

M.G. SAFIN,D.G‘.HAYITOV, YU.S.RUZIYEV

BIOKIMYO VA MOLEKULYAR BIOLOGIYA FANIDAN LABORATORIYA

MASHG‘ULOTLARI



SAMARQAND –2019

O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY VA O‘RTA MAXSUS TA‘LIM VAZIRLIGI
SAMARQAND DAVLAT UNIVERSITETI

BIOKIMYO VA MOLEKULAR BIOLOGIYA FANIDAN
LABORATORIYA MASHG‘ULOTLARI
uchun o‘quv qo‘llanma

Samarqand – 2019

UO‘K (UDK): 577.1

KBK (BBK) 28.9

«Biokimyo va molekulyar biologiya fanidan laboratoriya mashg‘ulotlari».
O‘quvqo‘llanma. 2019. - 181 bet

Tuzuvchilar: M.G. Safin, D.G‘. Hayitov, Yu.S. Ruziyev

Mas’ul muharrir: Q.Davronov - Mirzo Ulug‘bek nomidagi O‘zbekiston Milliy universiteti Biologiya-tuproqshunoslik fakultetiprofessori, biologiya fanlari doktori.

Taqrizchilar: Z.F.Ismoilov – Samarqand davlat universiteti Genetika va biotexnologiya kafedrası professori, biologiya fanlari doktori.
I.M.Ergashov – Samarqand davlat universiteti Analitik kimyo kafedrası dotsenti, kimyo fanlari nomzodi.

Mazkur o‘quv qo‘llanma oily ta‘lim muassasalarini 5140100 –Biologiya va 5320500 –Biotexnologiyayo‘nalishlarida tahsil olayotgan talabalar uchun mo‘ljallangan bo‘lib, Biokimyo va molekulyar biologiya fanini amaliy jihatdan o‘zlashtirishda biologik materiallar tarkibidagi oqsillar, karbonsuvlar, lipidlar, nuklyein kislotalar, fermentlar, vitaminlar, gormonlar, mikro- va makroelementlarni sifatii va miqdoriy tahlil qilishda foydalaniladigan usullar yoritib berilgan. Har bir bo‘limda talaba va foydalanuvchiga qisqatarzda nazariy ma’lumotlar ham yoritib berilgan. Qo‘llanmaning so‘ngida funksional biokimyoga oid materiallarqon va siydiktahlilito‘g‘risidagi ma’lumotlartarzida keltirilgan.

Этот учебник предназначен для студентов, обучающихся по 5140100 - Биологии и 5320500 - Биотехнологии, который используется для практического применения биохимии и молекулярной биологии, белков, углеводов, методы количественного и качественного анализа липидов, нуклеиновых кислот, ферментов, витаминов, гормонов, микро- и макроэлементов. В каждом разделе имеется краткое изложение теоретического материала в виде помощи студенту и обучающему. В конце учебного пособия приводятся информация о крови и моче, которые представлены как материалы функциональной биохимии

This textbook is intended for students studying at 5140100 - Biology and 5320500 - Biotechnology, which is used for the practical application of biochemistry and molecular biology, proteins, carbohydrates, methods for quantitative and qualitative analysis of lipids, nucleic acids, enzymes, vitamins, hormones, micro- and macroelements . In each section there is a brief introduction to the student and the theoretical knowledge of the student. At the end of the manual, information on blood and urine is presented in functional biochemistry.

SO‘Z BOSHI

«Biokimyo va molekulyar biologiya fanidan laboratoriya mashg‘ulotlari» deb nomlangan ushbu uslubiy qo‘llanma O‘zbekiston respublikasi davlat ta‘lim standartining 5140100 – Biologiya (umumiy biologiya) yo‘nalishini **bakalavriat** ta‘limi standarti va unga mos ravishda tuzilgan namunaviy dastur talablari asosida yaratilgan. Unda Biokimyo va molekulyar biologiyafaniga oid barcha mavzular to‘liq qamrab olingan. **Shuningdek qo‘llanmaga bu fanni eng zamonaviy rivojlanishi asosida paydo bo‘lgan uning yangiproteomika deb nomlangan tarmog‘iga oid ma‘lumotlar ham kiritilgan.** Qo‘llanmada talabalar uchun ajratilgan ma‘ruza darslari ma‘lumotlari, ularning mustaqil ravishda o‘zlashtirishlari uchun mo‘ljallangan materiallar laboratoriya ishlari bilan uyg‘unlashtirilgan tarzda bayon qilingan. Mualliflar qo‘llanmani yaratishda biokimyo bo‘yicha nashr etilgan amaliy mashg‘ulotlar praktikumlarini, o‘quv va uslubiy qo‘llanmalarni, shuningdek dars o‘tish jarayonida orttirilgan tajribalarni asos qilib olishgan. Qo‘llanma bo‘lajak biolog-bakalavrni hayotiy jarayonlarning mexanizmlarini molekular darajada tushinish, biokimyoviy tahlil usullarini egallash, olingan natijalar asosida amaliy xulosalar chiqarish va umuman olganda hozirgi zamon talabi darajasidagi mutaxassis sifatida shakllanishi uchun keng imkoniyat yaratadi.

Mazkur qo‘llanma universitetlarning va pedagogika institutlarning biolog bakalavrlari uchun mo‘ljallangan bo‘lishiga qaramay, undan tibbiyot, farmasevtika institutlari, qishloq xo‘jalik institutini veterinariya va zoomuhandislik fakultetlari talabalari ham foydalanishlari mumkin. Qo‘llanmadabo‘lajak bakalavr akademik darajali biolog mutaxassislarning quyidagi hajmdagi bilim, malaka va ko‘nikmalarini shakllantirish hisobga olingan:

- hujayrada mavjud biomolekulalarning xilma-xilligi;
- aminokislotalar almashinuvi;
- oqsillar almashinuvi;
- nukleotidlar almashinuvi;
- fermentlarning**ta’sir** qilish mexanizmlari;
- uglevodlar almashinuvi;
- hujayradagi biokimyoviy reaksiyalarning o‘zaro bog‘liqligi;
- muhim makromolekulalarning biosintezi va parchalanish mexanizmlari;

- hujayrada energiyani hosil bo‘lishi va sarflanishi haqida tasavvurga ega bo‘lishi;
- proteinogen aminokislotalarning struktura formulasini, oqsil shakllanishida ularning bog‘lanishi;
- oqsillar tuzilish darajalari va funksiyalari;
- oqsillarni parchalanishi;
- aminokislotalarningdezaminlanishi;
- fermentlarningklassifikasiyasi;
- nuklein kislotalarning tuzilishi va funksiyasi;
- uglevodlarningtuzilishi va funksiyasi;
- uglevodlarni anaerob va aerob sharoitda parchalanishi;
- yog‘larni tuzilishi va funksiyasi;
- yog‘ kislotalarining betta-oksidlanishi;
- neytral yog‘larning hosil bo‘lishi;
- vitamin va gormonlarning organizmdagi boshqaruvchi funksiyasini bilishi va foydalana olishi;
- oqsillarga xos rangli reaksiyalarni amalga oshira olish;
- oqsillar miqdorini Biuret va Louri uslublari bo‘yicha aniqlay olish;
- fermentlar faolligiga harorat, substrat, pH ta’sirini aniqlash reaksiyalarini amalga oshira olish;
- nuklein kislotalarni ajratib, tarkibiy qismlariga xos sifat reaksiyalarni amalga oshira olish;
- mono-, di- va polisaxaridlarga xos sifat reaksiyalarni amalga oshira olish;
- qondagi glukoza miqdorini Xagedorn-Iyensen usuli bo‘yicha aniqlay olish;
- lipidlarga xos sifat reaksiyalarni amalga oshira olish;
- laboratoriya ishlarini amalga oshirishda zamonaviy asbob uskunalardan foydalana olish ko‘nikmalariga ega bo‘lishi kabilar.

1-mavzu. Laboratoriya mashg‘ulotlari jarayonidagi tartib-qoidalar. Eritmalarni tayorlash

Biokimyodan laboratoriya mashg‘ulotlarini olib borishda rioya qilinishi zarur bo‘lgan tartib – qoidalarni talaba to‘liq o‘zlashtirmasa, unda ayrim havfli holatlarning yuzaga chiqishi aniq. O‘z navbatida dars jarayonida talaba biror bir ehtiyotsizlik oqibatida nojo‘ya xarakat qilib

qo'yganda, ya'ni masalan: teri kuyishi, zaharlanish, yallig'lanish yuz berganda, unga birinchi yordam ko'rsatish qoidalari bilan ham tanish bo'lish talab qilinadi. Shu sababli talabalarni gigiyena qoidalari, laboratoriyada ishlash va texnika-xavfsizligi qoidalari, ko'ngilsiz holatlar yuzaga kelganda birinchi yordam ko'rsatish tartib-qoidalari bilan tanishtirish muhim ahamiyatga ega bo'ladi. Shuningdek biokimyoviy laboratoriya ishlari va ularni o'tkazish uchun kerakli jihozlar hamda ishlatiladigan xilma xil konsentratsiyadagi kerakli reaktivlar bilan ishlashga tegishli ko'nikmalarga ega bo'lishni talab qilganligi uchun birinchi darsning mavzusi aynan shu muammolarning yechimiga qaratiladi.

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

Gigiyena qoidalari

1. Laboratoriya ishlarini bajarishda doimo oq xalatda bo'lishni ta'minlanishi.
2. Agar biologik materiallar (xar xil to'qimalar na'munalari, so'lak, qon, siydik, va **x.k.z.**)ni biokimyoviy tahlil ishlarini olib borishda qo'lni shikastlanishini oldini olish maqsadida ishni rezina qo'lqoplar yordamida bajarish tavsiya etiladi va mashg'ulotdan so'ng qo'lqoplar oldin fiziologik eritma so'ng 4% li vodorod peroksid eritmasi va sovun bilan yuviladi.
3. Singan shisha idishlar, pipetkalar, probirkalardan foydalanish man etiladi.
4. Laboratoriya xonasi va talaba o'z ish stolini tartibli saqlashi lozim, shuningdek stol ustida ish uchun keraksiz buyumlarning bo'lmasligiga erishish kerak.
5. Biologik materiallar va kimyoviy reaktivlar bilan ishlagandan so'ng ishning nihoyasida albatta qo'llarni sovun bilan yuvish shart.
6. Laboratoriya ishi bajariladigan xonalarda ovqatlanish, pardozu-andoz bilan mashg'ul bo'lish va mavzuga bog'liq bo'lmagan boshqa mashg'ulotlar bilan shug'ullanish man etiladi.
7. Reaktivlarni va tekshirish uchun mo'lljallangan materiallar saqlanadigan muzlatgichlarda oziq – ovqat mahsulotlarini vaqtincha va uzoq muddatlarda saqlash qat'iyan ta'qiqlanadi.

8. Qon olish vaqtida faqatgina steril ignadan yoki bir martalik skorifikatorlardan foydalanish kerak.

9. Teriga tushib qolgan biologik material, qon, siydik namunalari qoldiqlari tushgan joy 70% tibbiyot spirti yoki dezinfikatsiyalovchi boshqa eritma surtib tozalanadi.

Laboratoriyada ishlash qoidalari

1. Tajriba o'zbekistonda bajariladigan ishni ushbu qo'llanmadane'tibor bilano'qib-tushunib olish va reaktivlarning xossalari bilan tanishib chiqish zarur.

2. Laboratoriya mashg'ulotlari uchun tutilgan daftarda sana, bajariladigan laboratoriya ishi mavzusi, ishning to'liq mazmuni, formulalar, tenglamalar, jadvallar, rasmlar, sxemalar, xulosalar yozib borilishi lozim.

3. Talabaning ish daftarida dars uchun kerakli jihozlar va kimyoviy reaktivlar, ularni tayyorlashga oid yo'l-yo'riqlar o'z aksini topishi lozim.

4. Laboratoriya ishini bajarishda uni diqqat bilan ushbu qo'llanmada keltirilgan tartibdagi ketma-ketlikda, shoshmasdan, xatoga yo'l qo'ymasdan amalga oshirish talab etiladi.

5. Kimyoviy reaktivlar solingan idishlarning qopqoqlari va tiqinlarini stol ustiga reaktivlar tegmagan tomoni bilan qo'yish va ulardan foydalangandan so'ng idishlarning o'z-o'ziga adashtirmasdan yopib qo'yish lozim.

6. Laboratoriya ishlarini bajarish vaqtida tahlil qilinuvchi namunalarni bir joyda saqlash va hamma uchun umumiy bo'lgan texnik jixozlar va o'lchov tarozilarini joyidan siljitmaslik lozim.

7. Laboratoriyada noma'lum tavsifli bo'lgan reaktivlarni ta'mini tatib ko'rish, teriga tomizib sinash, xonada chekish man etiladi.

8. Kuchli kislota, ishqor eritmaları va zaharli moddalar bilan mo'rili shkaf ostida ishlash, ularni o'lchab olishda avtomatlashtirilgan pipetkalardan foydalanish, qolgan xollarda esa, bu ishni o'lchov silindrlari yordamida o'lchab olib bajarish. Brom, vodorod xlorid va boshqa zaharli moddalar solingan idishini og'zini mo'rili shkaf ostida chetga qaratib ochish kerak.

9. Ishlatilgan kislotalar, ishqorlar, xromli aralashmalar, oltingugurtli aralashmalar birikmalari va boshqalarni alohida belgilangan idishlarga to'kiladi.

10. Konsentrlangan kislotalarni suyiltirishda suvni kislotaga emas, balki kislotani suvga asta – sekinlik bilan aralashtirib turgan holda qo‘shib borish talab qilinadi.

11. Mashg‘ulot davrida ish rejasida ko‘rsatilmagan tajribalarni qo‘shimcha ravishda bajarish man etiladi.

12. Laboratoriya mashg‘ulotlarida rejalashtirilgan ishlar bajarilgandan keyin barcha ishlarning natijalari rasmiylashtiriladi va foydalanilgan asbob-uskunalar, idishlar va boshqa jihozlar tozalab yuvilgandan so‘ng navbatchi talabalar tomonidan yig‘ib olinib kafedraning laborantiga olib borib topshiriladi.

Yong‘in va texnika xavfsizlik qoidalari

1. Laboratoriyada ishlayotgan har bir kishi yong‘in va texnika xavfsizlik qoidalariga amal qilishi lozim.

2. Turli gaz gorelkalar va spirt lampalardan to‘g‘ri foydalanishni bilishi kerak.

3. Issiq idish va asboblarni hech qachon stolga to‘g‘ridan-to‘g‘ri qo‘yish yaramaydi, buning uchun maxsus taglik (azbest qog‘oz, oyoqli metal panjara) bo‘lishi kerak.

4. Tez alangalanuvchi moddalar solingan idishlarni ochiq alangada qizdirish va uning yaqinida saqlash mumkin emas.

5. Agar tez alangalanuvchi moddalar yonib ketsa darhol qizdirish manbayini o‘chirish va qum sepish yoki maxsus o‘t o‘chirish vositalaridan foydalanish kerak.

6. Ishlayotgan kishining ust kiyimi yonib ketsa darhol qalin mato yopib havoning kirishini to‘xtatish lozim.

7. Elektr asbob – uskunalari tokga ulanganda yerlatilishi lozim.

8. Laboratoriya xonalarida har bir elektor ulanish nuqtalari (rezetkalar) izolatsiyalangan va kuchlanish volt kattaligi ko‘rsatilgan bo‘lishi kerak.

9. Ish tugagandan so‘ng barcha asbob – uskunalarni tozalab, reaktivlarni joy – joyiga qo‘yish, elektr ulagichlarini o‘chirib, gaz va suv jo‘mraklarini berkitib chiqish va ish joyini tartibga solib, laborantga topshirish talab etiladi.

Birinchi yordam ko‘rsatish

1. Teriga kislotalar to‘kilsa darhol o‘sha joy suv bilan 3–4 marta yuviladi, so‘ngra kaliy permanganat yoki natriy bikarbonat tuzining 3% li eritmasiga botirilgan paxta qo‘yiladi.

2. Teriga ishqor to'kilganda avval oqar suv bilan toki silliqli ketguniga qadar yuvish kerak. So'ngra kaliy permanganatning 3% li, sirka yoki bor kislotaning 2% li eritmasi bilan yuviladi.

3. Ko'zga kislota yoki ishqor sachrasa, ko'zni yaxshilab toza suv bilan yuvish so'ngra vrachga murojoat etish kerak.

4. Alanga yoki issiq ta'sirida kuygan joy kaliy permanganatning 3% li eritmasi, taninning spirtidagi eritmasi bilan yuvilib, so'ngra streptasid emulsiyasi surtib bog'lab qo'yish kerak.

5. Xrom, brom, vodorod sulfid, karbon (II) oksidi va simob bilan zaharlanganda ochiq havoga chiqarib, vrachga murojoat qilish lozim.

Eritmalarni tayyorlash

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

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

Qattiq eritmalarga (oltin va mis, chuyan), suyuq eritmalarga (suv va spirt) gazsimon eritmalarga (havo) kirishi mumkin. Eruvchi moddaning erituvchi moddada ma'lum hajm yoki og'irlik birligida erigan miqdoriy ko'rsatkich kattaligiga eritmaning konsentrasiyasi deyiladi. Eritma tavsifini ifodalashning quyidagi noaniq konsentrasiyali turlari mavjud:

- *konsentrlangan;*

- to‘yingan;
- to‘yinmagan;
- suyultirilgan;
- o‘ta suyultirilgan.

Eritmaning biokimyoviy tahlillarda foydalaniladigan aniq konsentrasiyalari tavsifli turlari jumlasiga:

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

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

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

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

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

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

Sulfat kislota (H_2SO_4) ning 1M eritmasini tayyorlash uchun yuqorida keltirilgan tartibda ish yuritib H_2SO_4 , ya‘ni $\text{H}=1\times 2=2$; $\text{S}=32\times 1=32$; $\text{O}=16\times 4=64$, demak sulfat kislotaning molyar massasi: $2+32+64=98$ g ga

teng. Demak, sulfat kislotaning 1 molyar eritmasini tayyorlash uchun $98:1,84=53,3$ ml kons. sulfat kislota olinib 1000 ml li hajmni qolgan qismini distillangan suv tashkil qiladi.

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

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

O'tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

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

OQSILLAR BIOKIMYOSI

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

- tuzilmalarning xilma xilligi va unga bog‘liq **holda** turga xos maxsuslikka egaligi;
- fizik va kimyoviy o‘zgarishlarining xilma xilligini cheksizligi;
- molekulalararo ta‘sirlanish xususiyatlarining cheksizligi;
- molekula konfiguratsiyasining o‘zgarishiga javob berish va ta‘sirlanishning nihoyasiga yetishi bilan dastlabki holatni tiklash xususiyatini mavjudligi;
- boshqa kimyoviy birikmalar bilan birikib kompleks va boshqa xil tuzilmalarni hosil qilish xossasiga egaligi;
- biokatalitik va boshqa sifatiy xossalarga egaligi kabilar kiradi.

Oqsillarning elementar tarkibi:

- uglerod-50,0-55,0%;
- vodorod-6,5-7,3%;
- azot-15,0-18,0%;
- kislorod-21,0-24,0%;
- oltingugurt-0,0-2,54%;
- kul-0,0-0,5% dan tashkil topgan.

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

- **protaminlar** - tarkibida 80% gacha diaminomonokarbon kislotali aminokislotalar saqlovchi, ishqor tabiatli, oddiy oqsillardir. Ular sperma, baliq ikrasi kabi ko‘payish mahsulotlari tarkibida uchraydi. DNK molekulasini bilan birikib, ularning barqarorligini ta‘minlaydi.

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

• **albuminlar**- tuxum albumini, qon zardobi albumini, sut albumini, mushak albumini holida keng tarqalgan. Tarkibida 20 ta aminokislota uchraydi.

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

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

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

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

• **tabiiy peptidlar**- keyingi paytda qator maxsus funksiyalarni bajaruvchi past molekulali peptidlar o'rganildi.

Ular o'zlarining biologik faolliklari, ta'sir etish tavsiflari va kelib chiqishiga **bog'liqholda** to'rt guruhga bo'linadi:

1. Gormonal faollikka ega bo'lgan peptidlar (vazopressin, oksitosin, kortikotropin, glukagon, kalsitonin, melanostimullovchi gormon (MSG) gipotalamusning- rilizing omili.

2. Ovqat hazmi jarayonida ishtirok etuvchi peptidlar (gastrin, sekretin)

3. Qon zardobini α_2 - globulin fraksiyasi asos bo'lib xizmat qiluvchi peptidlar (angiotenzin, bradikinin va kallidin).

4. Neyropeptidlar.

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

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

Nukleoproteinlar-oqsillar va nuklein kislota qoldiqlaridan tashkil topgan makromolekulalar hisoblanadi. Bu murakkab oqsillar tarkibiga kirgan nuklein kislotalarning xiliga qarab dezoksiribonukleoprotein (DNP) lar va ribonukleoprotein (RNP) larga bo'linadi. Bu oqsillar hujayraning yadrosi va protoplazmasida mavjud bo'lib, irsiy axborotni saqlanishi ko'chirilish va realizatsiyasi, o'sish, rivojlanish, ko'payish jarayonlarini sodir **bo'lishini ta'minlaydi**.

Lipoproteinlar-oqsillar va lipidlarning kompleksidan hosil bo'lgan makromolekulalar hisoblanadi. Ular tirik organizmning barcha to'qima va hujayralarida uchraydi, ayniqsa nerv to'qimasidako'p bo'ladi. Bu oqsillarning funksiyalari ham xilma xil bo'lib, lipidlarni organizm bo'ylab tashilishidan tortib, to hujayralar va ularning organellalarini membranalari tuzilmasini hosil qilishgacha bo'lgan funksiyalarni bajaradi.

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

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

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

$$\begin{array}{l} \text{R} \begin{array}{l} \diagup \text{COO}^- \\ \diagdown \text{NH}_3^+ \end{array} + \text{H}^+ \longrightarrow \text{R} \begin{array}{l} \diagup \text{COOH} \\ \diagdown \text{NH}_3^+ \end{array} \\ \text{R} \begin{array}{l} \diagup \text{COO}^- \\ \diagdown \text{NH}_3^+ \end{array} + \text{OH}^- \longrightarrow \text{R} \begin{array}{l} \diagup \text{COO}^- \\ \diagdown \text{NH}_2 \end{array} + \text{H}_2\text{O} \end{array}$$
$$\left[\text{R} \begin{array}{l} \text{COO}^- \\ \text{NH}_3^+ \\ \text{NH}_3^+ \end{array} \right] \xrightarrow{+\text{OH}^-} \left[\text{R} \begin{array}{l} \text{COO}^- \\ \text{NH}_2 \\ \text{NH}_3^+ \end{array} \right]^0 + \text{H}_2\text{O} \quad \text{kuchli} \quad \text{amfion zaryadsiz}$$

$$\left[\text{R} \begin{array}{l} \text{COO}^- \\ \text{NH}_3^+ \\ \text{NH}_3^+ \end{array} \right] \xrightarrow{+\text{OH}^-} \left[\text{R} \begin{array}{l} \text{COO}^- \\ \text{NH}_2 \\ \text{NH}_2 \end{array} \right]^- + 2\text{H}_2\text{O} \quad \text{kuchsiz} \quad \text{anion}$$

Ayrimoqsillaruchun IEN ko'rsatkich quyidagicha: pepsin - 1,0; gemoglobin

- 6,8; sitoxrom - 10,65; tuxumalbumini - 4,6; mioglobin - 7,0; lizosim - 11,0 vahokaza.

Oqsilmolekulasining kationyokianionholida gizaryadining katta-kichikligiga qarabelektroforez (elektromaydonidagi harakat) hodisasini amoyon bo'ladi, unda oqsilmolekulasini ajratib olishda, gomogenlik darajasini aniqlashda foydalaniladi.

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

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

2-mavzu. To'qima va biologik suyuqliklardan oqsillarni ajratish usullari va ularning eruvchanligini aniqlash

Ma'lumki, oqsillarni eruvchanligi, tozalash usullari, xossalari, molekulyar massasi va tarkibini o'rganish uchun, ularni xilma xil biologik materiallardan ajratib olish lozim bo'ladi. Bu biomateriallar jumlasiga: mushak, qon va uning zardobi, tuxum, xamirturush va chigitlarni kiritish mumkin.

Darsning maqsadi. Turli xil biologik material (mushak, qon va uning zardobi, tuxum, hamirturush va chigit)lardan oqsillarni ajratib olish va ularni eruvchanligiga oid ko'nikmalarni shakllantirish.

To'qimalardan oqsillarni ajratib olish uchun ushbu to'qima hujayralari dezintegratsiyalanadi, ya'ni ular bir-biridan ajratiladi va membranalaridan xalos qilinadi. Buning uchun to'qimalarni gomogenizatsiyalash, ularga ultratovush yordamida ta'sir etish yoki vaqti-vaqti bilan muzlatib eritishni takror - takror qo'llash kabi usullardan foydalaniladi. Shu yo'sinda to'qimalardan gomogenat tayyorlagandan so'ng oqsillarni eritmaga

o'tkaziladi – ekstraksiyalanadi. Buning uchun ajratilayotgan oqsilning tabiatiga ko'ra bufer eritma va organik erituvchilardan foydalaniladi. Ular yordamida to'qimadan tayyorlangan gomogenatdan oqsillarning fraksiyalari alohida-alohida fraksiyalanadi. Bunda zamonaviy ultrasentrifugalash, elektroforez, xromatografiya va immunobiologiya usullardan foydalaniladi.

1-ish. Mushak to'qimalaridan oqsillarni ajratish

Miofibrillalar – qisqaruvchi mushak hujayralari uchun xos birikmalardir. Ular miozin va aktin kabi qisqaruvchi oqsillar, tropomiozin va troponin kabi boshqaruvchi oqsillardan iborat. Miofibrill oqsillari suvda erimaydi, ammo bu oqsillarni 0,5 mol tuz eritmasi yordamida ajratib olish mumkin.

Sarkoplazmaning (mushak hujayrasi gialoplazmasi) ko'pchilik oqsillari suvda yoki kuchsiz tuz eritmasida eriydi. Bu fraksiyada mushak oqsillaridan tashqari boshqa a'zolarida uchraydigan oqsillar ham uchraydi. Mushak to'qimalariga 5% li kaliy xlorid eritmasi ta'sir ettirilganda miofibrill va sarkopolazma oqsillari ajraladi.

Kerakli biomaterial: mushak to'qimasi.

Kerakli jihozlar: sentrifuga, sentrifuga tarozisi, sentrifuga probirkalari, chinni hovoncha, shisha kukun, oddiy probirka va shtativlar, shisha tayoqcha, pipetka, filtr qog'ozi, doka va voronkalar,

Kerakli reaktivlar: kaliy xloridning 5% li eritmasi, natriy gidroksidning 0,1 M eritmasi, uchxlorsirka kislota (UXSK)ning 10% li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Mushak to'qimasi yog'lardan, payli qismidan, mushak pardasidan ajratib, tarozida 2 g tortib olinadi va yaxshilab qaychi bilan maydalab, havonchaga solinadi. Uning ustiga 2 ml 5% li kaliy xlorid eritmasi va shisha kukuni solib, yaxshilab yanchiladi. So'ng aralashmaga yana 3 ml kaliy xlorid eritmasi qo'shib, 5 daqiqa davomida yanchishni davom ettiriladi. Shu yo'sinda aralashma gomogen holatga keladi, uni *gomogenat* deyiladi.

Gomogenat ikkita sentrifuga probirkalarga o'tkaziladi, bunda shisha qum qoldiqlari havonchada qoladi. Probirkalardagi aralashmalar sentrifuga tarozisida ko'chiriladi va 5% li kaliy xlorid eritmasi yordamida muvozanatlanadi. So'ngra probirkalar sentrifugaga joylashtiriladi va 1000 g/daqiqa aylanish tezligida 5 daqiqa davomida aylantiriladi. Bunda cho'kma usti suyuqligi (supernatant), ya'ni xaqiqiy gomogenat ikkita boshqa probirkalarga ko'chiriladi va yana muvozanat holatga keltiriladi,

probirkalar tubidagi cho‘kma esa, faqat shisha koldiqlaridan iborat bo‘lganligi uchun tashlab yuboriladi. Supernatantli probirkalar sentrifugaga joylashtirilib 4000g/daqqa aylanish tezligida 15 daqiqa davomida aylantiriladi. Bunda hujayra bo‘lakchalari, parchalanmagan hujayralar, biriktiruvchi to‘qima tolalari cho‘kmaga tushadi va u tashlab yuboriladi. Supernatant mushak oqsillarini ekstrakti hisoblanadi va uni keyingi tajribalarda oqsillarga xos reaksiyalarni bajarishda ishlatish uchun alohida idishga solib sovitqichga ko‘chiriladi.

2-ish. Sutdan kazein oqsilini ajratish

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

Kerakli biomaterial: sut.

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

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

Ishni bajarish tartibi. Hajmi 50 ml bo‘lgan kimyoviy stakanga 3 ml sut va 7 ml distillangan suv quyiladi. Suyuqliklar yaxshilab aralashtiriladi va ustiga 10-15 tomchi 1% li xlorid kislota ertimasi tomiziladi. Kislota juda ehtiyotkorlik bilan tomchilab solinadi, chunki xlorid kislota ortiqcha miqdori kazein oqsili cho‘kmasini eritib yuborishi mumkin. Oradan 3-5 daqiqa o‘tgandan keyin kazein oqsilidan iborat cho‘kma hosil bo‘ladi. Cho‘kma usti suyuqligi alohida idishga to‘kib olinadi. Cho‘kma ustiga uni tarkibidagi xlorid kislota **xolisqilish** uchun 10 ml distillangan suv solib, 5 daqiqa qoldiriladi. Cho‘kmaga qo‘shilgan suv oldingi to‘kib olingan cho‘kma usti suyuqligi quyilgan idishga o‘tkaziladi. Cho‘kmaga takroran 10 ml distillangan suv solib, cho‘kma tarkibidagi xlorid kislota ortiqcha qismi yuviladi va aralashma tingandan so‘ng, uni ham cho‘kma usti suyuqligi yig‘ilgan idishga o‘tkaziladi. Cho‘kmani qog‘oz filtr orqali filtrlanadi va filtrda 2-3 marta suv yugirtirib yuviladi. Filtrat

ilgarigi cho'kma usti suyuqligi solingan idishga yig'iladi va keyinga ishlarda foydalanish uchun olib qo'yiladi.

Tarkibida kazein(+yog') bo'lgan cho'kmaga 1% natriy ishqori qo'shib eritiladi. Bunda kazein erib ketib yog' eritmada muallaq holda bo'lib qoladi. Suyuqlik namlangan qog'oz filtr orqali filtrlanganda yog' filtrqog'ozda qolib ketib, kazein oqsili esa, filtrat tarkibida bo'ladi. Bu ajratib olingan aralashmani «kazein oqsili» deb nomlab alohida idishga solinadi va keyingi tajribalarda foydalanish uchun olib qo'yiladi.

Yuqoridagi tajribalar davomida kazeinni ajratib olishda yig'ilgan suyuqliklarni birlashtiriladi va ularning tarkibidagi albumin hamda globulinlarni ajratib olish uchun natriy xlorning to'yingan eritmasidan yoki tuzning kukunidan barqaror cho'kma hosil bo'lgungacha qo'shib aralashtiriladi. Cho'kmani filtrlanadi va suv bilan yuvilgandan so'ng fiziologik eritmada eritiladi. Hosil bo'lgan aralashmani» sut albumini va globulini» deb nomlab alohida idishga solinadi va keyingi tajribalarda foydalanish uchun olib qo'yiladi.

3- ish. Tuxum oqsilidan albuminva globulinni ajratish

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

Kerakli biomaterial:tuxum oqsili.

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

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

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

o'tadi. Filtr qog'ozdagi globulinni shpatel bilan boshqa idishga ko'chirib olinadi va fiziologik eritmada eritiladi, sentrifuga probirkasidagi globulin oqsili cho'kmasini ham fiziologik eritmada eritiladi. Filtratdagi va sentrifugatdagi aralashmalar tuxum oqsilini albumin fraksiyasi hisoblanadi. Ularni har birini alohida idishlarga solib «Tuxum globulini» va «Tuxum albumini» deb belgilanadi hamda oqsillarga xos keyingi reaksiyalarni o'tkazishda ishlatish uchun olib qo'yiladi.

4-ish. Bug'doy (arpa,suli)ni umumiy oqsillarini ajratib olish

O'simlik oqsillarini ajratib olish uchun tadqiq qilinadigan obyekt tarkibidagi oqsil fraksiyasining xossasiga qarab turli erituvchilardan foydalaniladi. Odatda bug'doy, arpa va suli urug'lari tarkibidagi oqsillar NaOH ning 0,2 % li eritmasida yaxshi, NaOH ning shu konsentratsiyadagi 50-60 % li spirtida tayyorlangan eritmasida undan ham yaxshi eriydi. Shu o'simliklarning unini natriy ishqorini spirtli eritmasi yoki suvdagi eritmasi bilan ishlov berganda eritmaga albumin, globulin, prolamin va glyutelin oqsillarilari o'tadi. Prolamin va glyutelinlar tarkibida ko'p miqdorda prolin va glyutamin aminokislotalari bo'ladi.

Kerakli biomaterial: bug'doy, arpa va suli unlari

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

Kerakli reaktivlar: NaOH ning 0.2 % li 50-60% li spirtidagi yoki NaOH ning o'zini 0.2 % li eritmasi.

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

5- ish. Bug'doy (arpa,suli)lardan albumin oqsilini ajratib olish

Bunda oldingi ishda(4-chi) bug'doy (arpa,suli)larning umumiy oqsillarini ajratib olish amalga oshirilgan bo'lib, ajratib olingan oqsilning tarkibi albumin, globulin, prolamin va glyutelinlardan iborat bo'ladi. Bu biomateriallar tarkibidagi albuminni ozmi-ko'pmi yuqori tozalik darajasida ajratib olish uchun ushbu ishni bajarish lozim bo'ladi.

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

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

Kerakli reaktivlar: distillangan suv.

Ishni bajarish tartibi. 25 g bug‘doy yoki arpa, yoki suli uni olib kolbaga solinadi, uni ustiga 100 ml distillangan suv qo‘shib 1 soat davomida yaxshilab aralashtiriladi. Aralashtirish jarayonini samarali bo‘lishini ta‘minlash uchun kolbadagi aralashmani silkitib - aralashtiruvchi asbobga o‘tkaziladi. So‘ng aralashmani sentrifugalanadi. Cho‘kma tashlab yuboriladi, cho‘kma usti suyuqligi esa filtr qog‘oz orqali filtrlanadi. Filtrlangan tiniq eritma nisbatan toza holdabo‘lgan albumin hisoblanadi. Chunki bunda globulin, prolamin va glutelinlar suvda erimaganligi sababli cho‘kmaga tushadi.

6-ish.Oqsillarni eruvchanligini aniqlash

Oqsillar har xil eruvchanlikka ega. Ba‘zi oqsillar distillangan suvda eriydi, boshqalari unda erimaydi-yu, tuzlarning juda kuchsiz eritmalarida erib, konsentrlangan eritmalarida cho‘kmaga tushadi. Uchinchi xil oqsillar, masalan prolaminlar (o‘simlik oqsillari), 60-80% li spirt eritmasida eriydi. Bundan tashqari shunday oqsillar ham bor-ki, ular boshqa oqsillar uchun maxsus erituvchi sifatida xizmat qiladigan eritmalar (distillangan suv, tuzlarning suyultirilgan eritmaları, kuchsiz kilotalar)da erimaydi. Erimaydigan oqsillar jumlasiga albuminoid (keratin, elastin, kollagen)lar - hayvonlarning tashqi qoplami, skeleti va biriktiruvchi to‘qimalari oqsillari kiradi. Oqsillar suvda kolloid eritma hosil qiladi. Kolloid eritmalar chin eritmalaridan farqli o‘laroq, ularning dispersion zarrachalarini kattaligi ancha yirik (1millimikrondan 0,1 mikrongacha) bo‘ladi. Bu moddalar odatdagi qog‘oz filtrlardan o‘tib ketadi, lekin yarim o‘tkazgich membrana (ho‘kizning siydik pufagi, pergament, hayvon va o‘simlik membranasi) lardan o‘taolmaydi, ularni oddiy mikroskopda ko‘rib bo‘lmasa-da, ultramikroskopda ko‘rish mumkin bo‘ladi.

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

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

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

Ishni bajarish tartibi. To‘rt qatorli shtativga probirkalarni terib joylashtiriladi va birinchi qatordagi sakkizta probirkaga 20 tomchidan distillangan suv, ikkinchi qatordagilariga NaCl ning 0,9 % li eritmasidan, uchinchi qatordagilariga NaCl ning to‘yingan eritmasidan va to‘rtinchi qatordagilariga NaOH ning 0.2 % li eritmasidan solinadi. So‘ng har bir

qatorning birinchi probirkasidan sakkizinchi probirkasigacha quyidagi tartibda yuqorida tayyorlangan oqsillar eritmasi:

- mushak oqsili;
- sut kazeini;
- sut albumini;
- sut globulini;
- tuxum albumini;
- tuxum globulini;
- bug‘doy (arpa, suli) oqsili;
- bug‘doy(arpa, suli) albuminidan 3 tomchidan tomiziladi.

Probirkalardagi aralashmalar yaxshilab aralashtirilgandan keyin biroz tinch qo‘yiladi. Tajriba natijalari 1-jadval tarzida rasmiylashtiriladi.

1-jadval

Oqsillarning harxil eritmalaridagi eruvchanligini aniqlashga oidma'lumotlar

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

Tajribani nihoyasida 1-jadval to‘ldirilib tegishli xulosalar keltirib chiqariladi. Bunda eruvchanlikni ifodalash uchun musbat(+) va manfiy (-) belgilardan foydalaniladi hamda eruvchanlikning kuchli yoki kuchsizligi haqidagi mulohaza yozma tarzda ham ifodalanadi.

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

O‘tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

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

3-mavzu. Oqsillarni cho‘ktirish reaksiyalari

Oqsil eritmalari yuqorida keltirilganidek kolloid eritma bo‘lganligi sababli ularni ma’lum sharoitlarda cho‘ktirish yo‘li bilan bor-yo‘qligini aniqlash va toza holda ajratib olish mumkin bo‘ladi. Oqsillarni cho‘ktirishning xilma xil reaksiyalari mavjud. Bu reaksiyalarni yuqori haroratda qaynatish yo‘li bilan va xona xarorati sharoitida o‘tkazish mumkin. Cho‘ktirish reaksiyalari foydalaniladigan cho‘ktirish usullariga qarab qaytar va qaytmas reaksiyalar bo‘ladi. Qaytar cho‘ktirish reaksiyalarida oqsillar tuzilishi jihatidan chuqur o‘zgarishlarga duch kelmaydi va hosil bo‘lgan cho‘kma dastlabki suvli erituvchida eriydi. Oqsillar bunda o‘zlarining dastlabki tabiiy tuzilishini saqlaydi va denaturatsiyaga uchramaydi. Qaytmas tavsifli cho‘ktirish reaksiyalarida oqsil chuqur o‘zgarishlarga duch keladi. Bunda hosil bo‘lgan oqsil cho‘kmasi dastlabki erituvchida erish qobiliyatini yo‘qotadi, ya’ni denaturatsiyaga uchraydi. Denaturatsiyaga uchragan oqsil shunday o‘zgarishlarga duch keladiki, bunda u o‘zining biologik va fizik-kimyoviy xossalari va gidrofilligini yo‘qotadi. Qaytmas cho‘ktirish reaksiyalarini qaynatish va har xil cho‘ktiruvchi moddalar (anorganik va organik kislotalar va og‘ir metal tuzlari) dan foydalanish asosida amalga oshirish mumkin. Oqsillarning qaytar cho‘ktirish reaksiyalarini neytral tuzlar: NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 va boshqalardan foydalangan holda amalga oshirish mumkin. Tuz yordamida oqsillarni cho‘ktirishdan juda keng foydalaniladi. Shu yo‘l bilan ularni fraksiyalarini bir biridan ajratish

imkoniyati mavjud. Xususan, albuminlar va globulinlarni shu yo‘l bilan bir biridan ajratiladi.

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

7 - ish. Oqsillarni qaynatish yo‘li bilan cho‘ktirish

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

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili.

