-butanol : piridin : su (7:2:1)
6. Aseton : butanol : su (7:2:1)
7. Propanol : etilsirkə : su (15:2:3)

Çoxatomlu spirtlərin qarışığı yuxarıdakı sistemlərdə və aşağıdakılarda yaxşı ayrılırlar:

1. n-butanol : 25 %-li NH₄OH : su (15:1:2)
2. n-butanol : piridin : su (6:4:3)
3. n-butanol : etanol 25 %-li : NH₄OH : su (8:3:1:8).

Aldozaları aşkar etmək üçün: 1.Anilinfталat. 2.Anilin-difenilaminfosfor turşusu işlədilir.

Silikagel üzərində nazik qatlı xromatoqrafiya

KSK (150-200 Meş) markalı silikagelin 6 q-ın 0,35 q gips və 15 ml su ilə qarışdırılaraq pasta hazırlanır. Pasta şüşə lövhəyə sürtülüb 6-12 saat havada (otaq temperaturunda) və 40 dəqiqə 104-106°C-də qurudulur.

Ayrırma əməliyyatını aşağıdakı həlledicilər sistemində aparırlar:

1. Metanol : xloroform (1:9)
2. Etanol : su (95:5)
3. Etanol : ammoniyak : su (15:1:3)

1-ci sistem çoxatomlu spirtləri, 2-ci və 3-cü isə mono- və disaxaridləri, həmçinin polioksiturşuları ayırmaq üçün tətbiq edilir.

Aşkaredici kimi kağız xromatoqrafiyasında tətbiq edilən reagentlər:

1. AgNO_3 -un ammonyaklı məhlulu
2. Kalium permanınat : natrium-peryodat
3. Qurğuşun tetrasetat (sonradan rozanilinlə işlənmiş)
4. Kalium peryodat benzidinlə (qeydə bax)

QEYD: Xromatoqramma metaperiodatın suda məhlulu ilə işlənir. 6 dəqiqə saxladıqdan sonra 0,1 M benzidinlə 50 %-li metanol : aseton : 0,2 N HCl qarışığında (10:2:1) işlənir. Sərbəst α -qlikol qrupları birləşmələr xromatoqrammada göy fonda ağ ləkələr əmələ gətirir.

Şəkərlərin gips üzərində nazik qatlı

xromatoqrafiyası

Çini həvəngdə 10 q közərdilmiş kalsium sulfat və 20 ml distillə edilmiş su 5-7 dəqiqə ərzində homogen kütlə alınana qədər əzilir. Alınan pasta 6x18 sm ölçülü şüşə lövhəyə nazik qatla sürtülür və otaq temperaturunda 20 saat qurudulur. Bu yolla alınmış gips təbəqəsi möhkəm olur.

Monoşəkərlər üçün xloroform : metanol (19:2), xloroform : metanol (19:3), disaxaridlər üçün xloroform-metanol (19:5) qarışıqları tətbiq edilir.

Süni yolla hazırlanmış şəkər qarışıqları gips lövhələrində yaxşı ayrılır. Bunun üçün şəkərlərin spirtlə 1%-li məhlullarını 1:1 nisbətində qarışdırmaq olar.

D-qlükoza : L-ramnoza

L-arabinoza : D-qalaktoza

D-arabinoza : D-qalaktoza

L-ramnoza : D-mannoza

Qarışıqları xloroform : metanol (19:2) həlledicisi ilə ayıraraq natrium metaperiodat və kalium permanınatın qələvi məhlulları vasitəsilə aşkar edirlər.

10 ml 2 %-li natrium karbonatın suda məhluluna 40 ml 2%-li natrium metaperiodat töküb alınan qarışıqda 0,5 q kalium permanınat həll edilir. Çiləndikdən sonra xromatoqramma otaq temperaturunda 15-20 dəqiqə ərzində saxlanılır. Nəticədə sarı fonda sadə şəkərlərin sarı ləkələri əmələ gəlir.

III BÖLMƏYƏ AID SUALLAR

1. Müəkkəb maddələrin tərkibindəki karbohidratları hansı reaksiya ilə aşkar etmək olar? Reaksiyanın tənliyini yazın.
2. Şəkərlərin reduksiyaetmə qabiliyyəti nə deməkdir?
3. Hansı şəkərlər reduksiyaetmə qabiliyyətinə malikdirlər və nə üçün?
4. Trommer sınağının mahiyyəti nədən ibarətdir?
5. Seqnet duzu və Felinq mayelərinin iştirakı ilə sadə şəkərlərin reduksiyaetmə tənliyini yazın.

6. Hansı reaksiya ilə monoşəkərləri disaxaridlərdən ayırmaq olar?
 7. Nilander və gümüş güzgü reaksiyalarının tənliyini yazın.
 8. Selivanov reaksiyası hansı şəkərlər üçün xarakterikdir? Bu reaksiyanın tənliyini yazın.
 9. Pentozalara aid hansı xarakterik reaksiyaları bilirsiniz?
 10. Nə üçün saxaroza reduksiya etmir? İnversiya nə deməkdir?
 11. Hansı reaksiya yalnız monoşəkərlər üçün xarakterikdir?
 12. Şəkərlərin qələvi və törəmələrinin turş mühitdə kondensə reaksiyalarına misal göstərin.
 13. Tollens və dinitrobenzolda reaksiyaların mahiyyəti nədir?
 14. İkinci dərəcəli poliozalar hansılardır?
 15. Nişastanın hidroliz məhsulları hansılardır? Bu məhsulları necə müşahidə etmək olar?
 16. Qlikogen və inulini necə aşkar etmək olar?
 17. Fenilhidrozin sınağının tənliklərini yazın.
 18. Tindal hadisəsini hansı şəkərlərdə və necə müşahidə etmək olar?
 19. Qıqcırma nədir və onu hansı təcrübə ilə müşahidə etmək olar?
 20. Qıqcırmanı necə tormozlandırmaq və bərpa etmək olar?
 21. Optiki aktivlik nə deməkdir və onu necə müşahidə etmək olar?
 22. Mutarotasiya nədir? Bu hadisəni göstərən təcrübəni təsvir edin.
 23. Şəkərlərin aralıq mübadiləsində əmələ gələn metabolitlərin bioloji mənası nədir? Bu metabolitlər hansılardır?
-
24. İnsan orqanizmində nişasta necə həzm olunur?
 25. Uffelman nümunəsi təcrübəsini təsvir edin.
 26. Süd turşusunun əmələ gəlməsini hansı təcrübə ilə müşahidə etmək olar?
 27. Şəkərləri miqdarca təyin etmək üçün hansı üsullar sizə məlumdur və bu üsulların mahiyyəti nədən ibarətdir? Bertran üsulunun mahiyyətini izah edin.
 28. Müxtəlif şəkər formalarını mikroüsulla necə aşkar etmək olar?
 29. Aldozalara aid miqdarı analizin mahiyyəti nədir?
 30. Hansı xromatoqrafiya üsulları mövcuddur və onların mahiyyəti nədən ibarətdir?
 31. Reduksiya edən və reduksiya etməyən karbohidratlar üçün xarakterik aşkaredicilərə misal göstərin.
 32. Şəkərlərin digər siniflərinə aid aşkar edicilərə misal göstərin.
 33. Şəkərlərin nazik qatlı xromatoqrafiyasına aid analitik üsullar hansılardır?

V BÖLMƏ

LIPIDLƏR

Lipidlər - yağlar və yağabənzər (lipoid) maddələri bir-ləşdirən termin olsa da, lipidlərin təsnifatı bir çox cəhətdən çətinlik törədir və müxtəlif növ təsnifat növünün meydana çıxmasına səbəb olmuşdur. Lakin lipidlər aşağıdakı mühüm tələblərə cavab verməlidir. 1. Bioloji mənşəli olmalı. 2. Qeyri-polyar mayelərdə həll olmalı, suda isə həll olmamalıdır. Başqa sözlə, lipidlər hidrofob maddələrdir. 3. Lipidlərə yüksək alkil radikallar və ya karbosikllərin olması səciyyəvidir. Eyni zamanda lipidlərin struktur, fiziki-kimyəvi və bioloji və ya fizioloji təsnifatları da mövcuddur.

Mövzunun geniş olduğunu və təqdim olunan praktikumda lipidlərə az yer verməli olduğumuzu nəzərə alsaq, lipidlərin təsnifatı burada müzakirə olunmur. Təkcə onu qeyd edək ki, lipidlərin mühüm tərkib hissəsi (asil lipidlərin) olan yağ turşularının (200-dən çox) özü əsas və ya doymuş, iki qrupa bölünən ikinci dərəcəli yağ turşuları (monoən və polien) və qeyri-adi yağ turşularına bölünür.

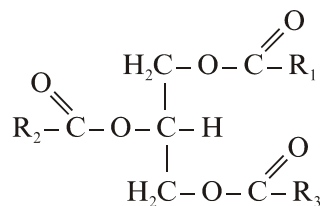
II böyük qrup neytral lipidlər - qliserol (trihidroksi spirt və ya qliserin) və yağ turşularının efirləri olan asilqliserollardır.

Neytral lipidlərə yüksək qeyri-polyar lipidlərin mürəkkəb qarışığından ibarət olan mumlar da aiddir. Bu quruluşda çox atomlu spirtlər, yüksəkmolekullu üzvi turşular və yüksəkmolekullu karbohidrogenlər, bəzən turşular və sərbəst spirtlər də daxildir.

III böyük qrup polyar lipidlərə fosfolipidlər, qlikolipidlər daxil edilir. Lipidlər sinfinə steroidlər və terpenləri də daxil edirlər. Beləliklə, lipidlər sinfi çox geniş yayılmış həddən ziyadə çoxlu birləşmələri əhatə edir. Təkcə, 200-dən çox yağ turşusunun əmələ gətirdiyi 600 yağ növünün mövcud olduğunu demək, lipidlərin necə yayıldığına sübutdur. Onlardan 420-si bitki yağı, 80-i quruda yaşayan heyvanların, 100-ü isə su heyvanlarının yağı kimi məlumdur.

Lipidlərin bioloji rolu, onların hüceyrə membranının mütləq komponentlərindən biri olması, membran strukturuna malik bütün hüceyrədaxili quruluşların tərkibinə daxil olması, energetik, ehtiyat, müdafiə və s. funksiyaların daşınması ilə müəyyən olunur. Təbiətdə geniş yayılmış trihidroksispirit (qliserol və ya qliserin) və yağ turşularının efirlərindən ibarət olan neytral lipidlərdən (onlar adətən yağlar adlanır) triasilqliserolların kimyəvi xassələri və bioloji funksiyaları yağların tərkibinə daxil olan yağ turşularının təbiəti ilə müəyyən olunur.

Yağların ümumi quruluşunda R_1 , R_2 və R_3 radikalları yağ turşularının qalıqlarıdır və onlar



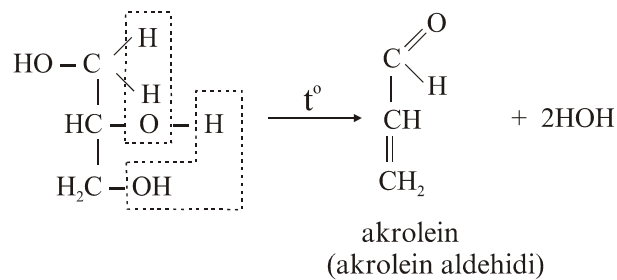
əksər hallarda müxtəlif olur. Başqa sözlə, triasilqliserollarda maksimal müxtəliflik qanunu mövcuddur. Yağ turşularının $R_1R_1R_2$ olması az, $R_1R_1R_1$ isə çox nadir haldır.

Yağlar müxtəlif amillərin təsirindən tez xarab olur və acılaşırlar. Bu amillərə havanın oksigeni, su, işıq, temperatur və s. daxildir. Həmin amilləri kənar etməklə yağları uzun müddət dəyişmədən və keyfiyyətini itirmədən saxlamaq mümkündür. Acılaşan yağlarda qliserin tədricən ayrılaraq toplanır və eyni zamanda yağ turşuları ayrılır. Müvafiq təcrübə vasitəsilə onları aşkar etmək mümkündür. Bu reaksiyalardan biri də xarab olmuş yağda qliserini müşahidə etmək üçün tətbiq olunan akrolein sınağıdır. Digər sınaq vasitəsilə bitki yağları aşkar edilir.

İŞ 73

AKROLEIN SINAĞI

Bu təcrübə qliserinin yüksək temperaturda iki molekul su itirib akrolein adlanan doymamış aldehidə çevrilməsinə əsaslanır. Reaksiya aşağıdakı kimi gedir.



Tərkibində qliserin olmayan lipidlər və digər maddələr (mumlar, steridlər, sterinlər və s.) bu sınağı vermir.

Reaktivlər:

1. Yağ;
2. KHSO₄ (və ya H₃BO₃, MgSO₄, NaHSO₄)

İşin gedişi

Təmiz quru sınaq şüşəsinə azacıq (2-3 damcı) yağ salınır, üzərinə 0,5 mq quru kalium hidrosulfat və ya KHSO₄, H₃BO₃, MgSO₄, NaHSO₄ və s. su udan maddə əlavə edib ehmalca açıq alovda qızdırılır. Bu zaman ağ rəngli buxarın ayrılması və qıcıqlandırıcı (göz yaşardıcı) qoxu, akroleinin əmələ gəldiyini göstərir. Bu təcrübə qliserinlə də müsbət olur. Lakin mum və sairə ilə nəticə alınmır.