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

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

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

Ish natijalari 2-jadval ko‘rinishida izohlanadi:

2-jadval

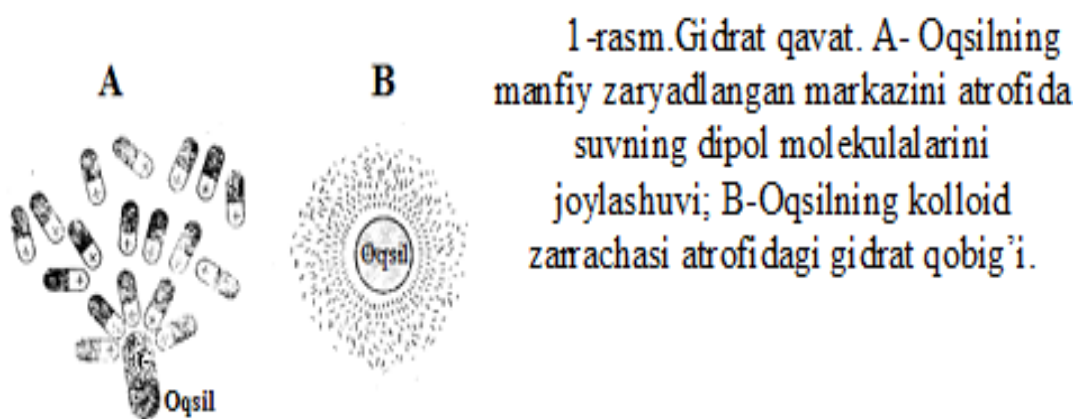
Reaksiya muhiti har xil bo‘lgan oqsil eritmalarini qaynatganda cho‘kishi

Neytral tuzlar	Kuchsiz kislotali muhit	Kuchli kislotali muhit	Elektrolit	Ishqoriy muhit

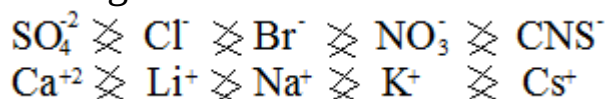
2-jadval ma'lumotlari asosida tegishli xulosalar keltirib chiqariladi.

8-ish. Xona xaroratida oqsillarni neytral tuzlar yordamida cho'ktirish reaksiyalari

Oqsillarni tuz yordamida cho'ktirish deganda neytral tuzlar: NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 va boshqalarning yuqori konsentratsiyali eritmalaridan foydalanish nazarda tutiladi. Tuz yordamida cho'ktirishda oqsil makromolekulasini degidratatsiyasi va bir yo'la uning elektr zaryadini neytralizatsiyasi yuz beradi (1-rasm).



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



Oqsillarni cho'ktirishda NaCl, NH_4Cl , Na_2SO_4 yoki MgSO_4 lardan foydalanilsa, globulinlarni cho'ktirish uchun eritmani shu tuzlardan biri bilan to'la to'yintirish kifoya. Cho'kma ajratib olinganidan keyin cho'kma

usti suyuqligi tarkibidagi albuminlarni ham cho'ktirish uchun unga sirka kislota qo'shib nordonlashtirish kerak bo'ladi.

Neytral tuzlar eritmalari ta'sirida oqsillarning cho'kmaga tushishi qaytar jarayon bo'lib, bu cho'kmalarni suvda eritganda qaytadan erish qobiliyatiga ega bo'ladi, ya'ni bu oqsillar o'zlarining biologik (fermentativ, antigen, immunologik, gormonal) va fizik-kimyoviy xususiyatlarini saqlab qoladi. Oqsillarni har xil to'yinish darajasida cho'ktirish fermentlar, oqsil preparatlari, kristall (liofilizasiyalangan) oqsillarni olishda, shuningdek, ularni boshqa moddalardan ajratish hamda tozalash maqsadida fraksiyalashda keng qo'llaniladi. Bu ishni bajarish uchun ikki xil tajriba o'tkazish tavsiya qilinadi

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

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

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

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

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

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

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

eritmasi hosil bo'ladi va globulinlar cho'kmaga tushadi. Aralashmalar tarkibidagi globulinlar 5 daqiqao'tgandan so'ng filtlash yo'li bilan ajratiladi. Filtratlar tarkibidagi albumin oqsiliniularga $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ning kukunidan qo'shib aralashtirish yo'li bilan to'yintirib cho'kmaga tushiriladi. Bunda albuminning zichligi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ning to'yingan eritmasini zichligidan past bo'lganligi sababli cho'kmalar aralashmaning yuza qismiga to'planadi.

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

9-ish. Oqsillarni og'ir metall tuzlari ta'sirida cho'ktirish

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

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug'doy oqsili.

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

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

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

Tajriba natijalari rasmiylashtiriladi va tegishli xulosalarga kelinadi.

10-ish. Oqsillarni organik va mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish

Oqsil organik kislotalar (trixlorsirka kislota, sulfosalitsil kislota) va konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida denaturasiyaga uchraydi, suvsizlanishi va zaryadsizlanishi tufayli cho'kmaga tushadi. Sulfat va xlorid kislotalar uzoq vaqt ta'sir qilsa, oqsil qisman gidrolizga uchrab

choʻkma asta-sekin erib ketadi. Nitrat kislotada choʻkma sekin eriydi. Biomateriallar tarkibidagi oqsillarni choʻktirish uchun organik kislotalar keng qoʻllaniladi. Trixlorosirka kislota miqdoriy biokimyoviy tahlillarda oqsilsiz filtrat olish uchun, sulfosalitsil kislota, nitrat kislota klinik laboratoriyalarda siydik va boshqa biologik suyuqliklardagi oqsilni mavjudligini aniqlash uchun ishlatiladi. Bu ishni bajarish uchun quyidagi ikkita tajribani oʻtkazish lozim boʻladi.

Kerakli biomateriallar: tuxumoqsili, bugʻdoy oqsili.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: HNO_3 va H_2SO_4 konsentrlangan eritmaları, 10 % li uchxlor sirka kislota, 10 % li sulfosalitsil kislota.

1-tajriba. Oqsillarni anorganik kislotalar yordamida choʻktirish

Ishni bajarish tartibi. 4 ta probirka olib, ularning ikkitasiga 10-tomchi konsentrlangan nitrat kislota, yana ikkitasiga shuncha miqdorda konsentrlangan sulfat kislota quyiladi. Toʻrtala probirkani navbatma-navbat 45° li burchak hosil qilib qiyshaytirib, oldingi ikkitasiga 10 tomchi tuxum oqsili eritmasidan, keyingi ikkitasiga bugʻdoy oqsili eritmasidan ohistalik bilan tomiziladi. Probirkalardagi har ikki qavat suyuqlik chegarasida yupqa oqsil choʻkmasining pardasi hosil boʻladi.

2-tajriba. Oqsillarni organik kislotalar yordamida choʻktirish

Ishni bajarish tartibi. 4 ta probirka olib, ularni juftlab ikkitasiga 2-tomchi 10 % li uchxlor sirka kislota, yana ikkitasiga shuncha miqdorda 10 % li sulfosalitsil kislota **tomiziladi**. Keyin choʻktiruvchi eritmalar boʻyicha yuqoridagi tartibda juftlangan probirkalarga oʻzaro moslashtirgan holda tuxum va bugʻdoy oqsili eritmalaridan 5 tomchidan tomiziladi. Bunda hamma probirkalarda oq choʻkmaning hosil boʻlganligi kuzatiladi.

Ikkala tajriba boʻyicha ham tegishli xulosalar keltirib chiqariladi.

11-ish. Oqsillarni alkaloid reaktivlar bilan choʻktirish

Oqsil eritmasiga tanin, pikrin kislota kabi alkaloid reaktivlari qoʻshilsa choʻkmaga tushadi. Bu reaksiya oqsil molekulasidagi, alkaloidlarni eslatuvchi azotli geterosiklik guruhlar (pirrol, indol, imidazol halqalari va boshqalar) boʻlishiga asoslangan. Sirka kislota yordamida kuchsiz kislotali sharoit yaratilsa, oqsil zarrachasida musbat zaryad paydo boʻladi va manfiy zaryadlangan choʻktiruvchi ionlari bilan oʻzaro taʼsirlashuvini osonlashtiradi. Kuchli mineral kislotalar organik kislotalar

dissosiyalanishini susaytirib oqsilni alkaloid reaktivlari bilan cho'ktirishga xalaqit beradi. Alkaloid reaktivlari jumlasiga tanin, fosfovolfromat kislota, fosfomolibdat kislota, simob yodidning kaliy yodidagi eritmasi, vismut yodidning kaliy yodidagi sariq qon tuzi va boshqalar kiradi.

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug'doy oqsili.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: 10% li pikrin kislota, taninning to'yingan eritmasi, 5% li kaliy ferrosianid (sariq qon tuzi) eritmasi, 10 % li sirka kislota.

Ishni bajarish tartibi. Oltita probirka olib, shtativga juft-juft qilib ikki qatorga joylashtiriladi. Birinchi juftlikdagi probirkalarga 3 tomchidan 10% li pikrin kislota, ikkinchi juftlikdakisiga 3 tomchidan taninning to'yingan eritmasidan, uchinchi juftlikdakisiga 3 tomchi 5% li kaliy ferrosianid eritmasidan solib chiqiladi va ularning hammasiga 1 tomchidan 10% li sirka kislota tomiziladi. So'ng birinchi qatordagi uchta probirkaga 5 tomchidan tuxum oqsili, ikkinchi qatordagi uchta probirkaga bug'doy oqsili eritmasidan tomiziladi. Hamma probirkalarda ham cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi

12-ish. Oqsillarni organik erituvchilar ta'sirida cho'ktirish.

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

Bu reaksiya oqsil kolloid zarrachasining suvsizlanishiga asoslangan. Bunda oqsil kolloid zarrachasining gidrat qavatidagi suv molekulalarini suvi organik erituvchi tomonidan tortib olinadi va oqsil cho'kmaga tushadi. Oqsil neytral yoki kuchsiz kislotali eritmalarda oson cho'kadi. Agar aralashmaga elektrolit qo'shilsa, cho'kish tezlashadi. Shu narsa ham e'tiborga molikki, organik erituvchilar past temperaturada 0-15° da qisqa vaqt ichida ta'sir qilsa, oqsil nativ (yani tabiiy) holatini saqlab qoladi, bu erituvchilar ko'proq muddatda ta'sir qilsa, oqsil denaturatsiyaga uchraydi

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug'doy oqsili.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: etanol 96 % yoki atseton

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

O'tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

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

4-mavzu. Oqsillarga xos rangli reaksiyalar

Oqsillarga xos rangli reaksiyalar, bu moddalarning molekular tuzilishini turli tumanligi va ularning tarkibiga kirgan aminokislotalarning xossalriga bog'liqdir. Aminokislotalar atsillanish, alkallanish, nitrollanish, eterifikasiya va boshqa xil reaksiyalarga kirishadi. Hamma aminokislotalar ningidrin bilan reaksiyaga kirishishi natijasida ko'k-binafsha rangga bo'yaladi. Ularni miqdoriy ko'rsatkichini kimyoviy usulda aniqlash ham, avtomatik analizator yordamida aniqlash ham shu reaksiyaga asoslangan. Bundan tashqari alohida olingan aminokislotalar har xil sifatli reaksiyalarni namoyon qiladi, masalan, tirozin nitrit kislota ishtirokida simob nitrat tuzi bilan qizil rangga bo'yaladi (Millon reaksiyasi), fenilalanin va tirozinlar konsentrlangan nitrat kislota ishtirokida sariq rang hosil qiladi (Ksantoprotein reaksiyasi), triptofan glioksil kislota ishtirokida sulfat kislota bilan ta'sirlanib ko'k-binafsha rangga bo'yaladi (Gopkins - Kol va Adamkevich reaksiyasi), arginin alfa-naftol va natriy gipoxlorit bilan ta'sirlanib qizil rang hosil qiladi (Sakaguchi reaksiyasi), sistein natriy nitroprussid va 1,3-naftoxinon-4-sulfonat natriylar bilan qizil rangga bo'yaladi (Mak-Karti va Sullivan reaksiyalari), gistidin va tirozinlar ishqoriy muhitda diazotlangan sulfon kislota bilan ta'sirlanib qizil rangga

bo'yaladi (Pauli reaksiyasi), sistein yoki sistin ishqoriy muhitda qo'rg'oshin asetat bilan reaksiyaga kirishib qora rangga bo'yaladi (Fol reaksiyasi), tirozin fosfomolibdenovolfamat kislotasini natriyli tuzi bilan reaksiyaga kirib ko'k rang hosil qiladi (Folina – Chiokalteu reaksiyasi).

Bu reaksiyalar oqsil tarkibidagi turli xil aminokislotalar, spetsifik funksional guruhlar yoki peptid bog'larning xossalari asoslangan.

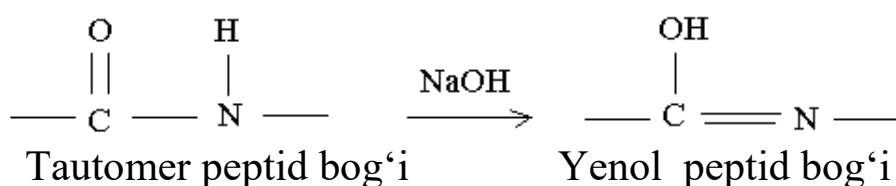
Bir qancha kimyoviy moddalar oqsilga ta'sir etganda reaksiya mahsuloti sifatida turli rangli birikmalar hosil qiladi. Xuddi shu reaksiyalar asosida oqsillar va ularning tarkibidagi aminokislotalarni sifat va miqdor jihatdan aniqlash usullari ishlab chiqilgan.

Rangli reaksiyalar tabiatiga ko'ra ikki xil: universal va o'ziga xos rangli reaksiyalarga bo'linadi. Birinchi turdagi reaksiyalar hamma oqsillar uchun (biuret va ningidrin) xos bo'lib, ikkinchi xili esa oqsil molekulasida u yoki bu xil aminokislota qoldiqlari borligini aniqlashga (Ksantoprotein, Millon, Fol, Sakaguchi, Pauli, Gopkinsa–Koll va Adamkevich reaksiyalari va boshqalar) qaratilgan. Aminokislotalarni biologik suyuqliklar yoki tuzilma ekstraktlarida o'ziga xos reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Rangli reaksiyalarni amalga oshirishda tuxum oqsili, jelatina eritmalari, bir necha marta suyultirilgan qon zardobi, turli hayvon va o'simlik to'qimalari ekstraktlari, shuningdek yuqorida oqsillarni ajratib olishga oid darsda tayyorlangan oqsilli materiallardan foydalanish mumkin bo'ladi.

Darsning maqsadi. *Biologik obyektlar yoki turli eritmalarda oqsil mavjudligini rangli reaksiyalar yordamida aniqlash hamda bu usullar orqali oqsillar tarkibidagi aminokislotalarga xos sifat reaksiyasini o'tkazish va ulardan amaliy maqsadlarda foydalanish ko'nikmalarini shakllantirish*

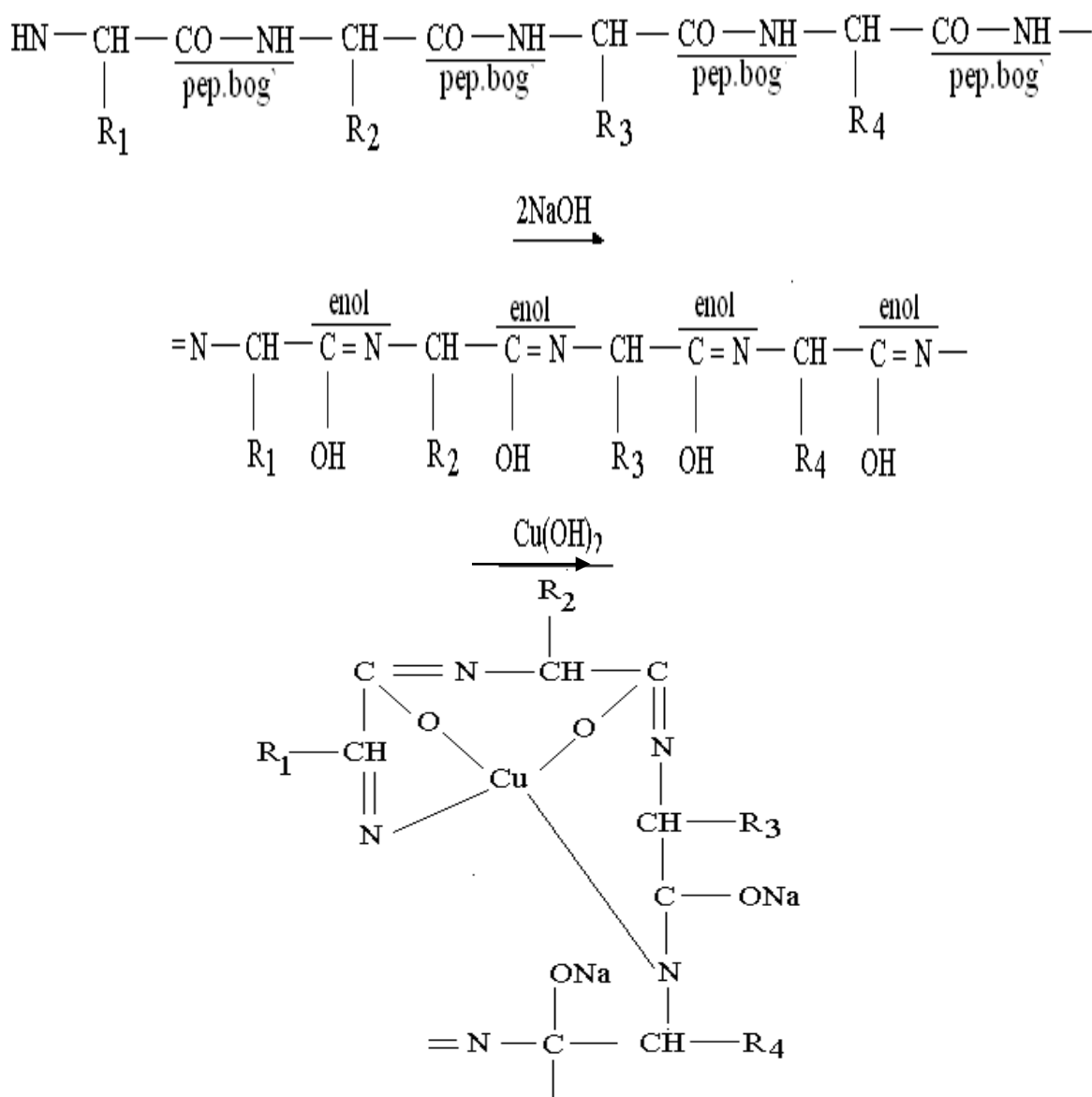
13-ish. Biuret reaksiyasi

Biuretreaksiyasi oqsil va peptidlar tarkibidagi peptid bog'larni mavjudligini aniqlashda foydalaniladigan reaksiya hisoblanadi. Bu reaksiyaning yuz berishi uchun tahlil qilinadigan moddaning tarkibida kamida ikkita peptid bog' bo'lishi, ya'ni bu modda hech bo'lmasa tripeptid bo'lishi kerak. Bu reaksiyada ishqoriy muhit, hosil qilinganda oqsillar tarkibidagi peptid bog'lar tautomer holatidan yenol holatiga o'tadi.



Bunda kuchli ishqoriy muhitda hosil bo'lgan gidroksil guruh dissotsialanadi va manfiy zaryad hosil qiladi. O'z navbatida bu manfiy zaryad mis ioni bilan tortishib tuzli bog'lanishni yuzaga chiqaradi va bundan keyin mis va azot atomlari o'rtasida koordinatsion bog' hosil bo'ladi. Bu mis tutuvchi kompleks barqaror birikma bo'lganligi sababli paydo bo'lgan rang ancha uzoq saqlanadi.

Biuret reaksiyasini o'tkazishda kamida uchta yoki undan ko'p aminokislotadan iborat bo'lgan peptid va oqsillarda o'tkazish mumkin. Biuret reaksiyasini tenglamasi quyidagicha ifodalash mumkin:



Biuret reaksiyasi natijasida hosil bo'ladigan rangning ravshanligi tekshiriluvchi eritma tarkibidagi oqsilning va misning **kontsentratsiyasigabog'liq bo'ladi.**

Kerakli biomateriallar: mushak oqsili, sut kazeini, sut albumini, sut globulini, tuxum albumini, tuxum globulini, bug‘doy (arpa, suli) oqsili.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, spirt lampasi yoki gaz gorelka.

Kerakli reaktivlar: Natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis (II)-sulfatning 1% li eritmasi

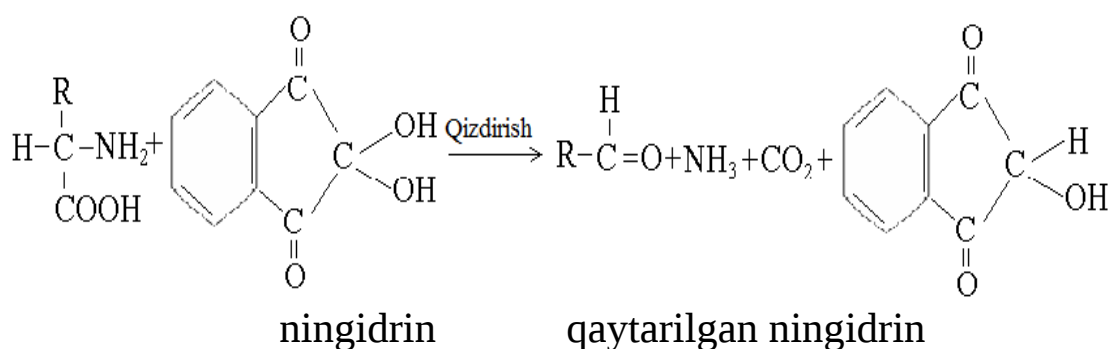
Ishni bajarish tartibi. 7 ta probirka olib, birinchisiga mushak oqsili, ikkinchisiga sut kazeini, uchinchisiga sut albumini, to‘rtinchisiga sut globulini, beshinchisiga tuxum albumini, oltinchisiga tuxum globulini, yettinchisiga bug‘doy (arpa, suli) oqsili eritmalaridan 5 tomchidan tomiziladi. So‘ng barcha probirkalarga 10 tomchidan natriy ishqorining 10 % li eritmasidan 10 tomchidan va mis sulfat tuzini 1 % li eritmasidan 1 tomchidan qo‘shiladi. Hamma probirkalardagi aralashmalar qizil-binafsha yoki ko‘kish-binafsha rangga bo‘yaladi.

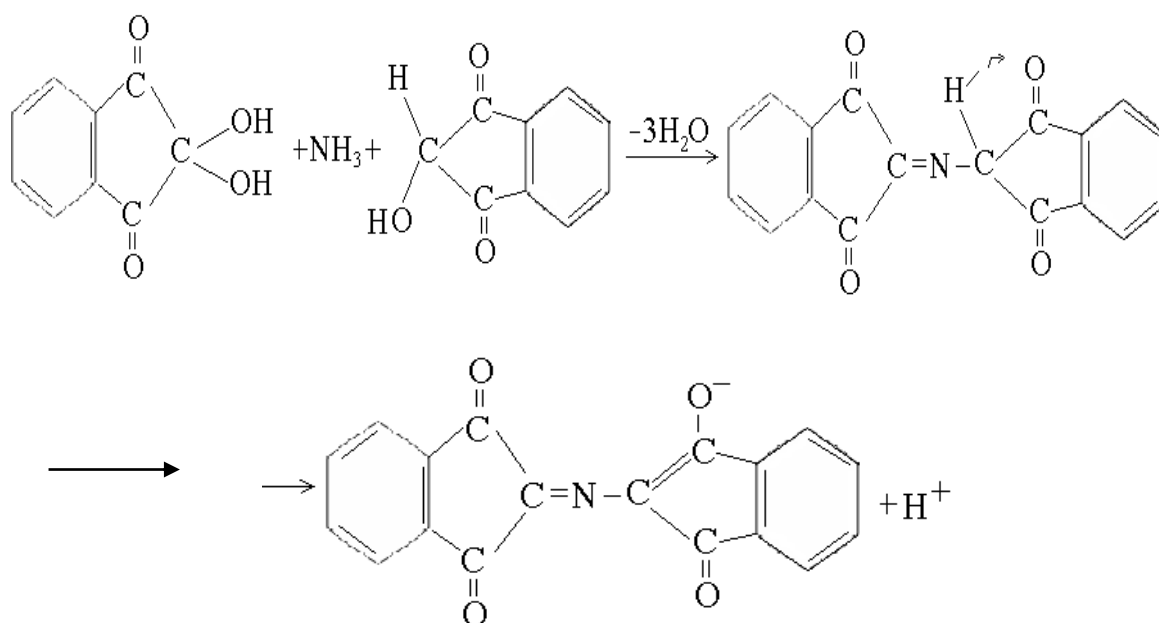
14-ish. Ningidrin reaksiyasi.

Ningidrin reaksiyasi erkin α - aminoguruh uchun xos reaksiya hisoblanadi. Hamma α - aminokislotalar, peptidlar va oqsillarning molekulalarining N – uchida erkin α - aminoguruh bo‘ladi. Shuning uchun yuqoridagi moddalarning eritmalariga ningidrin qo‘shib qizdirilganda ko‘k yoki ko‘kish-binafsha rang hosil bo‘ladi.

Ningidrin ta’sirida erkin α - aminoguruhi bor aminokislota, peptid yoki oqsillar oksidlanish yo‘li bilan ham dezaminlanadi, ham dekarboksillanadi, natijada aldegid guruhi hosil bo‘ladi. Bu vaqtda ningidrin qaytariladi va ajralib chiqqan NH_3 yordamida ikkinchi qaytarilmagan ningidrin molekulasini bilan bog‘lanib ko‘k-binafsha, prolinning imino guruhi bilan esa sariq rangli kompleks hosil qiladi.

Ningidrin reaksiyasining kimyoviy mohiyatini quyidagicha ifodalash mumkin:





Kondensatsiya mahsuloti

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug'doy oqsili, 0,1% alanin eritmasi, sut oqsili.

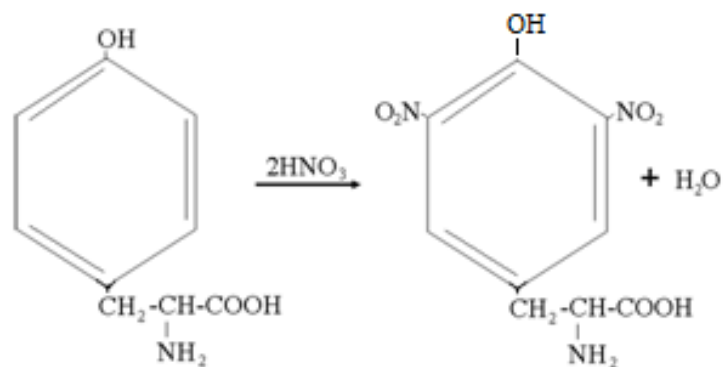
Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, spirt lampa yoki suv hammomi.

Kerakli reaktivlar: 0,5% li ningidrin eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. 4 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi bug'doy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi alanin eritmasi, to'rtinchisiga sut oqsili eritmasidan tomizib, ularning har birini ustiga 5 tomchidan 0,5% li ningidrin eritmasidan qo'shiladi, yaxshilab aralashtirgandan so'ng 1-2 daqiqa davomida qaynatiladi. Probirkalardagi aralashmalar avval pushti-binafsha yoki ko'kish-binafsha rangga buyaladi va vaqt o'tishi bilan eritmalar ko'karadi.

15-ish. Ksantoprotein reaksiyasi

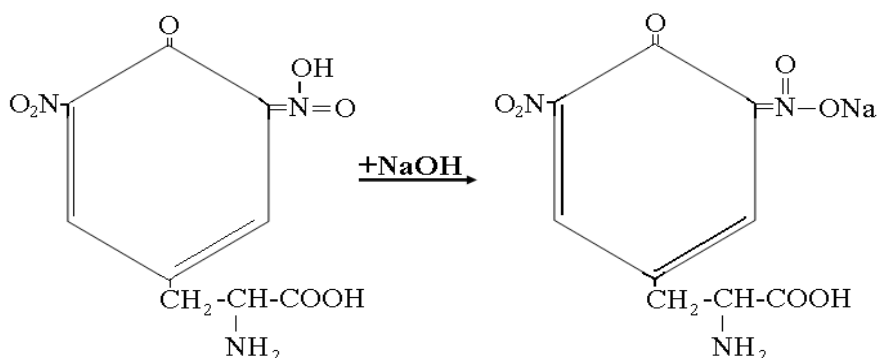
Ksantoprotein reaksiyasi oqsillar molekulalarida indol va benzol halqasini tutgan siklik (aromatik) aminokislotalar- triptofan, fenilalanin va tirozinlarni mavjudligini ko'rsatadi. Bir qator oqsillar konsentrlangan nitrat kislotasi bilan qizdirilganda sariq rang paydo bo'ladi va shu muhitga ishqor qo'shilsa, sariq rangning qizg'ish sariq rangga o'tishi kuzatiladi. Reaksiya ana shu aminokislotalarning benzol halqalari nitrolanib, sariq rangli nitro birikmalarni hosil qilishidan iborat. Masalan: tirozin aminokislotasining nitrat kislotasi bilan nitrolanish reaksiyasini quyidagi tenglama bilan ifodalanadi:



Tirozin

Dinitrotirozin

Probirkadagi aralashma muhiti ishqoriy muhitga o'tkazilsa, ya'ni ishqor qo'shilsa, dinitrotirozinning qizg'ish-sariq rangli xinoid shakli hosil bo'ladi:



Dinitrotirozinning xinoid formasi

Dinitrotirozinning natriyltuzi

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug'doy oqsili, sut oqsili, 0,1% tirozin eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, spirt lampa yoki suv hammomi.

Kerakli reaktivlar: konsentrlangan nitrat kislota, 10 % li natriy ishqori, 15 % li ammiak eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1% li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi bug'doy yoki sut oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 0,1% li tirozin eritmasidan tomiziladi. So'ng hamma probirkalarga, 3-4 tomchidan konsentrlangan nitrat kislota qo'shib qizdiriladi. Uchala probirkadagi aralashma ham sariq rangga kiradi. Aralashmalar sovutilgach, ammiak yoki natriy gidroksid yordamida ishqoriy muhit hosil qilinadi va qizg'ish-sariq rang paydo bo'lishi kuzatiladi.

16-ish. Millon reaksiyasi

Millon reaksiyasi oqsil molekulasi tarkibida tirozin aminokislotalari mavjudligini isbotlovchi reaksiyadir. Tarkibida tirozin aminokislotalari bor oqsillar bir valentli simobning nitrit va nitrat tuzlari aralashmasining konsentrlangan nitrat kislotadagi eritmasi (Millon reaktivi) ta'sirida oq cho'kma hosil qilib, qizdirganda qizaradi. Bu o'ziga xos qizil rang fenol, salisilat kislotasi, pirokaxetinlar bilan ham hosil bo'ladi. Ammo tarkibida tirozin bo'lmagan oqsillar jelatina, klupein, salmin va boshqalar Millon reaksiyasini bermaydi. Millon reaksiyasining kimyoviy mohiyati ksantoprotein reaksiyasini eslatadi. Reaksiya uchun ortiqcha miqdorda Millon reaktivi qo'shishdan ehtiyot bo'lish kerak. Chunki bu reaktiv tarkibida nitrat kislotasi bo'lganligi sababli oqsil bilan sariq rang hosil qilib, Millon reaksiyasio'tishi ucunhalaqit berishi mumkin.

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, 0,1 % li tirozin, 0,1% li fenol eritmasi, 1% li jelatina eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, spirt lampa yoki suv hammomi .

Kerakli reaktivlar: Millon reaktivi (tayyorlash: mo'rili shkafda kolbaga 80 g metal simob va 114 ml konsentrlangan nitrat kislotasi qo'shiladi, Simob «eriyboshlaydi», «erish jarayoni»ni kuchaytirish uchun aralashmani 37-40°C suv hammomiga ko'chiriladi. Hosil bo'lgan reaktivni suv bilan suyultiriladi(1:2). Ancha muddat tinch qo'yib qo'yiladi va hosil bo'lgan cho'kmasidan ajratilib tajriba uchun foydalaniladi).

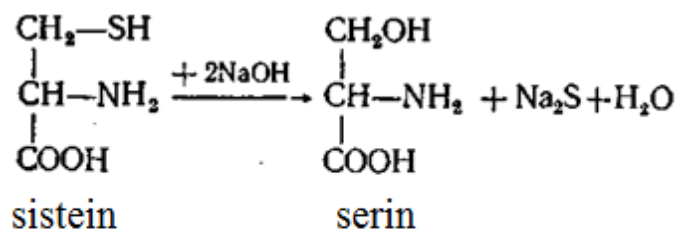
Ishni bajarish tartibi. 4 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml 1% li tuxum oqsili, ikkinchisiga 1 ml 0,1 % li tirozin, uchinchisiga 0,1% li 1 ml fenol eritmasi va to'rtinchisiga 1% li jelatina eritmasidan 1 ml solib, ularning har biriga 5 tomchidan Millon reaktividan tomiziladi va ohista qizdiriladi. Bunda dastlabki uchta probirkadagi aralashmalarsekin-asta qizil rangga kiradi, to'rtinchi probirkadagi aralashma esa bunday rang hosil qilmaydi.

To'rtinchi probirkada Millon reaksiyasining salbiy chiqishi jelatinaning tarkibida aromatik halqali aminokislotalarning yo'qligidan dalolat beradi.

17- ish. Fol reaksiyasi

Fol reaksiyasi yordamida oqsillar molekulasi tarkibida oltingugurt tutuvchi aminokislotalar- sistein vasistin borligini aniqlash mumkin bo'ladi. Metionin oltingugurt bilan kuchli bog'langanligi uchun bu reaksiyani bermaydi.

Oqsil eritmasiga ishqor qo‘shib qizdirilganda oltingugurt osongina ajralib, natriy sulfid hosil qiladi. Aralashmaga natriy plyumbit yoki qo‘rg‘oshin atsetat qo‘shilsa, qora rangli qo‘rg‘oshin sulfid cho‘kmasi hosil bo‘ladi. Reaksiya quyidagicha ketadi:



Qora rangning ravshanlik darajasi eritmadagi oqsilning konsentratsiyasiga hamda oqsil molekulasidagi sistein va sistinning miqdoriga bog‘liq.

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug‘doy oqsili, 1% li jelatina eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, spirt lampa yoki suv hammomi.

Kerakli reaktivlar: 30 % li natriy ishqoriy eritmasi, 5% li qo‘rg‘oshin atsetati eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1 % li bug‘doy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 1 % li jelatina eritmasidan quyib, ularning ustiga 5 tomchi 30% li natriy gidroksid va 1 tomchi 5% li qo‘rg‘oshin atsetati qo‘shib, yaxshilab qaynatiladi. Birinchi ikkita probirkadagi aralashma qorayadi va qora rangli PbS cho‘kmasi hosil bo‘ladi. Uchinchisining rangi o‘zgarmaydi, chunki jelatina tarkibida oltingugurt tutuvchi aminokislotalar yo‘q.

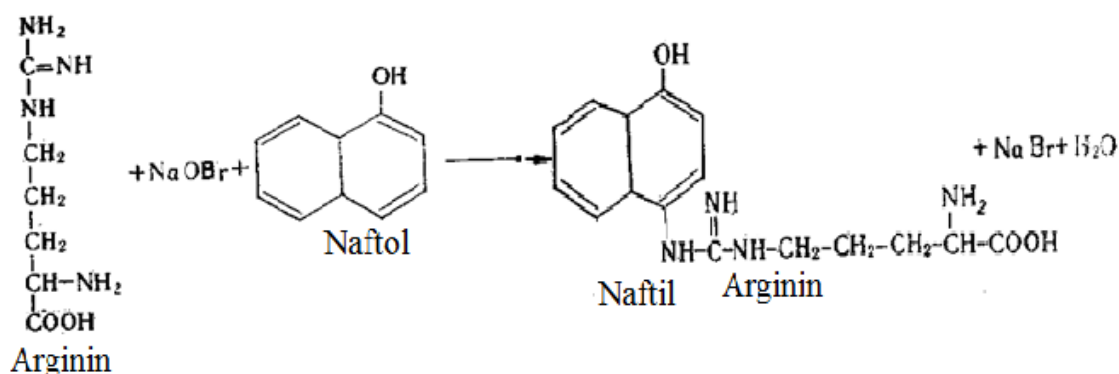
18- ish. Sakaguchi reaksiyasi

Sakaguchi reaksiyasi guanidin H—NH—C—NH— guruhiga xos reaksiya bo‘lib,



bunda turli oqsillar yoki polipeptidlar, ishqoriy sharoitda gipobromid va α -naftol bilan reaksiyaga kirishib, qizil rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiyaning unumi oqsillar tarkibidagi arginin aminokislotalarining konsentratsiyasiga bog‘liq. Arginin gipobromid ta’sirida (oksidlovchi sifatida) α -naftol bilan kondensatsiyalanadi. Reaksiya vaqtida brom natriy

bilan biriksa, arginin α -naftol molekulasidagi naftalin yadrosnning β -holatiga birikadi va naftil arginin hosil qiladi:



Reaksiya faqat argininga xos bo'lmagan, balki tarkibida guanidin guruhi bo'lgan boshqa moddalar (metil-guanidin, glikosamin va almatin) ham bu reaksiyani berishi mumkin. Lekin bu birikmalar oqsil tarkibida uchramaydi, shuning uchun reaksiyaga halaqit bermaydi. Shunday qilib, ushbu reaksiya oqsillar tarkibida uchrovchi argininga tegishli yagona reaksiya bo'lganligi sababli undan oqsillar tarkibida bu aminokislota aniqlashning ham sifatiiy, ham miqdoriy tahlilida foydalanish mumkin bo'ladi.

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug'doy oqsili, 0,05 % li arginin eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, spirt lampa yoki suv hammomi.

Kerakli reaktivlar: 10 % li natriy ishqori eritmasi, α - naftolning spirtidagi 0,1 % li eritmasi, 2 % li gidrobromid eritmasi.

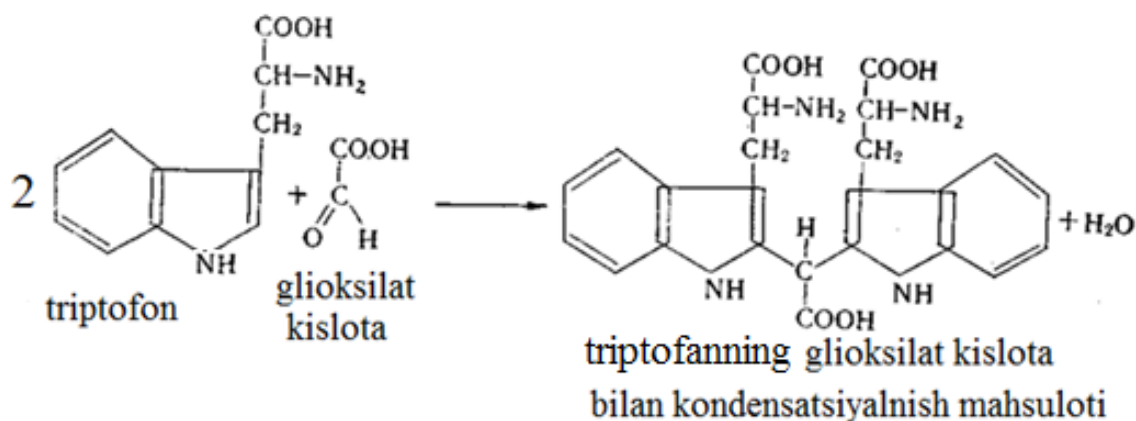
Ishni bajarish tartibi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1% li bug'doy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 0,05% li arginin eritmasidan quyib, hamma probirkalarga 5 tomchidan 10% li o'yuvchi natriy, 3 tomchi α - naftolning spirtidagi 0,1% li eritmasi va 2 tomchi dan 2% li gipobromid eritmasidan tomiziladi. Probirkalardagi **suyuqliklar qizil** rangga kiradi.

19- ish. Adamkevich va Gopkins–Kol reaksiyasi

Bu reaksiya triptofanning gliksil kislota bilan o'zaro ta'sirlanishi asosida yuz beradi va bunda ikki molekula triptofan gliksil kislota bilan kondensatsiyalanib qizil – binafsha rangli birikmaga aylanadi. Odatda konsentrlangan sirka kislota tarkibida hamisha gliksil kislota bo'ladi.

Adamkyevich reaksiyasi indol halqasi uchun xos bo‘lib, bu halqa esa faqat triptofan aminokislotasida uchraydi. Reaksiya **jarayonida oqsillar** va polipeptidlar tarkibidagi triptofan aminokislota konsentrlangan sulfat kislotasi ishtirokida gidrolizlangandan so‘ng glioksil kislotasi bilan reaksiyaga kirishi natijasida kondensatsiyalanib kompleks birikma hosil qiladi. Bu reaksiyani oxirida aralashma qizg‘ish-binafsha rangga bo‘yaladi.

Reaksiya mexanizmini quyidagi tenglama asosida ifodalash mumkin:



Reaksiya natijasida hosil bo‘lgan rangning jadallik darajasi oqsil tarkibidagi triptofanning miqdoriga bog‘liq.

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, bug‘doy oqsili, 1% li jelatina eritmasi, 0,05 % li triptofan eritmasi, sut oqsili eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, spirt lampasi yoki suv hammomi.

Kerakli reaktivlar: muz sirka kislotasi, sulfat kislotasi.

Ishni bajarish tartibi. 5 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1% li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1 % li bug‘doy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi jelatina, to‘rtinchisiga 5 tomchi 0,05% li triptofan eritmasi, beshinchisiga 5 tomchi sut oqsili eritmasidan tomiziladi, ularning har biriga 5 tomchidan muzsirka kislotasi qo‘shiladi. Probirkalardagi suyuqliklar sekin-asta qizdiriladi, so‘ngra sovutilgach, ohistalik bilan probirkalarning devorlari bo‘ylab 10 tomchidan konsentrlangan sulfat kislotasi tomiziladi. Biroz turgandan keyin 1-, 2-, 4 va 5-probirkalarda 2 qavat suyuqlik chegarasida qizg‘ish-binafsha rang paydo bo‘ladi. Agar probirkalar qaynab turgan suv hammomiga quyilsa, rangning rivojlanishi tezlashadi. Jelatina molekulasida triptofan bo‘lmaganligi uchun uchinchi probirkada rang paydo bo‘lmaydi.

20- ish. Oqsil tarkibidagi triptofanning oksimetilfurfurol bilan reaksiyasi

Oqsil tarkibida triptofan aminokislota borligini uning oksimetilfurfurol bilan o'tkaziladigan reaksiyasidan foydalanish mumkin. Reaksiya oqsil sulfat kislotasi bilan ta'sirlanish orqali gidrolizlanish reaksiyasiga asoslangan bo'lib, bunda oqsilning gidrolizidan triptofanning ajralishi yuz bersa, saxarozaning gidrolizlanishidan glukoza va fruktoza hosil bo'ladi. Kimyoviy jarayonning davom etishi tufayli fruktoza ham oksidlanib oksimetilfurfurolga aylanadi va bu modda o'z navbatida triptofan bilan ta'sirlanib, ularning kondensatsiyalanish mahsulotini hosil qiladi.

Kerakli biomateriallar: tuxum oqsili, 1% li jelatina eritmasi, sut oqsili eritmasi.

Kerakli jihozlar: Shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: 10 % li saxaroza, konsentrlangan sulfat kislota.

Ishni bajarish tartibi. 3 ta probirka olib birinchisiga tuxum oqsilidan 5 tomchi, ikkinchisiga jelatina eritmasidan 5 tomchi, uchinchisiga sut oqsilidan 5 tomchi tomiziladi. So'ng probirkalarning hammasiga 3 tomchidan 10 % li saxaroza eritmasi qo'shiladi. Probirkalarning har biriga ularning devori bo'ylab 2 tomchidan konsentrlangan sulfat kislota tomiziladi. Birinchi va uchinchi probirkalarning suyuqliklari tutashgan joyda qizil rang paydo bo'ladi. Ikkinchi probirkadagi jelatina tarkibida triptofan aminokislota yo'qligi sababli bunday rang paydo bo'lmaydi.

O'tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Oqsillar qanday reaksiyalarga kirishadi?
2. Oqsillarga **qandayrangli** reaksiyalar xos?
3. Oqsillarga xos rangli reaksiyalar necha xil bo'ladi ?
4. Oqsillarga xos umumiy reaksiyalar qaysilar ?
5. Biuret reaksiyasi qanday o'tadi ? Uning tenglamasini yozing.
6. Ningidrin reaksiyasi qanday bo'lib o'tadi? Uning tenglamasini yozing.
7. Ksantoprotein reaksiyasi qanday o'tadi ? Uning tenglamasini yozing.
8. Millon reaksiyasi qaysi aminokislota xos rangli reaksiya?
9. Fol reaksiyasi orqali qaysi aminokislotalarni aniqlash mumkin?
10. Sakaguchi reaksiyasi qaysi aminokislota xos reaksiya?

11. Adamkevich reaksiyasi orqali oqsil tarkibida qaysi aminokislota borligi aniqlanadi?

12. Triptofanning oksimetilfurfurol bilan reaksiyasi qanday bajariladi?

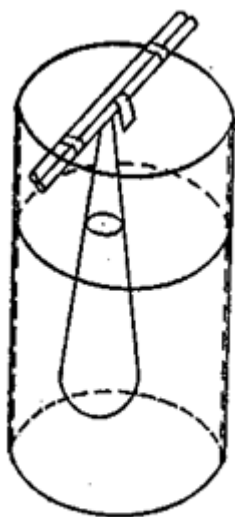
5 -mavzu. Oqsillarni dializ qilish va ularning izoelektirik nuqtalarini aniqlash

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

Ma'lumki, oqsil eritmaları kolloid eritmalar jumlasiga kiradi. Yuqori molekular birikmalarning kolloid eritmalarini past molekulali moddalardan tozalash *dializ* deb ataladi. Kolloid zarrachalar yarim o'tkazgich parda (hayvon vao'simlik membranaları, kolloidiy, sellofan) orqali o'tmaydi. Tuzlar, qand va boshqa quyi molekulyar birikmalar esa membrana orqali osongina o'ta oladi. Shunga asoslanib yuqori molekular moddalar, xususan oqsil eritmaları kolloidiy yoki sellofan xaltachaga quyilib distillangan suvli idishga solinsa yoki vodoprovod suvi oqimiga joylashtirilsa, eritma tarkibidagi tuz va boshqa past molekulali moddalar yuvilib chiqib ketadi, oqsil esa xaltacha ichida qoladi. Dializ o'tkaziladigan idishning ikki tomoniga elektrodlar (katod va anod) joylashtirilsa dializ jadallashadi. Dializning shu yo'sinda o'tkazilishi elektrodializ deyiladi. Dializ usuli klinikalarda va ilmiy tadqiqot laboratoriyalarida oqsillarni eritmalaridan ular bilan aralashgan turli kristalloidlardan tozalashda qo'llaniladi.

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

kolloid zarrachaning umumiy zaryadi nolga teng bo'lib qoladi. Ko'p oqsillarning izoelektrik nuqtalari pH ning 5,5 dan 7,0 gacha chegarasida bo'ladi va bu narsa o'z navbatida tabiiy oqsillar tarkibida nordon amino kislota(asparagin va glutamin)larning ko'proq uchrashidan dalolat beradi. Lekin tabiatda izoelektrik nuqtasi bu pH chegarasidan ancha farqlanuvchi oqsillar ham uchraydi. Bu oqsillar jumlasiga izoelektrik nuqtasi, ya'ni pH =1,0 bo'lgan pepsinni va pH=12,0 bo'lgan salminni misol sifatida keltirish mumkin bo'ladi. Izoelektrik nuqtada oqsillar eritmadagi barqarorligini yo'qotadi va osongina cho'kmaga tushadi. Ko'p jihatdan oqsillarning izoelektrik nuqtalari eritmada tuz ionlarining mavjudligiga va shu bilan birgalikda uning ko'rsatkichi oqsillarning konsentratsiyasiga ham bog'liq bo'ladi. Izoelektrik nuqtada oqsil eritmasiga ozgina miqdorda suv tortib oluvchi yoki boshqa cho'ktiruvchi modda qo'shilsa, oqsil tezda suv qobig'ini yuqotib eritmada batamom cho'kadi.



2-rasm. Oqsillarni dializlash

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

21-ish. Oqsillarni dializlash

Kerakli biomaterial: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ aralashgan tuxum oqsili eritmasi.

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

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

1-tajriba. Kollodiy xaltacha tayyorlash

Ishni bajarish tartibi. Toza quruq probirka (diametri 2,5-3 sm, uzunligi 4-5 sm) og'zigacha kollodiy eritmasi quyib, qaytadan idishga ag'darib olinadi. Agar kollodiy ozroq bo'lsa, probirkani 1/3 qismiga eritma quyib, probirkani asta-sekinaylantirib devorining hamma tomonini kollodiy xaltacha eritmasi bilan batamom ho'llanadi, probirka devorida qolgan eritma kollodiy xaltacha tayyorlash uchun yetarli bo'ladi. Probirka

ogʻzini kaft bilan berkitilib, asta-sekin aylantiriladi, bunda kollodiyning devor boʻylab bir xilda tarqalishi taʼminlanadi. Probirka qoʻlda isib, spirt bugʻlana boshlaydi, kollodiy quriydi. 5—10 daqiqadan keyin probirkaga toʻlatib suv quyiladi. Kollodiy xaltacha devoridan ajralgandan keyin, pinset bilan asta-sekin probirka chekkasidan ajratib olinadi. Kollodiy xaltachaning butunligini tekshirish uchun distillangan suv quyiladi.

2-tajriba. Oqsilning tuzli eritmasini dializlash

Ishni bajarish tartibi. Kollodiy yoki sellofan xaltacha (dializator) ning $\frac{1}{3}$ hajmiga qadar tuxum oqsilining $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bilan aralashgan eritmasidan quyiladi. Xaltacha yuqori qismidan ikkita shisha tayoqchadan rezina halqa yordamida tayyorlangan qisqichga mahkamlanib, distillangan suvli stakanga 1-2 soat davomida solib quyiladi (2-rasm). 1-2 soatdan keyin dializat (tashqaridagi suyuqlik) va dializlanayotgan suyuqliklardan olib oqsil va sulfatlarga xos reaksiyalar qilib koʻriladi. Bunda oqsilning tuzli eritmasidagi ammoniy va sulfat anionlari dissotsiatsiyalanib yarim oʻtkazgich pardadan tashqariga chiqqani, oqsil esa, yirik kolloid zarracha boʻlganligi sababli bu pardadan oʻtaolmasdan xaltachaning ichida qolganiga ishonch hosil qilinadi.

3-tajriba. Dializatda sulfatlar borligi va oqsilning yoʻqligini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib 10 tomchidan dializat solinadi. Soʻng ularning birinchisiga 10 tomchi 1% li BaCl_2 eritmasidan qoʻshiladi. Ikkinchi probirkaga 5 tomchi 10 % li NaOH va 1 tomchi 1%li CuSO_4 qoʻshib qizdiriladi. Bunda birinchi probirkadagi aralashma oq rangli BaSO_4 loyqasiga aylanishi kuzatiladi. Ikkinchi probirkadagi reaksiya oqsilga xos reaksiya boʻlib rang boʻyicha oʻzgarish boʻlmaydi. Demak, dializ natijasida sulfat ionlarining yarim oʻtkazgich parda orqali dializatga oʻtganligi va oqsil zarrachalari esa oʻtaolmaganligi oʻz isbotini topadi.

4-tajriba. Dializlanayotgan suyuqlikda sulfatlarning yoʻqligi va oqsilning borligini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib yuqoridagi tartibda tajriba oʻtkaziladi, lekin uning farqli jihati shundan iborat boʻladiki, tajriba uchun olingan dializat oʻrniga dializlanayotgan suyuqlikni dializ xaltachasidan

olib ishlatiladi. Bunda agar dializ oxiriga yetgan bo'lsa birinchi probirkadagi BaCl_2 bilan bo'lib o'tgan reaksiya natijasida oq loyqa hosil bo'lmaydi. Ikkinchi probirkadagi aralashma esa, qizg'ish-binafsha rangga bo'yaladi. Demak, dializlanayotgan oqsilning tuzli eritmasi tarkibidagi ammoniy sulfat ionlari yarim o'tkazgich orqali stakandagi suvga o'tib ketgan, oqsilning makromolekulalari esa undan o'taolmaganligi tufayli oqsilga xos sifat reaksiyasi ijobiy chiqdi degan xulosaga kelinadi.

22-ish. Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Kerakli biomaterial: jelatina va kazein oqsillari eritmaları.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, shisha tayoqchalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: natriy gidrofosfatning 0,2 M eritmasi, spirt yoki taninning 0,1% li eritmasi, sirka kislotaning 0,1 N eritmasi, distillangan suv, natriy atsetatning 0,2 M eritmasi, limon kislotaning 0,1 M eritmasi, sirka kislotaning 0,2 M eritmasi.

1- tajriba. Jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash.

Ishni bajarish tartibi. 6 ta probirkaga jadvalda (3-jadval) ko'rsatilgan miqdorda 0,2 M natriy atsetat CH_3COOH va 0,2 M sirka kislota eritmalaridan quyiladi. Hamma probirkalarda 1 ml dan bufer aralashma tayyor bo'ladi, uning ustiga 0,5 ml dan 1 % li jelatina qo'shiladi. So'ngra yaxshilab aralashtirilgach 2 ml dan etil spirti yoki 1 ml dan 0,1% li tanin eritmasi qo'shiladi. 5 daqiqadan keyin qaysi probirkada ko'proq loyqalanish paydo bo'lgani belgilanadi. Agar loyqa bo'lmasa minus (-), aralashma loyqalansa, loyqaning quyuqligiga qarab 1,2 yoki 3 ta plus (+) ishorasi bilan belgilanadi. Qaysi probirkadagi loyqalanish eng yuqori bo'lsa, jadvalga qarab shu probirkadagi suyuqlikning pH darajasi, **shuko'rsatmalarga** qarab esa, tekshirilayotgan oqsilning izoelektrik nuqtasi aniqlanadi.

3-jadval

Jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash

№	0,2 M natriy atsetatning miqdori /ml	0,2 M sirka kislotaning miqdori /ml	Aralashmaning pH ko'rsatkichi	Qo'shilgan jelatinaning miqdori /ml	Qo'shilgan taninning miqdori /ml	Loyqalanish darajasi
1	0,1	0,9	3,80	0,5	1	--
2	0,2	0,8	4,15	0,5	1	+ --

3	0,4	0,6	4,60	0,5	1	++--
4	0,5	0,5	4,70	0,5	1	+++
5	0,8	0,2	5,35	0,5	1	+ --
6	0,9	0,1	5,70	0,5	1	--

2- tajriba. Kazeinning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. 7 ta probirkaga 0,02 M CH_3COOH va distillangan suv (4-jadvalda ko'rsatilgan miqdorda) quyiladi. Hamma probirkaga 0,2 ml dan natriy atsetatning 0,2 M eritmasida eritilgan 0,4% li kazeindan quyiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Bu vaqtda hamma (chekkalaridagidan tashqari) probirkalar (1va 7 chi)da cho'kma hosil bo'ladi. Qaysi probirkaning pH ko'rsatkichi kazeinning izoelektrik nuqtasiga to'g'ri kelsa, shu probirkada loyqa ko'p bo'ladi. Kazeinning izoelektrik nuqtasiga oid ma'lumotlar ham yuqorida keltirilgan tartibdagi tarzda rasmiylashtiriladi(4- jadval) va loyqalanish darajasi + va - ishoralari yordamida ifodalanadi.

4-jadval

Kazeinning izoelektrik nuqtasini aniqlash

№	0,2 M sirka kislotaning miqdori /ml	Suvning miqdori /ml	0,2 M natriy asetatdagi 0,4% kazein miqdori /ml	Aralashmaning pH ko'rsatkichi	Loyqalanish darajasi
1	1,6	0,4	0,2	3,8	
2	0,8	1,2	0,2	4,1	
3	0,4	1,6	0,2	4,4	
4	0,2	1,8	0,2	4,7	
5	0,1	1,9	0,2	5,0	
6	0,06	1,94	0,2	5,3	
7	0,03	1,97	0,2	5,6	

O'tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

1. Oqsil eritmalaridan, anorganik moddalardan tozalash qanday tomoyilga muvofiq amalga oshiriladi?
2. Dializ deb nimaga aytiladi ?
3. Dializ bo'lib o'tganini qanday reaksiyalarga asosan aniqlash mumkin?
4. Elektrodializ qanday amalga oshiriladi?
5. Oqsillarning izoelektrik nuqtasi nimaga bog'liq bo'ladi?

6. Oqsillarning izoelektrik nuqtasi qanday pH chegaralarida bo‘ladi?
7. Oqsillarni izoelektrik nuqtasini qanday aniqlanadi?
8. Oqsillar izoelektrik nuqtada elektr maydonida qanday holatda bo‘ladi?

6- Mavzu. Oqsillarni miqdoriy ko‘rsatkichlarini aniqlash

Oqsillar tirik organizmlar massasini asosiy qismini tashkil qilganligi sababli biomateriallar tarkibidagi ularning miqdorini aniqlash muhim ahamiyatga ega. Biomateriallar tarkibidagi oqsillarni miqdoriy ko‘rsatkichini kolorimetrik, azot miqdorini aniqlash orqali, refraktometrik va spektrofotometrik uslublar asosida aniqlanadi. Oqsillarni miqdoriy ko‘rsatkichini kolorimetrik aniqlash biuret reaktivi yordamida va Louri metodidan foydalangan holda amalga oshirilishi mumkin.

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

23-ish. Kolorimetrik uslubda oqsil miqdorini aniqlash

1-tajriba. Biuret reaktivi yordamida oqsilni aniqlash

Yuqorida keltirilganidek bu usul oqsil biokimyosida eng ko‘p qo‘llaniladigan uslublardan biri hisoblanadi. U oqsillarning birlamchi tuzilmasini hosil qiluvchi peptid bog‘larning ishqoriy muhitda ikki valentli mis ionlari bilan birikib kompleks birikma hosil qilish orqali binafsha rangga bo‘yalishiga asoslangan.

Kerakli biomaterial: oqsilli eritma, ya’ni dorixonada sotuvda bo‘lgan albumin oqsili (liofilizasiyalangan).

Kerakli jihozlar: FEK, shtativ, probirkalar, pipetkalar.

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

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

Ishni bajarish tartibi. Oldindan albuminning standart eritmasiga asoslangan holda kalibrlangan egri chiziq chiziladi. Buning uchun 1 ml da 2 mg dan 10 mg gacha oqsil eritmasiga 4 ml biuret reaktivi qo‘shib yaxshilab aralashtiriladi va uy havosi haroratida 30 daqiqa saqlanadi, so‘ng FEK da 540 nm to‘lqin uzunligida kolorimetrlanadi. Olingan

ma'lumotlardan foydalanib kalibrlangan egri chiziq grafigi chiziladi (3-rasm). Tadqiq qilinuvchi eritmalaridagi oqsilning miqdorini aniqlashda ham kalibrlangan egri chiziq grafigiga asoslangan holda hisoblab topiladi. Tahlil natijalarini umumlashtirganda shu narsaga e'tiborni qaratish lozimki, aralashmada ammoniy tuzlarining bo'lishi tahlilning aniqligiga halaqit beradi.

2-tajriba. Louri-Folin-Chokalteu **uslub**i yordamida oqsil miqdorini aniqlash

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

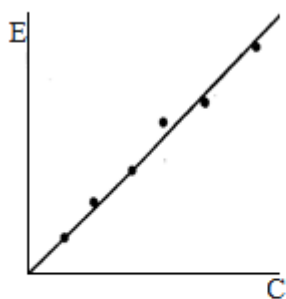
Kerakli biomaterial: oqsilli eritma namunasi dorixonalarda sotuvda bo'lgan albumin.

Kerakli jihozlar: FEK, shtativ, probirkalar, pipetkalar.

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

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

soat davomida qaynatiladi. So'ng aralashmaga 15 g Li_2SO_4 , 5 ml suv va bir tomchi brom qo'shiladi. Aralashma sovilib, distillangan suv yordamida hajmi 100 ml ga yetkaziladi. Hosil bo'lgan eritma 1 N kislota darajasidagi nordonlikka ega bo'lgunga qadar suv qo'shiladi (ya'ni taxminan ikki marta suv yordamida suyultiriladi). Buning uchun reaktivning nordonligi fenolftalein ishtirokida 10 marta suyultirilgan 0,1 N natriy ishqori bilan titrlanadi. Tayyorlangan



3-rasm. Bunda ordinata o'qida

FEK ko'rsatkichi -E,

absissa o'qiga oqsilning

konsentratsiyasi joylashtiriladi -C.

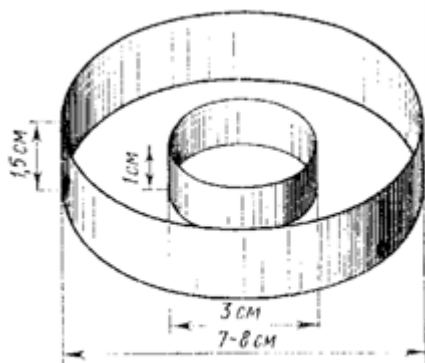
Folin-Chokalteu reaktivini yorug'likdan himoyalangan idishda uzoq muddatda saqlash mumkin bo'ladi).

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

24- ish Konvey uslubi yordamida azot miqdori asosida oqsil miqdorini aniqlash

Biologik materiallar tarkibidagi oqsil miqdorini aniqlashda ko'pdan ko'p oqsillar tarkibidagi azotning miqdori amaliy jihatdan bir xilligini va u 16 % ni tashkil qilishini inobatga olib ish yuritiladi. Organik birikmalarni konsentrlangan sulfat kislota bilan qizdirganda mineralizatsiya yuz berib, ularning tarkibidagi azot ammoniy sulfatga aylanadi hamda uni miqdorini kimyoviy aniqlash mumkin bo'ladi.

Ammoniy sulfatning parchalanishi va hosil bo'lgan ammiakning yutilishi Konvey idishchalari deb nomlangan maxsus qurilma asboblari amalga oshiriladi. Konvey idishchasi ikkita: tashqi va ichki kameralardan tashkil topgan (4-rasm).



4-rasm. Konvey idishchasi

Konvey idishchasi past devorli kristallizatorni eslatadi, uning markaziy qismiga ichki silindr kavsharlab qo'yilgan. Tashqi kameraning diametri 7-8 sm, ichkisiniki-3 sm. Tashqi kameraning balandligi 1,5 sm, ichkisiniki-1 sm bo'ladi.

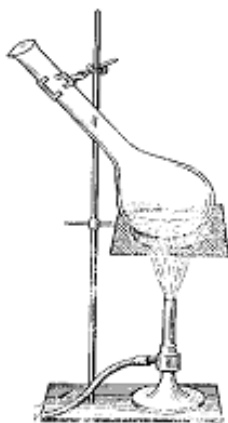
Idish shliflangan shisha qopqoq bilan juda yaxshi yopiladi. Germetiklikni ta'minlash uchun qopqoqning shlifi lanolin yoki mo'm va lonolinli surtkich yordamida moylanadi.

Kerakli biomaterial: oqsilli eritma namunasi.

Kerakli jihozlar: Konvey idishchasi(2 dona), 2 ml li pipetka (2 dona), skalpel, mikrobyuretk (2 dona), Kyeldal kolbasi (2 dona), 15 ml li o'lchov silindri.

Kerakli reaktivlar: konsentrlangan sulfat kislota, 0,01 N sulfat kislota, Tashiro indikatori(tayyorlash: dastlab metilrotning to'yingan asosiy eritmasi, undan keyin metilen ko'kini 1 % li spirtli eritmasi tayyorlanadi. Nihoyat bundan keyin 80 ml metilrot eritmasiga 20 ml 1 %li metilen ko'ki va uni ustiga 2 hajm distillangan suv qo'shiladi). Tashiro reaktivi nordon muhitda binafsha, ishqoriy muhitda yashil rangga bo'yalad shisha kranlar uchun surtkich moy, 30 % li natriy ishqori, 0,01 natriy ishqori.

Ishni bajarish tartibi. 1) Buning uchun 5-rasmda keltirilgan qurilmadan foydalaniladi. Oqsilli eritmani 10 marta suyultiriladi. So'ng 1



5-Rasm. Keldal kolbasidan foydalanish.

ml suyultirilgan oqsil eritmasini Kyeldal kolbasiga ko'chirib, ustiga 1 ml konsentrlangan sulfat kislota qo'shiladi. Xuddi shu tarzda suyultirilgan oqsil eritmasi o'rniga 1 ml distillangan suv qo'shish yo'li bilan nazorat namunasi tayyorlanadi. Ikkala kolba ham mo'rili shkaf ostida qizdiriladi. Aralashmalarga 1-2 tomchi pergidrol tomizib 1 soat davomida qaynatiladi va rangsiz mineralizat hosil qilinadi. Mineralizatlarga 3 ml distillangan suv qo'shib yaxshilab aralashtirgandan keyin 10 ml li o'lchov silindriga solinadi. Kolbalardagi

qoldiqni yana ikki marta 3 ml dan distillangan suv bilan chayqaladi va silindrlarga solinadi. Eng so'ngida 100 marta suyultirilgan oqsil mineralizatini hajmi distillangan suv yordamida 10 ml ga yetkaziladi.

2) Konvey idishchasini ichki kamerasiga mikrobyuretkadan 2 ml 0,01 N sulfat kislota tomiziladi.

3) Sulfat kislota ustiga 2 tomchi Tashiro indikatori tomiziladi (nordon pH 4,4 da binafsha, pH 6,2 da yashil rang).

4) Tashqi kameraga pipetka yordamida birinchi Konvey idishchasiga 1,5 ml oqsil mineralizati, ikkinchi Konvey idishchasiga suv mineralizati solinadi.

5) Kichkina yoriq qoldirib idishchani moylangan qopqoq bilan qoplanadi.

6) Rezina o'rnatilgan pipetka yordamida tashqi kameraga 1,5 ml 30 % li ishqor tomiziladi va qopqoqni surib yorug' ni yopiladi.

7)Asta- sekinlik bilan aylanma harakat orqali tashqi kameradagi suyuqlikni aralashtiriladi.

8) Idishchalarni ajralib chiqayotgan ammiakni 0,01 N sulfat kislotasi tomonidan yutilishini ta'minlash uchun 40°C li termostatga 60 daqiqaga joylashtiriladi.

9) Bir soat vaqt o'tgandan keyin qopqoqni olib qo'yib ichki kameradagi oshiqcha kislotani mikrobyuretkadagi 0,01 N ishqor eritmasi bilan yashil rang hosil bo'lgunga qadar titrlanadi.

10) Nazorat va tajriba namunalarini titrlashda sarflangan ishqor eritmasi miqdorlaridagi farqqa qarab tajriba namunasidagi ammiakning miqdori hisoblab topiladi va bunda 1 ml 0,01N sulfat kislotasi 0,14mg azotga teng ekanligini hisobga olinadi. Oqsil tarkibidagi azotning miqdori 16 % ekanligini e'tiborga olib tajriba namunasidagi oqsilning miqdori tenglamaga muvofiqkeltirib chiqariladi:

$$X = \frac{(A-B) \cdot 0,14 \cdot 100 \cdot D}{C}$$

Bu yerda: X – azotning miqdori, A- azot namunalarini 0,01 N ishqor eritmasi bilan titrlashga sarflangan miqdoriy ko'rsatkich, B – tajriba namunasini 0,01 NaOH bilan titrlash uchun sarflangan miqdoriy ko'rsatkich, C- suyultirish ko'rsatgichi, D – hisoblash mg % ga aylantirish koeffitsiyenti.

Bunda oqsil tarkibida o'rtacha azotning miqdori 16% ligi tufayli (100:16=6,25) mg% hisobidagi N ko'rsatkichini oqsil miqdoriga aylantirish uchun 6,25 ga ko'paytiriladi.

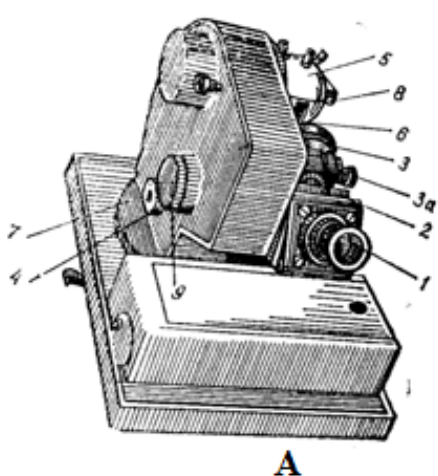
25- ish. Oqsil miqdorini refraktometrik uslubida aniqlash

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

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

Eritmaning refraksiya darajasi unda erigan zarrachalarning miqdori, kattaligi va fizik holati, shuningdek tashqi muhit harorati bilan bog'liq. Biologik suyuqliklarda, masalan qon zardobida, refraksiya darajasi birinchi navbatda oqsillarning miqdori va sifatiga bog'liq, tuzlar va boshqa tarkibiy qism moddalarining roli kam. Sinish ko'rsatkichini aniqlashda maxsus asboblari refraktometrlardan foydalaniladi. Ko'pincha qon zardobi

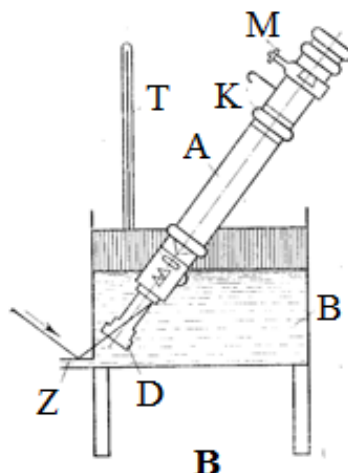
tarkibidagi oqsillar miqdorini aniqlashda refraktometr qo'llaniladi. Odatda qon zardobi oqsillarini miqdorini aniqlashda Pulfrich refraktometridan foydalaniladi (6 a va b rasm).



A

6-rasm. A- Pulfrich refraktometrning umumiy tuzilishi

1-okulyar (ko'rish trubkasi);
2-hisoblash kamerasi; 3-axrometr;
3a-axrometr buragichi; 4- kamera
holatini o'zgartiruvchi buragichi
5-refraktometr kamerasi; 6-
refraktometr kamerasiga nur
yo'naltiruvchi oyna; 7-
refraktometr korpusi; 8-kamerani
termostatga ulash uchun nay; 9-
hisoblash kamerasini yorituvchi
darcha.



B

B- Pulfrich refraktometrining ishchi qismini sxematik tuzilishi

A- ko'rish trubasi; B- maxsus rezervuarli
hammom; K- kompensator;
D- qo'shimcha prizma o'rnatilgan qurilma;
M- mikrometr buragichi; Z- prizmagacha
nurni yo'naltiruvchi ko'zgu

Bu refraktometr prizma bilan tugaydigan obyektiv va okulyarga ega bo'lgan ko'rish trubasi (A) dan iborat. Asbobda chiziqlar bilan ajratilgan shkala mavjud, ular yordamida ko'rish chegarasidagi yorug' va qorong' i chegarani farqlash mumkin. Kompensator (K) va mikrometrik buragich (M) yordamida shkalani surib o'zgartirib ko'rish chegarasidagi yorug'lik va qorong'ulik nuqtasi aniq belgilab olinadi. Refraktsiya ko'rsatkichini aniqlash maxsus rezervuar- hammom (B)da ma'lum harorat ($17,5^{\circ}\text{C}$) da amalga oshiriladi. Hammomga termometr (T) o'rnatilgan. Qon zardobi tarkibidagi oqsilni mikrometod yordamida qo'shimcha prizmadan foydalangan holda aniqlanadi.

Kerakli biomaterial: oqsilli eritma, qon zardobi.

Kerakli jihozlar: refraktometr, shtativ, probirkalar, pipetkalar.

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

Ishni bajarish tartibi. Refraktometrni gorizontol holatga keltirib, asosiy prizmagacha bir tomchi qon zardobi yoki oqsilli eritma tomiziladi va

uni qo‘shimcha yopib mahkamlagich (D) yo‘li bilan mahkamlanadi. So‘ng refraktometrning pastki uchi mahkamlagichli tomoni bilan suvli hammomga botiriladi. Ko‘zgu(Z) ni prizmadagi yorug‘likni qaytaradigan qilib joylashtiriladi. Asbobdagi harorat suv hammomi darajasiga yetgan (taxminan 10 daqiqa) dan keyin hisoblashga kirishiladi. Buning uchun kompensator K ni burash orqali ko‘rish chegarasining yoritilgan va qorong‘i qismlarini ravshanlashuviga erishiladi. Mikrometrik vintni burash yo‘li bilan uning chizig‘ini aniq chegarasi topiladi. Shkaladan mikrometrik vintdagi butun son va uning o‘ndan bir ulushi ko‘rsatkichlari yozib olinadi. Olingan natijalarni eksperimental yo‘l bilan keltirib chiqarilgan 5-jadval ma’lumotlaridan foydalangan holda oqsilning miqdoriy ko‘rsatkichini aniqlash uchun foydalaniladi. Refraktometrning asosiy prizmasini har gal 0,9% NaCl eritmasi va distillangan suv bilan yuvib so‘ng artiladi.

5-jadval quyidagi tartibda tuzilgan. Birinchi vertikal ustun yorug‘likning sinish ko‘rsatkichini, ikkinchisi uning shkaladagi ko‘rsatkichini, uchinchisi- qon zardobi tarkibidagi oqsilning foiz miqdorini, to‘rtinchisida oqsil miqdorini o‘ndan bir foiz ulushini hisoblash uchun kerak bo‘lgan(mikrometrik buragich yordamida aniqlanadigan) interpolyasion jadval keltirilgan. Masalan, qon zardobi oqsilini miqdorini aniqlashda ko‘rish chegarasini ravshanlashuvi shkalada «51» va mikrometrik vint shkalasida «7» ekanligi ma’lum bo‘ldi, ya’ni o‘lchov natijasi 51,7 ga tengligi aniqlandi. 5-jadvaldan «51» oqsilning miqdori 6,34 % ligi; bir bo‘lak (51 va 52 bo‘laklardagi farq) 0,21 ekanligi ko‘rinib turibdi. Interpolyasion jadval (int. jad.21)dagi 0,7 ko‘rsatkich 0,15 ga teng. Demak, 51,7 ko‘rsatkich tadqiq qilingan qon zardobi tarkibidagi oqsilning miqdori foiz hisobida: $6,34+0,15=6,49$ ekanligini ko‘rsatadi.

5-jadval

**Oqsilning % miqdorini nur sindirish ko‘rsatkichiga
binoan hisoblash**

Sinish ko‘rsatkichi	Qon zardobi				Sinish ko‘rsatkichi	Qon zardobi			
	Shkaladagi ko‘rsatkich		Shkaladagi ko‘rsatkich			Shkaladagi ko‘rsatkich	Оқсил %	Interpolyatsion jadvallar	
1,33705	25	0,63			1,34575	48	5,68	0,8	0,17

1,33743	26	0,86	Int. jad. 20		1,34612	49	5,90	0,9	0,19
1,33781	27	1,08			1,34650	50	6,12		
1,33820	28	1,30	0,1	0,02	1,34687	51	6,34		
1,33858	29	1,52	0,2	0,04	1,34724	52	6,55	Int. jad. 22	
1,33896	30	1,74	0,3	0,06	1,34761	53	6,77		
1,33934	31	1,96	0,4	0,08	1,34798	54	6,98		
1,33972	32	2,18	0,5	0,10	1,34876	55	7,20		
1,34000	33	2,40	0,6	0,12	1,34870	56	7,42	0,1	0,02
1,34048	34	2,62	0,7	0,14	1,34910	57	7,63	0,2	0,04
1,34086	35	2,84	0,8	0,16	1,34947	58	7,85	0,3	0,06
1,34124	36	3,06	0,9	0,18	1,34984	59	8,06	0,4	0,08
1,34162	37	3,28			1,35021	60	8,28	0,5	0,10
1,34199	38	3,50	Int. jad. 21		1,35058	61	8,49	0,6	0,12
1,34237	39	3,72			1,35095	62	8,71	0,7	0,15
1,34275	40	3,94			1,35132	63	8,92	0,8	0,17
1,34313	41	4,16	0,1	0,02	1,35169	64	9,14	0,9	0,120
1,34350	42	4,38	0,2	0,04	1,35205	65	9,35		
1,34388	43	4,60	0,3	0,06	1,35242	66	9,57		
1,34426	44	4,81	0,4	0,08	1,35279	67	9,78		
1,34463	45	5,03	0,5	0,11	1,35316	68	9,99		
1,34500	46	5,25	0,6	0,13	1,35352	69	10,20		
1,34537	47	5,47	0,7	0,15	1,35388	70	10,41		

26- ish. Oqsil miqdorini spektrofotometrik uslubda aniqlash.

Kerakli biomaterial: oqsilli eritma, qon zardobi.

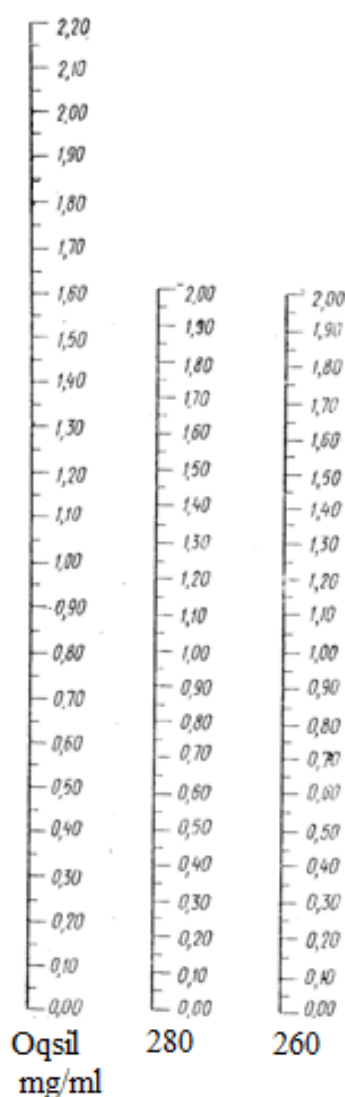
Kerakli jihozlar: spektrofotomet SF-4A shtativ, probirkalar, pipetkalar.

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

Oqsillar miqdorini spektrofotometrik uslubda aniqlash ularning tarkibida bo'lgan aromatik aminokislotalar (triptofan, tirozin qisman fenilalaninlar)ning 280 nm to'lqin uzunligida ultrabinafsha nurni maksimal yutish qobiliyatiga ega bo'lishiga asoslangan. Shu to'lqin uzunligida o'lchov o'tkazish orqali eritmadagi oqsil miqdori aniqlanadi. Oqsillarni bir xil miqdorda olinganda ularning tarkibidagi aromatik aminokislotalarning miqdoriy ko'rsatkichlari har xil bo'lganligi sababli nurni yutish ko'rsatkichlari ham bir xil bo'lmaydi. Lekin bunda konsentratsiyasi shartli ravishda «o'rtacha qiymatga», ya'ni 1 mg/ml ga keltirilgan oqsil eritmasini 280 nm da (suyuqlik qatlamini qalinligi 1 sm bo'lganda) optik zichligini 1,0 deb qabulqilinadi. Oqsil eritmasi tarkibida nuklein kislotalar yoki

nukleotidlarning bo'lishi bu uslub yordamida oqsil miqdorini aniqlashga halaqit beradi. Bir xil oqsil eritmasining optik zichligini 260 nm va 280 nm da o'lchash orqali nomogramma (7-rasm) dan foydalanib miqdoriy tahlil o'tkazish mumkin.

Ishni bajarish tartibi. Buning uchun eksperimental yo'l bilan 260 nm va 280 nm to'lqin uzunliklarida aniqlangan optik zichliklar nomogrammaning tegishli ustunchalaridan topiladi va ularni to'g'ri chiziq bilan birlashtiriladi bu chiziqning shkala bilan kesishgan joyiga qarab tatqiq qilinayotgan eritmadagi oqsilning konsentratsiyasi aniqlanadi. Shuningdek shu ma'lumotlardan foydalanib 280 nm va 260 nm da optik zichliklarni aniqlash ko'rsatkichlari asosida Kalkar formulasi yordamida oqsil miqdorini aniqlash mumkin. Bu ishni amalga oshirish oqsil miqdorini $=1,45 \cdot D_{280} - 0,74 \cdot D_{260}$ mg/ml hisobida hisoblash imkonini beradi.



7-rasm. Oqsillar miqdorini aniqlashda ishlatiladigan nomogramma

7-mavzu. Oqsillarni gidrolizlash

Tabiatda 300 ga yaqin aminokislotalarning uchrashi isbotlangan, ulardan 20 tasi barcha **tirikorganizmlarning** oqsillari tarkibiga kiradi, shuning uchun ularni proteinogen aminokislotalar deyiladi. **Qolgan tabiiy aminokislotalar oqsillar, karbonsuvlarvalipidlarningalmashinuvinioraliqmahsulotlarisifatidahosilbo‘lishimumkin.** Yuzlab oqsillarning aminokislota tarkibi batafsil o‘rganilgan va har bir oqsil aminokislota tarkibining ham sifat, ham miqdor jihatdan farq qilinishi aniqlangan, quyidamisoltariqasidaularndanba’zilarikeltirilgan (6-jadval)

6-jadval

Ba’zioqsillarningaminokislota tarkiblarihaqidama’lumot(% hisobida).

Aminokislota	Pepsin	Tuxum albumi ni	Ot mioglobi ni	Ot gemoglobi ni	Xo‘kiz musha gi	Kaz ein
Alanin	4,51	6,72	7,95	7,40	4,0	2,8
Glisin	8,10	3,05	5,85	5,60	5,0	0,6
Valin	7,09	7,05	4,09	9,10	5,8	6,7
Leysin	10,43	9,20	16,80	15,40	7.7	9.9
Izoleysin	10,03	7,0	-	-	6.3	6.5
Prolin	4,90	3,60	3,84	3,90	6.0	8.0
Fenilalanin	6,73	7,66	6,09	7,70	4.9	5.2
Tirozin	9,40	3,68	2,40	3,03	3.4	6.9
Triptofan	3,50	1,20	2,34	1,70	1.3	1.4
Serin	13,20	8,15	3,46	5,80	5.4	7.5
Treonin	9,50	4,03	4,56	4,36	4.6	4.1
Sistein	1,45	1,35	-	0,56	2.6	0.6
Metionin	2,07	5,20	1,71	1,00	3.3	3.5
Arginin	0,97	5,72	2,20	3,65	7.7	4.2
Gistidin	0,47	2,35	8,50	8,71	2.9	2.5
Lizin	0,43	6,30	15,50	8,51	8.1	7.9
Aspartat	16,63	9,30	8,20	10,60	6.0	6.3
Glutamat	11,34	16,50	16,68	8,50	15.4	24.2

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

Aminokislotalarni ulardagi radikallarni kimyoviy tuzilishiga asoslangan holda tasniflanadi. Eng avvalo aromatik va alifatik hamda

oltingugurt yoki gidroksil guruhlarini tutuvchi aminokislotalar farqlanadi. Agar radikal neytral (bir amino- va bir karboksil guruhli) bo'lsa, ularni neytral aminokislotalar deyiladi. Agar aminokislotalarning amino- yoki **karboksilguruhi** ziyod bo'lsa, unda ularni o'zaro mos holda asosli yoki nordon aminokislotalar deyiladi.