Gümüşün ammonyaklı məhlulunda isladılmış filtr kağızını buxar üzərinə tutsaq kağızın qaralmasını görürük.

İŞ 74

BELYE SINAĞI

Bu təcrübə ilə adətən bitki yağlarının mənşəyi bilinir. Bu isə təmiz bitki yağlarının turş mühitdə (qatı HCl turşusu ilə birlikdə) rezorsinin benzoldakı məhlulu ilə birlikdə qarışdırıb (çalxalayıb) saxladıqda yaşıl göy və ya bənövşəyi rəng əmələ gətirmələrinə əsaslanır.

Reaktivlər:

1. Yağ;
2. Qatı HCl;
3. Rezorsin;
4. Spirt;
5. Xloroform.

İşin gedişi

Bir neçə təmiz quru sınaq şüşəsinin hərəsinə bir qədər (1-2 ml) yağ salınır. Üzərinə o qədər də qatı xlorid turşusu tökülür, sonra hərəsinə 1-2 ml rezorsin əlavə edib, bərk çalxalanır və sərbəst buraxılır; bu zaman əmələ gələn rənglərə fikir verilir:

- a) pambıq yağı, küncüt yağı, xaş-xaş yağı və s. bənövşəyi və ya göy;
- b) zeytun yağı, kokos yağı və s. yaşıl rəng verirlər.

Yağlar suda həll olmur. Bunu belə yoxlayırlar: bir neçə təmiz sınaq şüşəsinə eyni miqdar hərəsinə 2-3 ml yağ götürülür. Üzərlərinə eyni miqdar (4-5 ml) müxtəlif həlledici: birinə su, digərinə spirt, üçüncüyə xloroform və sairə əlavə edib ayrı-ayrı qarışdıraraq həll olmalarına fikir verilir. Yağlar suda heç həll olmadığı halda axırıncılarda daha yaxşı həll olur.

İŞ 75

EMULSIYALAŞMA TƏCRÜBƏSİ

Emulsiya biri-digərinə qarışmayıb məhlulda həll olacaq maye maddə hissəciklərinin asılı vəziyyətdə qalaraq dispers sistemi əmələ gətirməsinə deyilir. Başqa sözlə, emulsiya - maye halda olan dispers fazanın maye dispers mühitdə asılı vəziyyətdə olmasına deyilir. Buna süd misal ola bilər. Emulsiyanın yaxşı və hissəciklərinin daha da kiçik olmasına bir çox təbii maddələr kömək edir ki, bunlara *emulqator* (emulsiyalaşdırıcı) deyilir. Məsələn, zülallar, sabun məhlulu, qələvilər (soda və sair) yaxşı emulqatorlardır.

Emulqatorlar həlledici ilə yağ kürecikləri arasındakı səthi gerginliyi azaldaraq emulsiyanın sabitləşməsinə kömək edir.

Rektivlər:

1. Yağ;
2. 10 %-li Na_2CO_3
3. 20 %-li KOH

İşin gedişi

Bir neçə təmiz sınaq şüşəsinin hərəsinə 2-3 ml yağ və o qədər də birinci sınaq şüşəsinə soda məhlulu, ikinciyə sabun məhlulu, üçüncüyə qələvi (KOH) məhlulu əlavə edib axırıncıya isə yağ və sudan başqa heç bir şey əlavə etməyib sınaq şüşələrinin hamısı bir neçə dəqiqəyə isti su hamamına qoyulur, sonra sınaq şüşə-lərində emulsiyanın vəziyyətinə diqqət yetirilir və nəticədə hansı sınaq şüşəsində yaxşı emulsiya əmələ gəldiyi müşahidə edilir.

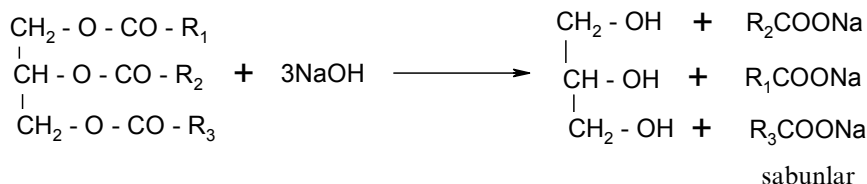
Qeydlər: a) emulsiyalaşma təcrübəsi üçün götürülən yağların hamısı bitki yağı, yeni duru yağ olduqda təcrübə isti su hamamına qoymadan da aparıla bilər. b) Təcrübə aparıldığı müddətdə, alovdan alışıq maddələrin qorunması üçün o müddətdə laboratoriyada elektrik cihazları və qaz yanmamalıdır (təcrübə üçün isti su, ya digər otaqdan gətirilməli və ya qabaqcadan hazırlanmalıdır).

İŞ 76

YAĞLARIN SABUNLAŞMASI VƏ SƏRBƏST

YAĞ TURŞULARININ ALINMASI

Yağların sabunlaşması prosesi onların qələvi mühitdə hidrolizi nəticəsində baş verir və qliserinin və ali yağ turşularının natrium və ya kalium duzlarının əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunur. Bu duzlar sabundurlar. Natrium duzları daha geniş istifadə olurlar. Kalium sabunları daha yumşaq və daha asanlıqla həll oladırlar. Reaksiya aşağıdakı tənlik üzrə gedir.



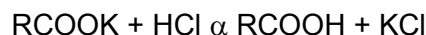
Rektivlər:

1. Yağ;
2. 30 %-li KOH (spirtə məhlulu);
3. HCl (1 : 1 həcmində)

İşin gedişi

Hava soyuducusu ilə təmin olunmuş 50 ml-lik konik kolbaya 5 ml yağ və 100 30 % KOH əlavə olunur. Kolba qaynayan su hamamına yerləşdirilir və 30 dəqiqə ərzində hidroliz baş verir. Sonra kolbaya bir qədər isti su əlavə olunur ki, məhlulun səthində yerləşmiş koaqulyat həll olunsun.

Sabunu əmələ gətirən yağ turşularını ayırmaq üçün, alınmış sabun məhlulundan 5-7 ml götürüb sınaq şüşəsinə keçiririk və xlorid turşusunun yarım həcmi əlavə edirik. Bu zaman yağ turşuları güclü xlorid turşusu ilə öz duzlarından sıxışdırılıb və mayenin səthində toplanırlar. Bu yağ turşuları xoşagəlməz qoxuya malikdirlər. Reaksiya aşağıdakı tənliklə gedir:



İŞ 77

YAĞ ƏDƏDLƏRİNİN TƏYİNİ

Yağların ətraflı öyrənilməsi, onların bir sıra xassələrlə bərabər konstantlarının da öyrənilməsinə tələb edir. Yağlar bir sıra ərimə dərəcəsi, donma dərəcəsi, refraksiya və sairə ilə bərabər mühüm kimyəvi konstantlara da malikdir. Ona görə də yağların bir sıra kimyəvi konstantlarının da öyrənilməsi çox vacibdir.

A. Turşuluq ədədi və ya yağların turşuluğu

Turşuluq ədədi bir qram yağın tərkibindəki sərbəst turşuların neytrallaşmasına lazım olan qələvinin (KOH) milliqramlarla miqdarına deyilir. Turşuluq ədədi bitki yağlarında heyvani yağlara nisbətən daha çox olur və bitkidə heyvan orqanizminə nisbətən daha çox dəyişəndir.

Rektivlər:

1. Yağ;
2. Spirt, efir (1 : 1 nisbəti);
3. 1 %-li fenolftalein (spirtde məhlulu);
4. 0,1 N KOH (spirtde məhlulu).

İşin gedişi

Təmiz quru kolbaya (və ya stəkana) 3-5 qr yağ götürülür. Üzərinə 30 ml (əvvəlcədən neytrallaşdırılmış) efir və spirt qarışığı (bərabər həcmli qarışıq) və 1-2 damla fenolftalein töküüb həll edilir. Büretkadan 0,1 N KOH-in spirtde məhlulu ilə çəhrayı rəng alınana qədər titrlənib aşığıdakı tənlik üzrə turşuluq ədədi hesablanır.

$$x = \frac{a \cdot 56,11}{N}$$

burada: a - titrləməyə sərf olan 0,1 N KOH, ml-lə,

N - yağın miqdarı, qr-la,

56,11 - 1 ml 0,1 N KOH məhlulunda olan qələvinin miqdarı

mq-la (və ya KOH-ın titri).

B. Sabunlaşma ədədi

Bir qram yağın tərkibində sərbəst və birləşmiş halda olan bütün yağ turşularının neytrallaşmasına sərf olunan qələvinin (KOH) milliqramlarla miqdarına sabunlaşma ədədi deyilir.

Rektivlər:

1. Yağ;
2. 1 N KOH (spirtde məhlulu);
3. 1 %-li fenolftalein (spirtde məhlulu);
4. 0,5 N HCl.

İşin gedişi

Təmiz quru kolbaya 2 qrama qədər yağ götürülür. Üzərinə 25 ml 1 N KOH (spirtde məhlulu), ikinci kolbaya isə yağ əvəzinə o qədər (2 ml) təmiz su alıb (kontrol), hər iki kolba havasoyuducusu ilə birləşdirilib qaynar su hamamında bir saata qədər sabunlaşma aparılır. Damcı sınağından istifadə edərək sabunlaşmanın tamamlığı müəyyən edilir. Sonra kolbaların hərəsinə 1-2 damla indikator (fenolftalein) əlavə edib HCl-un 0,5 N məhlulu ilə rəng dəyişilənə qədər titrlənib aşağıdakı tənlik üzrə sabunlaşma ədədi hesablanır:

$$x = \frac{(V_k - V_t) \cdot 56.11}{N}$$

burada: V_k - kontrola (suya) sərf olunan HCl-un miqdarı ml-lə,

V_t - əsas təcrübəyə (yağa) sərf olunan HCl -un miqdarı,

ml-lə

T - HCl- un düzəliş əmsalı,

N - yağın miqdarı, qr-la,

56,11 – 1 N KOH-ın titri.

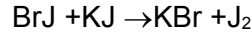
C. Efir ədədi

Bir qram yağın tərkibində birləşmiş halda olan yağ turşularının neytrallaşmasına sərf olunan qələvinin (KOH) milliqramlarla miqdarına efir ədədi deyilir. Bu konstantı əməli surətdə təyin etməyə ehtiyac yoxdur. Çünki efir ədədi yağın sabunlaşma ədədindən turşuluq ədədinin çıxılma fərqidir və bu yolla da hesablanı bilər.

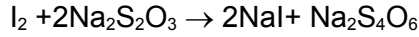
Ç. Yod ədədi

Yod ədədi, lipidlərin tərkibindəki doymamış turşuların miqdarını göstərir. Ona görə də yüz qram yağın tərkibindəki doymamış turşuların doymasına sərf olacaq yodun qramlarla miqdarına yod ədədi deyilir. Müxtəlif yağların yod ədədi də çox müxtəlif olur. Məsələn, günəbaxan yağı 120-140, pambıq yağı - 100-110, zeytun yağı - 80-90 və s. Bir sözlə, yod ədədini öyrənmək, onları seçiyələndirmək üçün daha vacibdir. Yod ədədi iki yolla təyin edilir.

a) BrJ vasitəsilə yod ədədinin təyini (Qanus üsulu), BrJ yodun bromla sirkə turşusu mühitində birləşməsi nəticəsində alınır. BrI doymamış yağ turşularında ikiqat rabitə yerlərinə birləşir. Reaksiyaya daxil olmayan BrJ artığı KJ-la aşağıdakı kimi reaksiyaya girir.



Burada ayrılan yod isə tiosulfit vasitəsilə titrlənir.



Reaktiv və ləvazimat:

1. Bitki yağı
2. Qanus reaktivi; 13 q kristallik J_2 100 ml buzlu sirkə turşusunda (1 litrlik kolbada) həll edilir. Məhlulə 8,2 q Br əlavə edib həcmi litrə çatdırılır. Məhlul rəngli qabda saxlanılır (qonur rəngli). Məhlulu sorucu şkafda hazırlamaq lazımdır.
3. 20 % KJ (iş zamanı hazırlanır)
4. 0,1 N natrium tiosulfit
5. 1 %-li nişasta
6. Xloroform

İşin gedişi

250-300 ml-lik konusvari kolbaya 0,2-0,3 q yağ analitik tərəzidə çəkib 10 ml xloroformda həll edildikdən sonra tökülür. İkinci eyni ölçülü kolbaya yağsız 10 ml xloroform götürülür (kontrol), hər iki kolbaya 25 ml Qanus reaktivi əlavə edilir. Qabları tıxacla möhkəm bağlayıb çalxalayaraq və 1-1,5 saat müddətində qaranlıqda yerləşdiririk. Sonra hər iki kolbaya 10 ml 20 %-li KJ və 50 ml su töküüb ayrılan yodu $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -lə zəif sarı rəng alınana qədər titrləyirik. Sonra məhlulə 10-12 damla nişasta əlavə edib rəngsizləşənə qədər titrləməni davam etdiririk. Nəzərdə tutmaq lazımdır ki, 1 ml 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 1 ml 0,1 N J_2 -a uyğun gəlir. Yod ədədi aşağıdakı tənliklə hesablanır.

$$U = \frac{(V_k - V_t) \cdot 0,0127}{N}$$

Burada: U- yod ədədi,

V_k - kontrola sərf olunan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, ml-lə,

V_t - təcrübə variantına sərf olunan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, ml-lə,

0,1269 - yoda görə tiosulfitin titri,

N - yağın çəkisi, q -la.

b) Yod ədədinin Qyubl üsulu ilə təyini daha dəqiq olsa da çox zəhərli HgCl_2 (civə xlorid) tətbiqi ilə əlaqədardır. Ona görə də kiçik praktikum məşğələləri üçün bu üsul məsləhət görülmür. Yuxarıdakı Qanus üsulu isə tez başa gələn əlverişli üsuldur.