Aminokislotalarni zamonaviy tasniflanishi radikallarning qutbligiga asoslangan, ya'ni ularning suv bilan ta'sirlanish xususiyatiga **bog'liqholda** amalga oshiriladi. Shu nuqtai nazardan aminokislotalarni 4 ta sinfga bo'linadi:

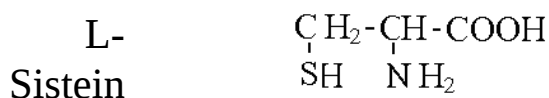
- qutbsiz (gidrofob);
- qutbli (gidrofil);
- nordon (manfiy zaryadlangan);
- asosli (musbat zaryadlangan).

I. Qutbsiz (gidrofob) aminokislotalar:

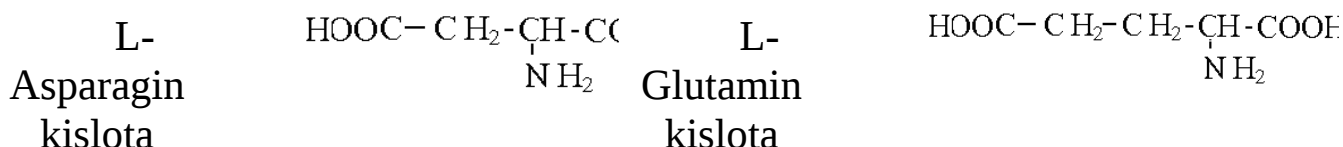
L- alanin	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$	L- Metionin	$\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$ $\text{S}-\text{CH}_3$
L- valin	$\text{CH}_3-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$	L- prolin	CH_2-CH_2 $\text{CH}_2 \quad \text{CH}-\text{COOH}$ NH
L- leysin	$\text{CH}_3-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$	L- Fenilalanin	$\text{CH}=\text{CH}$ $\text{CH} \quad \text{C}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$ $\text{CH} \quad \text{CH}$
L- izoleysin	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\underset{ }{\text{CH}}}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$	L- Tryptofan	$\text{CH}=\text{CH}$ $\text{CH} \quad \text{C}-\text{C}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$ $\text{CH} \quad \text{CH} \quad \text{NH}$

II. Qutbli (gidrofil) aminokislotalar:

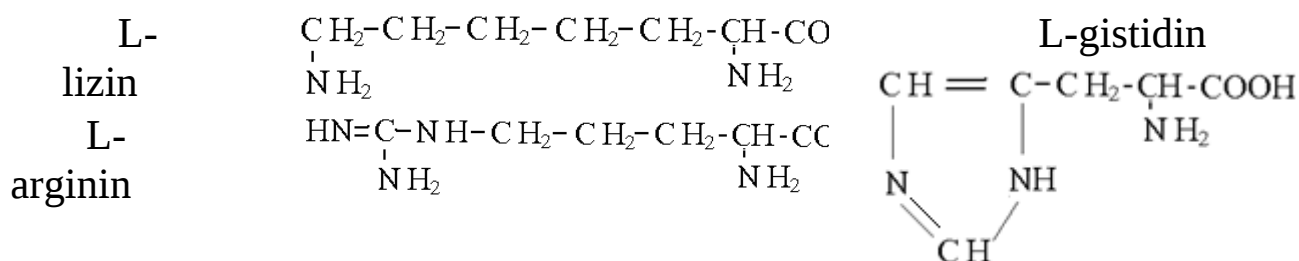
L- Glisin	$\text{H}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$	L- Tirozin	$\text{HO}-\text{C}=\text{CH}-\text{CH}=\text{C}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$
L- Serin	$\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\underset{ }{\text{CH}}}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$	L- Asparagin	$\text{O}=\text{C}-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\underset{ }{\text{CH}}}-\text{COOH}$



III. Nordon (manfiy zaryadlangan) aminokislotalar:



IV. Asosli (musbat zaryadlangan) aminokislotalar



Oqsillarning aminokislota tarkibini miqdoriy va sifatijihatdan o'rganish uchun bu makromolekulyar moddalarni gidrolizlash talab qilinadi. Qo'llaniladigan katalizatorlarga qarab gidroliz kislotali, ishqoriy va fermentativ bo'lishi mumkin. Odatda laboratoriya sharoitida kislotali gidrolizdan ko'proq foydalaniladi. Ishqoriy gidrolizdan triptofanning miqdorini aniqlashda foydalaniladi. Chunki triptofan ishqoriy gidrolizda deyarli o'zgarishga duch kelmaydi, qolgan aminokislotalarning ancha qismi parchalanib ketadi. Kislotali gidrolizda triptofan to'liq, serin, treonin, sistein, tirozin va fenilalaninlar qisman parchalanadi.

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

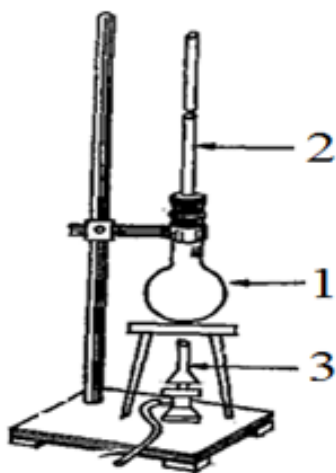
27- ish. Oqsillarni kislotali gidrolizi

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

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

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

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



8-rasm. Oqsilni gidrolizlash uchun qurilma:
1-yumaloq tubli kolba,
2-havo sovitgichi,
3-gaz gorelka.

1-tajriba. Oqsilni kislotali gidrolizlash

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

Kolbadagi aralashma mo'rili shkafga joylashtirilib, qaynatish yo'li bilan gidroliz o'tkaziladi. Gidroliz jarayonini to'liq amalga oshishi uchun yetarlicha vaqt talab qilinadi. Gidrolizni ketish jadalligini kuzatish uchun oqsilning parchalanish darajasiga mos holda oraliq parchalanish mahsulotlari tarkibidagi karboksil va aminoguruhlarning miqdorini oshishiga e'tiborni qaratiladi.

Bunda kislotali gidroliz natijasida peptid va aminokislota fragmentlari hosil bo'libgina qolmay, balki ulardan tashqari ammiak, vodorod sulfid, gidrolizning bo'yalgan mahsulotlari, gumin moddalar va boshqalar ham hosil bo'ladi. Shu bois, gidrolizatdan ma'lum vaqt birligida (1,2,5 va x.k. soatlar o'tgandan keyin) 5 ml dan ajratib olib, pista ko'mir bilan ishlov

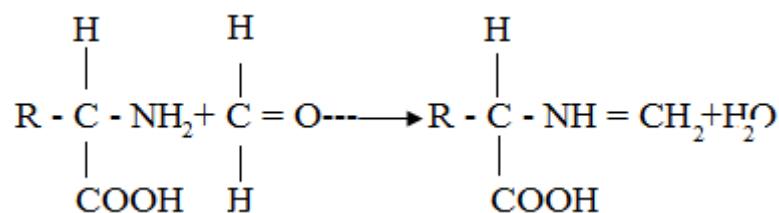
beriladi, keraksiz mahsulotlar adsorbsiyalaniadi va eritma filtrlangandan keyin ishqoriy eritma va indikator (fenolftalein) yordamida neytrallanadi.

Aminokislotalarning karboksil guruhlarini titrlash yo‘li bilan aniqlab, bu miqdor aminoguruhlariga ekvivalentligini e‘tiborga olib bir yo‘la aminoguruhlar miqdorini ham baholash mumkin bo‘ladi. Oqsil gidrolizining nihoyaga yetishi gidrolizatdagi amin va karboksil guruhlari miqdorini oshib borishini to‘xtashi va biuret reaksiyasini ijobiy bo‘lmay qolganiga qarab aniqlanadi. Gidrolizning har xil bosqichlaridagi jarayonlarni kuzatish va baholash uchun 2- tajriba o‘tkaziladi.

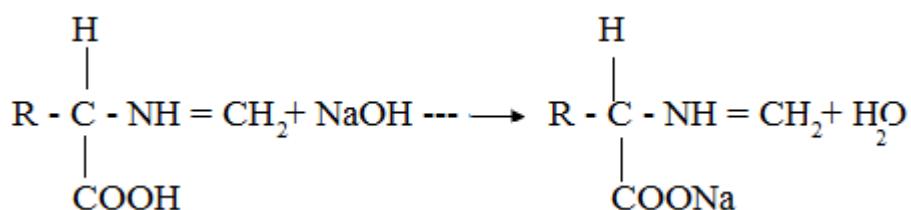
2- tajriba. Syorenson bo‘yicha formol titrlash orqali oqsillarni kislotali gidrolizlanish darajasini aniqlash

Ma‘lumki, oqsillarni gidrolizlaganda peptid bog‘larni uzilishi evaziga karboksil va amin guruhlarining gidrolizlanish ko‘rsatkichiga mos holda ekvivalent miqdorda ortib borishi kuzatiladi. Karboksil guruhlarining miqdorini aniqlash uchun Syorensonning formol uslubidan foydalaniladi. Gidroliz natijasida hosil bo‘lgan aminokislotalar suvli eritmalarida molekula oraliq tuzlar hosil qiladi, shu sababli ularning aminoguruhlarini formaldegid bilan bog‘lab (blokirovka qilib) qo‘ygandan keyin karboksil guruhini ishqor yordamida titrlash yo‘li bilan aniqlanadi. Jarayon quyidagicha reaksiyalar asosida kechadi, bunda:

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



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



Ishni bajarish tartibi.

1. Hidrolizgacha oqsil eritmasidagi karboksil guruhi miqdorini titrlash yo‘li bilan aniqlash.

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

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

Oqsillarni gidrolizi bosqichma-bosqich amalga oshishi va gidrolizning to‘liq nihoyasiga yetishi erkin aminokislotalar hosil bo‘lishi bilan yakunlanishini e‘tiborga olib gidroliz o‘tkazilayotgan kolbadagi aralashmadan 1, 2, 3 va 5 soat muddatlar oralig‘ida 5 ml dan ajratib olib har safar bir chimdim pista ko‘mir qo‘shiladi va 5 daqiqa davomida qaynatiladi. Bunda aralashma oqaradi va qaynatish tufayli uning ma‘lum miqdori kamayishini e‘tiborga olib, uni 5 ml li o‘lchov probirkasiga ko‘chirib hajmini distillangan suv yordamida o‘lchov chizig‘igacha yetkaziladi. So‘ng bu aralashmalardan har safar alohida idishga 1,25 ml ajratib olib ustiga 3 tomchidan fenolftalein eritmasi tomiziladi, aralashmani mikrobyuretkaga oldindan solib qo‘yilgan 10 % li natriy ishqori yordamida och pushti rang hosil bo‘lguncha titrlanadi. Bunda ishqor xlorid kislotani neytrallash uchun ishlatilmaydi va shuning uchun uning miqdoriy ko‘rsatkichi e‘tiborga olinmaydi. Agar neytralizatsiya paytida aralashmani rangi ochiq qizil bo‘lib qolsa, unda tomchilab rangsizlangincha 1 % xlorid kislota qo‘shiladi, uning oshiqcha miqdorini esa, 0,005 N natriy ishqori yordamida titrlab rangini och pushti rangacha yetkaziladi. Bundan keyin formalinning neytral eritmasidan 5 tomchi qo‘shiladi. Aralashmaga formaldegid qo‘shilgandan keyin, gidrolizat fragmentlaridagi aminoguruhlarining bloklanishi (metilenlanishi) va karboksil guruhlarining bo‘shab qolishi yuz beradi va reaksiya muhitdagi och pushti rang yo‘qoladi. Nihoyat tajribalardagi fragmentlarning erkin karboksil guruhlarini aniqlash uchun har gal aralashmalarni mikrobyuretkaga solib qo‘yilgan 0,005 N natriy ishqori eritmasi bilan titrlanadi va sarf bo‘lgan ishqor miqdori qayd qilinadi. Bu xildagi tahlillar gidrolizni boshlamasdan oldingi, gidroliz boshlangandan 1 soatdan keyingi, gidroliz boshlangandan 2 soatdan keyingi, gidroliz boshlangandan 3 soatdan keyingi, gidroliz boshlangandan 5 soatdan keyingi namunalarda o‘tkaziladi.

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

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

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

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

Tajriba natijalarini tahlil qilish va rasmiylashtirish.

Ma'lumki, azotning atom massasi 14 ga teng. Tajriba uchun ishlatilgan ishqorning 1 litri 14 g azotga yoki 1 ml 14 mg (**1molekula** aminoguruh 1 molekula ishqorga ekvivalent) azotga mos kelishini e'tiborga olsak, bundan 1 ml 0,005 N ishqor eritmasiga 0,07 mg azotga mos keladi. Umuman 1, 2 va 3-tajribalar natijalari sarhisob asosida olingan ma'lumotlar 7-jadvalda keltirilgan tarzda umumlashtiriladi va tegishli xulosalarga kelinadi.

7-jadval.

Gidroliz jarayonida oqsillarni parchalanishi darajasini aniqlash

T/r	Tajriba namunalari	Titrlash uchun sarflangan 0,005 N NaOH miqdori	Titrasosida hisoblab topilgan aminoguruh azoti	Biuret reaksiyasini natijasi
1	Gidrolizni boshlamasdan oldingi			

2	Gidroliz boshlangandan 1 soat keyingi			
3	Gidroliz boshlangandan 2 soat keyingi			
4	Gidroliz boshlangandan 3 soat keyingi			
5	Gidroliz boshlangandan 5 soat keyingi			

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

8-mavzu. Aminokislotalarniqog‘oz xromatografiyasi uslubida o‘rganish

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

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

Aminokislotalarni ajratish uchun eng qulayi va nisbatan anig‘i qog‘ozda taqsimlovchi va yupqa qavatli xromatografiya hisoblanadi. Bu usul turli xildagi aminokislotalarning qisman aralashadigan ikki xil suyuqliklarda, masalan, biri suvda, ikkinchisi suv bilan to‘yintirilgan organik erituvchi (fenol, butil spirtini, sirka kislota bilan aralashmasi va boshqalar) kabi erituvchilarning eruvchanligiga asoslangan. Suv fazasi harakatsiz bo‘lib, u inert material sellulozaga xromatografiya kamerasidagi nam bilan, to‘yingan atmosferadagi suv bug‘lari ko‘rinishida shimilgan bo‘lib, qog‘oz tashqi ko‘rinishidan quruq bo‘ladi. Erituvchi aralashmaning organik qismi esa, uning harakatdagi fazasi

hisoblanadi. Aminokislolaning eruvchanligi suvda qancha yuqori bo'lsa, organik erituvchida shuncha kam yoki aksincha yuqori bo'lishi mumkin.

Bu usulning mohiyati shundaki, xromatografik qog'ozning bir nuqtasiga yoki bitta chiziq bo'ylab tekshirilayotgan aminokislotalar aralashmasi yoki oqsil gidrolizatini qora qalam bilan belgilangan start chizig'iga Paster pipetkasi yordamida 1 sm masofaga chizib tomizilib quritiladi, so'ng qog'ozning shu chekkasi erituvchilar aralashmasiga tushiriladi. Erituvchi kapellyar kuchlar yordamida qog'oz bo'ylab harakatlanadi va o'z yo'lida uchragan moddalarni, xususan aminokislotalarni eritib yuqoriga qarab harakatlanadi. Aminokislotalarning qog'oz bo'ylab harakati ularning eruvchanligi, kimyoviy tuzilishi va xossalriga bog'liq. Erituvchi qog'ozning ikkinchi chekkasiga yaqinlashganda jarayon to'xtatiladi va erituvchining bosib o'tgan chegarasi qora qalam bilan belgilanadi so'ng xromatografik qog'oz erituvchi to'la bug'lanib ketishi va aminokislotalarning qog'ozda fiksasiyalanishini t'aminlash uchun yaxshilab quritiladi. Shundan keyin xromatogrammaga aminokislota bilan rang beruvchi reagent ningidrin eritmasiga solib olinadi yoki bu erima bilan pu'rkaladi. Natijada xromatogrammada aminokislotalarning rangli dog'chalari paydo bo'ladi, bu esa aminokislotalarning bir-biridan ajralganidan darak beradi.

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

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

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

Odatda oqsillarning gidrolizatlari tarkibidagi aminokislotalarni ham sifatii, ham miqdoriy jihatdan aniqlashda toza aminokislotalardan tayyorlangan eritmalaridan foydalangan holda maxsus tayyorlangan xromatografik kameralarda xromatografiya o'tkaziladi. Bu xil xromatografiyani eni va uzunligi katta bo'lgan qog'ozda o'tkazish mumkin. Bunda xromatografiya qog'ozini start chizig'i tagiga oddiy qalam bilan aminokislotalarni nomlarini yozgan holda ularning eritmalaridan alohida-alohida tomiziladi va qog'ozning o'rtasiga yoki bir chekkasiga gidrolizat namunasidan tomiziladi. Shu yo'sinda olingan xromatogrammadagi aminokislotalarning dog'chalari gidrolizatdagi

aminokislotalarni aniqlashda «guvoh» vazifasini bajaradi va ularning R_f ko'rsatkichlari yordamida sifatiiy va miqdoriy tahlillar o'tkaziladi.

Xromatografiya jips yopiladigan kameralarda olib borilishi kerak, chunki bu erituvchini bug'lanib ketishdan saqlaydi, kameraning erituvchi bu'g'lari bilan to'yinishini ta'minlaydi. Xromatografiyani bir o'lchamli va ikki o'lchamli tarzlarda yuqoriga ko'tariluvchi va pastga qarab harakatlanuvchi xillaridan foydalaniladi. Ikki o'lchamli xromatografiyada birinchi bor erituvchi qog'ozning chekkasiga yaqinlashganda jarayonni to'xtatib xromatogramma quritib olinadi. So'ng bu xromatogramma qog'ozini eritmaga botirilgan tomonidan 90° ga o'rqaga qaratib burib qaytadankamera ga joylashtiriladi va erituvchini yangidan qog'oz bo'ylab harakatlanishiga imkoniyat yaratiladi. Bundan keyin yana erituvchi qog'ozning chekkasiga yaqinlashganda xromatogramma kameradan chiqarib olib quritilib, termostatda qizdirish yo'li bilan fiksatsiyalanib, ningidrin bilan bo'yaladi. Bo'yalgan aminokislota dog'lari bo'yicha ularning har ikkala o'lchamli xromatografiya uchun umumiy R_f ko'rsatkichlari aniqlanadi.

Biz quyida xromatografiyaning 2 ta oddiy usuliga:

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

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

28- ish. Aminokislotalarni qog'oz xromatografiyasi usulida ajratish

Kerakli biomaterial: tuxum oqsilini gidrolizati.

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

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

1- tajriba. Yuqoriga ko'tariluvchi xromatografiya

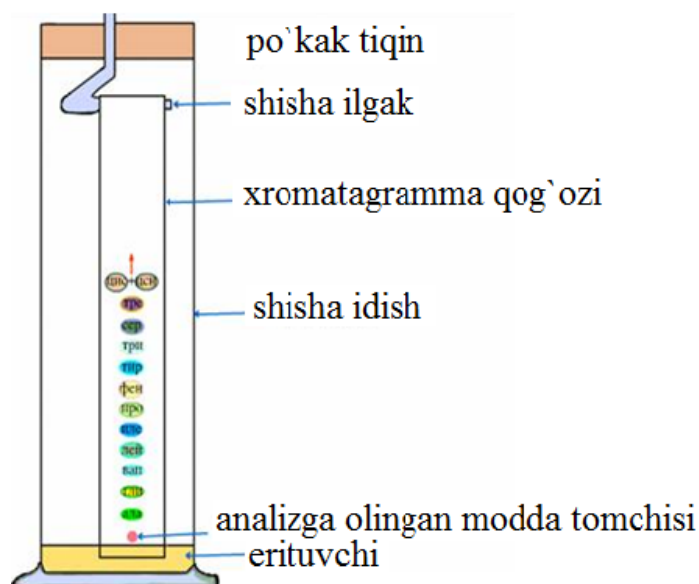
2-

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

Diametri 2-2,5 sm uzunligi 18-20 sm keladigan ikkita probirka olib, devoriga tegizmasdan 15-20 tomchi (2 ml) suvga to‘yingan fenol (yoki butanol:sirka kislota: suv aralashmali eritmasi) quyiladi. Tayyorlangan qog‘oz lentalarni bog‘langan ipdani shishilgacha ilib, 2-3 mm chuqurlikga erituvchiga botguncha tushirilib, qog‘ozlarni probirka devoriga tekkizmay va aniq vertikal holatini saqlab, tiqin (qopqoq) bilan berkitib qo‘yiladi (9-rasm). Probirka 35-40⁰ C li termostatda 90-120 daqiqa davomida qoldiriladi. Shu vaqt ichida erituvchi fronti 10-12 sm ga ko‘tariladi. Ko‘rsatilgan vaqt o‘tgandan keyin xromatogramma olinib, 25-30 daqiqa davomida to fenol yoki boshqa erituvchi batomom uchib ketguncha 50-100⁰ C termostat (quritgich shkafi)ga osib quyiladi.

Erituvchi bug‘lanib ketgach, qog‘oz lentalarni olib shtativga ilib quyiladi va unga 0,5% ningidrin eritmasidan pulverzator yordamida purkaladi yoki kristalizatorga ningidrin eritmasi quyib, unga xromatografik qog‘oz botiriladi. Yana 100-110⁰ C li quritgich shkafiga 5-6 daqiqa ilib quyiladi. Natijada qog‘ozlarning aminokislota to‘xtagan joyi ko‘k, ko‘kish – binafsha ranga bo‘yaladi.

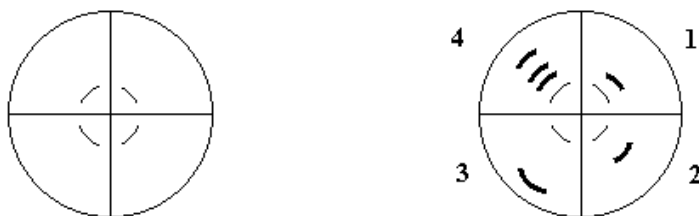
Keyin chizg‘ich yordamida ikkala namunada ham har bir aminokislota Rf ko‘rsatkichlari aniqlanadi va olingan natijalar bo‘yicha mulohaza yuritilib, tegishli xulosalar keltirib chiqariladi



9-rasm. Yuqoriga ko'tariluvchi xromatografiya

2-tajriba. Radial xromotografiya

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



ab

10-rasm. Radial xromotografiya

Filtr qog'ozdan balandligi 2 sm bo'lgan naycha shaklidagi oyoqcha (pilik) tayyorlab xromatografiya disko o'rtasidagi teshikka o'rnatiladi.

So'ngra Petri idisining qopqog'iga qo'yib,

xromatografik qog'ozning har bir qismidagi start doiraga Paster peptikasi yordamida quyidagi aminokislotalar o'rnatiladi: 1) alanin, 2) glutaminkislota, 3) leysin, 4) aminokislotalar aralashmasi (10-rasm. b). Shundan keyin 10

daqiqada vomi dahavoda quritiladi. Petri idisining tag qismiga 10

ml suvgato'yintirilgan fenol qo'yib,

ohistalik bilan qog'ozni pilik erituvchiga tegib turadigan qilib joylashtiriladi va 1

soatdavomidaxonatemperturasidaqoldiriladi. Petri idishini shunday tanlash ma'qulki, ostki va ustki (qopqoq) qismning diametri teng bo'lsin. Natijada jips berkitilgan kamera hosil bo'ladi. Ko'rsatilgan vaqt ichida erituvchi xromatografik qog'oz chekkasiga borgan bo'lsa, qopqoq ochilib pintset yordamida xromatografik diskni chekkasidan ushlab 10 daqiqa davomida 100-120°C li qurituvchi shkafga yoki termostatga quyiladi. Bu vaqt ichida erituvchi batamom bug'lanib ketadi va aminokislotalar esa fiksatsiyalanadi. So'ngra xromatogrammani gorizontol holatga qo'yib, pulverizator bilan ningidrin eritmasidan purkaladi va 5-10 daqiqa davomida 100-120°C li termostatga quritiladi. Xromatogramma daftarga yopishtirib quyiladi yoki rasmi chizib olinadi. Chizg'ich yordamida masofalar o'lchanib, har bir aminokislota uchun R_f aniqlanadi.

Darsning nihoyasida ko'tariluvchi va pastga xarakatlanuvchi, bir va ikki o'lchamli, kamerada va probirkada o'tkaziladigan xromatografiyalar va radial xromatografiyaga, shuningdek aminokislotalarning ajratilishi, sifatiiy va miqdoriy tahlillariga oid umumiiy xulosalar keltirib chiqariladi.

O'tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

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

NUKLEIN KISLOTALAR

Ma'lumki, 1868 yil Shvesariya olimi F. Misher birinchi bo'lib, odam qoni leykositlarini yadrosidan ilgari fanga ma'lum bo'lmagan birikmani ajratib oldi va uni nukleinar (lot.nucleus-yadro) deb atadi. Biroz keyinchalik shu F.Misher ishlagan laboratoriya xodimlari F. Goppe-Zeyler

va boshqalar, ular orasida rus olimi N. Lyubavin qushlar, reptiliyalarning eritrositlaridan, xamirturush hujayralaridan va boshqalardan nukleinlar ajratib olishgan edi. F. Misher 1889 yil nuklein-nordon reaksiyali tarkibida ko'p miqdorda fosfor tutuvchi komponenti (nuklein kislota deb nomlangan) ni oqsil komponenti bilan birikmasidan iborat ekanligini isbotladi. Shunday qilib nuklein kislotalari va murakkab oqsillar nukleoproteinlar kashf qilindi. Uzoq vaqt davomida nukleoproteinlarning oqsil komponenti gistonlar va protaminlar deb yuritildi. Lekin 1936 yil molekulyar biologiyani asoschilaridan biri A.I.Belozerskiy tomonidan o'simliklardan ajratib olingan nukleoproteinlar tarkibida albumin va globulinlarga o'xshash nordon oqsillarning borligi ham fanga ma'lum qilindi. XIX asrning 80 yillari nuklein xromosomalarining tarkibida bo'lishi va shunga bog'liq holda uning irsiy belgilarni avloddan avlodga ko'chirishdagi ahamiyati to'g'risidagi tushunchalar shakllanaboshladi. XX asrning 40-50 yillarida mikroorganizmlarning irsiy belgilarini ko'chirilishida dezoksiribonuklein kislota (DNK) larning ishtirok etishi isbotlandi. O.Everi, K. Mak-Leod va M. Mak-Kartlar dastlab mikroorganizmlarda transformatsiyalovchi agentning kimyoviy tabiatini fanga ma'lum qildi. Aslida genetik transformatsiyani F.Griffits tomonidan 1928 yilda ma'lum qilingan edi. U patogenlik xususiyatini pnevmokokk *Diplococcus pneumonia* shtammidan boshqa shtammiga ko'chirishga erishdi. Bundan keyin u nopatogen shtamm va patogen shtamni o'ldirilgan hujayralarini aralashtirgan holda sichqonlarni zararlantirdi hamda patogen holatni yuzaga keltirdi. Hozirgi kunda bakteriyalarning genetik tahlilida transformasiya xodisasidan keng foydalaniladi. Yuqori taraqqiy qilgan organizmlarni hujayralarini ham transformatsiyalash mumkinligi isbotlandi.

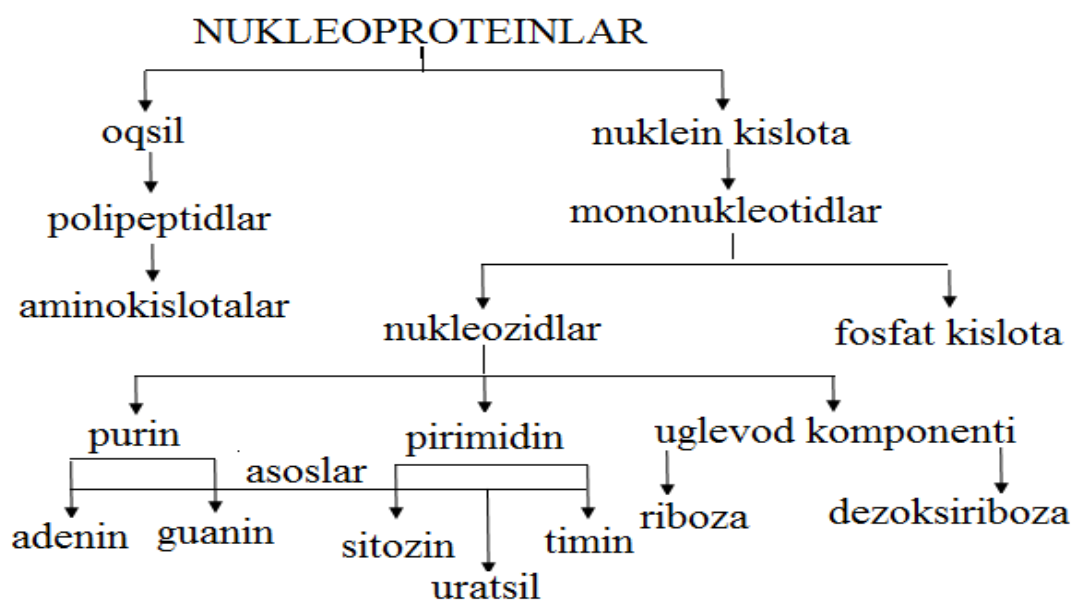
Shunday qilib nuklein kislotalari tirik organizmlarning, barcha tirik hujayralarning eng muhim komponentidir. Nuklein kislotalari ishtirokida hayotiy jarayonlarning moddiy asosi bo'lgan oqsillar hosil bo'ladi. Har bir tirik organizm boshqa organizmlardan farqlanuvchi o'zining maxsus oqsillariga ega. Oqsillarning tuzilmaviy xususiyatlari DNK da "yozilgan" ("dasturlangan") va ular qator avlodlarga DNK molekulasi orqali uzatiladi. Boshqa tipdagi nuklein kislotalari ribonuklein kislotalari (RNK) bo'lib, oqsil biosintezini o'zini zaruriy va eng muhim komponentlari hisoblanadi. Shu sababli organizm oqsillar eng ko'p hosil bo'ladigan to'qimalarda RNK ni ko'p miqdorda saqlaydi. Nuklein kislotalar va nukleoproteinlarni o'rganish shu sababli muhimki, viruslar deyarli toza nukleoproteinlarning

o'zi hisoblanadi. Ko'pdan ko'p virus kasalliklariga qarshi kurashni nuklein kislotalarning tuzilishi va xossalarini bilmasdan amalga oshirib bo'lmaydi. Ayniqsa saraton (rak) kasalligini kelib chiqish sabablari va davolash usullari katta qiziqish uyg'otadi, chunki bunda hujayraning nuklein kislotalari va oqsillari funksiyalarini izdan chiqishi yuz beradi, hamda bu jarayonda viruslarning bevosita ishtiroki bor.

Nihoyat shu narsani ham e'tiborga olish lozimki, nuklein kislotalarning bo'laginukleotidlar**moddalar** almashinuvida muhim rol o'ynaydi:

- ulardan ba'zilar kofermentlar;
- boshqalari hujayrada energiyani akkumulyatorlari;
- uchinchilari-siklik nukleotidlar-moddalar almashinuvini boshqaruvchilari hisoblanadi.

Nukleoproteinlarning kimyoviy tarkibini o'rganish uchun qulay obyekt achitqi hujayralari hisoblanadi. Quruq achitqi massasi yoki undan ajratib olingan nukleoproteinni sulfat kislota yordamida gidrolizlansa, polipeptidlarga, purin va pirimidin asoslariga, uglevod komponentiga va fosfat kislotaga parchalanadi. Gidroliz mahsulotlarini maxsus sifat reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Nukleoproteidlar quyidagicha parchalanadi:

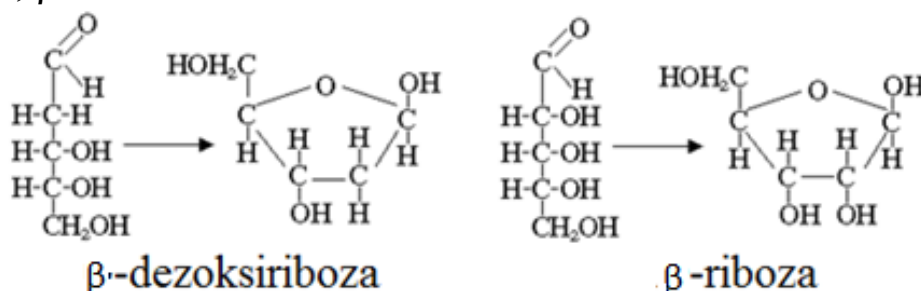


Polipeptidlar Biuret reaksiyasi yordamida aniqlanadi. Purin asoslarini kumush oksidining **ammiaklieritmasi**, uglevodlarni Trommer yoki Feling reaktivlari, fosfat kislotani esa, ammoniy molibdat yordamida aniqlash mumkin.

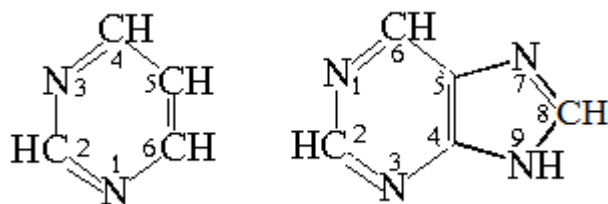
Oqsillar mavzusidan ma'lumki, nuklein kislotalari dezoksiribonukleoprotein ma'lumotlari va ribonukleoproteinlar holida uchraydi, yani nukleogistonlar, nukleoprotaminlar kabi murakkab oqsillar, nukleoproteinlarning tarkibida gistonlar, **protaminlar kabi oddiy oqsillar hisoblanadi. Nukleoproteinlarning tarkibida gistonlar, protaminlar kabi oddiy oqsillar DNK va RNK** bilan birikkan (konyugirlangan) tizimda uchraydi. Agar bunday murakkab oqsillar xlorid kislota ta'sirida gidrolizlansa, aminokislotalar hamda oqsil bo'lmagan oddiy moddalar erkin holda ajraladi. Oqsil bo'lmagan oddiy moddalar orasida, asosan, nuklein kislotalarning gidrolizati mahsulotlari uchraydi

DNK	RNK
H ₂ PO ₄	H ₂ PO ₄
Dezoksiriboza	Riboza
Adenin	Adenin
Guanin	Guanin
Sitozin	Sitozin
Timin	Uratsil

Gidrolizat tarkibidan ko'rinib turibdiki, DNK tarkibida karbonsuvlardan dezoksiriboza, RNK molekulasi tarkibida riboza uchraydi. Shuning uchun dezoksiribonuklein (DNK), ribonuklein (RNK) kislotalari deb nomlanadi. Ularning farqi shuki, agar DNK tarkibida azotli asos timin uchrasa, RNK tarkibida uratsil uchraydi. Dezoksiriboza va riboza DNK va RNK tarkibida ribofuranozalar shaklida uchraydi, β - dezoksiriboza, β - riboza deb nomlanadi:

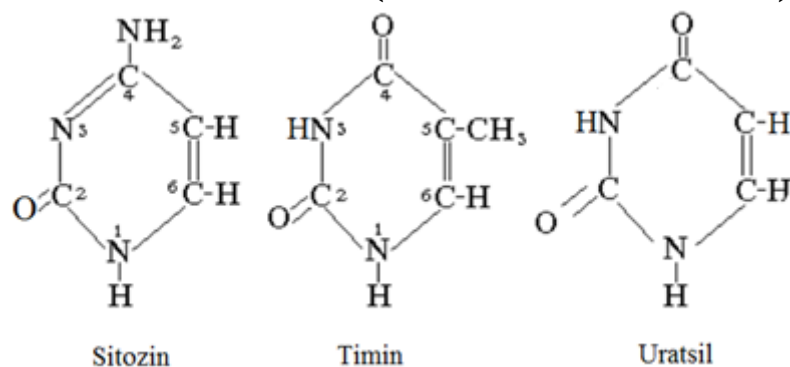


DNK va RNK molekulalarining asosini pirimidin va purin kabi aromatik geterotsiklik birikmalarya'ni azotli birikmalar tashkil etadi:

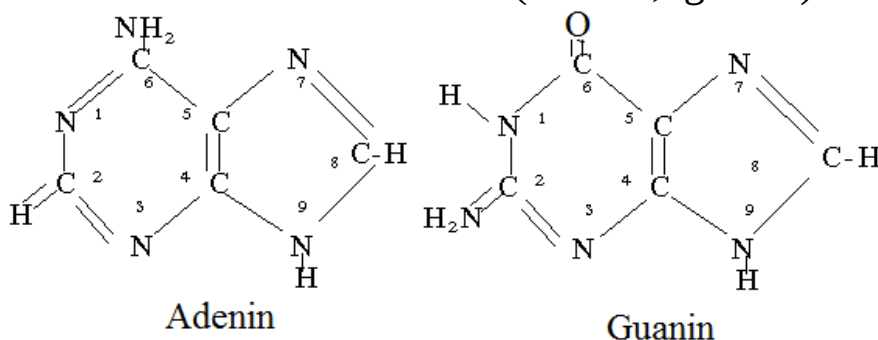


Molekulasitarkibidanko‘rinibturibdiki, purinmolekulasiikkihalqadan: pirimidinvaimidazolhalqalaridaniborat.

Pirimidin asoslar 3 xil ko‘rinishda(sitozin, timin va uratsil) bo‘ladi:



Purin asoslari esa 2 xil ko‘rinishda(adenin, guanin) bo‘ladi:



Azotli asoslarga riboza yoki dezoksiriboza qo‘shilsa unda nukleozidlar hosil bo‘ladi va ularning nomlari o‘zaro mos holda adenin-adenozinga, guanin- guanozinga, sitidin- sitozinga, timin- timidinga, uratsil- uridinga aylanadi. Bu nukleozidlarga fosfat kislota qoldiqlari bitta, ikkita va uchtagacha birikishi mumkin hamda ular mono-, di- va **trifosfotidlarhisoblanib**, ularni o‘zaro mos holda adenzin mono-, di- va trifosfatlar (AMF, ADF, ATF) va **hokaza** deb nomlanadi.

Quyida o‘tkaziladigan laboratoriya mashg‘ulotlarini mavzulari nuklein kislotalarini biomateriallardan ajratib olish, gidrolizlash va olingan gidrolizatlar tarkibini o‘rganishga qaratilgan.

9- mavzu. Umumiy nukleoprotein (NP) va dezoksiriboprotein(DRP) larni biomateriallardan ajratib olish

Darsning maqsadi. Achitqi, qoramolni talog'i, jigaridan umumiy nukleoprotein (UNP) va dezoksiriboprotein(DRP) larni ajratib olishga va ularning xossalriga oid nazariy bilimlarni muhokama qilish va kimyobiy reaksiyalar o'tkazish asosida mustahkamlash va tegishli xulosalarga kelish.

Kerakli biomaterial: achitqi, qoramol yoki qo'yning talog'i, jigari.

Kerakli jihozlar: chinni hovoncha, pipetka, laboratoriya sentrifugasi, sentrifuga tarozisi, yog'och tayoqcha, stakan, silindr, shisha tayoqcha, sentrifuga probirkalari, oddiy kimyoviy probirkalar, o'lchagich silindr, mayda shisha bo'lakchalari.

Kerakli reaktivlar: 1 N NaCl ning eritmasi; difenilaminli reaktiv (tayyorlash: 1,0g difenilamin 100 ml 1 % li muzsirka kislota da eritilib, ustiga 2,8 ml konsentrlangan sulfat kislotasi qo'shiladi); 0,4 % li natriy ishqori eritmasi; 5 % li sirka kislota eritmasi; efir (dietil efir); 5% li sirka kislota eritmasi.

29- ish. Biomateriallardan nukleoproteinlarni ajratish

Quyida umumiy nukleoprotein(UNP)larni achitqi, qoramolni jigari yoki talog'idan, dezoksiribonukleoprotein (DRNP)larni esa, qoramol talog'idan ajratib olish, shuningdek ajratib olingan DRNP ga xos sifat reaksiyasini o'tkazish tajribalari keltirilgan.

1-tajriba. Achitqidan nukleoproteinlarni ajratib olish

Ishni bajarish tartibi. Chinni hovonchaga 1 g achitqi solib, uning ustiga 1-2 tomchi efir, 4-5 tomchi suv tomiziladi va 0,2-0,4 g shisha maydasi solinadi, so'ngra 1-2 daqiqa yanchiladi. Shundan so'ng aralashma ustiga o'yuvchi natriyning 0,4% li eritmasidan 4 ml quyib, yana 5 daqiqa tuyib yanchiladi. Hovonchadagi massa sentrifuga probirkasiga solinadi, ikkinchi shunday probirkaga suv quyib, sentrifuga tarozisida tenglashtiriladi va 10 daqiqa sentrifugalanadi. Sentrifugat pipetka yordamida toza hovonchaga o'tkaziladi va shisha tayoqcha yordamida, aralashtirib turgan holda 5% li sirka kislota eritmasidan 1,5 ml quyiladi. Bunda nukleoproteid cho'kmasi hosil bo'ladi. Hovonchadagi aralashma pipetka yordamida sentrifuga probirkasiga o'tkaziladi va 10 daqiqa sentrifugalanadi. Sentrifugat to'kib tashlanadi, nukleoprotein cho'kmasi keyingi laboratoriya ishlarini o'tkazish uchun olib qo'yiladi.

1. tajriba. Qoramol yoki qo‘yning talog‘i yoki jigaridan nukleoproteinlarni ajratib olish

Ishni bajarish tartibi. Chinni hovonchaga 2 g taloq yoki jigar to‘qimasidan olib oldin qon qoldiqlaridan xolis **qilish** uchun sovutilgan 0,9%NaCl eritmada biroz ushlab turiladi. So‘ng to‘qimani filtr qog‘oz o‘rtasiga qo‘yib namini tortib olinadi. Uni hovonchaga o‘tkazib shisha bo‘laklari va 70 ml 1 M NaCl eritmasidan oz-ozdan qo‘shib 15-20 daqiqa oralig‘ida yaxshilab yanchiladi. Hosil bo‘lgan aralashmani sentrifuga probirkalariga ko‘chirib 3000g/daqiqa tezlanishda 10-15 daqiqa aylantiriladi. Sentrifugatni stakanga ko‘chirib o‘tkazib, unga 6 karra hajmda suv qo‘shiladi. Aralashmada nukleoproteinlarning ipchalari hosil bo‘ladi, **uniyog‘ochtayoqcha** yordamida probirkaga yig‘ib olinadi va keyingi tajribalarda ishlatish uchun olib qo‘yiladi.

3- tajriba. Dezoksiribonukleoproteinni ajratib olish

4-

Ishni bajarish tartibi. 1-2 g taloq yupqa qilib skalpel yordamida kesib olinib fiziologik eritmada 2 daqiqa tutib turiladi va uni filtr qog‘ozlar o‘rtasiga qo‘yib suvi qochiriladi. So‘ng taloq hovonchaga ko‘chirilib shisha maydachalari qo‘shib yanchiladi. Aralashmaga oz-ozdan 1 M NaCl qo‘shib borilib, uning hajmi 70-80 mlga yetkaziladi va 15–20 daqiqa davomida yanchiladi. Aralashma sentrifuga probirkalariga o‘tkazilib, tarozida tenglanadi(muvozanatni yuzaga keltirishda shisha maydachalaridan foydalaniladi. Hosil bo‘lgan aralashma 10-15 daqiqa davomida sentrifugalanadi va sentrifugatning umumiy hajmi o‘lchov silindrida aniqlanadi. Aralashmani 300ml li stakanga ko‘chirilgandan keyin sentrifugat hajmiga olti karra hajmdagi distillangan suvni yog‘och tayoqchani aylantirgan holda asta-sekinlik bilan qo‘shiladi. Yadro nukleoproteidini ipchasini yog‘och tayoqchani aylantirib o‘rab ajratib boriladi va boshqa probirkaga o‘tkaziladi hamda dezoksiribonuklein kislotaga xos sifat reaksiyasini o‘tkazish uchun foydalaniladi.

5- tajriba. Dezoksiribonuklein kislotaga xos sifat reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. 3-tajribada ajratib olingan cho‘kma ipchadan ozginasini toza probirkaga o‘tkazilib 0,5-1 ml natriy ishqorining 0,4 % li eritmasi qo‘shib eritiladi. Aralashmaga teng hajmda difenilamin reaktivi qo‘shiladi va qaynab turgan suv hammomida 15-20 daqiqa ushlab turiladi.

Bunda ko'k rang hosil bo'lishi taloqdan dezoksiribonuklein kislotani ajratib olinganligini isbotlaydi. Ribonuklein kislota difenilamin reaktivi bilan yashil rangga bo'yalganligi uchun bu kislotani borligini aniqlashda ham bu reaksiyadan sifat reaksiyasi sifatida foydalanilishi mumkin.

10-mavzu. Nukleoproteinlarni gidrolizi va gidrolizat tarkibidagi moddalarga xos sifat reaksiyalari

Nukleoproteinlarni 5-10 % li sulfat kislota yordamida bir soat davomida gidrolizlaganda ular oqsil va nuklein kislotagacha parchalanadi. Nuklein kislota keyinchalik alohida nukleotidlarga va birinchi galda purin, pirimidin asoslariga hamda fosfat kislotaga aylanadi. Nukleoproteidlarni erkin holdagi parchalanish mahsulotlarini, shuningdek pentozani maxsus reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Purin asoslarini kumush tuzlarini cho'kmasini hosil qilish, fosfat kislotani ammoniy molibdat, pentozani orsin va flyuroglisin bilan yuz beradigan sifat reaksiyasi yordamida aniqlash mumkin.

Darsning maqsadi. Nukleoproteinlarni gidrolizi va undan hosil bo'lgan mahsulotlarga xos bo'lgan reaksiyalarni o'rganish va bu sohaga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

30- ish. Nukleoproteinlarni kislotali gidrolizi

Kerakli biomaterial: 29- ishning 1- tajribasi va 2- tajribasida ajratib olingan nukleoprotein cho'kmalari.

Kerakli jihozlar: yumaloq tubli kolbalar, havo sovutkichli tiqini bilan birga, gaz gorelka yoki spirt lampa, sentrifuga probirkalari, oddiy kimyoviy probirkalar, stakanchalar, o'lchagich silindr, voronka filtri bilan birgalikda.

Kerakli reaktivlar: H_2SO_4 ning 10 % li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Ikkita yumaloq tubli kolba olib, ulardan biriga 29 –ishning 1- tajribasidagi nukleoprotein cho'kmasidan, ikkinchisiga 2- tajribasida ajratib olingan nukleoproteinlarning ipchalaridan solinadi. So'ng ularning har biriga 15 ml dan 10% li sulfat kislota qo'shiladi. Kolbachalarni havo sovutqich o'rnatilgan tiqin bilan yopib, gidroliz uchun tuzilgan (8-rasm) qurilmaga joylashtiriladi va 1,5-2 soat davomida qaynatiladi. Gidrolizatlarni sovutiladi va filtrlanadi. Filtrat nukleoproteinlarning gidrolizatlari bo'lib, tarkibi aminokislotalar, purin va

pirimidin asoslari, riboza va dezoksiriboza hamda fosfat kislota qoldiqlaridan tashkil topgan. Shuning uchun gidrolizatlarni keyingi tajribalarni o'tkazishda ishlatiladi.

31- ish. Achitqi va taloq yoki jigar nukleoproteinlari gidrolizatlari tarkibini tahlili

Kerakli biomaterial: yuqorida o'tkazilgan tajribalarda olingan achitqi, qoramol yoki qo'y jigari nukleoproteini gidrolizati.

Kerakli jihozlar: gaz gorelka yoki spirt lampa, sentrifuga probirkalari bilan, oddiy kimyoviy probirkalar.

Kerakli reaktivlar: H_2SO_4 ning 10, 30% li va konsentrlangan eritmalari; 10 % natriy ishqori; $CuSO_4$ ning 1 va 7% li eritmalari; NaCl ning 0,9% va 1 M eritmalari; konsentrlangan ammiak eritmasi; 0,2 % ningidrinli eritmasi; konsentrlangan nitrat va sirka kislotalari, orsin reaktivi (tayyorlash: 1 g orsin 500 ml 30 % li xlorid kislota da eritiladi unga 4-5 ml 10% li temir xlorid qo'shiladi, shu yo'sinda tayyorlangan reaktiv yaxshilab berkitilgan holatda qorong'i joyda saqlanadi); flyuroglitsin reaktivi (tayyorlash: 0,2g flyuroglisin 100 ml 30% li xlorid kislota da eritiladi); kumush nitratning ammiakli eritmasi (tayyorlash: 11 ml 5% li kumush nitrat tuzi eritmasiga ammiakning konsentrlangan eritmasini qo'shib bunda hosil bo'lgan cho'kmani erib ketishigacha bo'lgan miqdorda qo'shiladi); ammoniy molibdatning nitrat kislota da gi eritmasi (tayyorlash: 100 ml suvda 7,5 g ammoniy molibdatni eritib uni ustiga 100 ml 32 % li nitrat kislota qo'shiladi); magnezial aralashma (tayyorlash: o'lchov kolbasiga 3,5 g magniy xlor, 1,8 g ammoniy xlorid va 2 ml 25 % li ammiak eritmasi qo'shib suv yordamida umumiy hajmi 100 ml ga yetkaziladi).

1- tajriba. Gidrolizatlarning oqsilga oid rangli reaksiyalari

A. Biuret ryeaksiyasi.

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib biriga achitqi nukleoproteini gidrolizatidan, ikkinchi probirkaga qoramol talog'i yoki jigari nukleoproteini gidrolizatidan 0,5 mldan tomiziladi, ularning ustiga 1 ml dan 10 % natriy ishqori va 2 tomchidan mis sulfat tuzi eritmasidan qo'shiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Reaksiya ijobiy bo'lsa aralashmalar binafsha ranga bo'yaladi.

B. Ningidrin reaksiyasi.

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib biriga achitqi nukleoproteini gidrolizatidan, ikkinchi probirkaga qoramol talog‘i yoki jigari gidrolizatidan 0,5 mldan tomiziladi, ularning ustiga 5-6 tomchi ningidrinning 0,2 % li eritmasidan tomizib yaxshilab aralashtiriladi. Reaksiya ijobiy bo‘lsa, aralashmalar binafsha ranga bo‘yaladi.

C. Ksantoprotein reaksiyasi.

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib biriga achitqi nukleoproteini gidrolizatidan, ikkinchi probirkaga qoramol talog‘i yoki jigari nukleoproteini gidrolizatidan 0,5 ml dan tomiziladi, ularning ustiga 5-6 tomchi konsentrlangan nitrat kislota eritmasi tomizib yaxshilab aralashtiriladi va biroz qizdiriladi. Reaksiya ijobiy bo‘lsa, aralashmalar sariq ranga bo‘yaladi. Aralashma sovigach konsentrlangan ammiak eritmasi bilan to‘yintiriladi va ishqoriy muhitda aralashma gulobi ranga o‘tadi. Bu reaksiya gidrolizat tarkibida aromatik aminokislotalar borligidan dalolat beradi.

D. Adamkevich reaksiyasi.

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib biriga achitqi nukleoproteini gidrolizatidan, ikkinchi probirkaga qoramol talog‘i yoki jigari nukleoproteini gidrolizatidan 0,5 ml dan tomiziladi, probirkalarni qiyshaytirib ularning devori bo‘ylab 1 ml konsentrlangan sirka kislota va 1ml konsentrlangan sulfat kislota tomiziladi. Bunda suyuqliklar uchrashgan chegarada qizg‘ich-binafsha halqa hosil bo‘ladi. Bu reaksiya nukleoroteini gidrolizati tarkibida triptofan borligidan dalolat beradi.

2-tajriba. Gidrolizatlar tarkibida pentozalarning mavjudligiga oid reaksiya

Ishni bajarish tartibi. To‘rtta probirka olib ikki qator qilib shtativga joylashtiriladi, oldingi qatordagi ikkita probirkaga achitqi nukleoproteini gidrolizatidan 0,5 ml dan, ikkinchi qatordagi ikkita probirkaga qoramol talog‘i yoki jigari nukleoproteini gidrolizatidan 0,5 ml dan tomiziladi. So‘ng oldingi qatordagi probirkalarning ustiga 1-2 ml orsin reaktivi, keyingi qatordagilarga 0,2 % li flyurogyusin eritmasidan 5-6 tomchi tomiziladi. Agar gidrolizat tarkibida riboza yoki dezoksiriboza bo‘lsa orsinli aralashmalar yashil ranga, flyuroglyusinli aralashmalar oldin gulobi, keyinchalik qizil ranga bo‘yaladi.

3-tajriba Hidrolizatlar tarkibida purin asoslarini borligini isbotlovchi reaksiya

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib biriga achitqi nukleoproteini gidrolizatidan, ikkinchi probirkaga qoramol talog'i yoki jigari nukleoproteini gidrolizatidan 0,5 ml dan tomiziladi, ularning ustiga 5-6 tomchi ammiak va 0,5 ml 5% li kumush nitrat eritmasidan tomiziladi va yaxshilab aralashtiriladi. Bunda purin asoslarini momiqsimon shakldagi tuzlari hosil bo'lib probirkani tubiga cho'kadi.

4- tajriba. Hidrolizatlar tarkibida fosfat kislotasini borligini isbotlovchi reaksiya

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib biriga achitqi nukleoproteini gidrolizatidan, ikkinchi probirkaga qoramol talog'i yoki jigari nukleoproteini gidrolizatidan 0,5 ml dan tomiziladi, ularning ustiga 5-6 tomchi magnezial aralashma tomiziladi. Bu reaksiya natijasida nukleoprotein gidrolizati tarkibida fosfat kislota borligi isbotlanadi va bunda reaksiya ijobiy bo'lsa, aralashmada oq kristal cho'kma hosil bo'ladi

O'tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Nuklein kislotalar necha xil bo'ladi ?
2. Nuklein kislotalar kim tomonidan kashf etilgan ?
3. Qanday azotli asoslarni bilasiz?
4. Nukleozid nima?
5. Nukleotidchi?
6. DNK va RNK nima bilan farqlanadi?
7. Nukleoproteinlar tarkibida oqsil mavjudligini qanday aniqlash mumkin?
8. Azotli asoslar borliginichi?
9. Pentozalarni mavjudliginichi?
10. Fosfat kislota borliginichi?
11. Komplementarlik nima?
12. Nuklein kislotalar organizmda qanday funksiyalarni bajaradi?

FERMENT (ENZIM)LAR

Fermentlar yoki enzimlar oqsil tabiatli moddalar bo'lib, biokatalizatorlik vazifasini bajaradi. Ferment atamasi lotincha «Fermentatio» «achish», «bijg'ish» yoki grekcha «yen» - ichida, «zime» - achitqi atamalaridan olingan. Ular ta'sirida moddalarning parchalanishi

yoki kerakli moddalarning biologik sinteziga oid murakkab kimyoviy reaksiyalar, qisqa vaqt ichida, nisbatan past haroratlarda o'tadi. Ular bunday biokimyoviy reaksiyalarni million, hatto, milliard marta tezlashtiradi, o'zlari esa o'zgarishsiz qoladilar.

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

Fransiyalik Lui Paster(1822-1885) achish jarayonini har tomonlama o'rganib spirtli bijg'ish faqat mikroorganizmlar - achitqilar hayoti bilan bog'liq, ulardagi fermentlar ichki fermentlar ya'ni enzimlardir, ular tashqi fermentlardan farq qiladi, deb tushuntirgan. Nemis olimi Libix(1803-1873) fermentlar to'g'risidagi bunday ikki xil tushunchani e'tiroz bilan qabul qilib, u mikroorganizmlarning hayot- faoliyatiga emas, balki hujayra ichidagi fermentlarga bog'liq deb tushuntiradi. Bu muammoni 1897 yilda Byuxner **deganolim**glukozani etil spirti vaCO₂ ga parchalaydigan erkin achitqi ekstraktini ajratib olishi bilan hal etib berdi. Bunday ekstraktni Byuxner zimaza deb atagan. Achish - zimaza ta'sirida hujayradan tashqarida o'tishi isbotlandi. Keyinchalik spirtli achish bilan mushaklardagi glikoliz bir xil jarayon, ya'ni karbonsuvlarning anaerob sharoitda parchalanishi ekanligi isbotlandi.

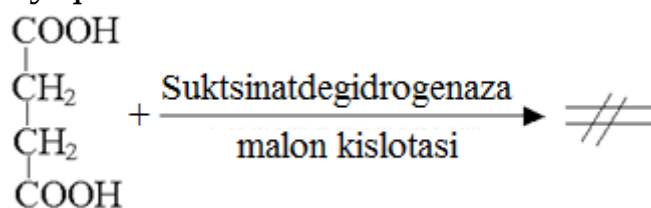
Fermentli moddalarning borligi to'g'risidagi tushunchalar I. P. Pavlovning ilmiy-tadqiqot ishlarida ham ma'lum bo'lgan. U 1892 yili me'da shirasining hosil bo'lishini, itlar ustida o'tkazgan tajribalarida o'rganib, me'da shirasi qancha ko'p miqdorda ishlab chiqilsa, shuncha ko'p miqdorda oqsilni parchalanishini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

Shunisi tavsifliki, har bir ferment faqat maxsus bir kimyoviy o'zgarishni katalizlaydi, ya'ni har bir ferment o'ta maxsusligi bilan farqlanadi. Bunday maxsuslik faqat optimum temperaturani, muhit(pH)ni, maxsus aktivatorlarning ishtirokini talab etadi. Jumladan, pepsin uchun

optimum pH 1,5-2,5; tripsin uchun - 8-11; amilaza uchun - 6,7-6,9; lipaza uchun - 8,3-8,5; ishqoriy fosfataza uchun - 9,0 bo'lganda ularning ta'sir etishi kuzatiladi.

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

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



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

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

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

Fermentli reaksiyalarning mexanizmi, ko'pincha, oraliq moddalar nazariyasi asosida tushuntiriladi va unga muvofiq, oksidlanuvchi substrat avval fermentning faol markaziga birikib, ferment-substrat majmualari birikmasini hosil qiladi. So'ngra bu majmualar birikma o'zgarib, ferment va hosil bo'ladigan mahsulotlarga parchalanadi. Ferment-substrat majmualar birikmalarining hosil bo'lishi tajribalarda o'rganilgan. Hozirgi vaqtda

ularni aniqlaydigan maxsus analizatorlar ishlab chiqilgan. Ayrim ferment-substrat majmuiy birikmalari kristall modda holida ajratib olingan, ularning tuzilishi ya'ni ferment bilan substratning o'zaro munosabati aniqlangan. Fermentning faol markazi shakllangan joyda maxsus botiqlik, ya'ni «cho'ntak» bo'lib, ularga muayyan fermentning substrati yaqinlashganda, u bilan birga tegishli aminokislota qoldig'i o'rtasida bog'lanish paydo bo'ladi.

«Cho'ntak» - substrat bog' tufayli, qulf-kalit singari komplementar majmualiy birikma hosil bo'ladi, «cho'ntak»ning fazoviy tuzilishi(konformatsiyasi) substratning fazoviy qurilishiga mos keladi. Shu sababli qulf-kalit tabiati jihatidan bu bog'lanishlar donor-akseptor, ionli, kovalent va boshqa ko'rinishda bo'lishi mumkin. Agar substrat ferment yuzasidagi ayni botiqlikka mos kelmasa, bog'lanishlar yuzaga chiqmaydi. Ba'zi fermentlarning faollik markazi substrat yaqinlashgandagina ma'lum shaklga kelib, molekulaning deyarli hamma qismi harakatga kelib, reaksiya ancha tez va oson borishini ta'minlaydi. «Cho'ntak» substrat yaqinlashganda o'zgarib, hatto, qapqog'i yopiladi, substrat uchun ma'lum muhit yaratadi. Lekin substrat fermentga mos kelmasa, uning molekulasida tegishli shakliy o'zgarish bo'lmaydi. D. Koshland fikricha qo'lqop panjaga qarab qanday shaklini o'zgartirsa, muayan ferment ham shaklini shunday o'zgartiradi:

Fermentlarni tasniflash (klassifikasiyalash) tomoyillari Xalqaro biokimyogarlar ittifoqini 1961- yilda Moskva shahrida bo'lib o'tgan V kongressida ishlab chiqildi. Hozirgi kunda barcha organik moddalarni tasniflashni hisobga olganda ular orasida fermentlarning tasniflanishi eng mukammali hisoblanadi. Chunki bu tasniflashni qo'llanilishi fermentlarni nomlash va tartib bo'yicha joylashtirishda ham hisobga olingan bo'lib, hattoki faqat tartib raqamlarini keltirishning o'zi ularning nomlarini keltirmasdan ham olimlar tomonidan qaysi ferment haqida so'z yuritilayotganini bilib olish imkoniyatini yaratadi. Bunda fermentlarni tartib raqami bilan keltirish uchun dastlabki raqam sinflarning 1-Oksireduktazalar, 2-Transferazalar, 3-Gidrolazalar, 4-Liazalar, 5-Izomerazalar va 6-Ligazalar (yoki Sintetazalar) dan foydalaniladi. Keyingi keltiriladigan uchta raqamlarlarning birinchisi fermentning kimyoviy tabiatini ifodalovchi(u oddiy yoki murakkab oqsil tabiatlimi?, murakkab oqsil tabiatli bo'lsa, uning nooqsil tabiatli qismi qanday?) tamoyili, ikkinchisi -ferment ta'sir etadigan substratning kimyoviy tabiatini, uchinchisi katalizlovchi reaksiyaning xilini e'tiborga oluvchi tamoyillar

hisoblanadi. Demak tasniflash jarayoni fermentlarni sinflarga, sinflarni kenja sinflarga, kenja sinflarni quyi kenja sinflarga bo'lish va nihoyat quyi kenja sinflarni tartib raqami bilan raqamlar asosida belgilashga kelishib olingan. Bunda sinflar oltita ekanligi uchun dastlabki raqam muayyan fermentning qaysi sinfga mansubligiga qarab 1 dan 6 gacha tartibda bo'ladi. To'rt raqamli tartibda keltirilgan raqamlarning ikkinchi raqami kenja sinfga xos tartib raqam, uchinchi raqam quyi kenja sinfga xos bo'ladi va nihoyat quyi kenja sinfdan keyingi ya'ni, to'rtinchi raqam muayyan fermentning katalizlovchi reaksiyani tavsiflovchi **tartibraqami** hisoblanadi.

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

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

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

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

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

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

Ko'pchilik fermentlar sitoplazmada erigan holda, yadroda va maxsus organellalarda uchraydi. Masalan, mitoxondriylarda oksidlanish, ya'ni nafas olish fermentlari, ribosomalarda oqsil sintezi uchun kerakli fermentlar, yadroda nuklein kislotalarni sintezini amalga oshiruvchi fermentlar bo'ladi. Ularni xuddi oqsillarni ajratib olish kabi usullar bilan ajratib olish mumkin. Biroq fermentlarni ajratib olishda ma'lum maqsadga yo'naltirilgan ravishda ish yuritish lozim bo'ladi. Buning uchun, eng avvalo, muayyan fermentga boy manba tanlanadi. Agar gidrolitik

fermentlarni o'rganish zarur bo'lsa, ularni hayvonlarning hazm shiralarida mo'l miqdorda ekanligini inobatga olib, osongina ajratib olish mumkin. Hazm shiralari fermentlarning tayyor tabiiy eritmalari hisoblanadi. Fermentlarni toza holda ajratib olishga oid barcha tahliliy ishlarini past temperaturalarda olib borish talab etiladi. Bunda, albatta, ferment uchun optimal pH ko'rsatgichini inobatga olish va ferment faolligini tekshirib turish lozim. Aks holda ajratib olinayotgan ferment o'z faolligini yuqotib qo'yishi mumkin.

11-mavzu. Fermentlarning xossalarini o'rganish

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

32-ish. Fermentlar faolligiga haroratning ta'siri

Keraklibiomaterial: so'lak.

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

Kerakli reaktivlar: kraxmalning 1% li eritmasi, 10 marta suyultirilgan so'lak eritmasi, yodning 0,1% li eritmasi.

Fermentlarning faolligiga ferment va substratning konsentratsiyasidan tashqari enzimatik reaksiyaning ishtirokchilari, temperatura, vodorod ionlari konsentratsiyasi, faolligiga va paralizatorlar ham asosiy ta'sir qiluvchi omillar hisobdanadi. Bu omillarning ferment katalitik faolligiga ta'sir qilish mexanizmi enzimning faol markazi shakllanishiga, fermentativ reaksiyaning asosiy sharti bo'lgan ferment bilan substratning kompleks hosil qilishi uchun sharoit yaratilishiga bog'liq

Har qanday katalitik reaksiyalar singari fermentativ reaksiyaning tezligi harorat oshishi bilan oshib boradi. Lekin fermentlar anorganik katalizatorlardan farq qilib, ularning faolligini oshishi 40-45°C gacha davom etadi, 50-60°C dan boshlab faollik birdaniga pasaya boshlaydi, 70-75°C ga yetganda esa, ferment denaturatsiyalanib, faoliyatini umuman to'xtatadi.

Ishni bajarish tartibi. 4 ta probirka olib, ularning har biriga 10 tomchidan 1%li kraxmal eritmasidan quyiladi, birinchi probirkani muzli

stakanga, ikkinchisini xona temperaturasiga, uchinchisini 45°C li suv hammomiga, to'rtinchisini 75°C li suv hammomi yoki termostatga quyiladi, 5 daqiqa daqiqa o'tgandan keyin probirkalarning hammasiga shu turgan holatida 10 marta suyultirilgan so'lakdan 10 tomchidan qo'shib, yana 5 daqiqaga dastlabki holatdagi sharoitda qoldiriladi. Bu muddat o'tgandan so'ng probirkalardagi aralashmalardan alohida probirkalarga 1-2 tomchidan olib, ustiga 1 tomchidan 0,1% li yod eritmasidan tomiziladi. Agar hamma probirkalardagi suyuqliklar ko'k rangga kirsang, inkubatsiya yana 5 daqiqa davomida qoldiriladi va yod bilan reaksiya qaytadan qilib ko'riladi. Yod bilan kraxmal ko'k rang hosil qilsa, amilodekstrin bilan (mol.og'.=10000Da) ko'k-binafsha, eritrodekstrin bilan (mol.og'.=4000-6000 Da) bilan to'q qizil rangga bo'yaladi, axrodekstrin bilan (3700 Da atrofida) deyarli bo'yalmaydi, maltodekstrin bilan (1000 Da) bilan ham hechqanday rang hosil qilmaydi. Turli xil probirkalardagi suyuqliklar yod bilan har xil rangga kirishi kraxmalning har xil darajada gidrolizlanganidan darak beradi. Fermentativ reaksiyaning eng yuqori tezligiga 45°C ga ketadi. Gidrolizning eng sekin ketishi yoki amalda ketmasligi 1- va 4-probirkalarda, ya'ni 0° va 75°C da kuzatiladi. Tajriba natijalari jadvalda (8-jadval) qayd qilinadi.

8-jadval

Ferment faolligiga haroratning ta'siri

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

33-ish. Fermentlarning maxsusligi.

Fermentlarning eng muhim xususiyatlaridan biri, ulardan har birining ta'siri o'ziga xosligidir, ya'ni ularning **maxsusligidir**. Fermentlarning maxsusligi, ularning ma'lum bir substratga yoki kimyoviy **bog'lanish turiga ko'rsatadigan ta'sirida** namoyon bo'ladi. Masalan, amilaza faqat kraxmalni maltoza va glukozagacha parchalasa, saxaroza yoki laktozaga umuman ta'sir ko'rsatmaydi. Achitqi hujayrasidagi saxaraza esa laktoza yoki

kraxmalni parchalamaydi, faqat saxarozani glukozava fruktozaga gidrolizlaydi. Ferment bilan substrat orasidagi o‘zaro aloqaning o‘ziga xosligining asosiy sababi ferment faol markazining strukturasi bilan substrat molekulasining fazoviy tuzilishi orasidagi monandlikdir.

Kerakli biomaterial:so‘lak, achitqi shirasi

Kerakli jihozlar:shtativ (probirkalari bilan), pipetkalar, suv hammomi,

Kerakli reaktivlar:kraxmalning 1% li eritmasi, saxarozaning 1 % li eritmasi, 5 marta suyultirilgan sulak, achitqi, lyugol eritmasi (tayyorlash: 20 g KI ni va 10 g Kristal yodni 100 ml distillangan suvda eritiladi ishlatishdan oldin suv bilan 5 marta suyultiriladi), 1:5 nisbatda distillangan suv bilan suyultirilgan so‘lak eritmasi; 1%-kraxmal eritmasi; Trommer reaktivi (tayyorlash: 5% - CuSO_4 eritmasi va 10% - NaOH yoki KOH eritmalari 1:1 nisbatda aralashtiriladi).

Ishni bajarish tartibi.4 ta probirka olib,1-2 tasiga 10 tomchidan 1% li kraxmal, qolgan 3-4 tasiga 10 tomchi 1% li saxaroza eritmasi qo‘yiladi. 1- va 3-probirkalarga 5 marta suyultirilgan so‘lakdan 5 tomchidan, 2- va 4-probirkalarga 5 tomchidan achitqi shirasidantomizib, 38° C li suv hammomiga 10 daqiqa qo‘yiladi. Ko‘rsatilgan vaqt o‘tgandan keyin birinchi ikkita probirkadagi aralashmaga yod ta’sir ettiriladi. 3-4 probirkalardagi suyuqlik bilan Trommer reaksiyasi qilimadi ya’ni ularga 0,5 ml Trommer reaktivi qo‘shiladi. Rangli reaksiyalar natijasiga qarab femintlarning maxsusligi to‘g‘risida xulosa chiqariladi. Trommer reaksiyasi ijobiy bo‘lsa aralashma oldin sariq so‘ng qizil rangga bo‘yaladi. Bundan keyin natijalar 9-jadval ko‘rinishida rasmiylashtiriladi.

9-jadval

Fermentlarni maxsusligini aniqlash

Probirka	Ferment	Substrat	Nazorat reaksiyalari	
			Yod bilan reaksiyasi	Trommer reaksiyasi
1	amilaza	kraxmal		
2	saxaraza	kraxmal		
3	amilaza	saxaraza		
4	saxaraza	saxaraza		

34-ish.Fermentlar faolligiga pH ning ta’siri

Fermentlar muhit reaksiyasiga nisbatan o‘ta sezgirlikni namoyon qiladigan biofaol moddalar hisoblanadi. Ko‘p fermentlar pH ning ma’lum bir tor chegarasidagina o‘z faolligini namoyon qiladi. Ferment faolligini

maksimum darajada bo'lgan pH chegarasi, shu fermentning "pH optimumi" deb yuritiladi. Ferment faolligini pH ga bog'liqligi:

- fermentning faol markazidagi ionlangan guruhlarining;
- substrat molekulasining ferment bilan bog'lanishiga aloqador funksional guruhlarining;
- ferment molekulasining katalitik ta'siriga bog'liq bo'lgan funksional guruhlarining dissosiyalanish konstantalarining;
- ferment faolligiga ta'sir qiluvchi boshqa ferment guruhlarining ionlanish darajalarini muhitdagi vodorod ionlari konsentratsiyasiga aloqadorligidan kelib chiqadi.

Kerakli biomaterial:so'lak.

Kerakli jihozlar: shtativ,probirkalar,pipetkalar.

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

Ishni bajarish tartibi. Bu ishni bajarishda fosfat–sitrat buferidan foydalanish maqsadga muvofiq. Bufer eritmani tayyorlashda Na_2HPO_4 ning 0,2 M eritmasi va limon kislotasining 0,1 M eritmalaridan foydalaniladi va tegishli pH ko'rsatkichiga ega bo'lgan aralashma hosil qilish uchun ularni quyidagi tartibdagi nisbatlarda olinadi (10-jadval).

10-jadval

Fosfat-sitrat bufer aralashmalari tayyorlash

Aralashani tartib raqami	Aralashmani ng pH ko'rsatkichi	Na_2HPO_4 ning 0,2Meritmasiml	Limon kislotasini 0,1 Meritmasi, ml
1	2,2	0,40	19,60
2	2,4	1,24	18,76
3	2,6	2,18	17,82
4	2,8	3,17	16,83
5	3,0	4,11	15,89
6	3,2	4,94	15,06
7	3,4	5,70	14,30
8	3,6	6,44	13,56

9	3,8	7,10	12,90
10	4,0	7,71	12,29
11	4,2	8,28	11,72
12	4,4	8,82	11,18
13	4,6	9,35	10,65
14	4,8	9,86	10,14
15	5,0	10,30	9,70
16	5,2	10,72	9,28
17	5,4	11,15	8,85
18	5,6	11,60	8,40
19	5,8	12,09	7,91
20	6,0	12,63	7,37
21	6,2	13,22	6,78
22	6,4	13,85	6,15
23	6,6	14,55	5,45
24	6,8	15,454	4,55
25	7,0	16,47	3,53
26	7,2	17,39	2,61
27	7,4	18,17	1,83
28	7,6	18,73	1,27
29	7,8	19,15	0,85
30	8,0	19,45	0,55

Bundan keyin so‘lak bezi amilazasini pH optimumini aniqlashga kirishiladi. Tajriba uchun so‘lak amilazasidan foydalanilgani uchun dastlab uni shirasi na‘munasini tayyorlanadi. Shu maqsadda oldin og‘iz bo‘shlig‘iga distillangan suv olib bir daqiqa davomida ushlab turiladi va chayqab tashlanadi. Jarayonni takrorlab, yana og‘iz bo‘shlig‘ida ikkinchi marta distillangan suv olib, bir daqiqa ushlab turgandan so‘ng uni alohida idishga to‘kib olinadi va filtrlanadi. Filtratdagi so‘lak shirasi 100 marta suyultiriladi va undan tajribaning keyingi bosqichlarida foydalaniladi.

Shtativga yettita probirkani joylashtirib ularga 5 ml dan birinchisiga 10-jadvaldagi № 10 dagi pH=4,0; ikkinchisiga № 15 dagi pH=5,0; uchinchisiga № 17 dagi pH=5,4; to‘rtinchisiga №21dagi pH=6,2; beshinchisiga №24 dagi pH=6,8; oltinchisiga №27 dagi pH=7,4 va yettinchisiga №30 dagi pH=8,0 ga teng bo‘lgan fosfat-sitrat bufer aralashmalardan solinadi. So‘ng har bir probirkaga 4 ml dan 0,25 % li kraxmal eritmasi va 1 ml suyultirilgan so‘lak eritmasi qo‘shiladi. Hamma

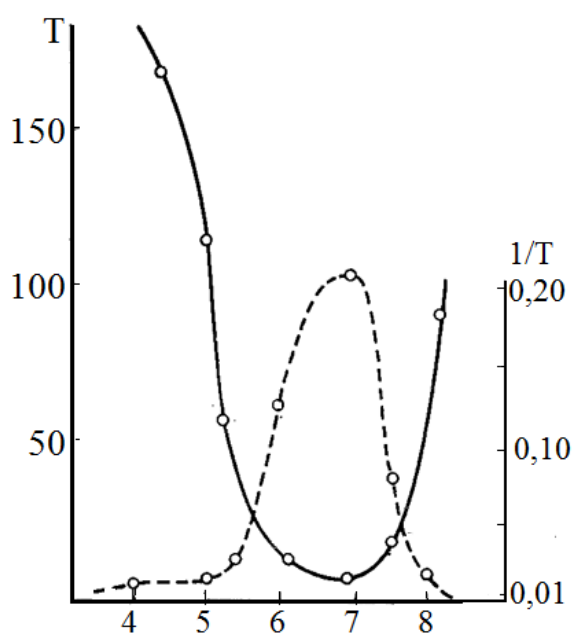
probirkalar 38°C li termostatga o'tkaziladi va vaqti –vaqti bilan ularning har biridan 2-3 tomchidan olib boshqa probirkaga ko'chiriladi va ustiga suyultirilgan Lyugol eritmasi qo'shib aralashtiriladi. Bunda **barcha** probirkalarda dastlab ko'k rang hosil bo'lsa, ma'lum vaqt o'tishi bilan **qizg'ich-binafsha** yoki qizil ranga bo'yaladi va nihoyat eng so'ngida Lyugol eritmasi bilan **hechqanday** rang hosil qilmaydi. Yettita probirkaning har biri uchun rang hosil bo'lishi sodir bo'lmaydigan vaqt (0,5 daqiqa aniqligida) qayd qilinadi. Bu vaqt amilolitik faollikning nihoyasiga yetganidan dalolat beradi. Olingan ma'lumotlar 11-jadval va grafik tarzdgagi egri chiziq sifatida rasmiylashtiriladi.

11-jadval

Amilaza fermentini pH optimumini aniqlash natijalari.

Namunani pH	Faollikni namoyon bo'lish vaqti(daqiqa hisobida)	1:Faollikni namoyon bo'lish vaqti (daqiqa hisobida)
4,0	160	0,006
5,0	110	0,009
5,4	60	0,017
6,2	8	0,125
6,8	5	0,200
7,4	14	0,071
8,0	85	0,011

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



11- rasm.Amilaza fermenti faolligini pH ga to‘g‘ri va teskari bog‘lanishini ifodalovchi egri chiziq

11-jadval va 11-rasmdan ko‘rinib turibdiki, eng qisqa vaqtda kraxmalning parchalanishi sodir bo‘lgan tajribada amilaza maksimal faollikka ega bo‘lgan ko‘rsatgich $pH=6,8$ hisoblanadi va bu ko‘rsatgich amilaza fermenti faolligining “pH optimumi” deb hisoblash kerak.

35- ish. Fermentiv reaksiya tezligiga ferment konsentrasiyasi ta’sirini(Volgemut uslubida) aniqlash

Bu ishda so‘lak amilazasidan foydalanib o‘tkazilgan tajriba asosida fermentning konsentrasiyasi substrat vazifasini bajaruvchi kraxmalning miqdoriga qarab aniqlanadi. Xalqaro biokimyogarlarning ittifoqi tavsiyasiga binoan fermentning faollik birligi sifatida uning 1 daqiqa vaqt davomida 1 mkmol substratni yoki 1mk/ekv reaksiyaga jalb qilingan guruhlarni o‘zgarishini ta’minlovchi miqdori qabul qilingan. So‘lak amilazasi faolligini miqdoriy baholash uchun uning qator suyultirish darajasidagi aralashmalari tayyorlanadi, ularga kraxmal qo‘shib, $38^{\circ}C$ li termostatda 30 daqiqa saqlanadi. So‘ng probirkalarga Lyugol eritmasi tomizib (2 tomchi), kraxmalning to‘liq parchalanishi uchun kerakli bo‘lgan so‘lakning maksimal suyultirish ko‘rsatkichi aniqlanadi. So‘lakning suyultirish ko‘rsatkichi va reaksiya muhitiga qo‘shilgan kraxmalning miqdorini bilgan holda suyultirilmagan so‘lakning **1 mlqancha** kraxmalni parchalashi mumkinligi hisoblab topiladi. Olingan ko‘rsatkichni

A^{38*}₃₀ tarzida ifodalanadi. Bu yerda: **30* Creaksiya sodir bo'lgan termostadagi harorat, 30' - termostadagi inkubatsiya vaqti.**

Kerakli biomaterial: so'lak.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan, termostat, 50 ml li byuretka 2 dona, 1 ml li pipetkalar, 10 ml li o'lchovli probirkalar, voronka, shisha tayoqcha.

Kerakli reaktivlar: 1% kraxmal eritmasi, Lyugol eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. 10 ta raqamlangan probirkalar shtativga joylashtiriladi va ularning har biriga byuretkadan 1ml dan suv solinadi. Og'iz bo'shlig'ini distillangan suv bilan chayqagandan keyin so'lakni filtr qog'oz joylashtirilgan voronka orqali probirkaga yig'ib olinadi. Filtrlangan so'lakdan 1 ml o'lchab olib, 10 ml li o'lchovli probirkaga solinadi va uni hajmini 10 ml ga yetkaziladi. Probirkadagi aralashmani shisha tayoqcha yordamida aralashtirgandan keyin undan 1 ml ni pipetka bilan so'rib olib shtativga joylashtirilgan birinchi probirkaga ko'chiriladi va hajmi distillangan suv yordamida 10 ml ga yetkaziladi. Hosil bo'lgan aralashma 3-4 marta pipetkaga so'rib olish va yana probirkaga qaytarish yo'li bilan yaxshilab aralashtiriladi. Keyin birinchi probirkadan 1 ml olib ikkinchi probirkaga solinadi uni hajmi ham suv bilan 10 ml ga yetkaziladi va yana yuqorida keltirilgan tartibda aralashtirib, undan ham 1ml ni olib uchinchi probirkaga ko'chiriladi, hamda so'lakni suyultirish shu tartibda o'ninchi probirkagacha davom ettiriladi. O'ninchi probirkadagi aralashma yaxshilab aralashtirilgandan so'ng undan 1 ml olib tashlab yuboriladi. Probirkalarga byuretkadan 2 ml dan kraxmal eritmasi va 1 ml dan distillangan suv qo'shiladi va yaxshilab aralashtirgandan keyin 30 daqiqaga 38°C li termostatga joylashtiriladi. Bundan keyin probirkalar vodoprovod suvida sovutilib har birini ustiga 1 tomchidan Lyugol eritmasi tomiziladi. Kraxmalning parchalanishi sodir bo'lgan so'lakning eng yuqori suyultirilish ko'rsatkichi aniqlanib amilaza faolligi hisoblab topiladi. Agar kraxmalning parchalanishi 1-4 probirkalarda yuz bergan bo'lsa, tajriba boshlanishidan oldin so'lak 10 martaga, 4 probirkada 16 marta suyultirilganini (umumiy suyultirilishi 1:160) hisobga olib ferment faolligini hisoblab topish mumkin. Shunday qilib proporsiya tuziladi, ya'ni suyultirilishi 1/160 bo'lgan so'lak 2 ml kraxmal eritmasini parchalasa, 1 ml so'lak X ml kraxmalni parchalaydi, bundan:

$$X = \frac{2 \cdot 160}{1} = 320 \text{ ml}$$

kelib chiqadi.