İŞ 78

YAĞLARIN BIXROMAT ÜSULU İLƏ TƏYİNİ

(Mikroüsul)

Bu üsul, turş mühitdə kalium bixromatın iştirakilə yağın karbon qazı və ya suya qədər oksidləşməsinə əsaslanır.

Reaktivlər:

1. Oksidləşdirici qarışıq: 25 ml təmiz suda 5 q AgNO_3 həll edib onu 50 ml suda həll olmuş 5 q $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ilə qarışdırır, əmələ gələn çöküntü sentrifüqalanır və təkrar yuyulur. Alınan pasta 500 ml qatı H_2SO_4 -də həll edilib oksidləşdirici olaraq işlədilir.
2. 10 %-li KJ
3. 0,1 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
4. 1 %-li nişasta

İşin gedişi

Tərkibindəki yağın miqdarını təyin etmək üçün müəyyən miqdar 20-40 mq sınaq çəkisi götürülür. Xırda kolbada üzərinə 110-212 ml oksidləşdirici əlavə edib 1-1,5 saat müddətində ekstraksiya aparılır. Sonra ekstrakt süzülür və 5 ml efir ilə yuyulub ekstrakta əlavə edilir, efir isə su hamamında tamamilə buxarlandırılır. Əsasən yağdan ibarət olan qalıqın üzərinə 10 ml oksidləşdirici qarışıq (1) əlavə edirlər. Sonra hər iki qabdakı maddə (ekstrakt) soyudulur və hərəsi ayrılıqda 50 ml -ik kolbaya keçirilir. Hər iki kolbaya hərəsinə 30 ml 10 %-li KJ məhlulu əlavə edilir. 1-2 damcı nişasta (indikator) əlavə edib sərbəstləşən yod $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ilə titrlənir.

V BÖLMƏYƏ AID SUALLAR

1. Lipidlərin əsas xassələri hansılardır?
2. Akrolein və Belye sınaqlarını nə üçün tətbiq edirlər?
3. Emulsiya məhlulları nədir və hansı emulqatorları tanıyırsınız?
4. Yağların sabunlaşması prosesini səciyyələndirin.
5. Yağ ədədləri hansılardır və onların təyini necə aparılır?
6. Yağların miqdarca təyini nəyə əsaslanır?

VI BÖLMƏ VİTAMİNLƏR VƏ ONLARIN TƏYİNİ

Vitaminlər kimyəvi quruluşuna görə çox da mürəkkəb olmayan üzvi birləşmələr olub, üzvi maddələrin ən müxtəlif siniflərinə aiddirlər. Onların normal həyat üçün vacib olması, bu maddələri vitamin (həyat üçün yararlı deməkdir) termini adı altında birləşdirir. Əsas qida maddələrindən fərqli olaraq orqanizmlərin bu maddələrə tələbatı çox cüzdür.

Vitaminlərin əksəriyyəti, fermentlərin prostetik qrupunun tərkibinə daxil olub müxtəlif reaksiyaların kataliz olunmasında yaxından iştirak edir.

Qidanın tərkibində vitaminlərin az olması və ya olmaması orqanizmdə maddələr mübadiləsinin pozulmasına və nəticədə hipovitaminoz və avitaminoz əmələ gəlməsinə səbəb olur. Vitaminlərin çatışmaması nəticəsində sinqa, raxit, pellaqra, toyuq korluğu, polinevrit və s. kimi ağır xəstəliklər əmələ gəlir.

İnsan və heyvanlar, özləri üçün lazım olan vitaminlərin əksəriyyətini bitkilərdən alırlar. Vitaminlər və provitaminlər əsasən bitkilərdə sintez olunurlar.

Hazırda müəyyən olunmuşdur ki, vitaminlər nəinki heyvan və insan orqanizmlərinin normal böyümə və inkişafı üçün, həm də mikroorqanizmlərin və ali bitkilərin də normal böyümə və inkişafı üçün zəruridirlər. Məsələn, bitkilərin kökləri bir neçə vitamin olmadıqda normal böyümürlər. Həmçinin qida mühitində bir çox vitaminlər olmadıqda mikroorqanizmlər normal inkişaf edə bilmirlər. Bundan istifadə edərək bəzi vitaminlərin miqdarını təyin edirlər.

Həllolma qabiliyyətinə görə vitaminlər iki böyük qrupa bölünürlər: suda həll olan və yağda həll olan vitaminlər.

SUDA HƏLL OLAN VİTAMİNLƏR

İŞ 79

C VİTAMİNİNİN (ASKORBİN TURŞUSU) TƏYİNİ

a) müəyyən olunması (keyfiyyət üsulu)

Qidanın tərkibində C vitaminin çatışmaması nəticəsində sinqa xəstəliyi əmələ gəlir. C vitamini bitkilərdə geniş yayılmışdır. Bir çox bitkilərdə və meyvələrdə, məsələn, şam yarpağında, itburnu meyvəsində və s. C vitaminin miqdarı xüsusilə çoxdur. C vitamini asan oksidləşib reduksiya oluna bilir və orqanizmdəki funksiyası da məhz bununla əlaqədardır.

C vitaminin müəyyən olunması, onun qırmızı qan duzu, metil göyü, 2,6-dixlorofenolindofenol və s. birləşmələrlə asan oksidləşməsinə əsaslanır.

Reaktiv və ləvazimat:

1. 10 %-li KOH

2. 10 %-li HCl turşusu
3. 5 %-li qırmızı qan duzu
4. 1 %-li FeCl₃
5. 1 %-li vitamin C
6. Sınaq şüşələri və ştativ
7. Şüşə çubuq

İşin gedişi

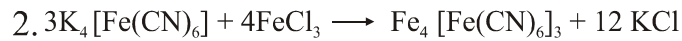
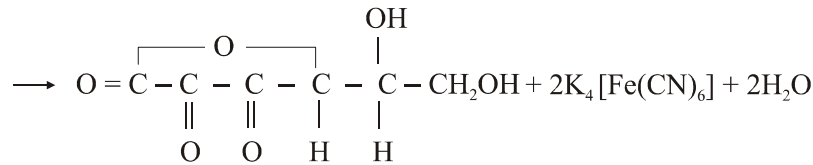
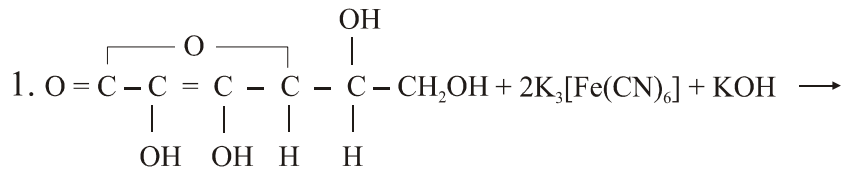
Beş damla 1%-li vitamin məhlulu götürülür (sınaq şüşəsində), üzərinə bir damla 10%-li KOH və bir damla 5%-li K₃[Fe(CN)₆] əlavə edib qarışdırılır. Sonra həmin məhlulun üzərinə üç damla 10 %-li HCl və bir damla 1 %-li FeCl₃ məhlulları əlavə olunur. Kontrol üçün də bu eməliyyat təkrar olunur, lakin vitamin məhlulu əvəzinə distillə suyu götürülməlidir.

Vitamini olan sınaq şüşəsində Berlin abısı alınır. Reaksiya aşağıdakı kimi iki mərhələdə gedir.

b) miqdarca təyini

C vitamininin təyini, turş mühitdə göy rəngli indikator olan 2,6-dixlorfenolindofenolu reduksiya etməsinə əsaslanır. Bu vaxt askorbin turşusu dehidroaskorbin turşusunadək oksidləşir.

Askorbin turşusu qırmızı qan duzu ilə də oksidləşə bilər.



Reaktiv və ləvazimat:

1. 1 %-li HCl
2. 1 %-li H₂C₂O₄
3. 1 %-li nişasta məhlulu
4. 0,001 N KJO₃
5. KJ kristalı
6. Çini həvəng-dəstə
7. Konusvari kolba (25-50 ml)
8. Ölçü kolbaları
9. Pipetkalar
10. Filtr kağızı
11. 0,001 N 2,6-dixlorfenolindofenol

İşin gedişi

1-10 q təzə bitki nümunəsi (tərkibində C vitaminin miqdarından asılı olaraq) çini həvəng-dəstədə 5 ml 1 %-li HCl məhlulunda kvarts qumunun köməyi ilə əzilir və üzərinə 15 ml 1%-li HCl məhlulu əlavə olunub, 100 ml-lik ölçü kolbasına keçirilir. Həvəng-dəstə H₂C₂O₄ turşusu (1 %-li) ilə yaxalanır və kolbaya tökülür. Kolbanın həcmi quzuqulağı turşusu ilə cizgiyə çatdırılır və filtr kağızı vasitəsilə süzülür. Filtratdan 5-10 ml götürülür rəngli məhlulla (2,6-dixlorfenolindofenol) açıq çəhrayı rəng alınana qədər titrlənir. Bununla paralel istifadə olunmuş reaktivlərin qarışığı (kontrol) titrlənir və hesablama aşağıdakı tənlik üzrə aparılır:

$$x = \frac{(a - b) \cdot T \cdot 100}{N}$$

a - təcrübi variantının titrlənməsinə sərf olunan rəng, ml-lə,

b – kontrolun titrlənməsinə sərf olunan məhlul ml-lə,

T - askorbin turşusuna görə titr,

N - nümunənin miqdarı, qr-la.

Askorbin turşusuna görə titr aşağıdakı kimi təyin olunur. 50 ml-lik ölçü kolbasında 0,2 %-li H₂SO₄ məhlulunda bir neçə askorbin turşusu (1-1,5 mq) kristal həll olunur. İki konusvarı kolbanın hərəsinə 5 ml hazırlanmış məhlul tökülür, üzərinə bir neçə KJ kristalı (10-15) və beş damla 1 %-li nişasta məhlulu əlavə olunur. Kolbalardan biri indikatorla (rənglə), o biri 0,001 N KJO₃ məhlulu ilə titrlənir. Askorbin turşusuna görə titr aşağıdakı düsturla hesablanır:

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

T - 1 ml rəngə uyğun gələn askorbin turşusunun miqdarı mq-la,

0,088 – 1 ml 0,001 N KJO₃ məhluluna uyğun gələn askorbin turşusunun milliqramla miqdarı,

a - titrləməyə sərf olunmuş 0,001 N KJO₃, ml-lə,

b - titrləməyə sərf olunan rəng ml-lə.

İndikator - 2,6-dixlorfenolindofenol məhlulu hazırlamaq üçün 200 mq rəng 1 l suda həll olunub, filtr kağızından süzülür. Filtrata bıçağın ucunda NaHCO₃ əlavə olunur. Askorbin turşusuna görə rəngin titri təcrübədən bir az əvvəl müəyyən olunur. Azacıq turş mühitdə məhlul qırmızı-çəhrayı rəng ala bilər. Azacıq qələvi mühit bunun qarşısını alır.

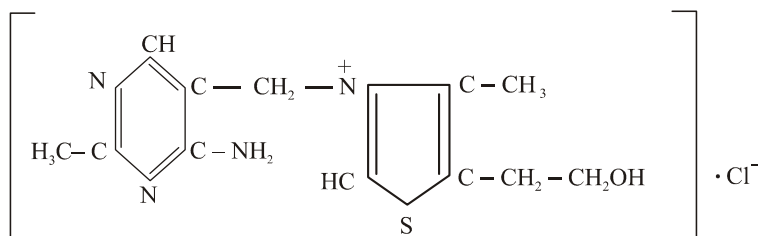
İŞ 80

B₁ VİTAMİNİNİN (TİAMİN) TƏYİNİ

a) müəyyən olunması (keyfiyyət üsulu)

Orqanizmdə B₁ vitaminin çatışmaması nəticəsində insanlarda beri-beri, quşlarda polinevrit xəstəliyi əmələ gəlir. Beri-beri xəstəliyi zamanı birinci növbədə sinir sisteminin funksiyası pozulur, ayaqlarda şiddətli ağrı, iflic əmələ gəlir və çox vaxt ölümlə nəticələnir.

Tiamin, pirimidin və tiazol törəmələrinin birləşmələrindən ibarət olub, oksidləşdirici dekarboksilaza fermentinin tərkibinə daxil olur.