Demak 38°C da 30 daqiqa davomida aniqlangan so‘lak amilazasi faolligi $A_{30}^{38*} = 320$ birlikka teng. Tajriba natijalari quyidagi (12-jadval)cha tarzida rasmiylashtiriladi va tegishli xulosa chiqariladi.

12-jadval

So‘lak amilazasi faolligini uning konsentrasiyasiga bog‘liqligi

Probirk ani tartib №	So‘lakning suyultirilish darajasi	Yod bilan reaksiya (bo‘yalishi)	Fermentning faolligi (sarhisob asosida)
1	1:20		
2	1:40		
3	1:80		
4	1:160		
5	1:320		
6	1:640		
7	1:1280		
8	1:2560		
9	1:5120		
10	1:10210		

36- ish. Fermentlar faolligiga faollovchilar va ingibitorlarning ta’siri.

Ba’zi fermentlarning faolligi reaksiya muhitdagi ionlarning tabiati va konsentratsiyasiga bog‘liq, boshqa fermentlarning faolligi esa unchalik o‘zgarishlarga duch kelmasligi mumkin. Fermentlar faolligini kuchaytiruvchi moddalarni faollovchilar (aktivatorlar), ularning faolligini to‘shib qo‘yuvchi moddalarni ingibitorlar (paralizatorlar) deb yuritiladi. Bu o‘rinda faollovchilarga misol qilib so‘lak amilazasi uchun osh tuzini, pepsin uchun xlorid kislotani, lipaza uchun o‘t kislotalarini, katepsinlar uchun sistein va glyutationni, adenozintrifosfataza uchun magniy va marganesni, yenolaza uchun magniy, rux va marganetsni keltirib o‘tish mumkin.

Ba’zi ionlar, xususan Ag^+ , Hg^+ , Pb^{2+} va boshqalar deyarli hamma fermentlarning faolligini to‘shib qo‘yadi va ularni ingibitorlar deb yuritiladi.

Amilaza fermentini faollovchisi sifatida natriy xlor tuzi, aniqrog‘i xlor ioni xizmat qilsa, ingibitori sifatidagi vazifani mis ioni bajaradi. Agar alohida-alohida olingan 3 ta probirkalarga so‘lak shirasi va kraxmal solib birinchisiga natriy xlor, ikkinchisiga mis sulfat eritmalari va uchinchisiga

suv (nazorat namunasi) qo‘shib fermentativ reaksiya o‘tkazilsa, bir xil vaqt oralig‘ida birinchi probirkada kraxmalning to‘liq parchalanishi, uchinchisida uning dekstrinlarga aylanishi, ikkinchi probirkada esa, umuman parchalanmasligi kuzatiladi. Bu reaksiyalarni sodir bo‘lishini yodli reaksiya orqali aniqlash mumkin bo‘ladi.

Kerakli biomaterial: so‘lak.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan, termostat, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: 1% kraxmal eritmasi, Lyugol eritmasi, 1% natriy xlor eritmasi, 1% mis sulfat eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Uchta probirka olib ularning har biriga 3 ml dan suyultirilgan so‘lak eritmasidan solinadi. So‘ng birinchi probirkaga 1 tomchi 1 % li natriy xlor, ikkinchisiga 1 tomchi 1 % li mis sulfat eritmasidan, uchinchisiga 1 tomchi suv tomiziladi. Aralashmalar yaxshilab aralashtirilgandan keyin ularning har biriga 5 tomchidan 1 % li kraxmal eritmasi qo‘shiladi. Probirkalarni 10 daqiqaga 38°C li termostatga ko‘chiriladi. So‘ng probirkadagi aralashmalarga 1 tomchidan Lyugol eritmasi qo‘shib kraxmalga tegishli bo‘lgan yod reaksiya o‘tkaziladi. Reaksiya natijalari 13-jadval tarzida rasmiylashtiriladi va tegishli xulosalar yasaladi.

13-jadval

So‘lak amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorni ta’siri

T/r	Substrat	Ferment	Muhitga qo‘shilgan modda	Yod bilan bo‘y alishi	Xulosa
1	Kraxmal	Amilaza	1%NaCl		
2	Kraxmal	Amilaza	1% CuSO ₄		
3	Kraxmal	Amilaza	H ₂ O		

O‘tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Fermentlar qanday vazifani bajaradi?
2. Fermentlarni o‘rganish tarixi.
3. Fermentlar biokatalizatorlar sifatida.
4. Fermentlarning kimyoviy tuzilishi.
5. Apoferment, koferment, kofaktor, xoloferment nima?
6. Oddiy oqsil tabiatli va murakkab oqsil tabiatli fermentlar.
7. Kofermentlarning xillari.
8. Koferment nima? Kofaktor-chi?

9. Fermentlarning termolabilligi.
10. Fermentativ reaksiyaning pH ga bog'liqligi. pH optimumi nima?
11. Fermentlarning maxsusligi.
12. Fermentlarning tasniflanishi va nomenklaturasi.
13. Fermentativ reaksiyaning ferment va substrat konsentrasiyalariga bog'liqligi.
14. Fermentativ reaksiyaga faollovchi va ingibitor moddalarning ta'siri.

12–mavzu. Fermentlarni biomateriallardan ajratib olish va faolligini aniqlash

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

Darsning maqsadi: Fermentlarning to'qima va organlardagi lokalizatsiyasi, biomaterialdan ularni ajratib olish va ularning faolligini aniqlashga oid bilim, malaka va ko'nikmalarni shakllantirish hamda mustahkamlash

37- ish. Ayrin fermentlarni biomateriallardan ajratib olish

Kerakli biomateriallar: qoramol (yoki qo'y) oshqozoni (me'dasi).

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

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

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

Ishni bajarish tartibi. Bir bo'lak qoramol me'dasi yaxshilab maydalanadi va uni ustiga 10 hajmda 0,5% xlorid kislota qo'shib 20-30°C

li sharoitda 3-5 soatga tinch qo'yib qo'yiladi. So'ng 4 qavatli doka orqali filtrlanadi, bunda qolgan qoldiq ustiga 5 hajmda 0,5 % li xlorid kislotaga qo'shib yana 3-5 soatga ekstraktsiya uchun qo'yiladi. Ekstrakt 4 qavatli doka orqali filtrlanib, filtrat oldingi filtrat bilan birlashtiriladi. Filtratni natriy xlorning kukuni yordamida 15 % gacha to'yintiriladi. Hosil bo'lgan cho'kma sentrifugalash asosida cho'ktiriladi. Cho'kmani yana 0,5 % li xlorid kislotada eritilib, qaytadan natriy xlor yordamida cho'ktiriladi va sentrifugalanadi. Cho'kmani vakum eksikatorga joylashtirib, unda namini so'rib olish yo'li bilan quritiladi va keyingi tajribalarda foydalanish uchun olib qo'yiladi.

2-tajriba. Oshqozon osti bezidan lipazali ekstrakt ajratib olish

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

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

Kerakli reaktivlar: distillangan suv

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

3-tajriba. Saxaraza fermenti preparatini achitqidan ajratib olish

Kerakli biomateriallar: achitqi.

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

Kerakli reaktivlar: distillangan suv, aseton.

Ishni bajarish tartibi. Achitqidan 20 g olib chinni hovonchaga solinadi va shisha bo'lakchalari qo'shib yanchiladi. Aralashmaga doimo aralashtirgan holda kam kamdan qo'shib borib jami 40 ml distillangan suv qo'shiladi va yana shisha hovonchada yanchiladi. Hosil bo'lgan massa 10 daqiqa davomida 3000g/min tezlikda sentrifugalanadi (yoki filtrlanadi). Filtrat yoki sentrafugat vakum eksikatorga o'tkazilib, 35°Cda bug'lantirilib

hajmi kamaytiriladi va sovitgichda -20°C gacha sovitilgan atseton ustiga qo‘shib aralashtirgandan so‘ng sentrifugalanadi. Cho‘kma shisha plastinkaga ko‘chirilib, 38°C da quritiladi. Shu yo‘sinda ajratib olingan **saxaraza** preparatini yaxshi berkitiladigan idishga solib sovitqichda saqlaganda uzoq muddat davomida o‘z faolligini yo‘qotmaydi.

4-tajriba. Loviya o‘simligi urug‘idan ureaza preparatini ajratib olish

Keraklibiomateriallar: loviya o‘simligi urug‘i.

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

Kerakli reaktivlar: petroley efiri, distillangan suv.

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

13-mavzu. Fermentlarni sifatini aniqlash

Ma‘lumki, fermentlar organizmning xilma-xil to‘qimalarida uchraydi va turli funksiyalarni bajaradi hamda izofermentlar bir xil fermentlarning har xil to‘qimalarida uchrashi bilan tavsiflanganligini inobatga olib, ularga xos sifatli reaksiyalarni o‘tkazish muhim ahamiyatga ega. Bu fermentlarning termolabiligi, maxsusligi hamda ularning katalizlaydigan reaksiyalarini vadorod ionining ma‘lum chegarasida amalga oshirilishini inobatga olganda fermentlar bilan o‘tkaziladigan sifat reaksiyalarining ahamiyati ayon bo‘lib qoladi.

Darsning maqsadi: Bundan oldingi mavzuni o‘tishda ajratib olingan yoki boshqa to‘qimalardan ajratib olingan fermentlarga xos sifatli reaksiyalarni bajarish ko‘nikmasini egallash va bu sohaga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

38–Ish. Fermentlarga xos sifat reaksiyalari

Kerakli biomaterial: 30-ishning 1- tajribasida ajratib olingan pepsin preparati

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar.

Kerakli reaktivlar: fibrin (qon ivishidan hosil bo'lgan oqsil), pepsin preparatini 0,2 % xlorid kislotadagi eritmasi, fenolftaleinning 0,01% li eritmasi, 0,1 N natriy ishqori.

1-tajriba. Pepsinning fibringa ta'siri.

Ishni bajarish tartibi. To'rtta probirka olib ularning hammasiga teng miqdorda fibrin tolalari(qon iviganda hosil bo'lgan oqsil) solinadi. Bundan keyin birinchi probirkaga 30 -ishning 1 -tajribasida ajratib olingan pepsin preparatini 0,2 % li xlorid kislotadagi eritmasidan 5 ml, ikkinchisiga xuddi shu eritmadan 5 ml, lekin uni fenolftalein ishtirokida 0,1N natriy ishqori bilan neytrallangandan keyin, uchinchisiga 5 ml pepsinli eritmani qaynatgandan keyin, to'rtinchisiga pepsinsiz 0,2 % li xlorid kislotani o'zidan yana 5 ml qo'shiladi. Hamma probirkalar shtativga joylashtirilib 38°C li termostatga 30 daqiqaga ko'chiriladi. Bunda birinchi probirkada fibrinning to'liq parchalanishi ko'zga yaqqol tashlanadi. Ikkinchi probirkada neytral muhitda pepsinning ta'siri kuchsiz(unga nordon muhit talab qilinadi) oqsilning biroz shishganini sezish mumkin. Uchinchi probirkada pepsinli preparat qaynatilganligi sababli ferment denaturatsiyasiga uchragan va umuman reaksiya sodir bo'lmaydi. To'rtinchi probirkada ham umuman o'zgarish bo'lmaydi.

2- tajriba. Lipazani ta'sir etish kinetikasini aniqlash

Kerakli biomaterial: 30- ishning 2- tajribasida ajratib olingan lipazali preparat.

Kerakli jihozlar: termostat, byuretk, probirkalar, stakanchalar.

Kerakli reaktivlar: 0,05 N natriy ishqori, fenolftaleinning 0,01 % li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Oltita stakancha olib, ularning hammasiga 1 ml dan qaymoq emulsiyasi va 5 tomchidan 30- ishning 2- tajribasida ajratib

olingan lipazali preparatdan 5 tomchi tomiziladi. Bundan keyin birinchi probirkaga 1 tomchi fenolftaleinning 0,01 % li eritmasidan qo'shiladi va aralashmani 0,05 N natriy ishqori yordamida gulobi rang hosil bo'lgunga qadar titrlanadi. Qolgan stakanchalar 38°C li termostatga ko'chiriladi. Bu stakanchalarni ikkinchisidan boshlab beshinchisigacha har 10 daqiqa oralig'ida bittadani fenolftalein ishtirokida 0,05 N natriy ishqori yordamida titrlanadi. Titrlash natijalari qayd qilinib, tegishli xulosalar keltirib chiqariladi.

3-tajriba. Saxarazani faolligini sinab ko'rish

Kerakli biomaterial: 30-ishning 3- tajribasida ajratib olingan saxarozali preparat.

Kerakli jihozlar: Termostat, byuretk, shtativ, probirkalar.

Kerakli reaktivlar: Trommer eritmasi (tayyorlash: 2 ml 10% li natriy ishqori eritmasiga 1 ml 5 % li mis sulfat qo'shiladi), Selivanov reaktivi (tayyorlash: 0,05 g rezorsinga ikki marta suyultirilgan xlorid kislotadan 100 ml qo'shiladi) saxarozani 5 % eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ikkalasiga ham 1 ml dan 30- ishning 3- tajribasida ajratib olingan saxarazaning 0,01% li eritmasidan solinadi va ikkinchi probirkadagi saxaraza fermentini denaturatsiyalash maqsadida qaynash darajasigacha qizdiriladi. So'ng ikkala probirkani shtativga joylashtirilib har biriga 3 ml dan saxarozaning 5 % li eritmasidan qo'shib 20 daqiqaga 40°C li termostatga ko'chiriladi. Bundan keyin birinchi va ikkinchi probirkalardagi aralashmalarning har biri yana ikkitadan probirkalarga bo'linadi va ularning birinchilari bilan Trommer, ikkinchilari bilan Selivanov reaksiyalari o'tkaziladi. Reaksiya natijasida birinchi probirkaning ikkala bo'lagi bilan o'tkazilgan reaksiyalar ijobiy bo'ladi. Chunki bunda saxaroza ta'sirida saxaroza parchalanib glukoza (Trommer reaksiyasi) va fruktoza (Selivanov reaksiyasi) ga aylanadi. Ikkinchi probirkadagi aralashmalarning ikkala bo'lagida ham ferment faolsizlanganligi sababli saxaroza parchalanmaydi va reaksiyalar ijobiy bo'lmaydi.

4-tajriba. Ureaza fermentini faolligini sinab ko'rish

Kerakli biomaterial: 30-ishning 4- tajribasida ajratib olingan ureaza preparati.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, suv hammomi, pipetkalar

Kerakli reaktivlar: 1% li siydikchil eritmasi, fenolftaleinning 0,01 % li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 2 ml 1% li siydikchil eritmasi solib, ustiga bir tomchi 0,01 % li fenolftalein va 30-ishning 4- tajribasi asosida ajratib olingan ureaza preparatining 0,02 % li eritmasidan 1ml solinadi. Aralashmani 40°C li suv hammomiga ko'chirib 30 daqiqa tutib turiladi. Boshqa probirkada xuddi shunday tartibdagi reaksiyani ureazali eritmani qaynash darajasigacha qizdirgandan keyin amalga oshiriladi. Bunda ureaza fermenti siydikchilga ta'sir etib, uni gidrolizi natijasida ammiak hosil bo'lganligi sababli birinchi probirkada muhit reaksiyasi ishqoriy tomonga o'zgarib aralashma to'q qizil rangga bo'yaladi. Ikkinchi probirkadagi aralashmani rangi o'zgarmaydi, chunki uni tarkibidagi ureaza fermentini qizdirganda faolsizlangan va siydikchil parchalanmaydi.

5-Tajriba. Tirozinaza(o-difenoloksidaza) ga xos sifat reaksiyalari

A. Kartoshka shirasi tarkibidagi tironazani aniqlash

Kerakli biomaterial: kartoshkani shirasi.

Kerakli jihozlar: termostat, spirt lampa, shtativ, probirkalar,

Kerakli reaktivlar: 0,01 M tirozin aminokislota eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib ularga 10 tomchidan kartoshka shirasi solinadi. Probirkalardan biri qaynash darajasigacha qizdiriladi. So'ng har ikkala probirkaga 2 tomchidan tirozinning 0,01 M eritmasidan 2 tomchidan tomizilib aralashmalar 30 daqiqaga 40°C li termostatga ko'chiriladi. Bunda qizdirilmagan probirkadagi aralashmaning rangi qorayib ketadi. Qizdirilgan probirkada esa hechqanday o'zgarish ko'zga tashlanmaydi.

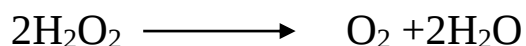
B. Qon katalazasiga oid sifat reaksiyasi.

Kerakli biomaterial: qon (fibrindan xolis qilingan).

Kerakli jihozlar: Shtativ, probirkalar, elektroplitka.

Kerakli reaktivlar: 1 % livodorod peroksidi .

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 15 tomchi 1 % li vodorod peroksidi solinib, unga bir tomchi qon qo'shiladi va bunda probirkadagi aralashmadan pufakchalarning jadal ajralishi kuzatiladi. Xuddi shu **reaksiyaboshqa** probirkada bir tomchi qizdirilgan qon bilan o'tkazilganda katalaza faolligi namoyon bo'lmaydi. Chunki qizdirganda qon tarkibidagi katalaza faolsizlanadi. Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



V. Mushak tarkibidagi katalazaga xos reaksiya.

Kerakli biomaterial: mushak to'qimasi.

Kerakli jihozlar: qaychi, chinni hovoncha, elektroplitka, shisha bo'lakchalari, voronka, filtr qog'oz, distillangan suv, 3 % li vodorod peroksidi.

Kerakli reaktivlar: 3 % li vodorod peroksidi

Ishni bajarish tartibi. Mushak to'qimasini kichik bo'lakchasini (5 g atrofida) qaychi yordamida maydalab, ozgina shisha bo'lakchalari bilan birgalikda chinni hovonchada yanchiladi va ustiga teng hajmda suv qo'shiladi. Suvli ekstrakt filtr orqali filtrlangandan keyin filtratga 1 ml 3 % li vodorod peroksidi solinadi. Bunda jadal ravishda kislorod pufakchalarini chiqishi ko'zga tashlanadi. Boshqa probirkada xuddi shu xildagi reaksiya oldin qaynatilgan mushak ekstrakti bilan o'tkazilganda aralashmada o'zgarish kuzatilmaydi.

6-tajriba. Qon tarkibidagi peroksidazasiga xos sifat reaksiyasi

Kerakli biomaterial: qon

Kerakli jihozlar: pipetkalar, probirkalar, turli hajimdagi kolbalar.

Kerakli reaktivlar: distillangan suv, benzidin eritmasi, vodorod peroksid.

Peroksidaza fermenti fenol va aminlarni vodorod peroksidi ishtirokida katalizlaydi. Misol tariqasida benzidinni difenoxinondiaminga oksidlanish reaksiyasida peroksidazani ishtirok etishini ko'rsatish mumkin.

Ishni bajarish tartibi. Oldin qonning asosiy eritmasi tayyorlanadi. Buning uchun mikropipetka yordamida barmoqdan 0,05 ml qon olinadi, uni taxminan 5 ml suv solingan kolbaga ko'chiriladi, yaxshilab aralashtirgach ustiga yana 15 ml cha suv qo'shiladi. So'ng bu aralashmalardan ikkita probirkaga 2-3 ml dan pipetka yordamida solinadi. Probirkalardan biri (nazorat) 1-2 daqiqa davomida qaynatiladi va sovutiladi. Bundan keyin ikkala probirkaga 0,5 ml dan benzidin eritmasidan va 4-5 tomchi vodorod peroksidi eritmasidan qo'shiladi. Nazoratdagi va tajribadagi probirkalar yana aralashtiriladi. Qaynatilmagan qon bor probirka (tajriba varianti) da ko'k rang hosil bo'ladi.

O'tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Lipaza fermentini oshqozon osti bezidan qanday ajratib olinadi?

2. Saxaraza fermentini achitqidan ajratib olish qanday amalga oshiriladi?
3. Achitqidan saxaraza fermentini ajratib olinganligini qanday sinab ko'rish mumkin?
4. Ureaza fermenti (loviyadan ajratib olingan) faolligini qanday sinab ko'rish mumkin?
5. Kartoshka shirasi tarkibidagi tirozinazani borligini qanday aniqlanadi?
6. Qon tarkibida katalaza fermenti borligini qanday aniqlanadi?
7. Mushak katalazasini aniqlash uchun o'tkaziladigan tajribani o'tkazish tartibini bayon qiling.
8. Qon tarkibidagi peroksidaza fermenti faolligi qanday aniqlanadi?

KARBONSUVLAR BIOKIMYOSI

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

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

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

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

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

4. Karbonsuvlar boshqaruv vazifasini ham bajaradi. Masalan, oziq moddalar bilan qabul qilingan kletchatka (sellyuloza) ichak ximusi tarkibida bo'lganida, ichak vorsinkalarini mexanik qo'zg'atib, ichak peristaltikasini faollashtiradi. Bu esa ichakda ovqat hazm bo'lishini tezlashtiradi. Xuddi shunday, monosaxaridlar ichki muhit barqarorligini - gomeostazni saqlashda ham qatnashib, osmotik bosim hosil qilishda faollik ko'rsatadi.

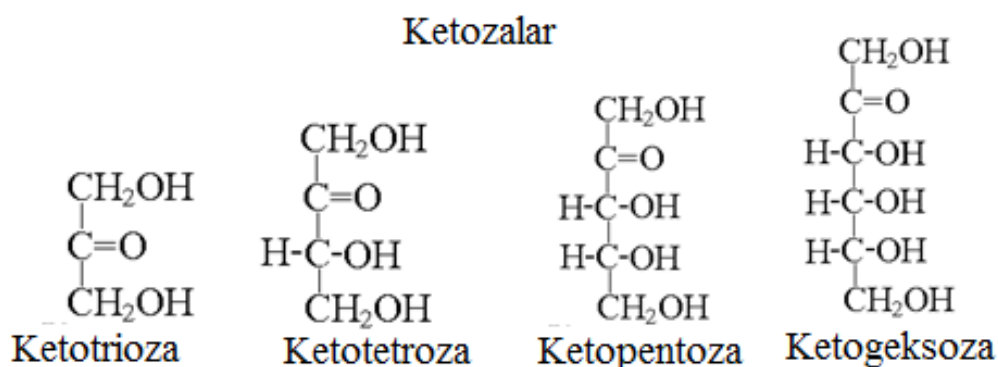
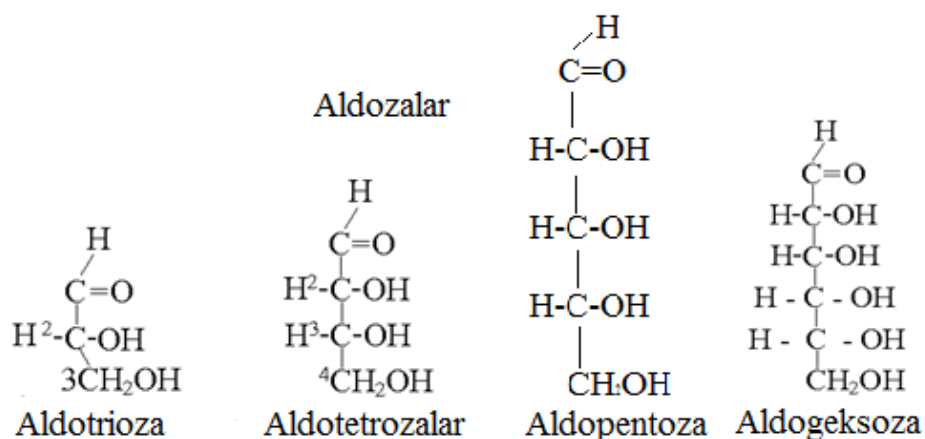
Eng muhimi, karbonsuvlar maxsus vazifalarni ham bajarishda ishtirok etadi. Jumladan, glikoprotein tabiatli murakkab moddalar har xil guruhdagi qonning antigenli xususiyatini oshiradi, ular asab hujayrasiga ko'p miqdorda uchrab, asab impulsini o'tkazishda ham qatnashadi. Ayrim glikoproteinli fermentlar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

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

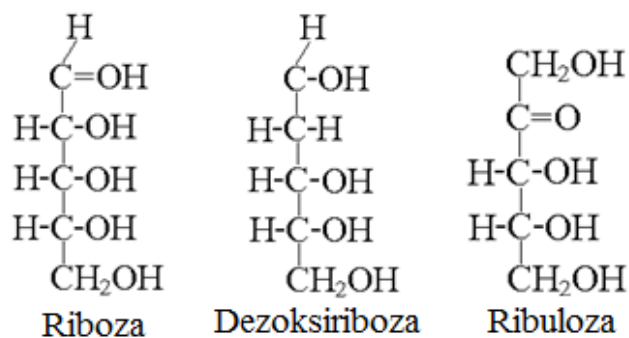
Karbonsuvlar tarkibi va xossalriga qarab uch guruhga bo'linadi: monosaxaridlar, oligosaxaridlar va polisaxaridlar(glikanlar).

Monosaxaridlar

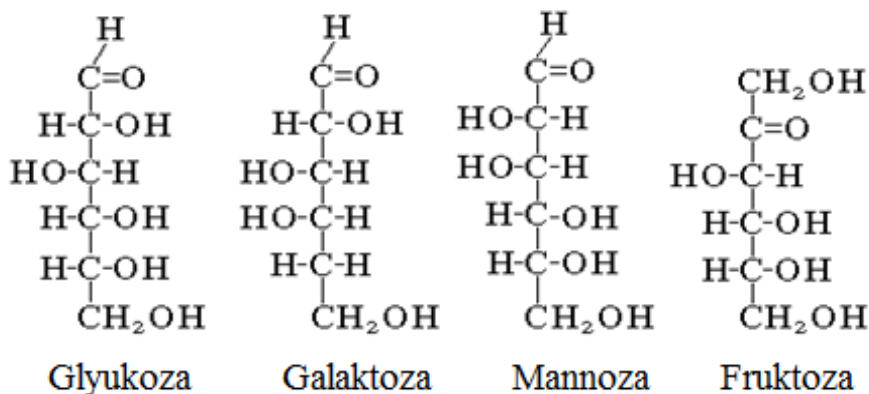
Monosaxaridlar yoki oddiy karbonsuvlar. Ularning umumiy tarkibi $(CH_2O)_n$ bo'lib, n - ning soni 3 dan 9 gacha bo'ladi. Ular o'z navbatida tarkibidagi uglerod atomining soniga qarab, trioza / $C_3H_6O_3$ / , tetroza / $C_4H_8O_4$ / , pentoza / $C_5H_{10}O_5$ / , geksoza / $C_6H_{12}O_6$ / , geptoza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



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



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

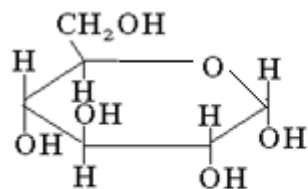


Ulardan, glukoza yoki uzum shakari tabiatda uzum shirasida (15%), mevalarda, barglarda, ildizlarda, gullarda hamda qonda (0,08-0,12%), mushaklarda (0,01%), miokardda (0,03), miyada (0,06%) uchraydi.

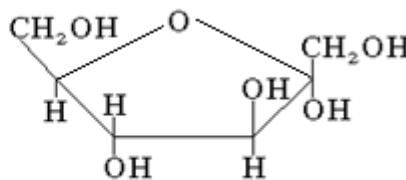
Fruktoza ham mevalarda, gulshira (nektar) da, asalda (60%gacha), uchraydi, u saxaroza va boshqa oligosaxaridlarning tarkibiga kiradi. U organizmda osonlik bilan glukoza izomerlanadi:



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



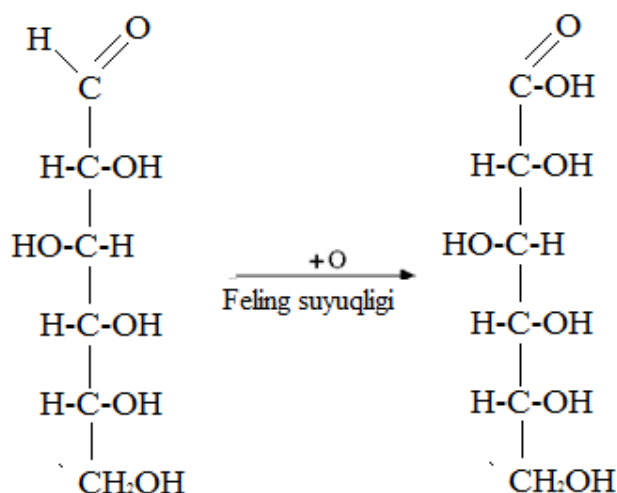
Glyukoza



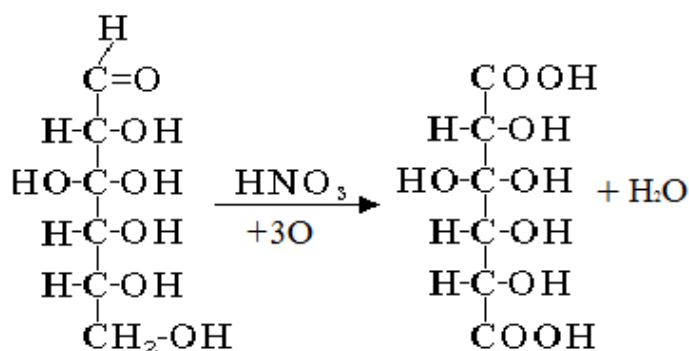
Fruktoza

Kimyoviy xossalari bo'yicha monosaxaridlar uchun quyidagi reaksiyalar tavsiflidir:

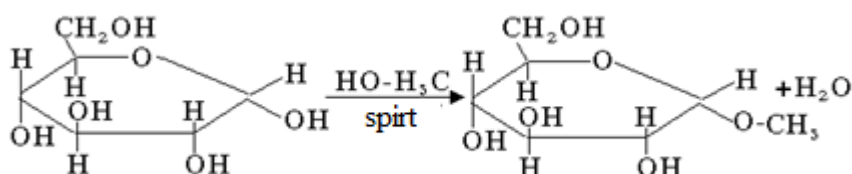
1). Feling suyuqligi ta'sirida oksidlanib glyukonat kislotasiga aylanadi:



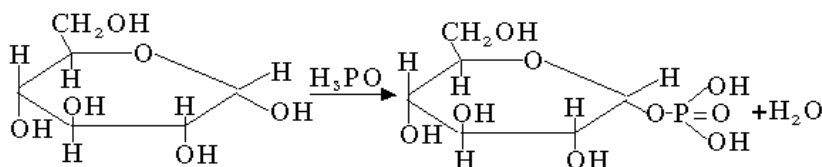
2). Oksidlovchilar ta'sirida 1- va 6 - uglerod atomlari oksidlanib, ikki asosli qand kislotasini hosil qiladi:



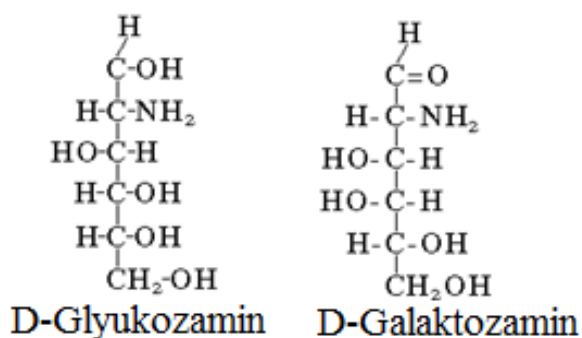
3). Zanjirli shakldagi monosaxaridlar spirtlar bilan ta'sirlashib, oddiy efir - glikozidlar hosil qiladi:



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

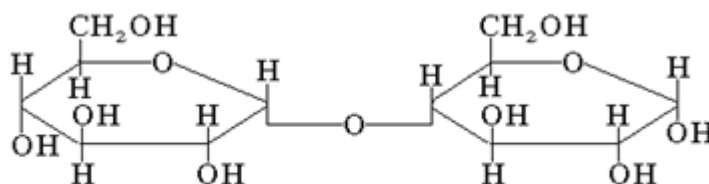


5). Aldozalar molekulasining 2- uglerod atomidagi gidroksil guruhini aminoguruhga almashtirish hisobidan aminoshakarlarga aylanadi, tabiatda ana shunday aminoshakarlardan D - glukozamin bilan D - galaktozamin, xitin, geparin, mukopolisaxaridlar va bakteriyalarning polisaxaridlari tarkibida uchraydi:



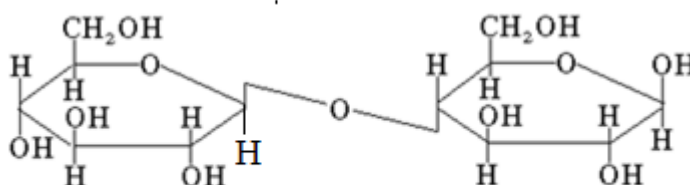
Oligosaxaridlar tarkibi bo'yicha monosaxaridlarning anhidridlaridir. Tarkibiga qarab di-, tri-, tetra- va boshqa saxaridlarga bo'linadi. Ulardan biologik ahamiyatga ega bo'lganlari disaxaridlar va trisaxaridlardir.

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



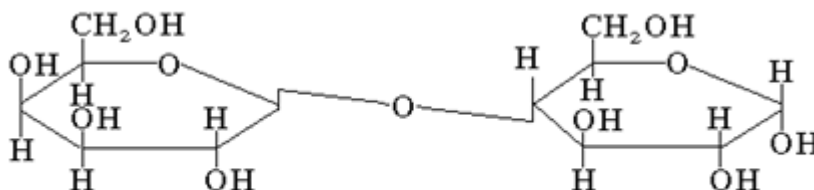
Maltoza

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



Syellobioza

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



Laktoza-sut shakari

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

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

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

14-mavzu. Monosaxaridlarga xos sifat reaksiyalari

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

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

39-ish. Aldozalarga xos ayrim sifat reaksiyalari

Biomaterial: uzum yoki olma shirasi

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

Kerakli reaktivlar: karbonsuvli modda, α -naftolning spirtidagi 10% li eritmasi, konsentrlangan sulfat kislota, Selivanov reaktivi (tayyorlash: rezorsindan 0,5 g tarozida tortib olib, xlorid kislota bilan hajmini 100 ml ga etkaziladi), fruktozaning 1% li eritmasi, ribozaning 1% li eritmasi, **orsin reaktivi (tayyorlash: 1 g orsin 500 ml 30 % li xlorid kislota eritiladi unga 4-5 ml 10% li temir xlorid qo'shiladi, shu yo'sinda tayyorlangan reaktiv yaxshilab berkitilgan holatda qorong'i joyda saqlanadi);** difenilamin eritmasi (tayyorlash; 10 ml muz sirka kislota 100 mg difenilamin eritilib ustiga 0,28 ml konsentrlangan sulfat kislota qo'shiladi), dezoksiribozaning 1% li eritmasi, konsentrlangan H_2SO_4 .

1-tajriba. Karbonsuvlarni α -naftol yordamida aniqlash

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

Ishni bajarish tartibi. Tekshirilayotgan eritmada 2 ml yoki tarkibi karbonsuvli qattiq moddadan 0,1 g olib, 1 ml suvda eritiladi, ustiga α -naftolning 10% spirtli eritmasidan 2 tomchi tomiziladi va probirka devoridan ohistalik bilan 1 ml konsentrlangan H_2SO_4 qo'shiladi. Sulfat kislota zichligi katta bo'lgani uchun probirka tagiga cho'kib, suyuqlik ikki

qavatga bo‘linadi. Xuddi shu ikki qavat chegarasida binafsha rang (halqa) hosil bo‘ladi.

2-tajriba. Pentozalarni orsin reaktivi yordamida anqlash

Pentozalar kislotali muhitda temir (III)-xlorid ishtirokida orsin reaktivi bilan yashil rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiya pentozalarning kislota ta’sirida furfuroлга aylanishini tasdiqlaydi.

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 ml riboza yoki tarkibida pentoza bo‘lgan tekshiriluvchi eritma quyilib, unga teng hajmda orsin reaktividan qo‘shiladi. Aralashma qaynayotgan suv hammomida 20 daqiqa qizdiriladi. Agar tekshirilayotgan suyuqlikda pentoza yoki uning hosilasi bo‘lsa, probirkadagi eritma yashil rangga kiradi.

3-tajriba. Dezoksiribozani difenilamin yordamida aniqlash

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

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

40-ish. Aldozalarning qaytaruvchanlik xossalari

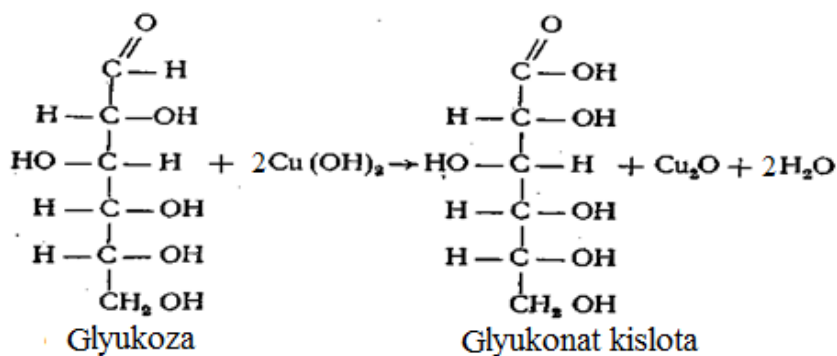
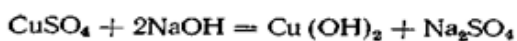
Kerakli jihozlar: 1; 2; 5 ml li pipetkalar, suv hammomi, 50 ml li byuretk, shtativ, probirkalar, gaz gorelkasi yoki spirt lampa.

Kerakli reaktivlar: 1% li glukoza eritmasi, 10% li NaOH, 5% li mis sulfat, 1% li laktoza eritmasi, 1% li maltoza eritmasi, 1% saxaroza eritmasi, Nilander reaktivi (tayyorlash: 2 g vismut sulfatga va segnet tuzi 100 ml 10% li NaOH eritmasida qaynayotgan suv hammomida qizdirish yo‘li bilan eritiladi, sovutilgandan keyin filtrlanadi), Feling suyuqligi (tayyorlash: 1). 34,6 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 500 suvda eritiladi; 2). 172 g segnet tuzi va **70g NaOH 500g** suvda eritilib alohida saqlanadi. Foydalanishdan oldin (1) va (2) eritmalar teng hajmda aralashtiriladi); Barfed reaktivi (tayyorlash: 13,3 g mis asetat 100 ml distillangan suvda eritiladi. Eritmani filtrlangandan keyin unga 1,9 ml muz sirka kichlota qo‘shiladi), 1%-fruktoza eritmasi; 1%-saxaroza eritmasi; konsentrlangan xlorid kislotali rezorsinning kristallari.

Monosaxaridlar ishqoriy muhitda og‘ir metall gidroksidlarini, masalan, mis (II)-gidroksidni mis (I)-oksidiga, vismut oksidini metall holatgacha, kumush gidroksidni erkin kumushgacha qaytarish xossasiga ega. Bu reaksiyalar monosaxaridlarni sifat va miqdoriy jihatdan aniqlashda qo‘llaniladi. Tarkibida erkin aldegid guruh bo‘ladigan disaxaridlar — maltoza, laktoza va sellobiozalar ham qaytaruvchi xossaga ega. Bu shakarlarning oksidlanishi ishqoriy muhitda oson, neytral sharoitda qiyinroq, kislotali sharoitda esa juda qiyin boradi.

1-tajriba. Trommer reaksiyasi

Monosaxaridlar ishqoriy muhitda mis (II)- gidroksidni mis (I)-oksidgacha qaytaradi, bu reaksiya natijasida reaksiya uchun olingan aldozalarga mos kelgan kislotalar hosil bo‘ladi:



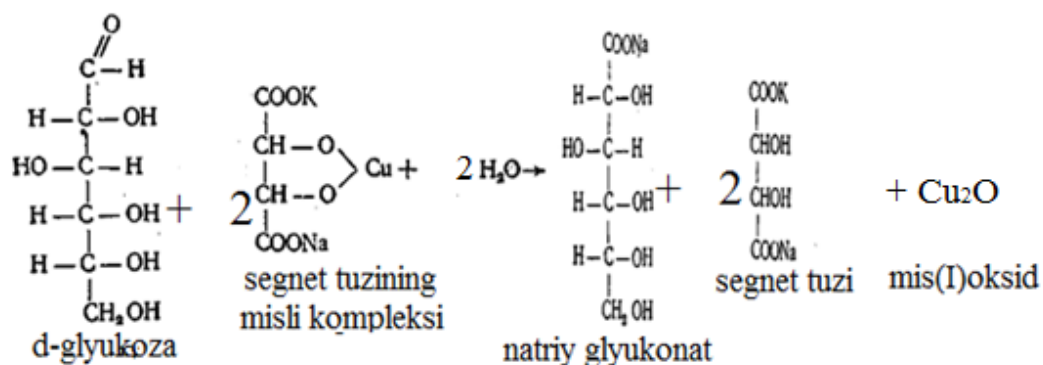
Reaksiya mahsuloti sifatida qizil rangli mis (I)-oksid hosil bo‘ladi. Bu reaksiyaning kamchiligi shundaki, agar tekshirilayotgan eritmada shakar juda oz bo‘lsa, ortiqcha miqdorda hosil bo‘lgan mis (II)-gidroksid qizdirilganda parchalanib, qora rangli mis (II)-oksidiga aylanadi. Natijada juda oz miqdorda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

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 % li glukoza eritmasidan 1-2 ml quyib, uning ustiga teng hajmda 10% li NaOH eritmasi qo‘shiladi. Aralashmaga chayqatib turilgan holatda tomchilatib 5% li mis sulfat eritmasidan 1 ml qo‘shiladi. So‘ngra ohistalik bilan probirkadagi suyuqlik qizdiriladi. Avval sariq rangli loyqa paydo bo‘lib(CuOH), vaqt o‘tishi bilan qizil rangli Cu₂O hosil bo‘ladi.

2-Tajriba. Feling reaksiyasi

Uglevodlarning qaytaruvchanlik xossasini aniqlash uchun ko‘p hollarda Feling reaktividan foydalaniladi. Bu reaktiv tarkibidagi ikki valentli mis ioni

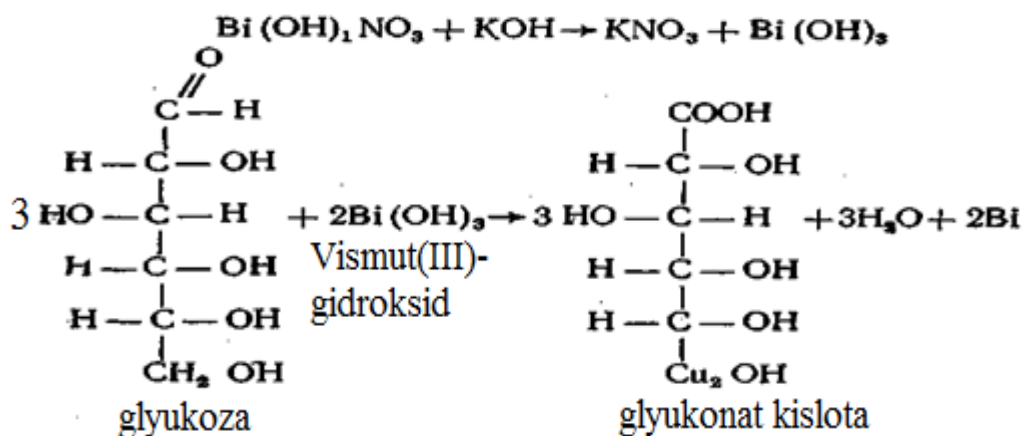
segnet tuzi (vino kislotaning natriy-kaliyli tuzi) molekulasida bog'langan holatda bo'lib, oksidlanish-qaytarilish reaksiyasiga erkin kirisha oladi. Reaksiya mexanizmi Trommer reaksiyasi bilan bir xil bo'lib, faqat aniqlashga xalaqit berishi mumkin bo'lgan mis (II)-oksid hosil bo'lmaydi. Bu reaksiya asosida glukozani miqdoriy jihatdan aniqlash usuli ham ishlab chiqilgan:



Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 % li glukoza eritmasidan 1-2 ml **solib**, unga teng hajmda Feling reaktividan qo'shiladi va aralashma ohistalik bilan qaynaguncha qizdiriladi. Reaksiya natijasida qizil rangli mis (I)-oksid cho'kmasi hosil bo'lishi kuzatiladi. Bu reaksiyani boshqa uglevodlar xususan qaytaruvchidisaxaridlar — maltoza, sellobioza valaktozalar ham beradi, qaytarmovchi saxaroza va tregaloza shuningdek,kraxmal bu reaksiyani bermaydi, chunki ular qaytaruvchanlik xossasiga ega emas.

3- tajriba. Nilander reaksiyasi

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



Ishni bajarish tartibi 1-2 ml glukoza eritmasiga 0,5-1 ml Nilander reaktividan qo'shib, 2 daqiqa davomida ohista qaynatiladi. Bunda vismut gidroksidi **qaytarilibavval** jigar rang oraliq reaksiya mahsuloti, keyin qora qaytarilgan vismutni cho'kmasi hosil bo'lishi kuzatiladi.

4-tajriba.Barfed reaksiyasi

Monosaxaridlar mis atsetatning nordon eritmasi ta'sirida ham oksidlanadi, bunday sharoitda disaxaridlar amalda oksidlanmaydi. Bu reaksiyani birinchi bo'lib Barfed o'tkazgani uchun shu olimni nomi bilan yuritiladi va biologik obyektlardagi bu ikki grupp shakarlarni bir-biridan farq qilishda qo'llaniladi.

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5 ml Barfed reaktividan quyib, 1% li glukoza eritmasidan 1 ml qo'shiladi va suv hammomida 10 daqiqa davomida qizdiriladi. Bu vaqtda qizil rangli mis (I)-oksid cho'kmasi hosil bo'ladi.

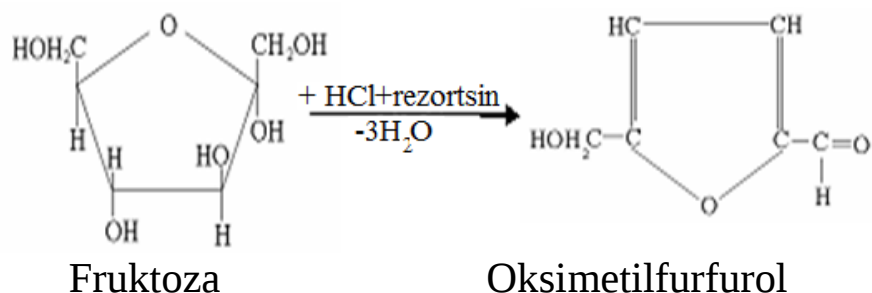
41-ish.Ketozalarga xos Selivanov reaksiyasi

Ketozalar aldozalarga nisbatan kimyoviy jihatdan farq qiladi, ular aldozalarga tegishli yuqorida keltirilgan rangli reaksiyalariga ham, qaytaruvchanlik reaksiyalariga ham kirishmaydi.

Fruktoza va boshqa ketogeksozalar konsentrlangan xlorid kislotasi va rezorsin ishtirokida qizdirilganda eritma olcha-qizil rangga bo'yaladi. Hosil bo'layotgan rang ketozalarni kislota bilan qizdirganda rezorsin bilan fruktozadan oksimetilfurfurol, ribulozadagi furfurol hosil bo'ladi. Bu reaksiyani birinchi bo'lib Selivanov tomonidan taklif qilingan bo'lib, uning nomi bilan yuritiladi.

Ishni bajarish tartibi. Bitta probirkaga 2ml 1%-fruktoza eritmasi va ikkinchisiga 2 ml 1%-saxaroza eritmasini quyiladi, har ikkala probirkaga 1 ml dan konsentrlangan xlorid (HCl) kislotasi va rezorsinning kristallaridan bir nechtasini qo'shiladi. Probirkalarni qaynayotgan suv hammomiga joylashtiriladi, birozdan keyin fruktozali probirkada eritmani olcha-qizil rangga bo'yalishi kuzatiladi, saxarozali probirkadagi aralashma ham saxarozaning gidrolizi natijasida ozroq miqdorda bo'lsada fruktoza hosil bo'lishi uchun xuddi shunday rangga bo'yaladi, lekin xosil bo'lgan rang ancha ochroq bo'ladi.

Reaksiya tenglamasini quyidagicha ifodalash mumkin:



O‘tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

1. Karbonsuvlarning umumiy formulasi qanday?
2. Organizmda karbonsuvlarning ahamiyati.
3. Karbonsuvlarning tasniflanishi.
4. Karbonsuvlarning tabiiy manbalari.
5. Aldozalarga xos sifat reaksiyalari.
6. Aldozalarning α - naftol bilan kechadigan reaksiyasini bayon qiling.
7. Aldozalarning orsin bilan kechadigan reaksiyasini bayon qiling.
8. Aldozalarning difenilamin bilan kechadigan reaksiyasini bayon qiling.
9. Aldozalarga xos qaytaruvchanlik reaksiyalari.
10. Qaysi disaxaridlar qaytaruvchanlik reaksiyalariga kirishadi?
11. Ketozalarga xos sifat reaksiyasini keltiring.
12. Trommer reaksiyasi natijasida nima kuzatiladi?
13. Feling reaksiyasi qanday kechadi?
14. Barfed reaksiyasini tavsiflang.
15. Nilander reaksiyasini tavsiflang.
16. Selivanov reaksiyasi qanday kechadi?

Polisaxaridlar

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

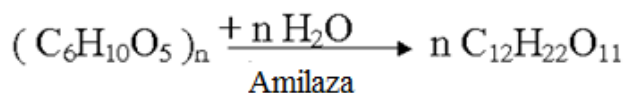
Ayrim polisaxaridlar o‘simlik va hayvon organizmlarida, ularning tana tuzilishini hosil qilishda qatnashadi va mexanik mustahkamligini ta‘minlaydi. Ularga kletchatka (o‘simliklarda), xitin (hasharotlarda) moddalari kiradi. Polisaxaridlarning o‘simliklardagi kraxmal va inulin,

hayvonlardagi glikogen kabi vakillari oziq mahsulotidir. Bulardan tashqari bakteriyalar va zamburug‘lar tarkibida ham geteropolisaxaridlar uchraydi.

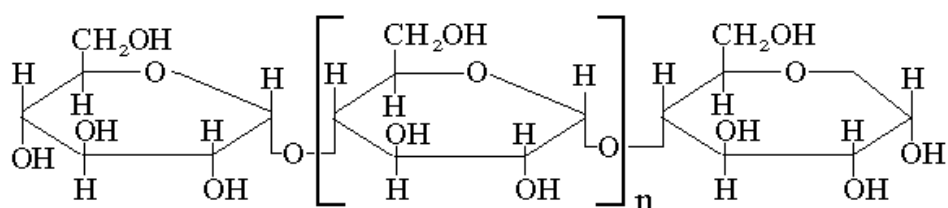
Polisaxaridlarning ko‘pchiligi oqsillar bilan murakkab birikmalar hosil qiladi, glukoproteinlar, mukoproteinlar shular jumlasidandir.

Kraxmal. U o‘simliklarda fotosintez jarayonida hosil bo‘lib, o‘simliklarning donida, ildizmevalarida, tuganak mevalarida va boshqa qismlarida zahira oziq modda sifatida (kraxmal donachalari holida) jamg‘ariladi. Uning miqdori bug‘doyda 75%, guruchda 80%, kartoshka to‘ganaklarida 12-24%, o‘simlik barglarida 4% atrofida bo‘ladi. Kraxmal sovuq suvda erimaydi, lekin 60-80°C gacha isitilgan suvda bo‘kadi va kraxmal kleysteri deb ataladigan kolloid eritmaga aylanadi. Kraxmal molekulası kimyoviy sof modda emas, uning 96-97% ini amiloza va amilopektin kabi polisaxaridlar, qolgan qismini mineral moddalar (asosan, fosfat kislota), yuqori yog‘ kislotalari (stearinat, palmitat va boshqalar) tashkil etadi. Kartoshka kraxmali tarkibida amiloza polisaxaridi 19-22%ni, amilopektin esa 78-81%ni tashkil etadi. Bundan tashqari amilozaga nisbatan amilopektin yuqori molekulali polimerdir. Agar amilozaning molekulyar massasi $2 \cdot 10^4 - 2 \cdot 10^5$ atrofida bo‘lsa, ya‘ni million u.b. atrofida bo‘lsa, amilopektinning mol massasi $1 \cdot 10^5 - 2 \cdot 10^6$, ya‘ni yuz million u.b. atrofida bo‘ladi. Agar har ikkala polisaxarid ham gidrolizlansa D - glukoza molekulari ajralib chiqadi. Amiloza suvda eriydi va yod ta‘sirida to‘q ko‘k rang hosil qiladi, amilopektin esa suvda erimaydi, yod ta‘sirida binafsha rang hosil qiladi. Kraxmal kleysterining yopishqoqligi amilopektin xususiyatidan kelib chiqadi.

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

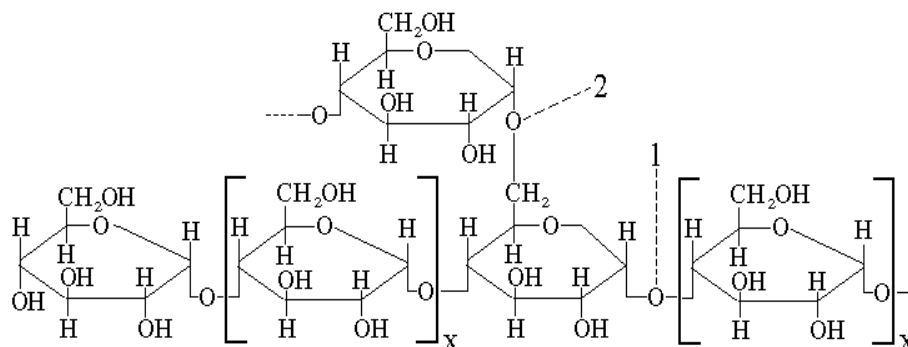


Disaxarid maltozaning tuzilishida 1,4 bog‘i bilan birikkan D - glukoza bo‘lganidan, polisaxarid amilozaning tuzilishini ham shunday izohlash mumkin:

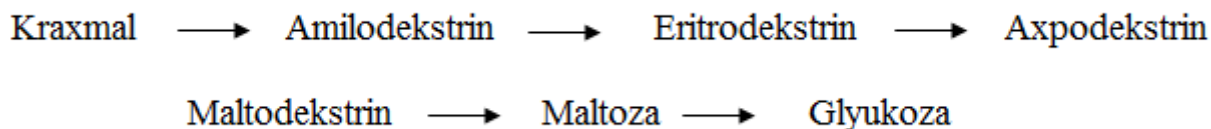


Amiloza molekulası, ko‘pincha, 200-300 glukoza birligidan tuzilgan. Shoxlanmagan uzun polimer zanjirdir.

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



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



Reaksiyaning o'tishini yod ta'sirida aniqlash mumkin. Kraxmal yod ta'sirida ko'k rangga bo'yaladi, gidroliz davom etishi bilan, aralashmaning ranggi dastlab binafsha, qizgish binafsha, amilodekstrin qizil eritrodekstrin va nihoyat rangsizlanib axrodekstrin qoladi va keyin yod bilan rangli birikma hosil qilmaydi. Kraxmal oziq-ovqat sanoatida, spirt, kley ishlab chiqarishda keng qo'llaniladi.

Glikogen yoki hayvon kraxmali ham $(C_6H_{10}O_5)_n$ tarkibli murakkab polisaxariddir. U odam va hayvonlarda eng muhim vazifa - karbonsuvlar zaxirasini tashkil etadi. Ayniqsa, u jigarda 10% gacha, mushaklarda – $(C_{12}H_{22}O_{11})_n$ 4,0-4,5% gacha jamg'ariladi. Tuzilishi jihatidan glikogen tarmoqlangan polimerdir, u D - glikopiranozalardan, uzun zanjirlarda 1,4, tarmoqlangan zanjirlarda 1,6-bog'lar bilan birikkan. Har bir 1,6-bog'lanishlarga D - glyukopiranozaning 8-12 ta qoldig'i birikkan bo'ladi. Uning molekular massasi $3 \cdot 10^5$ dan $1 \cdot 10^8$ gacha. Kislotali gidrolizida α - glukoza, α - maltoza va α - izomaltoza ajraladi.

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

Kletchatka(selluloza) o'simliklar dunyosida keng tarqalgan polisaxariddir. Uning hisobiga biosferadagi organik birikmalarning 50% i

to'g'ri keladi. O'simliklarning yog'ochligi 50%, paxta tolasini -96-100% kletchatkadan tashkil topgan.

Molekulasining tuzilishi bo'yicha, xuddi glikogendagiga o'xshab, 1,4-bog'lardan D- glyukopiranozaning ketma-ket birikishidan hosil bo'lgan, bu uzun zanjirlar bir-biriga nisbatan yonma-yon(paralell) joylashgan bo'lib, ular o'rtasida vodorod bog'lari yotadi. U suvda erimaydi, biroq misning ammiakli tuzlarida yaxshi eriydi, molekulyar massasi taxminan $2 \cdot 10^3$ - $2 \cdot 10^6$ atrofida. Uning molekulasida vodorod bog'lari bilan hosil bo'lgan ipchalar ya'ni mikrofibrillalar lignin, gemiselluloza, pektin kabi moddalar bilan birgalikda o'simlik hujayrasining devorini tuzadilar, bu tuzilma ko'p qavatlidir. Shuning uchun o'simlik hujayralarining devori mustahkam bo'ladi, bu mustahkamlik o'simlik yog' ochligining mustahkamligini ham ta'minlaydi.

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

Xitin geteropolisaxaridlar jumlasiga kirib tabiatda keng tarqalgan, tuzilma xususiyatli, polisaxariddir. U hashoratlar va qisqichbaqasimonlarning qattiq po'stining asosiy qismini tashkil etadi. Uning tuzilishi kletchatkaning tuzilishiga o'xshaydi, biroq uning molekulasi tarkibida kletchatkadagi glukozaqoldig'i o'rniga N - asetil - β - glukozamin keladi.

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

Eng muhim geteropolisaxaridlarning, vakillari bo'lib **gialuronat kislota**, **xondroitinsulfat kislota** misol bo'la oladi. Gialuronat kislota ko'zning shishasimon moddasida, paylarda, bakteriyalarning kapsulalarida ko'p uchraydi. Molekulasi tarkibida N - atsetil - D - glukozamin va D - glyukuronat kislota qoldiqlaridan tashkil topib, ular 1:1 nisbatda 1, 3 va 1,4 - glikozid bog'lar orqali birikkan bo'ladi. Uning moll massasi $1 \cdot 10^5$ - $1 \cdot 10^6$ atrofida bo'ladi.

Xondroitinsulfat kislota ham hujayralararo shilimshiq moddalarni hosil qilishda ishtirok etadi. U tog'ayda, paylarda, ko'zning muguz

pardasida ko'p miqdorda uchraydi. U oqsil kollogen bilan mustahkam majmualari birikma hosil qiladi. Moll massasi 50 000 atrofida.

15-Mavzu. Polisaxaridlarni ajratib olish va ularga xos ayrim reaksiylar

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

42-ish. Polisaxaridlarni ajratib olish

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

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

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

1-tajriba. Kraxmalni ajratib olish

Ishni bajarish tartibi. Ikki dona kartoshka tuganagidan olib po'chog' i archiladi va qirg'ichdan o'tkazib maydalanadi. Siqib suvi ajratib olinib, filtrlanadi va so'ng quritiladi. Kraxmal donachalarini mikroskop ostida bir tomchi Lyugol eritmasi qo'shib bo'yash asosida kuzatiladi. Ajratib olingan kraxmalni sovuq va issiq suvlarda eruvchanligini tadqiq qilinadi. Sovuq suvda u erimaydi, issiq suvda esa eriydi. Eriydigan kraxmal dastlabki kraxmalga nisbatan destruksiyalangan (uni polimerizatsiya darajasi dastlabki kraxmaldan pastroq bo'ladi). Dastlabki (odatdagi) kraxmal eruvchi kraxmal (amidulin)ga aylanishini sovuq sharoitda uzoq muddat suyultirilgan kislotalarda saqlash yoki oz muddatda kislotada tutib turib keyin qizdirish yo'li bilan ta'minlash mumkin. Quritilgan kraxmal keyingi reaksiyalarda ishlatish uchun olib qo'yiladi. Tajriba uchun ishlatishda iliq suvdagi eritmasi tayyorlanadi.

2-tajriba.Hayvon to'qimalaridan glikogen ajratib olish

Ishni bajarish tartibi. Jigar yupqa qilib kesiladi va uni qon elementlaridan xolis qilish uchun 2 daqiqaga sovutilgan fiziologik eritmaga solib qo'yiladi. So'ng jigar namunalari filtr qog'ozlar o'rtasiga joylashtirilib, ulardagi qon elementlari va fiziologik eritma qoldiqlari shimib olinadi. Shu jigar namunasidan tarozida 1 g o'lchab olinib hovonchaga ko'chirilib, uni ustiga mayda shisha bo'lakchalari va teng miqdorda 10%li trixlorosirka kislota qo'shiladi va yaxshilab yanchiladi. Aralashmaga teng hajmda 5 % li trixlorosirka kislota qo'shib yana yanchiladi. Bundan keyin aralashmani suyuqligini so'rib olish yo'li bilan ajratiladi. Qolgan qoldiqqa yana teng hajmda 5 % li trixlorosirka kislota qo'shib yana yanchiladi va suyuqligini yana so'rib olinib oldingisiga qo'shiladi. Qo'shilgan ekstraktlarga konsentratsiyasi 50 % ga yetgancha spirt qo'shib cho'kma hosil qilinadi. Cho'kma sentrifugalash yo'li bilan ajratiladi va ikki marta 50 % li spirt yordamida yuvilib qaytadan sentrifugalanadi. Shu yo'sinda ajratib olingan glikogen quritiladi va tarozida o'lchash hamda hisoblash yo'li bilan uning jigardagi miqdoriy ko'rsatkichi keltirib chiqariladi. Quritilgan glikogen keyingi reaksiyalarda ishlatish uchun olib qo'yiladi.

43-ish. Polisaxaridlarga xos rangli reaksiyalar va ularni gidrolizlash

Kerakli biomaterial:5 marta suyultirilgan so'lak, paxta.

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

Reaktivlar: 1%-kraxmal eritmasi, glikogen eritmasi(34- ishning 2-tajribasi), Feling eritmasi(yuqorida keltirilgan), Barfed eritmasi (yuqorida keltirilgan), distillangan suv, 10% natriy ishqori, etil spirti, natriy xlor kristallari, 3 va 80 % sulfat kislota eritmalari.

1- tajriba.Polisaxaridlarga xos sifat reaksiyalari

Ishni bajarish tartibi. A. Probirkaga 3 ml kraxmal eritmasidan solib (42 ishning 1-tajribasi) unga 1-2 tomchi Lyugol eritmasi tomiziladii. Yodning kraxmal bilan o'zaro ta'sirida hosil bo'lgan mahsulotni ko'k rangga bo'yalishi kuzatiladi. Probirkadagi aralashmani uch qismga bo'lib(1

ml dan) alohida probirkalarga ko‘chiriladi. Ulardan biriga 1-2 ml 10 % li natriy ishqori, ikkinchisiga 2-3 ml etil spirti qo‘shiladi, uchinchisiga 2 ml suv qo‘shib spirt lampada biroz qizdiriladi. Bunda hamma probirkalardagi ko‘k rang yo‘qoladi, lekin uchinchi probirkadagi aralashmani rangi sovigandan keyin tiklanadi. Reaksiya amilozaning yod bilan uncha barqaror bo‘lmagan birikmasini hosil bo‘lishi bilan bog‘liq bo‘lib, birinchi probirkadagi yod NaI, ikkinchi probirkadagisi etil yodid hosil qilgani uchun rang tiklanmaydi, uchinchi probirkadagi yod amilaza bilan qayta birikadi.

B. Probirkaga 2-3 ml glikogen eritmasini quyib, unga 1-2 tomchi Lyugol eritmasi tomiziladi va yaxshilab aralashtiriladi bunda qizg‘ich-qo‘ng‘ir rang paydo bo‘ladi. Rang natriy xlorning birnecha mayda kristallarini solganda kuchayadi, lekin natriy ishqori qo‘shilsa yoki qizdirilsa rang yo‘qoladi. Kraxmal va glikogen bilan yodli reaksiyadagi ranglarning har xil bo‘lishi bu moddalarning kimyoviy tuzilishida farqli jihatning mavjudligidan dalolat beradi.

2-tajriba. Kraxmalni gidrolizlash

Yuqorida keltirilganidek laboratoriya sharoitida kraxmalni ikki xil yo‘l bilan (kislotali va fermentativ) gidrolizlash mumkin.

Ishni bajarish tartibi. Kislotali va fermentativ gidrolizni amalga oshirish maqsadida 20 dona toza probirka olib shtativga ikki qator qilib terib qo‘yiladi. Ularning hammasiga 10 ml dan distillangan suvva 2 tomchidan Lyugol eritmasi solinadi. Keyin ikkita yumaloq tubli 100 ml li kolba olib ikkalasiga ham 20 ml dan 1% kraxmal eritmasi solinadi va ularning birinchisiga 5 ml 10 % li sulfat kislota, ikkinchisiga 5 ml 5 marta suyultirilgan so‘lak qo‘shiladi. Birinchi kolbani og‘ziga qaytar sovitqich o‘rnatib aralashmani qaynatishga qo‘yiladi. Ikkinchi kolbadagi aralashmani 40°C li termostatga ko‘chiriladi. Har 2-3 daqiqao‘tgandan keyin oldindan yod solib tayyorlab shtativga joylashtirilgan probirkalarning birinchi qatoriga birinchi kolbadagi aralashmadan, ikkinchi qatoridagisiga ikkinchi kolbadagi aralashmadan 0,5 ml dan solib aralashtiriladi. Reaksiyon aralashmalarining rangini birin-ketin o‘zgarishi kuzatib boriladi, ya‘ni bunda dastlab amilodekstrin hosil bo‘lganda aralashma yod bilan ko‘k ranga bo‘yalsa, eritrodekstrin hosil bo‘lganda qizil ranga bo‘yaladi, axrodekstrin bilan esa, hechqanday ranga bo‘yalmaydi. Gidrolizning bu bosqichidan keyin gidrolizat bilan Feling

reaksiyasi qilib ko‘riladi. Kislotali gidrolizat bilan Feling reaksiyasini o‘tkazishdan oldin uni neytrallash talab qilinadi.

3- tajriba. Selluloza (klechatka)ni girolizlash

Sellulozani kislotali gidrolizi kraxmal va glikogennikidan qiyinroq ketadi, ya’ni suyultirilgan sulfat kislota bilan uzoqroq muddatda gidrolizlanadi.

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

O‘tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Polisaxaridlarga qaysi birikmalar kiradi?
2. Kraxmal qanday tuzilishga ega?
3. Glikogen haqida nimalarni bilasiz?
4. Sellulozaning kimyoviy tuzilishi va xossalari.
5. Xitin qanday tuzilishga ega?
6. Xondriatinsulfat qanday tuzilgan?
7. Polisaxaridlarga xos rangli reaksiyalar
8. Kraxmalning bosqichma bosqich gidrolizlanishidan qanday oraliq moddalar hosil bo‘ladi?
9. Glikogenning parchalanishini so‘ngi mahsuloti nima?
10. Sellulozani parchalanishidan nima hosil bo‘ladi?

LIPIDLAR

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

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

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

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

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

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

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

Ko'rsatilgan yog' kislotalaridan, tabiiy yog'lar tarkibida, eng ko'p tarqalganlari oleinat, palmitat va stearat yog' kislotalaridir. Ulardan oleinat 30% gacha, palmitat 15% dan 50% gacha, stearat esa 25% gacha uchraydi. Hayvon yog'larida ko'proq to'yingan yog' kislotalari uchraydi, ular qattiq yog'lardir. O'simlik yog'larida esa to'yinmagan yog' kislotalari ko'proq uchraydi, ular suyuq yog'lar yoki moylardir. Misollar bilan izohlansa, dumba va charvi yog'lari tarkibida 25% gacha stearat kislotalari uchrasa, o'simlik moylarida 90% gacha to'yinmagan yog' kislotalari, ayniqsa, oleinat ko'proq miqdorlarda uchraydi.

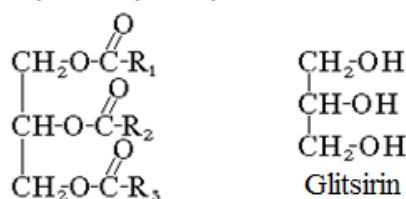
To'yinmagan yog' kislotalardan linolat, linolenat va lipoat kislotalari odam va hayvon organizmida sintezlanmaydi, faqat oziq moddalar bilan kirib turishi kerak. Shuning uchun ularni almashinmaydigan yog' kislotalari deb ataydilar.

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

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

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

Yog'larning umumiy kimyoviy formulasi quyidagicha ifodalanadi:



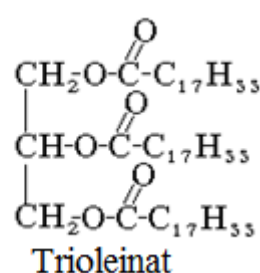
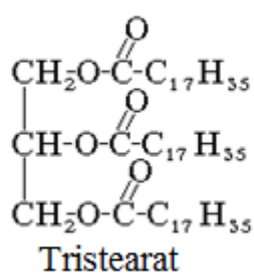
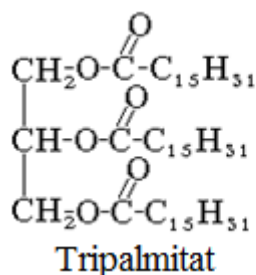
Bu erda

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

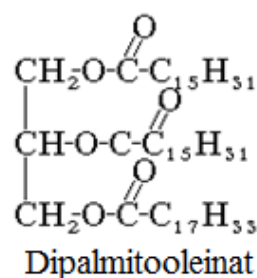
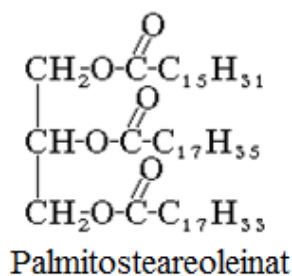
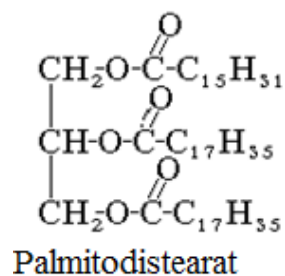
$\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ - yog' kislotalarining uglevodorod radikalini

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

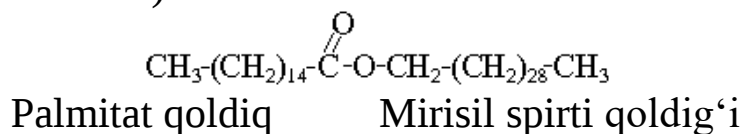
Oddiy trigliseridlar:



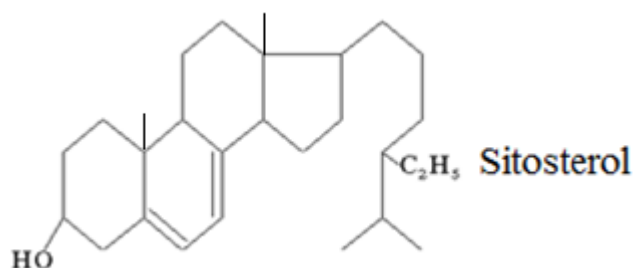
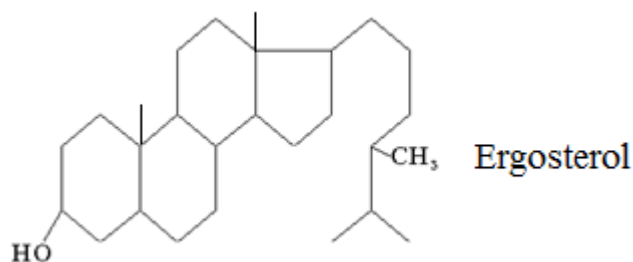
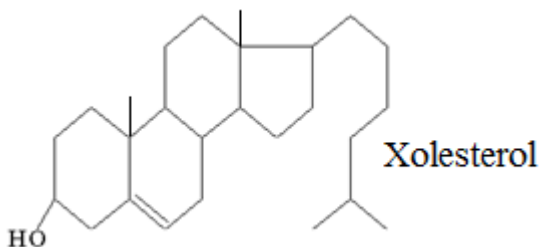
Aralash triglitseridlar:



Mumlar ham yuqori molekula limonokarbon kislotalarining yuqori molekula spirtlar bilan hosil qilgan murakkab efirlaridir. Vakil sifatida asalari mumi (yoki miritsil palmitat efiri) ni keltirish mumkin:

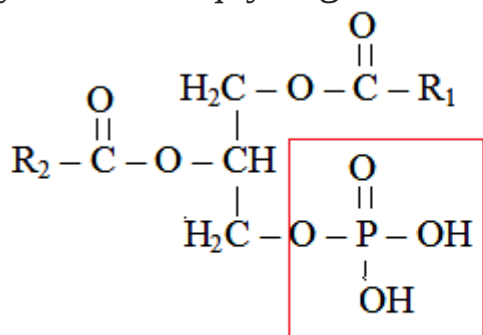


Steridlar. Oddiy lipidlarning tabiatda keng tarqalgan guruhi steridlardir. Ular siklik spirt - sterollar bilan yuqori molekula yog' kislotalaridan hosil bo'lgan murakkab efirlardir. Siklik spirtlar - sterollar juda murakkab tuzilgan moddalardir. Ularni fenantren bilan siklopentanning hosilalari deb qaraladi.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

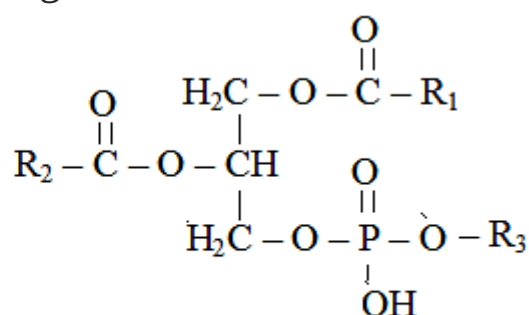


Shuxildagisiklopentanpergidrofenantrenhalqali tuzilishga ega bo'lgan biofaol moddalar jumlasiga: o't kislotalari, ayol va erkak jinsiy gormonlari, buyrak usti bezi gormonlari, D guruhi vitaminlari, yurak glukozidlari va boshqalar kiradi

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

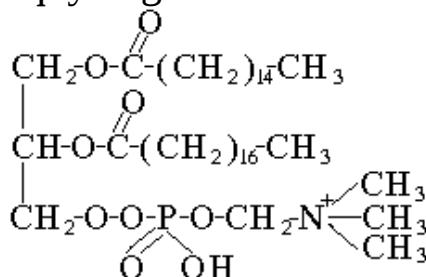


Fosfatid kislota

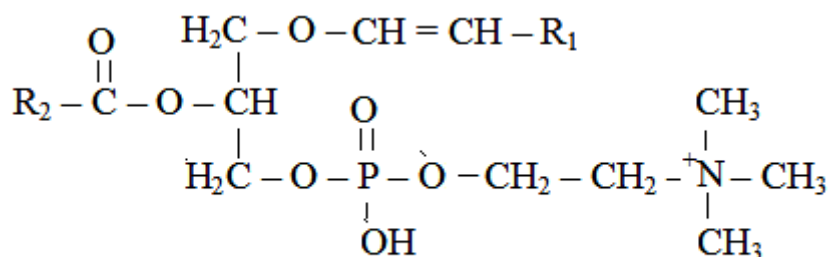


Fosfatidilglitserid

Buyeda: R_1, R_2 - lar yog' kislotalari qoldiqlari, R_3 -qutbli guruh hisoblanadi. Yog' kislotalaridan-palmitat, stearinat, linolat, linolenat kislotalar uchrasa, qutbli birikmalardan-xolin, etanolamin, serin va inozitollar uchraydi, hamda ularni o'zaro mos holda fosfatidilxolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilserin va fosfatidilinozitol deb nomlanadi. Fosfatidilxolinning tuzilishi quyidagicha:

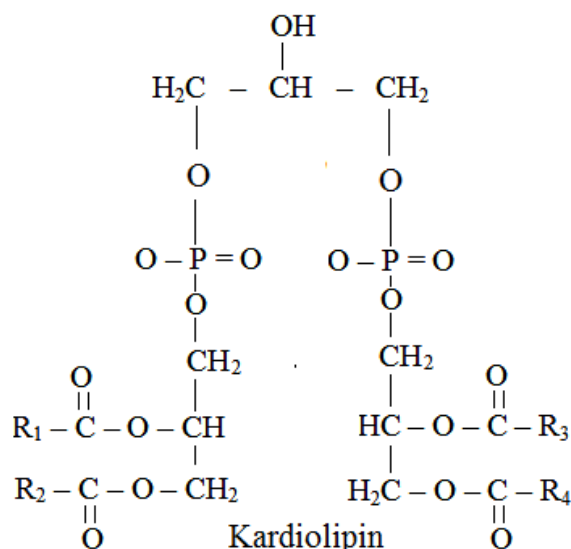


Shu guruhga kiruvchi fosfatidal yoki plazmalogenlarning tuzilishida shunday farqli jihat bor,ya'ni glitserinning birinchi karbon atomiga yog' kislota qoldig'i o'rniga 12 dan 18 tagacha karbon atomiga ega bo'lgan to'yinmagan spirt joylashgan bo'ladi. Plazmogenlar miya va nerv hujayralari membranalari,shuningdek eritrotsitlarda uchrashi aniqlangan.



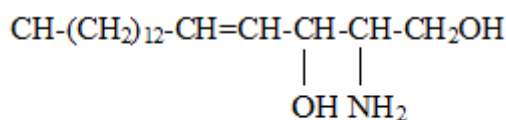
Fosfatidaxolin (plazmalogen)

Bu guruhga kardiolipinlar ham kiradi. Bu fosfolipid uch molekula glitserin, ikki molekula fosfat kislota qoldig‘i va to‘rt molekula yog‘ kislota qoldiqlaridan tashkil topgan.



Umuman, fosfolipidlar asab to‘qimasida, o‘simliklar mevasida, tuxum, jigar va yurakda uchraydi. Oqsillar bilan birikib fosfolipoproteinlarni hosil qiladi, ular hujayra qobig‘i, organoidlarining shakllarini tuzishda ishtirok etadi.

Sfingolipidlar. Bu moddalar ikki atomli to‘yinmagan aminospirt sfingozinning hosilalari hisoblanadi. Sfingozinspirtituzilishi quyidagicha:



Sfingozin

Sfingolipidlar o‘z navbatida kimyoviy jihatdan farqlanuvchi sfingomiyelinlar, serebrozidlar va gangliozidlarga bo‘linadi. **Sfingomiyelinlar** - sfingozindan, fosfat kislota qoldig‘idan, yog‘ kislota qoldig‘idan, biron bir azotli yoki spirtli asos(xolin, etanolamin, serin, inozitol)dan tashkil topadi. Ular o‘simlik, hayvon hujayralarini va

subhujayraviy elementlarini membranalarida uchraydi Ayniqsa nerv hujayrasi, xususan miyada, qon lipidlari tarkibida ancha miqdorda bo‘ladi.

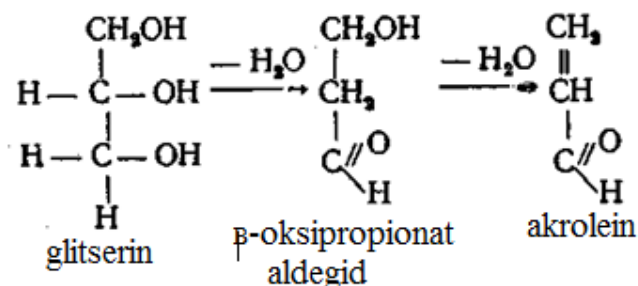
Serebrozidlar- sfingozin spirtidan, serebron kislotadan va galaktozadan tashkil topgan bo‘lib miyaning oq moddasini tarkibiga kiradi.

Ganglioizidlar-sfingozin spirti, geterooligosaxaridlardan tashkil topgan. Ular tarkibiga galaktoza, glukoza, N-asetil-galaktozamin, N-asetilneyroamin kislota, yuqori molekulyar yog‘ kislotalari kiradigan murakkab organik birikmalar hisoblanadi. Bosh miyani kulrang qismida 6 % ga yaqinimembrana lipidlarini ganglioizidlar tashkil qiladi. Ganglioizidlar hujayraga yetib kelayotgan signallarni qabul qilishda ishtirok etadi. Ular hujayralararo aloqalarni boshqarishda, peptid gormonlar, serotonin, ba’zi viruslar, bakterial toksinlarning resepsiyasida ishtirok etadi.

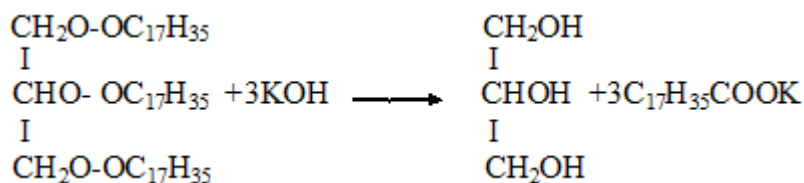
16-mavzu. Neytral yog‘larni tuzilishi, xossalarini o‘rganishga oid reaksiyalar

Neytral yog‘larning molekulasida to‘yingan va to‘yinmagan yog‘ kislotalari uchraganligiga qarab fizik va kimyoviy xossalari bir biridan tubdan farq qiladi. Odatdagi(xona) haroratda suyuq yoki yarimsuyuq holatda bo‘ladigan yog‘larning tarkibida to‘yinmagan yog‘ kislotalari ko‘proq uchraydi. To‘yinmagan yog‘ kislotalariga boy yog‘lar va to‘yinmagan yog‘ kislotalarini o‘zi-o‘ziga galoidlarni (galogenlanish), vodorodni (gidrogenlanish) va kislorodni (oksikislotalarni hosil qilish) biriktirish xossasiga ega. Yog‘lar gidrolizlanishdan oldin emulsiyalanishga duch kelishi lozim. O‘simlik moyiga suv qo‘shib yaxshilab aralashtirganda uncha barqaror bo‘lmagan emulsiya hosil bo‘ladi. Lekin birozdan so‘ng aralashma ikkita qatlam hosil qiladi. Unga bir necha tomchi 10 % li Na_2CO_3 tomizganda va yana aralashtirganda ancha barqaror emulsiya hosil bo‘ladi. Buning sababi yog‘ tarkibida ozgina miqdorda bo‘lsada, erkin yog‘ kislotalari qoldiqlari bo‘ladi va soda bilan reaksiyaga kirib sovunga aylanadi, u esa yog‘ zarrachasining dispers fazasiga stabillovchi ta’sir ko‘rsatadi. Eskirgan (achigan) moyga soda qo‘shganda, uning tarkibida erkin yog‘ kislotalari yanada ko‘p bo‘lganligi sababli sovun ham ko‘proq hosil bo‘ladi hamda emulsiya ham yanada barqarorroq bo‘ladi. Emulsiyaning barqarorlik darajasi sirt tarangligini pasaytiruvchi moddalar: sovun, oqsil eritmasi, o‘t kislotalari ta’sirida kuchayadi. Biomaterial tarkibida yog‘larning mavjudligini aniqlashda akrolein sinovi xizmat qilishi mumkin.