Tiaminin müəyyən olunması, onun qələvi mühitdə qırmızı qan duzu ilə oksidləşərək mavi fluoressensiya qabiliyyətinə malik olan tiokromun əmələ gəlməsinə əsaslanır.

Reaktiv və ləvazimat:

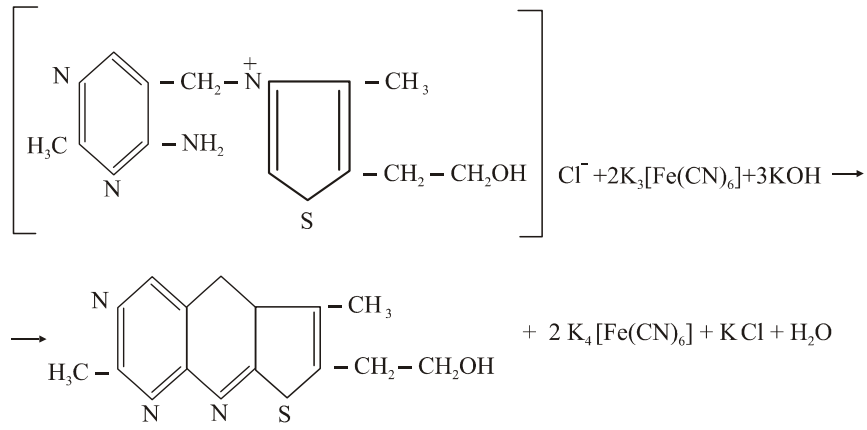
1. Toz şəklində tiamin
2. 5 %-li K₃[Fe(CN)₆]
3. 30 %-li KOH
4. İzobutil spirti
5. Şüşə qaşığı
6. Fluoressensiyayı təyin etmək üçün cihaz

İşin gedişi

1 q miqdarda tiamin 2 ml suda həll olunur və üzərinə 5 damla 5 %-li K₃[Fe(CN)₆], 5 damla 30 %-li KOH əlavə olunub qarışdırılır. Üzərinə 15 damla izobutil spirti əlavə olunur və yenidən qarışdırılır. Məhlulun yuxarı spirt təbəqəsi mikropipetka ilə başqa quru sınaq şüşəsinə keçirilir və məhlulun ultrabənövşəyi şüada mavi rəngli fluoressensiyası müşahidə olunur. Reaksiya aşağıdakı kimi gedir:

b) miqdarca təyini

Tiamini təyin etmək üçün reaksiya nəticəsində alınmış tiazolun, fluoressensiya olunmasına əsaslanan fluorometrik üsuldan istifadə edilir.



Reaktiv və ləvazimat:

1. Fluorometr
2. Su hamamı
3. Çini həvəng-dəstə
4. 200 ml-lik ölçü kolbası
5. Ağızı bağlı sınaq şüşələri
6. 10 ml-lik ayırıcı qıf
7. 2 %-li $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$
8. 30 %-li KOH
9. 0,1 N H_2SO_4
10. İzoamil spirti
11. Standart tiamin məhlulu (əlavələr 28)
12. Tərkibində fosfataza olan 2,5 m $\text{CH}_3\text{-COONa}$

İşin gedişi

Xırdalanmış (5-10 q) nümunə, həvəngdəstədə 0,1 N H_2SO_4 -ün iştirakı ilə əzilir, 100 ml-lik ölçü kolbasına keçirilir və həcmi 75 ml-ə çatdırılır (0,1 N H_2SO_4 -lə). Kolba qaynar su hamamında 45 dəqiqə ərzində qızdırılır. Birinci 5 dəqiqə ərzində kolba tez-tez qarışdırılır.

Kolba soyudulduqdan sonra, üzərinə bir neçə damla toluol və tərkibində fosfataza-ferment preparatı olan $\text{CH}_3\text{-COONa}$ (pH 4-4,5) əlavə edilir (5 ml).

Birləşmiş tiamindən və riboflavindən azad olmaq üçün kolba 2 saat müddətində 40-45°C temperaturda saxlanılır. Soyudulduqdan sonra həcmi 100 ml-lə çatdırılır, filtrlə süzülür və filtratın birinci 10-15 ml-i atılır.

50 ml filtrat 2-3 dəfə 25 ml izoamil spirti ilə işlənir. Bunun üçün filtrat 2 dəqiqə ərzində izoamil spirti ilə birlikdə çalxalanır, təbəqələrə ayrıldıqdan sonra izoamil spirti atılır və su təbəqəsində olan tiamin aşağıdakı qayda üzrə oksidləşir. Uzun qıfa 2 ml 30 %-li NaOH tökülür və qıfın divarı ilə $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ əlavə olunur (0,2 %-li). Oksidləşdiricinin miqdarı təcrübi yolla təyin olunur. Bunun üçün 6 sınaq şüşəsinin hərəsinə 2 ml 30 %-li NaOH, 5 ml ekstrat və 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 ml oksidləşdirici əlavə olunur. Sınaq şüşələri tıxacla kip bağlanır və möhkəm çalxalanır və 2 dəqiqə müddətində sarı rəngin əmələ gəlməsi gözlənilir. Tədqiq olunan nümunənin oksidləşməsi üçün oksidləşdiricinin ehtiyat miqdarı götürülür ki, əmələ gəlmiş sarı rəng 30 saniyə ərzində itməsin. Qıfdakı məhlul çalxalanır, üzərinə tez 5 ml tədqiq olunan maddə əlavə olunur və yenidən çalxalanır. Qıfdakı maddənin həcmi su ilə 10 ml-ə çatdırılır, üzərinə 10 ml izoamil spirti əlavə olunur. 2 dəqiqə müddətində möhkəm çalxalanır. Təbəqə əmələ gəldikdən sonra su ayrılır, izoamil spirti isə su ilə yuyulur, qıfa 2 ml etil spirti əlavə olunur və möhkəm çalxalanır və

fluorensensiya ölçülür. Təcrübi variantla yanaşı kontrol da hazırlanır ki, sonuncuya yalnız oksidləşdirici əlavə olunmur.

Standart tiamin məhlulu isə 0,05 ml oksidləşdirici ilə oksidləşdirilir.

Fluorensensiyaya müşayiət edən maddələr üçün də həmçinin standart məhlulun düzəliş əmsalı tapılır. Bu halda 1 ml standart tiamin məhlulu yuxarıda göstərilən yolla oksidləşdiricisiz işlənir.

Nəticənin hesablanması. Tiaminin miqdarı mq-la aşağıdakı düstur ilə təyin olunur:

$$x = \frac{(A - B) \cdot V}{(A_1 - B_1) \cdot v \cdot H}$$

A - fluorometrin tədqiq olunan oksidləşmiş məhlula görə qiyməti,

B - oksidləşmiş tədqiq olunan məhlulun fluorensensiyasının qiyməti,

A₁ - 1 milliqram oksidləşmiş tiaminin fluorensensiyasının qiyməti,

B₁ - 1 mq oksidləşməmiş tiaminin fluorensensiyasının qiyməti,

V - ekstraktın ümumi həcmi (160 ml),

v - tədqiq olunan ekstraktın həcmi (5 ml),

N - nümunənin çəkisi.

İzoamil spirti. Fluorensensiyanı təyin etmək üçün 1 l spirt, iki çay qaşığı miqdarında aktivləşmiş kömürdə saxlanılır, filtrlə süzülür və qum hamamında qovulur.

Tərkibində fosfotaza fermenti olan 2,5 m CH₃-COONa-mu hazırlamaq üçün Penicillium miseli 45 dərəcədə qurudulur. 2-3 saat müddətində CH₃-COONa məhlulunda saxlanır və həm də zülallarla birləşmiş halda rast gəlir.

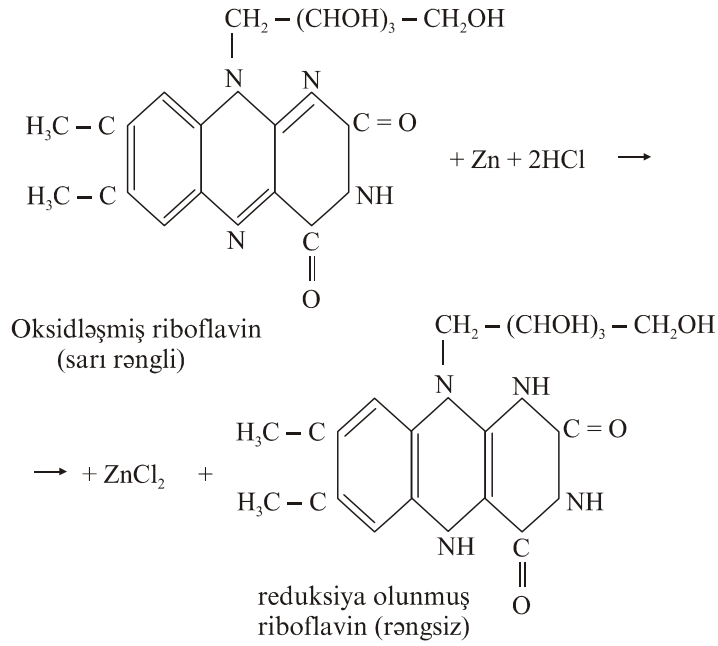
Standart tiamin məhlulu. 10 mq tiamin xlorid 100 ml 0,01 N HCl-da həll olunur. Alınmış məhluldan 1 ml götürülür və həcmi 100 ml-ə çatdırılır.

İŞ 81

B₂ VİTAMİNİNİN (RİBOFLAVİN) TƏYİNİ

a) müəyyən olunması (keyfiyyət üsulu)

Riboflavin bütün bitki və heyvan toxumalarında sərbəst və həm də zülallarla birləşmiş halda rast gəlir. Riboflavinin müəyyən olunması onun asan reduksiya olunmasına əsaslanır. Sarı rəngdə olan B₂ vitamini reduksiya olunduqda əvvəl çəhrayı rəng alır (aralıq birləşmə əmələ gəlir), sonra isə rəngsizləşir (reduksiya olunmuş forması rəngsizdir).



Reaktiv və ləvazimat:

1. Qatı HCl turşusu
2. Metallik Zn
3. 0,025 %-li vitamin B₂ məhlulu

İşin gedişi

Sınaq şüşəsinə 10 damla vitamin məhlulu tökülür və üzərinə 5 damla qatı HCl turşusu əlavə olunub içərisinə sink qırıntısı atılır. Bu vaxt hidrogen qabarcıqları əmələ gəlir, yavaş-yavaş vitamin B₂ rəngsizləşir.

b) miqdarca təyini

Bunun təyini butil spirtində alınan ekstraktın fluorensensiyasının ölçülməsinə əsaslanır.

İşin gedişi

Hərəsi 10 ml həcmli iki sınaq şüşəsinin birinə 8 ml süzölmüş təmiz ekstrakt tökülür. Birinə 0,5 ml riboflavinin standart məhlulu əlavə edilir. Sonra hər sınaq şüşəsinə zəif çəhrayı rəng əmələ gələncə qədər (1 ml-ə qədər) 4,0 %-li kalium-permanqanat (KMnO₄) əlavə edilir. 10 dəqiqə sonra hər ikisinə damcı-damcı 3 % hidrogen peroksid (H₂O₂) əlavə edilir. Permanqanatın artığı yox edilir və məhlullar rəngsizləşdirilir (cəmi 3-4 damcı hidrogen peroksid işlənilir) rəngsiz məhlulların hərəsinə 0,2 ml SnCl₂ və 0,1 N natrium hiposulfid əlavə edib şiddətlə qarışdırılır (20 dəqiqə qarışdırıcı vasitəsilə), su ilə həcmi 10 ml-ə çatdırıb, fluorometrde ölçülür. Fluorometrin göstəricisini qeyd etdikdən sonra yenidən hər sınaq şüşəsinə 0,1 q NaHCO₃ və 0,1 N NaHSO₄ əlavə edib ölçülür. Hesablama belə aparılır:

$$x = \frac{(A - B) \cdot 0,4 \cdot v \cdot V}{(A_1 - B_1) \cdot v_1 \cdot H}$$

burada: A - əsas təcrübənin göstəricisi,

B - əsas təcrübənin - riboflavin hidrogen-

peroksidindən sonra göstəricisi,

A_1 - nümunəvi təcrübənin göstəricisi,

B_1 - nümunəvi təcrübə söndürüldükdən sonrakı göstərici,

0,4 - riboflavinin mikroqramlarla miqdarı,

V - məhlulun ümumi həcmi (100 ml),

v_1 - təcrübə üçün götürülən həcmi (8 ml),

v - təcrübənin əvvəlki həcmi (10 ml),

N - ekstrakt almaq üçün nümunənin çəkisi (5-10 q).

Nümunə üçün riboflavinli məhlulun hazırlanması.

1. 10 q riboflavin 250 ml suda həll edilir (bunun üçün əvvəldən suya bir neçə damcı sirkə turşusu və toluol salınır). İşlətmək üçün bu məhlul 100 dəfə durulaşdırılır.

2. Natrium hiposulfit təzə olmalıdır: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$ 0,25 q, 10 ml 2 %-li NaHCO_3 -da həll edilir.

3. Qalay xlorid (SnCl_2) əsas məhlul üçün 10 q SnCl_2 25 ml qatı HCl turşusunda həll edib qaranlıqda saxlanılır. İşlətmək üçün oradan 0,1 ml götürüb 50 ml suda həll etməli.

4. 3 %-li H_2O_2

5. 4 %-li KMnO_4

6. 0,1 N H_2SO_4 .

1. Sınaq şüşəsi (10 ml həcmində qeydli olmalıdır)

2. Material, tiamin üçün olanlardır

İŞ 82

B₆ VİTAMİNİNİN MÜƏYYƏN OLUNMASI

Vitamin B₆ üç formada (piridoksol, piridoksal, piridoksamin) olur və ətdə, balıqda, noxudda, yumurta sarısında və bitkilərin yaşıl hissələrində olur.

Vitamin B₆ dəmir 3-xloridlə qırmızı rəngli birləşmə əmələ gətirir ki, bununla da onu substratda təyin etmək olur.

Reaktiv və ləvazimat:

1. 1 %-li vitamin B₆ məhlulu

2. 1 %-li FeCl_3 məhlulu

3. Saat şüşəsi

İşin gedişi

Saat şüşəsi üzərinə 5 damla 1 % B₆ vitamini məhlulu və 5 damla 1 %-li FeCl₃ məhlulu tökülür və qarışdırılır. Qırmızı rəngin əmələ gəlməsi B₆ vitaminin olmasını göstərir.

İŞ 83

B₁₂ VİTAMİNİNİN (SIANOKOBALAMİN)

MÜƏYYƏN OLUNMASI

B₁₂ vitamininin tərkibində Co elementi vardır ki, həmin kobalt CS(NH₂)₂ ilə qızdırıldıqda yaşıl rəngli Co(CNS)₂ birləşməsi əmələ gəlir.

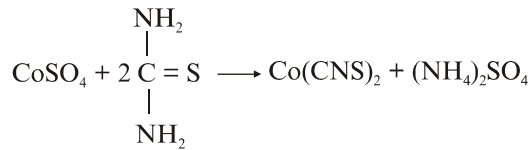
Reaktiv və ləvazimat:

1. 10 %-li CS(NH₂)₂ məhlulu
2. Qatı sulfat turşusu
3. B₁₂ vitamini məhlulu (ampulada)
4. Filtr kağızı
5. Ştativ

İşin gedişi

Bir ampula B₁₂ vitamini sınaq şüşəsinə tökülür, üzərinə 3-5 damla qatı sulfat turşusu əlavə olunur, maili şəkildə ştativə bərkidilir və sorucu şkaf içərisində qızdırılır (məhlul rəngsizləşənədək). Qızdırma qurtardıqdan sonra məhlulun üzərinə ehtiyatla 1 ml su əlavə olunur və qarışdırılır.

Təmiz filtr kağızı üzərinə 2-3 ml kükürd-sidik cövhəri məhlulu tökülür və qaz lampasının setkası üzərində qurudulur. Sonra sınaq şüşəsindəki məhluldan 1-2 damla filtr üzərinə tökülür və qurudulur. Filtr üzərində yaşıl rəng əmələ gəlir ki, bu da kobaltın olmasını göstərir.



İŞ 84

PP VİTAMİNİNİN (NIKOTİN TURŞUSU) TƏYİNİ

a) müəyyən olunması (keyfiyyət üsulu)

PP vitamini ilə taxıl, düyü tullantıları, maya, donuz və iribuynuzlu malqaranın ciyəri nisbətən zəngindir. PP vitamini natrium-hidrosulfidlə reduksiya olunur və nəticədə sarı rəngli birləşmə əmələ gəlir.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Toz şəkilli PP vitamini
2. 10 %-li natrium-bikarbonat məhlulu

3. 5 %-li Natrium hidrosulfid
4. Sınaq şüşələri
5. Şüşə qaşığı

İşin gedişi

Sınaq şüşəsinə 10 mq PP vitamini tökülür və üzərinə 15 damla 10 %-li natrium-bikarbonat və 15 damla təzə hazırlanmış natrium hidrosulfid əlavə olunur. Məhlul sarı rəngə boyanır.

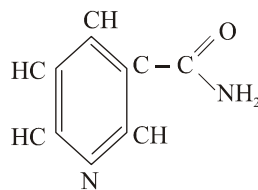
b) miqdarca təyini

Reaktiv və ləvazimat

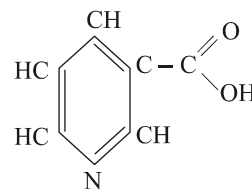
1. Rodonbromid (kolbaya 10 ml 0,1 N KCNS və ya NH₄CNS, üzərinə 1 qr. kristallik KBr və 1 ml 17 % HCl məhlulu və ehmalca (sorucu şkafda) damcı-damcı 2 ml brom əlavə edib təzə-təzə işlənilir, 2 dəfə təzəcə sink tozu üzərində qovulmuş anilin 96^o spirtdə həll edilir (1-6 nisbədə). Qara şüşə qabda saxlanılır)

2. 96%-li etil spirti
3. 10%-li NaOH məhlulu
4. Spirtde fosfat buferi, pH 5,1 (1:1)
5. Standart nikotin turşusu
6. Pepsin preparatı
7. 0,5 N HCl
8. 0,1 N HCl
9. 20 %-li ZnSO₄
10. Kolorimetr

Nikotin turşusu və onun amidi (nikotinamid) az miqdar olsa da, bütün canlı orqanizmlərdə yayılmışdır:



nikotinamid

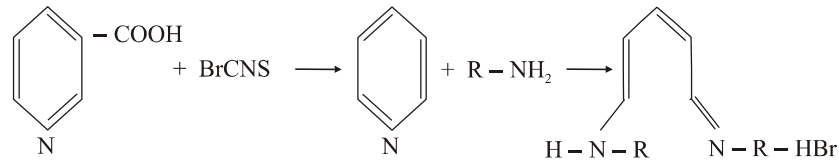


nikotin turşusu

PP vitamininin miqdarı orqanizmdə azaldıqda pellaqra adlanan dəri xəstəliyi baş verir. Bu vitamin maddələr mübadiləsində geniş iştirak edir, belə ki, o oksidoreduktazaların tərkibinə daxil olur. Kodehidrogenaza I (NAD) və kodehidrogenaza II (NADF) adlı oksidləşdirici ferment sistemlərinin kofermenti tərkibində iştirak edir. Buna görə də PP vitamininin orqanizmdə azalması kodehidrogenazanın azalmasına səbəb olur.

Heyvani toxumalarda PP vitamini nikotiamid şəklində yayılmışdır. Nikotin turşusu vitamini və onun amidi suda zəif, lakin etil spirtində yaxşı həll olur.

PP vitamininin təyini onun rodonbromid təsiri ilə aromatik amidlər olan mühitdə bu sxem üzrə reaksiyaya girməsinə əsaslanır.



İşin gedişi

2 qr əzilmiş toxuma (əzələ, qara ciyər və s.) 10 ml-lik sınaq şüşəsinə yerləşdirilir, üzərinə 200 mkl pepsin preparatı və 1 ml 0,1 N HCl əlavə edərək 37°C-də 24 saat saxladıqdan sonra su ilə həcmi 10 ml-ə çatdırıb sentrifüqalanır. Sentrifüqalanmış məhluldan 5 ml 10 ml-lik sınaq şüşəsinə alınır və 3 ml 10 %-li NaOH əlavə edib 1 saat müddətində qaynar su hamamında hava soyuducusundan istifadə edərək qızdırılır. Bundan sonra, üzərinə 2 ml 20 %-li sink sulfat əlavə edib su ilə həcmi cizgiyə (10 ml) çatdırıb kağız filtdən süzülür. Sonra süzüntüdə 5 ml götürüb həcmi 10 ml olan bir sınaq şüşəsinə tökülür. Eyni zamanda digər sınaq şüşəsinə 5 ml nikotin turşusunun standart məhlulunu götürüb hər ikisini 70°C-də qızdırıb hərəsinin üzərinə 1 ml rodonbromid məhlulu və 2 ml anilin spirtində məhlulu tökülür. Hər iki sınaq şüşəsi ayrılıqda qarışdırıb həcmi spirtdəki fosfat buferin məhlulu ilə cizgiyə (10 ml) çatdırılıb 1 saat sərbəst saxlandıqdan sonra süzülür. Alınan filtrat kolorimetrdə kontrollu bərabər tədqiq olunur.

YAĞDA HƏLL OLAN VİTAMİNLƏR

İŞ 85

A VİTAMİNİNİN (RETINOL) TƏYİNİ

a) müəyyən olunması

Balıq yağının tərkibində A vitamininin olub-olmamasını qatı sulfat turşusu ilə müəyyən etmək olar. Əgər balıq yağında A vitamini varsa, ona qatı sulfat turşusu əlavə etdikdə (vitaminin tərkibindən suyu çıxarır) tez qonur rəngə çevrilən qırmızı-çəhrayı rəng alınır. Reaksiya spesifik deyildir.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Xloroformla susuzlaşdırılmış balıq yağı məhlulu
2. Qatı sulfat turşusu
3. Saat şüşəsi
4. Şüşə çubuq (damcılama üçün)

İşin gedişi

Quru saat şüşəsi üzərinə 5 damla xloroformda həll olunmuş balıq yağı tökülür və üzərinə 1 damla şüşə çubuqla qatı sulfat turşusu əlavə olunur. Məhlul qırmızı-çəhrayı rəngə boyanır. Rəng tezliklə qonur rəngə çevrilir. Rəngin bu cür dəyişməsi A vitaminin olmasını göstərir.

b) *miqdarca təyini*

A vitamininin miqdarca təyini onun trixlorürmə ilə rəngli məhlul əmələ gətirməsinə əsaslanır. Mavi rəngin intensivliyi A vitamini ilə mütənasibdir və kolorimetrik yolla müəyyən olunur.

Reaktiv və ləvazimat:

1. K_2CO_3 -lə susuzlaşdırılmış xloroform
2. 2 N NaOH
3. Toz şəkilli Na_2SO_4 (quru və dəmirdən təmizlənmiş)
4. 22 %-li trixlorürmə
5. Efir ($CaCl_2$ -lə qurudulmuş)
6. 100 ml kolba
7. Su hamamı
8. Kapilyarlar
9. 10 və 50 ml-lik kimyəvi silindrlər
10. Erlenmeyer kolbası
11. Eksikator
12. Ayırıcı qıf
13. FEK (fotoelektrokolorimetr)
14. Qıf
15. Çini qab

İşin gedişi

Təcrübə mümkün qədər tez və fasiləsiz aparılmalıdır ki, məhlullar işığın təsirinə az məruz qalsınlar. 10 ml qan zərdabı kolbaya tökülür və eyni həcmdə 2 N KOH əlavə olunur. Kolba 15 dəqiqə müddətində $45^\circ C$ temperaturda su hamamında saxlanılır. Bu cür alınmış vitamin məhlulu üzərinə 10 ml distillə edilmiş su əlavə olunub ayırıcı qıfa keçirilir, üzərinə 30 ml efir əlavə olunub çalxalanır. Təcrübə sorucu şkafda aparılır. Məhlul sərbəst saxlanılır, su təbəqəsi atılır, efir təbəqəsi isə 5 q Na_2SO_4 olan quru kolbaya keçirilir. Kolba 30 dəqiqə qaranlıq yerdə saxlanılır. Sonra kolbadakı məhlul üzərinə Na_2SO_4 səpilmiş filtr kağızından təmiz çini qaba süzülür. Çini qab sorucu şkaf içərisində isti su hamamında (efiri qovmaq üçün) yerləşdirilir. Efir buxarlandıqdan sonra çini qaba 1,5 ml xloroform və 4 ml 22%-li trixlorürmənin xloroformdakı məhlulu əlavə olunur. 25 san-dən sonra qırmızı işıqda kontrol xloroforma görə nəzərən kolorimetrlənir. Kolorimetrlənmə tez aparılmalıdır. Çünki məhlul tədricən rəngsizləşir.

Tədqiq olunan məhlulun miqdarını təyin etmək üçün, verilən maddəyə görə standart əyrilər qurulur və müqayisəli şəkildə tapılır. Bunun üçün bir neçə qatılığı məlum olan standart məhlul hazırlanır; koordinat sistemində horizontal xətlə qatılıq, vertikal xətlə optiki sıxlığa görə əyrilər qurulur. Məhlul tərəfindən işığın udulması məhlulun qatılığı ilə düz mütənasibdir.

Standart məhlulların hazırlanması. 8 quru sınaq şüşəsinin hərəsinə 0,2-0,5 ml-ə qədər standart vitamin A məhlulu əlavə olunur (9-cu cədvələ bax) və 1,5 ml xloroform və 0,4 ml trixlorürmənin (22 %-li) xloroformdakı məhlulu əlavə olunur. Müxtəlif intensivlikdə mavi rəng əmələ gəlir, 25 san-dən sonra sınaq şüşələri kolorimetrlənir (xloroforma əsasən).

Cədvəl 12

Sınaq şüşəsi	1	2	3	4	5	6	7	8	Qeyd
--------------	---	---	---	---	---	---	---	---	------

S.S.									
Retinolun miqdarı	4	8	12	16	20	24	28	30	
Standart mäh-un mq-la miqdarı	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,5	
Xloroformun miqdarı	1,3	1,1	0,9	0,7	0,5	0,3	0,1	0,0	

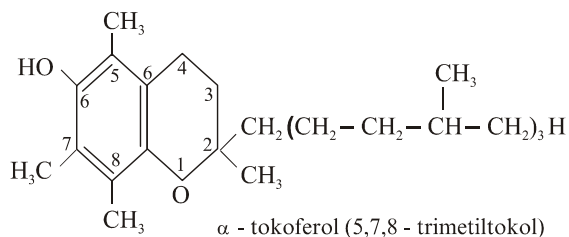
İŞ 86

E VİTAMİNİNİN (TOKOFEROL) TƏYİNİ

a) müəyyən olunması (keyfiyyət üsulu)

Vitamin E-nin bir neçə izomeri məlumdur: γ -, α -, β -tokoferol və s. izomerlər bir-birindən benzol nüvəsində metil qruplarının yerləşməsinə görə fərqlənirlər. Tokoferollar lipid təbiətli maddələr olub, bitki yağlarında və yağ həlledicilərində həll olurlar. Bitki yağlarından: günəbaxan, qarğıdalı və s. yağları E vitamini ilə zəngindir.

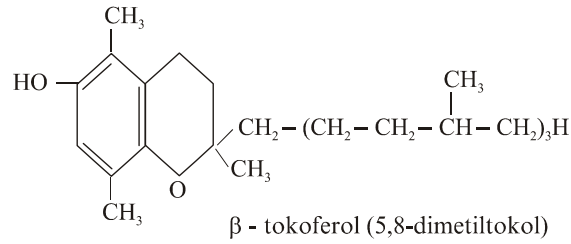
E vitamininin spirtdə məhlulu qatı nitrat turşusunun təsirindən xinoid birləşmələrə qədər oksidləşir və qırmızı rəng əmələ gəlir. Bu reaksiyadan E vitaminini təyin etmək və həmçinin miqdarını müəyyən etmək üçün istifadə olunur.



Reaktiv və ləvazimat:

1. Qatı nitrat turşusu
2. 1 %-li vitamin E-nin spirtdə məhlulu

3. Toz şəkilli saxaroza
4. Saat şüşəsi
5. Şüşə çubuq



İşin gedişi:

Quru saat şüşəsi üzərinə 5 damla 0,1 %-li vitamin məhlulu tökülür, üzərinə bir az saxaroza tozu və 10 damla qatı nitrat turşusu əlavə olunur, qarışdırılır. Qırmızı rəngin əmələ gəlməsi vitamin E-nin olmasını göstərir.

b) miqdarca təyini

E vitamininin təyini onun dəmir atomunu reduksiya etməsi və özünün oksidləşməsi nəticəsində rəngin dəyişməsinə əsaslanır. Rənglər arasındakı fərq FEK-lə təyin olunur.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Hündürlüyü 10-15 sm olan adsorbsiya sütunu
2. Fotoelektrokolorimetr
3. Çini həvəng-dəstə
4. 100 ml-lik kolba
5. Benzol məhlulları üçün xüsusi pipetkalar
6. Su nasosu
7. Benzol
8. Diatomit
9. 0,2 %-li FeCl₃-ün benzolda məhlulu

İşin gedişi

Həvəngdə bir qədar (4-5 q) yaşıl (cavan) bitki obyektini qum ilə birlikdə bircinsli kütləyə çevrilənə qədər əzilir.

Üzərinə 5-6 dəfə çox miqdar susuz natrium sulfat (Na₂SO₄) əlavə edib yenidən şiddətlə əzilir (bu iş zamanı natrium sulfat əvəzinə mis kuporosu da işlətmək olar ki, bunun üçün əziləcək yarpağın hər 1 qramına 3 q susuz duz işlənilməlidir). Əzilmiş kütlə elyusiya üçün adsorbsiya edilir. Bunun üçün: xromatografik kolonkada 3-5 sm hündürlükdə elyuat (qat) düzəldilir. 20-50 ml benzol ilə işləyərək elyusiya aparılır. Benzol qurudulur. Qalıqın üzərinə 10 ml benzoldakı reaktiv əlavə edilib tıxac ilə bərk tıxanıb qaranlıqda saxlanılır. 15 dəqiqədən sonra fotoelektrokolorimetrdə yaşıl işıqfiltri ilə kolorimetrlənir.

İŞ 87

K₁ VİTAMİNİNİN TƏYİNİ

K₁ - vitamini ilk dəfə qara yonca bitkisinin yarpağından alınmışdır. O qanın laxtalanmasını nizamlayır. K₁ vitamininin çatışmaması orqanizmdə protrombinin azalmasına səbəb olur. Vitamin K₁ (filloxinon) işığa qarşı çox həssas və davamsızdır.

Reaktiv və ləvazimat:

1. Təzə meyvə
2. Metil spirti
3. Petrolein efiri
4. Susuz Na₂SO₄
5. Al₂O₃
6. 1 %-li natrium-dietilditiokarbamat
7. 2 %-li C₂H₅ONa məhlulu
8. Adsorbsiya kolonkası
9. Etil spirti
10. FEK-M

İşin gedişi

K₁ vitaminini substratdan ayırmaq üçün 5 q təzə meyvə nümunəsi susuzlaşdırılır. Həvəngdə şüşə qırıntıları və 5 ml metanolun iştirakı ilə əzilir.

Sonra metanol sentrifuqa və ya sormaqla (nasosla) ayrılır. Susuzlaşdırma 2-3 dəfə təkrar olunur (termostatda qurutmağa icazə verilmir). Susuzlaşdırılmış qalığa 5 ml petrolein efiri əlavə olunur və arabir qarışdırmaqla 5 dəqiqə müddətində saxlanılır. Sarı rəngli məhlul (nümunə tam rəngsizləşənə qədər) petrolein efinin köməyi ilə ayrılır. Petrolein ekstraktının ümumi həcmi 25 ml-ə çatdırılır və su vasitəsi ilə metanoldan təmizlənir. Bunun üçün ekstrakt 100 ml-lik qıfa keçirilir və 1:2 hissə (50 ml) su ilə təmizlənir. Əgər emulsiya əmələ gələrsə, doymuş NaCl məhlulundan istifadə olunur.

Petrolein məhlulu susuz Na₂SO₄ duzu ilə qurudulur və petrolein efiri ilə isladılmış Al₂O₃ adsorbsiya kolonkasından keçirilir (Al₂O₃-ün qalınlığı 8 sm). Al₂O₃ kolonkaya tökülməmişdən əvvəl 2 saat müddətində 600°C-də saxlanılır ki, bu K₁ vitaminini adsorbsiya edə bilmir. Petrolein ekstraktı dəqiqədə 12-15 damla sürətilə kolonkadan keçirilir. Sonra kolonka təmiz petrolein efiri ilə aramla karotinoidlər təbəqənin dördüdə üç hissəsini (6 sm) keçənə qədər yuyulur.

Karotinoidlərdən ayrılmış ekstrakt çini qabda stolüstü elektrik ventilyatoru ilə buxarlandırılır.

Qalıq 96 %-li etil spirti vasitəsi ilə 3 dəfə (hər dəfə ml-lə) yuyulur, sınaq şüşəsinə keçirilir və 0°C-yə qədər soyudulur. Soyudulmuş məhlulun üzərinə 1 %-li soyudulmuş natrium-dietilditiokarbamat, 5 dəqiqə keçdikdən sonra isə 2 %-li C₂H₅ONa (100 mq - Na-un 5 ml C₂H₅OH-da məhlulu) əlavə olunur. Sınaq şüşələri 4 dəqiqə soyuducuda saxlanılır və sıx filtr kağızından süzülür. Bir dəqiqədən sonra rəngli məhlul FEK cihazında 10 ml-lik küvetdə yerləşdirilir və kontrola görə təyin olunur. Kontrol üçün 3 ml etil spirti əlavə olunmuş həmin məhlullardan istifadə olunur.

Hesablama həmin reaktivlərlə təmiz filloxinona görə hazırlanmış qrafikə əsasən aparılır. Məsələn: 3 ml spirtə 0,05 mq vitamin K₁ olduqda işıq udma 13 %, 0,1 mq olduqda 25 %-ə yaxın olur. Bütün işlər, vitamin K₁ işığa həssas olduğu üçün kölgədə aparılır.

VI BÖLMƏYƏ AİD SUALLAR

1. Vitaminlər nə üçün lazımdır?

2. Avitaminoz, hipovitaminoz və hipervitaminoz nə deməkdir?
3. Vitaminlərin çatışmaması nəticəsində baş verən xəstəliklərə misal gətirin.
4. Vitaminlərin çatışmaması nəticəsində əmələ gələn xəstəliklərin səbəbi nədir?
5. Askorbin turşusunun aşkar edilməsi və miqdarca təyini nəyə əsaslanır?
6. B₁ vitamini (tiamin) hansı üsulla təyin olunur?
7. B₂ vitamini (riboflavin) hansı formalarda rast gəlinir və aşkar edilməsi nəyə əsaslanır?
8. B₆ vitamininin hansı formalarını tanıyırsınız?
9. B₁₂ vitamininin təyin olunması prinsipi nədən ibarətdir?
10. PP vitamininin aşkar edilməsi və miqdarca təyini üsulunu təsvir edin.
11. A vitamini haqqında nə bilirsiniz?
12. E vitamininin miqdarca təyini nəyə əsaslanır?
13. K₁ vitamininin miqdarca təyini təsvir edin.

BİOKİMYA BƏHSİNƏ AİD

ƏLAVƏLƏR

-
1. *Formol qarışığı* - 0,5 l formalinə 10 ml 2 saylı işdə hazırlanmış fenolftalein töküüb üzərinə 0,1-0,2 N NaOH məhlulunu damla-damla zəif cəhrayı rəng alana qədər əlavə edilir. NaOH-ı 100-200 mq qələvini 1 l suda həll etməklə hazırlayırlar. 2 saylı iş üçün hazırlanan 0,4 %-li qələvini də istifadə etmək olar. Bu halda NaOH çox sərf olunacaq.
 2. *Zülal məhlulu* - toyuq yumurtası təxminən 88 % su, 1 % kar-bohidrat, 0,5 % mineral maddələr, 10, 5 % zülaldan ibarətdir. Bu rəqəmləri nəzərə alsaq yumurta zülalının durulaşdırılmamış məhlulunu 10 %-li hesab etmək olar. Həmin məhlulun həcmindən 5 dəfə çox distillə suyu ilə yumurta zülalını qarışdırıb ikiqat, su ilə isladılmış tənzifdən süzməklə 1 %-li albumin məhlulu alırıq. Yumurta qlobulini isə tənzifdə qalır. Zülal məhlulunun qismən uzun müddət qalması üçün 100 ml 1 %-li məhlula 50 ml doymuş duz məhlulu (NaCl) əlavə etmək olar. Məhlul soyuducuda saxlanılır.
 3. *1 %-li albumin* - texniki tərəzidə 25 q buğda unu çəkib onu 100 ml distillə suyunda yaxşı qarışdırmaq, arabir çalxalamaq və 1,5 saatdan sonra məhlulun üst şəffaf hissəsini götürüb onu süzməklə 1 %-li bitki albulini məhlulunu alırıq.
 4. *2 %-li natrium hipobromid* (NaOBr) - 30 q NaOH 100 ml suda həll edilir. Məhlul tam soyuduqdan sonra sorucu şkafda ehtiyatla oraya 3 ml təmiz brom tökülür. Məhlulu yaxşıca

- qarıdırıb qara kağıza bükülmüş qabda sorucu şkafda və ya soyuducuda 1 aya yaxın saxlamaq olar.
5. *Fol reaktiv* - 10 q NaOH 90 ml suda həll edilir (I) 2,5 q qurğuşun asetat $[Pb(CH_3COO_2)]$ 95 ml isti suda həll edilir (II). Bilavasitə iş aparılan zaman II məhlulun 1 həcmi I məhlulun 2 həcmi ilə qarışdırmaq lazımdır. Bu zaman çöküntü alınır. Çöküntünü 10 %-li NaOH-ın artıq miqdarı ilə həll etdikdən sonra reaksiyanı aparmaq olar. Alınan fol reaktiv Na_2PbO_2 (natrium plyumbitin) qələvi məhluludur.
 6. *1 %-li jelatin*. 1 q jelatin üzərinə 90 ml su töküb bir neçə saat və ya səhərə qədər jelatinin şişməsinə gözləmək lazımdır. Onu su hamamında qızdırmaqla həll edirlər.
 7. 90 ml qatı NaCl (xlorid turşusu) ilə 10 ml xüsusi çəkisi 1,685 olan fosfor turşusunu ehtiyatla qarışdırmaqla 9:1 nisbətdə qarışıq alınır.
 8. *1 %-li formaldehid preparatı*. *40 %-li formaldehid preparatı* - formalin adlanır ($H_2C=O$). Bir hissə formalin 39 hissə distillə suyu ilə yaxşı qarışdırıldıqda 1 %-li formaldehid məhlulu alınır.
 9. *Qlioksil turşusu preparatını* almaq üçün əvvəlcə 10 q quzuqulağı turşusunu 100 ml suda həll etməklə onun qatı məhlulu hazırlanır. Məhlulu $0^\circ C$ -ə qədər soyudurlar. Sonra 2 q döyülmüş narin maqneziumu (Mg) bir qədər su ilə isladıb 50 ml soyuq, doymuş quzuqulağı turşusu ilə qarışdırılır. Bu zaman quzuqulağı turşusunun maqnezium duzu cökür. Çöküntünü ayıraraq filtratı götürür və onu 1-2 ml sirkə turşusu ilə turşulaşdırırlar. Alınan məhlulun həcmi 200 ml-ə çatdırılır. Preparatı soyuducuda saxlamaq lazımdır.
 10. *Diazoreaktiv, Pauli reaktiv* - 2 məhluldan ibarətdir.
 - 1) *HCl-da hazırlanmış sulfanil turşusu* 450 mq sulfanil turşusunu 5 ml qatı HCl -da həll edib həcmi su ilə 50 ml-ə çatdırmalı. Məhlul davamlıdır.
 - 2) 5 q $NaNO_2$ (natrium nitrit) 95 ml suda həll edilir. Bu məhlulu iş günü hazırlayırlar. İşdən qabaq hər iki məhlulu 15 dəqiqə buzda saxlamaq lazımdır. Ayrıca götürülmüş 100 ml-lik ölçü kolbasını soyudub oraya 0,3 ml 1-ci məhlul (sulfanil turşusu) və 5 ml 2-ci məhlul ($NaNO_2$) götürüb ölçü kolbasını 5-10 dəqiqə buza yerləşdirməli. Kolbaya bir daha 1,2 ml 2-ci məhluldan əlavə edib soyuq distillə suyu ilə həcmi 100 ml-ə çatdırmalı. İş zamanı məhlul buzda olmalıdır və o bir sutka ərzində yararlı ola bilər.
 11. *Milion reaktiv* - İstiyə davamlı kolbaya çəki hesabı ilə bir hissə civə və iki hissə azot turşusu (HNO_3) götürüb soyuq şəraitdə onları həll etmək və prosesin sonunda reaksiyon qarışıq su hamamında ($37^\circ-40^\circ C$) tam həll olana qədər qızdırmaqla alınan $HgNO_3$ həcmi iki miqdarı qədər su ilə durulaşdırılır. Bir qədər sonra çöküntünü qarışdırmamaq şərtlə şəffaf hissəni digər qaba boşaldıb işlətmək olar.
 1. 0,5 q fenolftalein kimyəvi stəkana kecirilir və həcmi 100 ml-ə çatana qədər üzərinə etil spirti tökülür. Bir qədər qızdırılır və hazır indikator xüsusi indikator qabına tökülür. Indikator tıxac vasitəsilə içərisinə rezin borulu kiçik pipetka keçirilmiş qaba da tökülə bilər.
 2. *Universal indikator* - 500 ml etanolda 0,1 q göy bromtimol, 0,1 q metil qırmızı, 0,1 q γ -naftolftalein, 0,1 q timolftalein və 0,1 q fenolftalein həll edilir.
 3. *Doymuş NaCl məhlulu* - 30 q NaCl 100 ml suda həll edilir və 10 %-li NaOH-la çökdürülür. Bu yolla alınmış doymuş məhlulda hazırlanan 1 %-li nişasta uzun müddət qalır.
 4. *Duzlaşdırma reaksiyaları üçün zülal məhlulu* - 3 yumurta zülalını 700 ml su 300 ml doymuş NaCl məhlulu ilə qarışdırıb bir neçə qat tənzifdən süzmək lazımdır.
 5. *Molibden reaktiv* - 7,5 q ammonium-molibdenatı 100 ml suda həll edib xüsusi çəkisi 1,2 olan 32 %-li 100 ml HNO_3 -ü üzərinə əlavə etməli, HNO_3 əlavə edildikdən sonra ammonium-molibdenat tam həll olur.
 6. *1 %-li nişasta* - az miqdarda (5 ml) distillə suyunda 1 q nişastanı qarışdırıb təzəcə qaynara düşmüş 95-100 ml suya tökə-tökə şüşə cubuqla nişastanın su ilə qarışmasını təmin etmək lazımdır. Sonra dərhal qaynayan kimyəvi stəkani kənara qoyurlar.
 7. *Lyuqol reaktiv* - 2,5 q kalium yodu (KJ) 30 ml suda həll edib oraya 1 q kristallik yod əlavə edirik. Məhlulu qarışdırmaqla J-u həll edib onun həcmi 100 ml-ə çatdırmalı.
 8. *Süd-asetat qarışıqı* -əvvəlcə asetat buferi hazırlanır: a) 1 l suya 40 q NaOH hesabı ilə lazımı miqdarda 1 normal qələvi məhlulu hazırlamalı; b) 1 l suya 57,2 ml buzlu sirkə turşusu hesabına uyğun lazımı miqdarda 1 normal sirkə turşusu hazırlamalı. pH-ı 4,7 olan bufer məhlulunu almaq üçün 50 ml a, 96,8 ml b, məhlulunu qarışdırıb həcmi 0,5 l-ə çatdırmalı. 35-ci işdə nəzərdə tutulan pH-ı 5,0 olan bufer məhlulunu almaq üçün 5 ml a məhlulunu 7,34 ml

- b məhlulu ilə qarışdırılıb həcmi 50 ml-ə çatdırılır. Süd-asetat qarışığını almaq üçün isə pH-ı 5,0 olan məhlulun (bufer) eyni miqdarı həmin miqdar südlə qarışdırılır.
9. *pH-ı 4,6 olan asetat buferi* hazırlamaq üçün 480 ml 0,2 N natrium asetat və 520 ml 0,2 N sirkə turşusunu qarışdırmaq lazımdır.
 10. *2%-li naftorezorsin (spirtdə)* 2 q kristallik naftorezorsini 100 ml 96 %-li etanolda həll edib tünd rəngli qabda saxlamaq lazımdır.
 11. *Selivanov reaktiv* - 50 ml qatı HCl -u 50 ml distillə suyu vasitəsilə durulaşdırıb orada 100 mq kristallik rezorsini həll etməklə alınır.
 12. *Felinq II mayesi* - 200 q seqnet duzu və 150 q NaOH oda davamlı litrlik cini qabda qarışdırılıb distillə suyunu tədricən əlavə edərək bütün kütlə həll edilir. Məhlul soyudulur və həcmi 1 litrə su ilə çatdırılır.
 13. *Nilander reaktiv* - 2 q $\text{Bi}(\text{OH})_2\text{NO}_3$ və 4 q seqnet duzu qaynar su hamamı vasitəsilə 10 %-li NaOH məhlulunda həll edilir. Məhlulu soyudub cöküntüdən ayırmaq üçün süzülür.
 14. *Lyuqol reaktiv* - 100 ml suda əvvəlcə 20 q KJ, sonra isə 10 q kristallik I_2 həll edilir. Alınan məhluldan iş zamanı (nişasta ilə işlədikdə) müvafiq miqdar 5 dəfə su ilə durulaşdırılır.
 15. *Mədə şirəsi (normal)* - 1,7 l suya 37 q NaCl, 7 ml qatı HCl, 2 ml qatı süd turşusu və 12 q pepton götürülür. Mədə şirəsini belə də hazırlamaq olar. Mədənin selikli qişasını 37°C temperaturu fizioloji məhlulla yuyub ət məşinindən kecirildikdən sonra üzərinə alınan həcmə uyğun 0,4 %-li HCl tökürük. Bir sutkadan sonra məhlul qatlı kağız filtdən süzülür. Satışda olan pepsin preparatından da istifadə etmək olar. Bunun üçün preparatın 1 q-ı 1 l 0,2 %-li HCl-da həll edilir və bir necə saatdan sonra süzülür.
 16. *Hiposulfit* - fiksanaldan hazırlanır (0,1 N) fiksanal olmadıqda çəki üsulu ilə 0,1 N (bəzi halda iş üçün 0,005 N hiposulfit əlverişlidir). Hiposulfit hazırlayıb iş zamanı hər dəfə titri KJO_3 -lə yoxlanılır. Bunun üçün 0,3567 q tam qurudulmuş KJO_3 analitik tərəzidə çəkilib 2 litrlik ölçü kolbasında iki dəfə qovulmuş distillə suyu ilə (bidistillyat) həll edilir, 0,005 N KJO_3 alınır. Kolbanın həcmi 2 litrə çatdırılır. Hiposulfitin titrini yoxlamaq üçün 2 ml KJO_3 məhluluna 2 ml 3 %-li 3 qat xlorosinkiyod məhlulu əlavə edilir (27 A) sonra 2 damla 1 %-li nişasta əlavə etdikdə J_2 ayrılır. Ayrılan J_2 hiposulfitlə titrlənir.
 27. A. *Xlorosinkiyod 3 qat məhlulu*. 50 q sink sulfat və 250 q NaCl 1 litrlik kolbada həll edilir, su ilə ölçüyə çatdırılır və süzülür. Məhlulu işlədərkən alınmış həcmdə 2,5 q KJ həll edilir.
 28. *Standart tiamin məhlulu* - 10 mq tiamin 50 ml 0,1 N HCl -da həll edilib qarışdırılır. Həmin məhlulla 100 ml-ə çatdırılır. 100 mkq/ml işlədikdə yuxarıdakı əsas məhluldan 10 ml götürüb 0,1 N HCl -la 100 ml-ə çatdırılır (10 mkq/ml).
 1. *pH-ı 6,0 və 8,3 olan su ilə doydurulmuş fenol* - hər 100 ml təzə qovulmuş, rəngsiz, mülayim fenola 25 ml su əlavə edib itməyən bulanıq əmələ gələnə qədər çalxalamalı. pH=6,0 almaq üçün 50 ml fenol üzərinə 0,1 ml 2 N KOH (11,2 q KOH-ı suda həll edib həcmi 100 ml-ə çatdırmalı); pH=8,3 almaq üçün isə 50 ml fenola 7,5 ml 2 N KOH əlavə etməli.
 2. *NaCl – (natrium xlorid)* 5,0 M; 4,0 M; 0,14 M; 5 %; 0,1 M; müvafiq olaraq 29,25 q; 24,2 q; 830 mq; 5,0 q; 585 mq NaCl 100 ml-lik ölçü kolbasında həll edilib həcmi su ilə ölçüyə çatdırılır.
 3. *Tərkibində 1 l-də 0,05 M kalium sitrat olan 0,14 M NaCl* - 1,53 q susuz kalium sitrat 100 ml ölçü kolbasında 0,14 M NaCl -da həll edilib həmin məhlulla (NaCl) ölçüyə çatdırılır.
 4. *pH-ı 8,3 olan 1 l-də 0,3 p-aminosalisil turşusu olan su ilə doymuş fenol* - 4,6 q p-aminosalisil turşusu pH-ı 8,3 (29-a bax) olan fenolda həll edilib həmin məhlulla ölçüyə çatdırılır.
 5. *0,15 M NaCl, 0,15 M $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (natrium sitrat), 0,01 M $\text{Na}_2\text{H}_2\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2$ (EDTA - natrium etilen diamino-tetraasetat)* - 336 mq-0,336 q EDTA 100 ml-lik ölçü kol-basında pH qiymətinə nəzarət etməklə həll edilir, pH 8,0-ə çatdırılır, sonra həmin həcmdə 0,877 q NaCl və 4,411 q natrium sitratı həll edib, məhlulun həmini 100 ml-ə çatdırmalı.
 6. *Xloroform:izoamil spirti 24:1* - xloroformun (CHCl_3) hər 24 ml-nə 1 ml izoamilspirti - (CH_3)₂-CH-CH₂-CH₂-OH əlavə edib qarışığı yaxşı qarışdırmaq və təzə halda istifadə etmək lazımdır (cox qaldıqda məhlullar ayrılır).
 7. *Etanol:efir 1:1* - etil spirtinin (etanol) hər 10 ml-nə ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ - 96 %-li) 10 ml dietil efiri ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_2\text{H}_5$) töküüb yaxşı qarışdırmalı.
 8. *70 %-li etil spirti* - 96 %-li etanolun hər 70 ml-nə 26 ml su tökməklə alınır.
 9. *Xlor turşusu (HClO_4) 2 %, 5 %, 20 %, 57%, 0,5 N məhlulları* - qatı xlor turşusundan (p=1,67) 66,77 %-li
2 % - 1,7 ml HClO_4 +97 ml su

5 % - 4,3 ml HClO₄ + 93 ml su

20 % - 17 ml HClO₄ + 71,5 ml su

57 % - 45,9 ml HClO₄ + 18,3 ml su

0,5 N - 0,23 ml HClO₄ + su - 10 ml-ə çatdırmalı.

- 38.** 1,0 N; 0,5 N; 0,01 N; 0,4 %, 1,0 %, 10 %-li NaOH 1,0 N 4,0 q NaOH-ı suda həll edib - 100 ml-ə çatdırmalı.

0,5 N - 2,0 q NaOH-ı suda həll edib 100 ml-ə çatdırmalı.

0,01 N - 40 mq NaOH-ı suda həll edib 100 ml-ə çatdırmalı.

0,4 % - 400 mq NaOH 100 ml suda həll edilir.

1 % - 1,0 q NaOH + 99 ml su.

10 % - 10,0 q NaOH + 90 ml su.

- 39.** 1,0 N 5,0 N KOH - 1 N - 5,6 KOH 100 ml-lik kolbada həll edilib su ilə ölçüyə çatdırılır. 5,0 N - 28,0 q KOH - 100 ml-lik kolbada həll edilib su ilə ölçüyə çatdırılır.

- 40.** *Natrium dodesilsulfat* - CH₃-(CH₂)₁₁OSO₃Na 20% - 20 q duz 80 ml suda həll edilir.

- 41.** 5,0 M *natrium xlor* - 58,5 q NaCl-u suda həll edib həcmi 1,0 litrə çatdırılır (və ya 5,85 q NaCl - 100 ml-ə çatdırılır).

- 1.** *Difenilamin reaktivi* (Dişə reaktivi) - spirtdən iki dəfə yenidən kristallaşdırılmış 500 mq difenilamin, 50 ml buzlu sirkə turşusunda tam həll edildikdən sonra oraya 1,4 ml qatı sirkə turşusu əlavə edilir.

- 43.** 20 %-li sirkə turşusunda doymuş NaCl məhlulu - 20 ml qatı sirkə turşusu (99,9 %) 80 ml su ilə qarışdırılıb məhlul doyana qədər orada NaCl hissə-hissə həll edilir.

- 44.** *Orsin reaktivi* - 50 ml 30 %-li HCl-da (hər 10 ml qatı HCl-a 1,6 ml su tökməklə - yeni 50 ml üçün 8,0 ml su) 100 mq orsini həll edib oraya 50 mq FeCl₃ (xlorlu dəmir) əlavə edilir.

- 45.** pH-ı 4,5 olan buzlu sirkə turşulu 50 %-li etanol. Hər 50 ml 96 %-li etil spirtinə 46 ml su töküb pH-ı sirkə turşusu vasitəsilə pH-metrlə nəzarət şəraitində 4,5-ə çatdırmalı.

- 1.** 3:1 nisbətində etanol, dietil efiri - 96 %-li etil spirtinin hər 30 ml-nə 10 ml dietil efiri əlavə edib, yaxşı qarışdırmaqla alınır.

- 2.** 1 %-li *natrium sitrat* (üçqatəvəzədilmiş) - 1 q natrium sitrat 99 ml suda həll edilir.

ƏDƏBİYYAT

1. Quliyev A.Ə., Həsənov T.H. – Bioloji kimyadan praktikum, Azərbaycan Dövlət Universitetinin nəşri, Bakı, 1976.
2. Quliyev A.Ə., Həsənov T.H., Güləhmədov S.Q. Bioloji kimya (statika). Bakı, 2004.
3. Добрынина В.И., Свешникова Е.Я. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. Изд-во «Медицина». М. 1967.
4. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Смирнова-Иконникова М.И., Ярош Н.П., Луковникова Г.А. Методы биохимического исследования растений. Изд-во «Колос», М. 1972.
5. Жданов Ю.А., Дорофеенко Г.Н., Корольченко Г.А., Богданова Г.В. Практикум по химии углеводов. Изд-во «Высшая школа», М. 1973.
6. Калинин Ф.Л., Лобов В.П., Жданов В.А. Справочник по биохимии. Изд-во «Наукова думка», Киев, 1971.
7. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. Изд-во «Высшая школа», Минск, 1972.
8. Кулиев А.А. Практикум по биохимии и молекулярной биологии. Изд-во «Маариф», Баку. 1993.
9. Ленинджер А. Основы биохимии. Пер. с англ. М. 1985.
10. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. Пер. с англ. Изд-во «Мир», т. 1, М. 1993.
11. Основы биохимии под ред. А.А. Анисимова. Изд-во «Высшая школа», М., 1986.
12. Плешков Б.П. Практикум по биологической химии растений. Изд-во «Колос» М. 1976.
13. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии под ред. Т.Т. Березова. М. «Медицина». 1976.
14. Степанов В.М. Молекулярная биология под ред. акад. А.С.Спирина. М. «Высшая школа». 1996.

15. Шапиро Д.К. Практикум по биологической химии. Изд-во «Высшая школа», Минск. 1972.
16. Шарпенак А.Э., Конышев В.А. Практикум по биологической химии. Изд-во «Высшая школа». М. 1969.
17. B.Alberts, D.Bray, J.Lewis. Molecular biology of cell. Garland Publishing, Inc. New-York&London, 1216 pp., 1989.
18. R.Reed, D.Holmes, J.Weyers, A.Jones. Practical Skills in Biomolecular Sciences. Pearson Education, 538 pp., 2003.

MÜNDƏRİCAT

MÜQƏDDİMƏ	3
I BÖLMƏ. ZÜLALLAR VƏ AMİN TURŞULARI.....	5
<i>Amin turşuları</i>	
İş 1. Rəngli reaksiyalar. -amin qrupunun aşkar edilməsi.....	12
İş 2. Formoltitrləmə.....	13
İş 3. Ninhidrinlə reaksiya	14
İş 4. Amin turşularının xelat əmələ gətirməsi.....	17
İş 5. Biuret reaksiyası.....	18

Ayrı-ayrı amin turşuları və onların daxil

olduğu zülallar üçün səciyyəvi keyfiyyət reaksiyaları

İş 6. Arginin üçün Sakaquçi reaksiyası.....	21
İş 7. Tərkibinə (S) daxil olan amin turşularının müşahidə edilməsi.	23
İş 8. Qlisinin müşahidə edilməsi.....	24
İş 9. Prolinin müşahidə edilməsi.....	25
İş 10. Triptofanın müşahidə edilməsi.....	27
A. Adamkevic reaksiyası.....	28
B. Hopkins-Kole reaksiyası.....	28
C. Şuls-Raspayl reaksiyası.....	29
İş 11. Vuazene reaksiyası.....	29
İş 12. Pauli reaksiyası.....	30
İş 13. Ksantoprotein reaksiyası.....	32
İş 14. Millon reaksiyası.....	34
İş 15. Zülalın hidrolizi.....	36
İş 16. Amin turşularının xromatoqrafiya üsulu ilə təyini.....	37
İş 17. Amin turşuları məhlullarının pH-nın təyini.....	39
İş 18. Amin turşularının amfoterliyi.....	41
İş 19. Amin turşularının fluoressensiyası.....	43
İş 20. Zülalların fiziki-kimyəvi xassələri . Zülalın həll olma qabiliyyəti.....	44
İş 21. Dializ.....	45
İş 22. Oksihemoqlobin kristallarının alınması.....	46
Zülalların çökdürmə reaksiyaları.....	48
İş 23. Zülalların qaynatma yolu ilə çökdürülməsi.....	49
İş 24. Zülalın çökməsinə pH-ın təsiri.....	51
İş 25. Zülalların duzlaşdırma yolu ilə çökdürülməsi.....	52
İş 26. Zülalların ağır metal duzları ilə çökdürülməsi.....	53
İş 27. Zülalların qatı mineral turşularla çökdürülməsi.....	55

İş 28. Üzvi turşularla zülalların çökdürülməsi.....	56
İş 29. Üzvi həlledicilərlə zülalın çökdürülməsi.....	57
İş 30. Alkoloid reaktivləri ilə zülalın çökdürülməsi.. ..	58
İş 31. Zülalların fenolla ökdürülməsi.....	59
	60
<i>Mürəkkəb zülallar (proteidlər) fosfoproteidlər</i>	
İş 32. Süddən kazeinogenin ayrılması.....	61
İş 33. Kazeinogen (və ya kazein dənələrində) fosfatın müşahidə edilməsi.....	62
	63
<i>Qlikoproteidlər</i>	
İş 34. Yumurta zülalında şəkər komponentinin aşkar edilməsi.....	64
İş 35. Tüpürcəkdən musinin ayrılması və şəkər komponentinin aşkar edilməsi.....	65
I Bölməyə aid suallar.....	65
II BÖLMƏ. NUKLEİN TURŞULARI	66
İş 36. RNT və DNT-nin Kirbi-Georgiyev üsulu ilə alınması.....	68
İş 37. Marmura üsulu ilə NT-nin ayrılması və təmizlənməsi (DNT və RNT-ni bir-birindən ayırma).....	68
İş 38. Nuklein turşuları üçün xarakterik olan keyfiyyət reaksiyaları.....	73
İş 39. Dişenin kolorimetrik üsulu ilə DNT-nin miqdarca təyini.....	75
İş 40. Orlov və Orlova üsulu ilə DNT-nin toxumalarda miqdarca təyini	75
İş 41. Meybaum üsulu ilə RNT-nin miqdarca təyini	77
İş 42. Dezoksiribonukleoproteidlərin (DNP) ayrılması	
İş 43. RNP-nin ayrılması	

İş 44. NP-lərin hidrolizi və tərkib hissələrinin tədqiqi	79
II Bölməyə aid suaşllar	80
	82
III BÖLMƏ. FERMENTLƏR.....	84
<i>Fermentlərin xassələri</i>	85
İş 45. Amilaza və pepsin fermentlərinin	88
temperatur optimumunun müşahidə edilməsi.....	
İş 46. Fermentlərin spesifikliyi	90
İş 47. Mühit reaksiyasının (pH) fermentin aktivliyinə	92
təsiri.....	
İş 48. Katalaza aktivliyinin təyini.....	92
İş 49. Peroksidazanın aktivliyinin təyini.....	94
İş 50. Askorbinatoksidazanın aktivliyinin təyini.....	
İş 51. Lipazanın aktivliyinin təyini.....	95
III Bölməyə aid suaşllar	97
	98
IV BÖLMƏ. KARBOHİDRATLAR.....	100
İş 52. Monozalara aid reaksiyalar. Podobedov-Moliş	102
reaksiyası (α -naftolla reaksiya).....	104
İş 53. Tollens nümunəsi.....	
İş 54. Ketoheksozalara məxsus Selivanov reaksiyası.....	105
İş 55. Karbohidratların karbamidlə keyfiyyət	
reaksiyası.....	106
İş 56. Pentozaların müşahidə edilməsi	108
(Bial reaksiyası).....	110
<i>Karbonil qrupu üzrə karbohidratlara</i>	111
<i>məxsus reaksiyalar</i>	
İş 57. Şəkərlərin reduksiyaetmə qabiliyyəti.....	112
İş 58. Disaxaridlər.....	

İş 59. Mürəkkəb şəkərlər (ikinci dərəcəli poliozalar).....	
İş 60. Sadə şəkərlərin fenilhidrazin sınağı ilə aşkar edilməsi.....	115
İş 61. Qıcqırma nümunəsi.....	116
İş 62. Qıcqırma prosesinin flüor ionları ilə tormozlanması.....	121
Şəkərlərin mübadiləsi.....	123
İş 63. Mədəaltı şirəsi amilazası vasitəsilə nişastanın həzmi	126
İş 64. Şəkər mübadiləsinin aralıq və son məhsullarının təyini (əzələ ekstraktında süd turşusunun müşahidə edilməsi). Uffelman nümunəsi.....	129
İş 65. Qlikoliz zamanı süd turşusunun əmələ gəlməsi.....	132
İş 66. Sidikdə piroüzüm turşusunun miqdarca təyini.....	134
İş 67. Qanda şəkərin miqdarca təyini Xaqedorn –Yensen üsulu.....	136
İş 68. Bertran üsulu (Maken-Şoorla görə modifikasiya).....	
İş 69. Şəkərlərin mikrokimyəvi üsulla təyini.....	
İş 70. Vilştetter və Şedel üsulu ilə aldozaların miqdarca təyini.....	138
İş 71. Şəkərlərin xromatoqrafiyası (analitik üsullar).....	138
İş 72. Şəkərlərin nazik qatlı xromatoqrafiyası.....	141
IV Bölməyə aid suallar.....	143
	148
V BÖLMƏ. LIPIDLƏR.....	151
İş 73. Akrolein sınağı	
İş 74. Belye sınağı	152
İş 75. Emulsiyalaşma təcrübəsi	155
İş 76. Yağların sabunlaşması və sərbəst yağ turşularının alınması	162
.....	166

İş 77. Yağ ədədlərinin təyini.....	
İş 78. Yağların bixromat üsulu ilə təyini (Mikroüsul).....	168
V Bölməyə aid suallar.....	170
	171
VI BÖLMƏ. VİTAMİNLƏR VƏ ONLARIN TƏYİNİ.....	172
<i>Suda həll olan vitaminlər</i>	173
İş 79. C vitamininin (askorbin turşusu) təyini.....	174
İş 80. B ₁ vitamininin (tiamin) təyini.....	177
İş 81. B ₂ vitamininin (riboflavin) təyini.....	178
İş 82. B ₆ vitamininin müəyyən olunması.....	
İş 83,. B ₁₂ vitamininin (sianokobalamin) müəyyən olunması.....	179
İş 84. PP vitamininin (nikotin turşusu) təyini.....	
	180
<i>Yağda həll olan vitaminlər</i>	183
İş 85. A vitamininin (retinol) təyini.....	187
İş 86. E vitamininin (tokoferol) təyini.....	189
İş 87. K ₁ vitamininin təyini.....	
VI Bölməyə aid suallar.....	190
	191
Əlavələr	
İstifadə olunan ədəbiyyat.....	
	193
	196
	198
	199
	200