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



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



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

Tabiiy yog‘lar trigliseridlar bo‘lishi bilan birga, ularning tarkibida kam miqdorda bo‘lsada erkin yog‘ kislotalari bo‘ladi. Bu kislotalarning miqdorini “kislota soni” deb yuritiladi va uni ishqorlar yordamida titrlash yo‘li bilan aniqlanadi. Yog‘larni havoda va yorug‘da ancha muddatda saqlaganda erkin yog‘ kislotalarning miqdori oshadi. Yog‘larning 1 grami tarkibidagi erkin va bog‘langan yog‘ kislotalarini neytrallash uchun sarflangan o‘yuvchi kaliyning mg hisobidagi miqdoriga sovunlanish soni

deyiladi. Sovunlanish soni bilan kislota soni o'rtasidagi farqli ko'rsatkich efir soni hisoblanadi.

Darsning maqsadi. Yog'larni eruvchanligi, emulsiyalanishi, sovunlanishi, to'yinganlik darajasi, kislota va sovunlanish sonlarini aniqlashga tegishli reaksiyalarni o'rganish orqali lipidlarga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

44-ish. Yog'larning eruvchanligini aniqlash

Kerakli biomaterial: paxta moyi, margarin, qo'y yog'i.

Kerakli jihozlar: probirkalar, shtativ

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

Ishni bajarish tartibi. Shtativga 4 tadan uch qator qilib probirkalar joylashtiriladi. Birinchi qatordagi probirkalar (№ 1-4) ga qo'y yog'idan, ikkinchi qatordagi probirkalar (№ 5-8) ga margarindan moshdan kattalikda solinadi, uchinchi qatordagi probirkalar (9-12) ga 3-4 tomchidan paxta moyi tomiziladi. So'ng har bir qatordagi probirkalarning birinchisiga distillangan suv, ikkinchisiga-efir, uchinchisiga-xloroform va to'rtinchisiga etil spirtidan 3 ml dan solinadi. Hamma probirkalardagi aralashmalar yaxshilab aralashtiriladi. Tajriba natijalari 14-jadval tarzida rasmiylashtiriladi.

14-jadval

Yog'larning eruvchanligini aniqlash natijalari

T/R	Yog'larning xili	Suv	Efir	Xloroform	Spirt
1	Qo'y yog'i				
2	Margarin				
3	Paxta yog'i				
Xulosa					

45-ish. Yog'larning emulsiyalanishi

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

Kerakli jihozlar: probirkalar, shtativ.

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

Ishni bajarish tartibi. Shtativga 8 ta probirka joylashtirilib raqamlab chiqiladi va ularning har biriga 3 ml dan distillangan suv solinadi.

Dastlabki beshta probirkaga yangi paxta moyidan, № 6,7,8 probirkalarga eskirgan paxta moyidan 0,5 ml dan tomizib chiqiladi. So'ng № 2 va 7 probirkalarga 10% soda eritmasi, № 3 probirkaga o't suyuqligi, №4 probirkaga oqsil eritmasi №5 va 8 probirkalarga 10% li xlorid kislotasi eritmasidan 2-3 tomchidan tomizib chiqiladi. Bunda № 1 va 6 probirkalarda yog' va suv bo'ladi. Hamma probirkalarning og'zi berkitilib yaxshilab aralashtiriladi. Aralashmalar 5 daqiqa tinch qo'yib qo'yiladi va keyin emulsiyaning barqarorligi kuzatilib, natijalar 15-jadvalga kiritiladi.

15-jadval

Har xil suyuqliklar ta'sirida yog'larning emulsiyalanish

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

46- ish. Yog'lar tarkibidagi glitserin (akrolein sinovi) ga xos reaksiya

Kerakli biomateriallar: paxta moyi, margarin, qo'y yog' i.

Kerakli jihozlar: probirkalar, shtativ, elektroplitka

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

Ishning bajarilishi. Uchta probirka olib biriga 1ml paxta moyi, ikkichisiga no'xatday kattalikda margarin, uchinchisiga no'xatday kattalikdagi qo'y yog'i solinadi. So'ng uchchala probirkaga ham kaliy bisulfatning kukunidan 1g dan qo'shiladi va mo'rili shkafda elektroplitka ustida qizdiriladi. **Bundao'tkir hidli oq rangli akrolein** bug'lari ajraladi. Probirkalardan ajralgan akrolein bug'larini kumush nitrat tuzining ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'ozga tutiladi va qog'ozning qorayishi kuzatiladi. Bu probirkalardagi aralashmalarda bo'lib o'tgan reaksiya natijasida akrolein hosil bo'lganidan dalolat beradi. Tajriba natijalari asosida tegishli xulosalar chiqariladi.

47- ish. Yog‘larning gidrolizi, erkin yog‘ kislotalarini ajratish, sovunni tuz yordamida cho‘ktirish har xil sovunlarning eruvchanligi

Kerakli biomaterial: o‘simlik yoki hayvon yog‘i

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

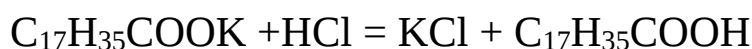
Kerakli reaktivlar: ishqorning spirtli eritmasi, xlorid kislota, spirt, 10 % li soda eritmasi, 0,01% lifenoltaleinningspirtdagieritmasi, natriy xlor kukuni, 10 % li kalsiy sulfat, 10 % li mis sulfat, 10% li qo‘rg‘oshin atsetat.

1 -tajriba. Yog‘larni gidrolizlash

Ishnibajarishtartibi. Probirkaga 1g o‘simlik yoki hayvon yog‘idan solinadi va uni ustiga 10 ml ishqorning (NaOH yoki KOH) spirtli eritmasidan qo‘shiladi. So‘ng probirkani havo sovutgichi o‘rnatilgan tiqin bilan berkitiladi va suv hammomida 20-30 daqiqa davomida qizdiriladi. Qizdirishni gidrolizatdan bir tomchisini olib suvli probirkaga tomizganda hosil bo‘lgan aralashmani yuza qismida yog‘ dog‘chasi yo‘qolguncha davom ettiriladi. Gidroliz tugagandan keyin aralashmaga 20 ml distillangan suv qo‘shiladi va uni bug‘latkich idishchaga ko‘chirib tarkibidagi spirtni bug‘lanib ketishini ta‘minlash uchun, suv hammomida qizdiriladi. Bunda hosil bo‘lgan suyuq sovun eritmasi uch qismga bo‘linadi va keyingi tajribalarda ulardan foydalaniladi.

2 -tajriba. Erkin yog‘ kislotalarini ajratish, sinab ko‘rish va qaytadan sovunga aylantirish

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



Cho‘kma voronkaga filtr qog‘oz joylashtirib filtrlanadi va lakmus qog‘ozi yordamida nazorat qilib nordon reaksiya yo‘qolgunga qadar distillangan suv bilan yuviladi. Cho‘kmani bir qismini efirda eritib, 1-2 ml spirt qo‘shib qo‘yilgan boshqa probirkaga ko‘chiriladi. Uni ustiga 1 tomchi 10 % li soda va 2 tomchi fenoltalein tomiziladi. Bunda dastlab paydo bo‘lgan gulobi rang yo‘qoladi, chunki soda yog‘ kislotasi ta‘sirida neytrallanadi.

Birinchi tajribada ajratib olingan suyuq sovunning ikkinchi qismi probirkaga ko'chirilib, natriy xlor kukuni bilan to'yintiriladi, va kattiq sovun hosil bo'lishi kuzatiladi. Probirkani hidlaganda sovunning hidi seziladi.

3-tajriba. Har xil sovunlarning eruvchanligini aniqlash

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

-birinchi probirkada- sirt tarangligini oshishi natijasida ko'pik hosil bo'ladi;

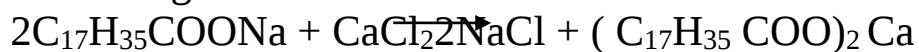
- ikkinchi probirkada erimaydigan ohakli sovun hosil bo'ladi;

- uchinchi probirkada- misli sovunning cho'kmasi hosil bo'ladi;

- to'rtinchi probirkada-kumushli sovunning cho'kmasi hosil bo'ladi;

- beshinchi probirkada-qo'rg'oshinli sovun(qo'rg' oshinli plastir)ning cho'kmasi hosil bo'ladi.

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



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

48- ish. Yog'lar tarkibidagi to'yinmagan yog' kislotalarini aniqlash

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

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

Kerakli reaktivlar: xloroform, yodning 0,001 N , 0,2 N va 0,1 N eritmalari va 0,5 N spirtli eritmasi, natriy tiosulfatning 0,1 N eritmasi, natriy giposulfatning 0,1 N eritmasi, kraxmalning 1% li eritmasi, efir va

spirt aralashmasi(1:1), fenolftaleinning spirtidagi 0,1 % li eritmasi, konsentrlangan va 0,1 N xlorid kislota, kaliy ishqorining 0,1 N eritmasi.

1- tajriba. Yog‘larning to‘yinmaganlik darajasini qiyoslash

Ishni bajarish.To‘rtta probirka olib shtativga joylashtiriladi. Birinchi probirkaga qo‘y yog‘idan, ikkinchisiga-qoramol yog‘idan, uchinchisiga-margarindan 1 g dan va to‘rtinchisiga paxta moyidan 1ml dan solinadi va ularning hammasi 3 ml dan xloroformda eritiladi. Aralashmalar mikrobyuretkagi yodning 0,001 N eritmasi yordamida alohida- alohida titrlanadi. Yod eritmasini titri uchun sarflangan miqdoriga qarab sinovda bo‘lgan yog‘larning to‘yinmaganlik darajasi aniqlanadi. Tahlil natijalari 16-jadval tarzida rasmiylashtiriladi.

16-jadval

Har xil yog‘larning to‘yinmaganlik darajasiga oid ma’lumotlar

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

1-tajriba. Yog‘larning yod sonini aniqlash

Ishni bajarish tartibi.Konussimon kolbaga 0,1 ml paxta moyi solib, 10 ml xloroformda eritiladi va ustiga 25 ml 0,1 N yodning spirtli eritmasi qo‘shiladi. Kolbani shlifli tiqin bilan yopib yaxshilab aralashtiriladi va qorong‘u joyda 2 soat tinch qo‘yiladi. Bundan keyin oldin reaksiyaga kirmay qolgan yodni 0,1 N natriy tiosulfit eritmasi bilan och sariq rang hosil bo‘lgunga qadar, so‘ng esa aralashmaga 1 ml 1 % li kraxmal eritmasi qo‘shib ko‘k rang hosil bo‘lgunga qadar titrlanadi.

Yod sonini quyidagi sarhisob qilish tamoyili asosida hisoblab topiladi. Bunda 1 ml 0,1 N natriy giposulfitiga 1 ml 0,1 N yod eritmasi (ya’ni 0,01272 g) ekvivalentligini inobatga olinadi. Kolbaga qancha ml yod (a) eritmasi solinganligi va teskari (ikkinchi) titrlashda sarflangan natriy giposulfit (v)ning miqdorini bilgan xolda yog‘ bilan bog‘langan yod

(a-b)ni aniqlanadi. Bu farqli ko'rsatkichni 0,0127 ga ko'paytirib tajriba uchun olingan, yog' bilan birikkan yodning gramm miqdori (C) ni keltirib chiqariladi. Demak yod soni:

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

formula asosida hisoblabtopiladi.

2- tajriba. Yog'larning kislota sonini aniqlash

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

$$K = V * T$$

Bu yerda: K-kislota soni;

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

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

4-tajriba. Yog'larning sovunlanish sonini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Ikkita 50 ml li kolba olib, birinchisiga analitik tarozida tortilgan 0,5 g **qo'yyog'** isolinadi va ikkinchisiga 0,5 ml distillangan suv quyiladi. Har ikkala kolbaga mikrobyuretkadan 15 ml dan 0,5 N KOH ning spirtli eritmasidan quyiladi. Kolbalarning og'zini qaytar sovutqichli shisha nay o'rnatilgan tiqin bilan berkitib, qaynayotgan suv hammomiga qo'yiladi, vaqti-vaqti bilan chayqatib turiladi. Kolbadagi suyuqlik qaynab turishi va nayning ustki qismiga bug'langan suyuqlik sovib qaytadan kolbaga qaytib tushishi lozim. Sovunlanish nihoyasiga yetgach, kolbalarga 20 ml dan distillangan suv qo'shiladi va 3-4 tomchi fenolftaleinning spirtidagi 0,01% li eritmasi tomiziladi. So'ng aralashmalar alohida-alohida 0,5 N xlorid kislota bilan pushti rang hosil bo'lgunga qadar titrlanadi. Sovunlanish soni (S.s) quyidagi formula yordamida hisoblab topiladi:

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

Bu yerda: V_1 -Nazorat kolbasi(suvli)dagi suyuqlikni titrlash uchun sarflangan 0,5 N KOH miqdori (ml),

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

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

17- mavzu. Lipoidlarni biomateriallardan ajratib olish va xossalari o'rganishga oid reaksiyalar

Lipoidlar boshqachasiga yog'simon moddalarga: mumlar, fosfatidilglitseridlar, sfingolipidlar, sterin va steridlar kiradi. Bu moddalar tirik organizm tarkibida uchrovchi eng labil lipidlar jumlasiga kiradi. Lipoidlar neytral yog'lar kabi organik erituvchilarda yaxshi eriydi, ulardan farqli o'laroq gidrolizlanganda glitserin va yog' kislotalaridan tashqari boshqa birikmalar- fosfat kislota, azotli asoslar, siklik va asiklik spirtlar, karbonsuvlar hosil bo'ladi. Bu guruhga kiradigan moddalarning ko'pchiligini tarkibida gliserin bo'lmaydi. Lipoidlarga sterin va steridlar ham kiradi. Ular o'simlik va hayvon organizmlarida keng tarqalgan organik moddalar hisoblanadi.

Darsning maqsadi. Biomateriallar tarkibidagi fosfoglitsridlar, sterin va steridlarni ajratib olish uslublari, ularning xossalari, tarkiblari bilan tanishish, vashu mavzuga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

49- ish. Hayvon to'qimasidan lesitinni ajratib olish, gidrolizlash va tarkibini o'rganishga oid reaksiyalar

Kerakli biomateriallar: tuxum sarig' i, miya to'qimasi

Kerakli jihozlar: suv hammomi, stakan, shisha tayoqcha, voronka, kolba, o'lchov silindri, chinni kosacha, filtr qog'oz, probirkalar, pipetkalar, shtativ, asbest to'ri, tigel, shpatel, gaz gorelkasi yoki spirt lampa.

Kerakli reaktivlar: 10% li natriy ishqori, 10 % li xlorid kislota eritmasi, kaliy gidrosulfat kukuni, kaliy nitrat kukuni, natriy karbonat kukuni, konsentrlangan nitrat kislota, molibdat reaktivi (tayyorlash: 18,75 g ammoniy molibdat 250 ml distillangan suvda eritilib, uning ustiga 250 ml 32 % li nitrat kislota (sol.og' . 1,2) qo'shiladi va cho'kma erib ketguncha aralashtiriladi).

1- tajriba. Tuxum sarig'idan lesitinni ajratib olish

Ishnibajarishtartibi. Bitta tuxumni sarig'ini yarmini stakanga solib uni ustiga doimo aralashtirib turgan tarzda 35-40 ml biroz isitilgan spirt qo'shiladi. Aralashma sovigach quruq probirkaga filtrlanadi. Agar filtratda loyqa hosil bo'lsa, tiniq filtrat hosil bo'lgunga qadar takror- takror filtrlanadi. Filtratdan 2 ml ajratib olib qo'yiladi. So'ng stakan yoki kolbaga 30 ml aseton solib uni ustiga filtratni tomchilab qo'shiladi. Aralashmaning loyqalanishi lesitinning atsetonda erimaganligi sababli cho'kmaga tushganani bildiradi. Cho'kmadagi lesitin filtr **qog'ozustida** namini qochirish uchun chinni kosacha ustida gaz gorelkasi yoki spirt lampasi yordamida qizdirilib quritiladi va keyingi reaksiyalarni o'tkazish uchun olib qo'yiladi.

2-tajriba. Lesitinni emulsiyasini hosil qilish

Ishnibajarishtartibi. Ajratib olib qo'yilgan 1- tajribadagi filtrat 2 ml ni tarkibidagi lesitin emulsiyasini hosil qilish uchun ajratib olib **qo'yilgan filtratni** (2 ml) tarkibidagi lesitinni emulsiyasini hosil qilish uchun ustiga birnecha tomchi distillangan suv tomiziladi va yaxshilab chayqatiladi, bunda lesitinning emulsiyasini hosil bo'ganligi kuzatiladi.

3-tajriba. Lesitinni gidrolizlash

Ishni bajarish tartibi. Ajratib olingan lesitin cho'kmasidan (1-tajriba) probirkaga ozgina solib, ustiga 3-4 ml 10 % li natriy ishqori eritmasidan qo'shiladi va 15 daqiqa davomida suv hammomida qizdiriladi. Natijada lesitin gidrolizlanib tarkibiy qismlarga parchalanadi.

4-tajriba. Lesitin gidrolizatitarkibini o'rganishga xos reaksiyalar

Ishni bajarish tartibi. Lesitin gidrolizatidan (3-tajriba) 1 ml olib probirkaga solinadi va gaz alangasida qizdirilganda aralashmadan «tuzlangan baliq hidi» keladi. Bu reaksiya lesitin gidrolizati tarkibida xolin borligidan dalolat beradi.

Gidrolizatning qolgan qismini kolbachaga ko'chirib 10 % HCl yordamida nordonlashtiriladi. Bunda lesitin gidrolizati tarkibidagi yog'

kislotalari cho‘kadi. Cho‘kma filtrlanadi va chinni kosachaga ko‘chirib suv hammomida quritiladi, filtrat bilan esa, gliseringa xos (46-ishdagi) reaksiya o‘tkaziladi.

Buning uchun filtrat fenolftalein ishtirokida 10 % li natriy ishqori bilan neytrallanadi. Neytrallangan aralashma suv hammomida quritiladi. Quritilgan massa ustiga ozgina KHSO_4 kukuni sepib, aralashma suyuqlanguncha gaz alangasida qizdiriladi. Bunda akroleinga xos «oshqozon hidi» keladi.

5-tajriba. Lesitin tarkibida fosfat kislota borligini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Birinchi tajriba asosida ajratib olib qo‘yilgan lesitindan ozginasini tigelga solinadi va uni ustiga 2:1 nisbatda Na_2CO_3 va KNO_3 kukuni aralashmasi qo‘shiladi hamda shisha tayoqcha yordamida aralashtirilib gaz gorelkasi yoki spirt lampasida suyuqlantiriladi. So‘ngra tigel sovutilgandan keyin unga 10-15 tomchi 32 % **linitrat kislota** tomizib, yana aralashtiriladi. Aralashma tigeldan probirkaga ko‘chiriladi va unga molibdat reaktivi qo‘shilgandan keyin qizdiriladi. Sariq rangli loyqaning hosil bo‘lishi lesitinning parchalanishi natijasida fosfat kislota ajralib chiqqanidan dalolat beradi.

50- ish. Biologik materialdan xolesterinni ajratib olish va unga xos sifat reaksiyalari

Steroidlar siklopentanpergidrofenantrenning hosilalari bo‘lib, ko‘pdan ko‘p biogen birikmalarni o‘z ichiga oladi. Ular orasida hayvonlar organizmining hamma hujayralari va suyuliklari tarkibida uchrovchi xolesterin, kaprosterin (axlat sterini), ergosterin va boshqalarni misol qilib keltirish mumkin. Kaprosterinning qisman oksidlanish mahsuloti o‘t kislotalari hisoblanib, o‘t tarkibida juft o‘t kislotalari, ya’ni ularning - taurin va glikokoll bilan hosil qilgan amidlari sifatida mavjud bo‘ladi. Siklopentanpergidrofenantrenning biogen hosilalari asta-sekin oksidlanish orqali o‘t kislotalaridan: xol, dezoksixol, xenodezoksixol, litoxol kislotalariga aylanishi mumkin.

Sterinlarning chuqurroq oksidlanishi sariq tana gormoni progesteronni, buyrak usti bezini mag‘iz qismi gormoni- kortikosteron, 11-dezoksikortikosteron, 17- oksikortikosteronlarni hosil bo‘lishiga sababchi bo‘ladi. Sterinlarning yon zarjirini tamoman oksidlanib ajralib ketishi testosteron, androsteron, estron va estrodiollarning hosil bo‘lishiga olib

keladi. Xolesterin hayvon massasining 0,25-0,30 % ni tashkil qiladi. U nerv to'qimasining nay qismini 2-3 % ni, bosh miyani kulrang qismini 0,09-1,4 % ni, oq moddasini esa 4,0-5,3 % ni tashkil qiladi.

Kerakli biomaterial: miya to'qimasi

Kerakli jihozlar: hovoncha, quritkich shkaf, shisha tayoqcha, shisha plastinka (10x10 sm), pipetkalar, pichoq, skalpel, probirkalar, voronka, filtr qog'oz.

Kerakli reaktivlar: gips, xloroform, muz-sirka kislota, sirka anhidrid, konsentrlangan sulfat kislota, xolesterinning xloroformli eritmasi.

1-tajriba. Miya to'qimasidan xolesterinni ajratib olish

Ishni bajarish tartibi. Hovonchaga 4-5 g miya to'qimasidan olib, pichok, skalpel yordamida yaxshilab kesib maydalanadi, ustiga 8-10 g gips qo'shib aralashtirib yanchiladi. Keyin hosil bo'lgan massani shisha plastinka ustiga yoyib asta sekinlik bilan gaz gorelkasi ustida tutib turib quritiladi. Qurigan massani to'liq ravishda quruq probirkaga solinadi. Unga 5-6 ml xloroform qo'shib aralashtilib, 8-10 daqiqa tinch qo'yib qo'yiladi. Hosil bo'lgan xloroformli ekstrakt filtrlanadi va filtrat xolesterinli manba sifatida olib qo'yilib keyingi tajribalarni o'tkazishda foydalaniladi.

2-tajriba. Xolesteringa xos Sialkovskiy reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Yuqoridagi tajriba (1-tajriba) dagi xolesterinli filtratdan 2 ml olib, unga teng hajmda solishtirma og'irligi 1,76 bo'lgan konsentrlangan sulfat kislota qo'shiladi. Bunda ikki suyuqlik o'rtasida qizil rangli halqa hosil bo'ladi. Probirkadagi suyuqlik ohistalik bilan aralashtirilib tindirilsa, ustki qavat qizil, pastki qavat esa yashil fluoressensiyali sariq rangga bo'yaladi.

3-tajriba. Xolesteringa xos Liberman-Burxard reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga yuqorida ajratib olingan xolesterinli filtratdan 1 ml solib, ustiga 10 tomchi sirka aldegid va 2 tomchi konsentrlangan sulfat kislota tomiziladi hamda yaxshilab aralashtiriladi. Bunda aralashma dastlab qizil, keyin qizg'ish-binafsha, binafsha-ko'k va nihoyat barqaror yashil rangga bo'yaladi.

O‘tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Lipidlarning tabiiy manbalari va energetik ahamiyati.
2. Lipidlarning tasniflanishi.
3. Neytral yog‘lar va ularning tuzilishi.
4. Hayvon va o‘simlik yog‘larini farqli jihatlari.
5. Yog‘larga xos sifat reaksiyalari.
6. Yog‘larning eruvchanligi va emulsiyalanishi.
7. Yog‘larning gidrolizi.
8. Yog‘larning kislota, yod, sovunlanish sonlari.
9. Fosfatidilglitseridlar qanday tuzilishga ega.
10. Plazmogenlar va kardiolipinlar.
11. Sfingolipidlar, serebrozidlar va ganglioizidlar.
12. Lesitinni ajratib olish.
13. Lesitinga xos sifat reaksiyalari.
14. Xolesterinni biomateriallardan ajratib olish.
15. Xolesteringa xos sifat reaksiyalari.

VITAMINLAR

Vitaminlar oziq-ovqat tarkibida uchraydigan oziqa omillari jumlasiga kirib, organizmda sodir bo'ladigan moddalar almashinuvining boshqarilishida ishtirok etish orqali biokimyoviy va fiziologik jarayonlarni me'yoriy chegarada kechishini ta'minlaydigan moddalardir.

Bu moddalar organizm uchun juda ham oz miqdorda talab qilinishi bilan birga, organizmning ular bilan ta'minlanishiga bevosita bog'liq bo'lgan avitaminoz, gipovitaminoz va gipervitaminoz holatlari ham uchray turadi. Hozirgi kunda bu guruhga mansub moddalarni o'rganish bo'yicha alohida vitaminologiya deb nomlangan fan shakllangan.

Vitaminlar to'g'risidagi ta'limotning rivojlanishida N.I. Luninning (1880-y) xizmati katta. U kishi hayvon organizmi oziqa tarkibida oqsil, karbonsuv, yog', mineral moddalar va suvdan tashqari hozirgacha ma'lum bo'lmagan, lekin ularning o'rnini bosa olmaydigan qandaydir moddalar bo'lishi zarurligini isbotladi.

Bu ilmiy xulosa F.Xopkins va K.Funk (1912-y)lar tomonidan keyinchalik yanada to'liqroq isbotlandi. Ayniqsa, shu yili K.Funk guruch kepagi ekstraktidan «beri-beri»ning oldini oladigan kristall moddani ajratib oldi. Bu modda tarkibida amin guruh bo'lganligi uchun uni vitamin- «hayot amini» (Vita-hayot) deb nom berdi.

Agar, 1912 yili K.Funk vitamin atamasini fanga kiritib, avitaminoz kasalliklarning biokimyoviy sababini ko'rsatgan bo'lsa, keyinchalik vitaminlarni ajratib olish va hossalarni o'rganish tartibi bo'yicha lotin alfabitining bosh harflari bilan atashni taklif etildi va ularni A, B, C va h.k. deb nomlana boshlandi. 1956 yilda Xalqaro nomenklatura qabul qilinib, unda fanda ma'lum bo'lgan 20 dan ortiq vitaminlarni uch guruhga bo'lib o'rganish tavsiya qilingan: 1) suvda eriydigan vitaminlar, 2) yog' da eriydigan vitaminlar, 3) vitamininga o'xshash birikmalar.

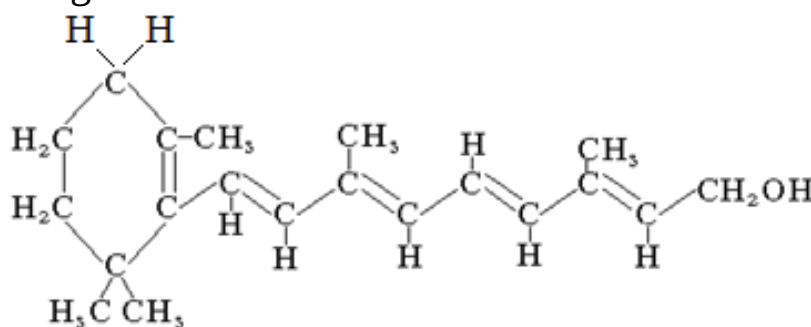
Yog' da eriydigan vitaminlarga- A, D, E va K kabi vitaminlar qatori , Suvda eruvchi vitaminlarga- B₁, B₂, B₆, B₁₂, PP, B₈, B₃, H, C, P, pantoten kislota, folat kislota va boshqalar, vitaminsimon moddalarga - xolin, lipoy kislota, pangam kislota, orot kislota, inozit, ubixinon, paraaminobenzoy kislota, karnitin, linol, linolen, araxidon kislotalar, vitamin U va boshqalar kiradi.

18–Mavzu. Yog‘da va suvda eruvchi vitaminlarga xos reaksiyalar

Darsning maqsadi. Yog‘da va suvda eruvchi vitaminlarga xos reaksiyalarni o‘tkazish ko‘nikmalarini egallash va ularni o‘tkazish orqali vitaminlarning biologik ahamiyatiga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

Yog‘da eruvchi vitaminlar 51- ish. A vitamining xos reaksiyalar

A vitamini bir atomli birlamchi spirt bo‘lib, tuzilishi jihatidan β -ionon xalqasiga kondensatlangan ikkita izopren qoldig‘i va birlamchi spirt guruhidan hosil bo‘lgan:



A vitamini hayvon yog‘larida, jigarida, tuxum sarig‘ida ko‘p miqdorda uchraydi. O‘simliklarda uning provitamini- karotinlar uchraydi, ular α -, β - va γ -karotinlar izomerlari holatida bo‘ladi. O‘simlik tarkibidagi karotinlar hayvon organizmida A vitamininga aylanadi. Bunda α - va γ -karotinlardan bir molekula A vitamin hosil bo‘lsa, β - karotindan bir yo‘la ikki molekula hosil bo‘ladi. Odamlarning A vitaminiga bo‘lgan ehtiyoji 2,7 mg ni tashkil qiladi.

Kerakli biomaterial. Baliq moyi, A vitaminining xloroformdagi 0,05 % li eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: Surma (III)- xloridning xloroformdagi to‘yingan eritmasi (tayyorlash: surma III-xlorid kristallarini xloroform bilan rangsizlanguncha yuviladi. Uni xloroformdagi to‘yingan eritmasini tayyorlash uchun ishlatiladigan xloroformli kalsiy xlor solingan eksikatorida saqlanganidan xaydalaniladi va yu haroratida 6 soat qoldiriladi shunda bu tuzning 23% li eritmasi hosil bo‘ladi.),sirka angidrid, xloroform, konsentrlangan sulfat kislota, temir (II)- sulfatning muz sirka kislota-dagi to‘yingan eritmasi.

1- tajriba. A vitaminining surma (III)- xlorid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarishtartibi. Ikkita probirka olib, ularning biriga baliq yog‘idan, ikkinchisiga A vitaminning xloroformdagi 0,05 % li eritmasidan 3 tomchidan tomiziladi va ularning har ikkalasiga 5 tomchidan SbCl_3 ning xloroformdagi eritmasidan qo‘shiladi. Aralashmalar avval ko‘k rangga bo‘yaladi, sekin-asta ular pushti-binafsha rangga o‘tadi.

2- tajriba. A vitaminining sulfat kislota bilanrangli reaksiyasi

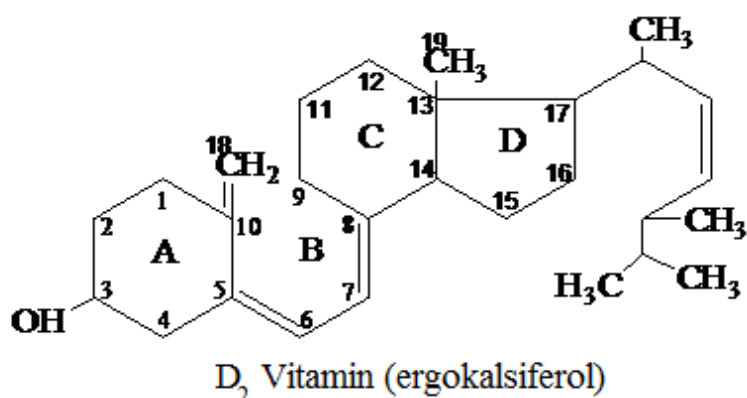
Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ularning birinchisiga baliq yog‘idan 2 tomchi va 1 ml xloroform, ikkinchisiga A vitaminning xloroformdagi 0,05 % li eritmasidan 1 ml tomiziladi. So‘ng har ikkala probirkaga 2 tomchidan konsentrlangan sulfat kislota qo‘shiladi. Bunda har ikkala probirkada sulfat kislota ta‘sirida A vitamindan suv tortib olinganligi sababli oldin ko‘k rang, keyinchalik qoramtir-qizil rang hosil bo‘ladi.

3-tajriba. A vitaminining temir (II)-sulfat bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ularning biriga baliq yog‘idan, ikkinchisiga A vitaminning xloroformdagi 0,05 % li eritmasidan 2 tomchidan tomiziladi va ularning har ikkalasiga 8 tomchidan temir (II)-sulfatning muzsirk kislota dagi to‘yingan eritmasidan, hamda 2 tomchi konsentrlangan sulfat kislota dan qo‘shiladi. Aralashmalar dastlab ko‘k, keyinchalik pushti-qizil rangga bo‘yaladi.

52- ish.D vitaminiga xos reaksiyalar

Kimyoviy nuqtayi nazardan D vitamini bir atomli to‘yinmagan siklik spirt bo‘lib, uning tuzilmasida siklopentanopergidrofenantrenning kondensirlangan xalqasi mavjud. D vitaminini kimyoviy tuzilishi quyidagicha:



D vitamin o'simliklarda sintezlanmaydi, balki o'simlik sterini-ergosterindan ultrabinafsha nur ta'sirida odam va hayvon organizmida D₂ vitamin-ergokalsiferolga aylanadi. Shuningdek 7-degidroxolesterindan ultrabinafsha nur ta'sirida D₃ vitamin-xolekalsiferol hosil bo'ladi. Bir kech-kunduzda odamga 10-25mkg D –vitamin talab qilinadi. Bu vitaminlar kalsiy va fosfor almashinuvida ishtirok etadi.

Kerakli biomaterial. Baliq moyi, dorixonadan olingan D vitaminini xloroformda eritilgan konsentrati.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, gaz gorelkasi yoki spirt lampa.

Kerakli reaktivlar: surma (III)- xloridning xloroformdagi to'yingan eritmasi, (48-ishdagi reaktiv) bromning xloroformdagi eritmasi, anilinning xlorid kislotada (15:1 nisbatda)gi eritmasi, sirka angidrid.

1-tajriba. D vitaminining surma (III)- xlorid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ularning biriga baliq yog'idan, ikkinchisiga D vitaminining xloroformda eritilgan konsentratidan 3 tomchidan, har ikkalasiga sirka aldegididan 10 tomchidan tomizib aralashtirgandan keyin 5 tomchidan SbCl₃ ning xloroformdagi eritmasidan qo'shiladi. Aralashmalarning sariq rangga bo'yalishi namunalar tarkibida D vitamini borligidan dalolat beradi.

2-tajriba. D vitaminini brom bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ularning biriga baliq yog'ining xloroformdagi eritmasidan, ikkinchisiga D vitaminining xloroformda eritilgan konsentratidan 3 tomchidan tomizib, har ikkalasiga 3-4 tomchidan bromning xloroformdagi eritmasidan qo'shiladi. Suyuqliklarning yashil-havo rang tusga kirishi na'muna tarkibida D vitamini borligini isbotlaydi.

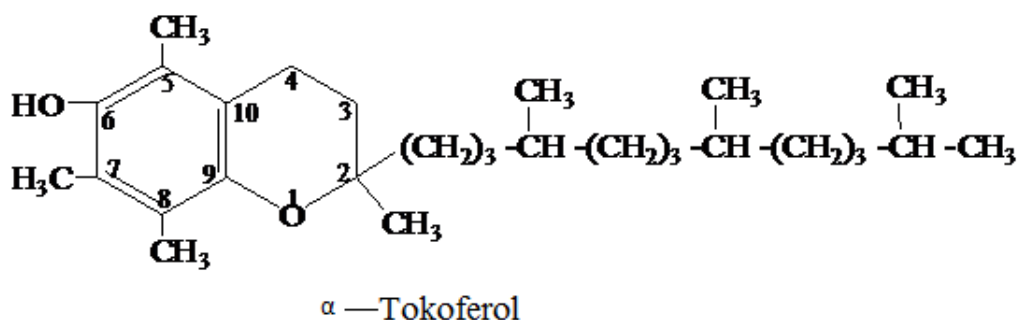
3-tajriba. D vitaminining anilin bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ularning biriga baliq yog'ining xloroformdagi eritmasidan, ikkinchisiga D vitaminining xloroformda eritilgan konsentratidan 2 ml dan solinadi, har ikkalasiga 2 ml dan anilinning xlorid kislotadagi eritmasidan qo'shiladi va qaynaguncha qizdiriladi. Namunalar tarkibida D vitamini borligi sababli oldin sariq emulsiya paydo

bo‘ladi, keyin aralashmalar yashil va nihoyat qizil rangga o‘tadi. 2 daqiqadan keyin esa aralashmalardagi emulsiya ikki qavat hosil qilib, ochiq qizil rangli bo‘lib qoladi.

53- ish. E vitaminiga xos reaksiyalar

E vitamini (tokoferol) benzopiren va geksadekan qoldiqlardan tashkil topgan bo‘lib, α , β va γ -tokoferollar shaklida uchraydi. Kimyoviy tuzilishi jihatidan trimetilgidroksinonning geksadekan bilan hosil qilgan mahsuloti hisoblanadi. α - tokoferolning tuzilishi quyidagicha:



E vitamin antioksidant hisoblanib biologik faol moddalarni parchalanib ketishdan, kaliy ionini yuvilib ketishdan saqlaydi. Tokoferollar hayvon va o‘simlik mahsulotlarida, ayniqsa o‘simlik moylari, tuxum, sariyog‘, go‘sht va boshqa mahsulotlarda ko‘p uchraydi. Odamlarning E vitamininga bo‘lgan ehtiyoji bir kech-kunduzda 5-20mg ni tashkil etadi.

Kerakli biomaterial: dorixonalarda sotuvda bo‘lgan α -tokoferolning 0,1 % li spirtli eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, shisha tayoqcha

Kerakli reaktivlar: temir (III) xloridning 1 li eritmasi, konsentrlangan nitrat kislota.

1-tajriba. E vitaminini temir (III) xlorid bilan rangli reaksiyasi

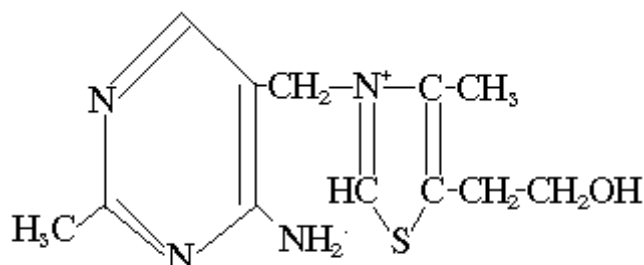
Ishni bajarish tartibi Probirkaga 5 tomchi α -tokoferolning 0,1 % li spirtli eritmasi va 0,5 ml 1 % li temir (III) xloridning eritmasi solinadi hamda yaxshilab aralashtiriladi. Reaksiya natijasida E vitamini qizil rangli tokoferilxinonga aylanishi kuzatiladi.

2- tajriba E vitaminini konsentrlangan nitrat kislota bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5 tomchi α -tokoferolning 0,1 % li spirtli eritmasi va 10 tomchi konsentrlangan nitrat kislota solib, yaxshilab aralashtiriladi. Reaksiya natijasida emulsiya hosil bo'ladi va ikki qatlamga ajraladikyeyinchalik uning yuqori qismi moysimon qizil rangga kiradi.

Suvda eruvchi vitaminlar 54-ish. B₁ vitamininga xos reaksiyalar

B₁ vitamini geterosiklik pirimidin va tiazol halqalaridan tashkil topgan bo'lib, ular bir biri bilan metilen guruhi yordamida bog'langan bo'ladi. Uning kimyoviy tuzilishi quyidagicha:



B₁ - Vitamin (Tiamin)

B₁-vitamin (tiamin) oksidlovchilar ta'sirida ko'k fluoressensiyaga ega bo'lgan tiokromga aylanadi. Bu reaksiyadan biomateriallar tarkibidagi B₁ vitaminini miqdoriy ko'rsatkichini aniqlashda foydalaniladi. Tiamin achitqi, turli donlarning tarkibida, sabzavotlarda, jigarda ko'p uchraydi. Odamlarning B₁-vitaminga bo'lgan ehtiyoji 1,2-2,2 mg ni tashkil qiladi.

Kerakli biomaterial. tiaminning 5 % li eritmasi, tiamin kukuni.

Kerakli jihozlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, gaz gorelka yoki spirt lampa, flyurametr.

Kerakli reaktivlar: sulfat kislota 1 % li eritmasi, natriy nitritning 5 % li eritmasi, natriy gidrokarbonatning 10 % li eritmasi, kaliy ishqorining 10 % li eritmasi qizil qon tuzini 5 % li eritmasi.

1-tajriba. B₁ vitaminini temir (III)- xlorid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 % li sulfat kislota eritmasidan 5 tomchi va 5 % li natriy nitrit eritmasidan 5 tomchi tomizib, ozgina tiamin

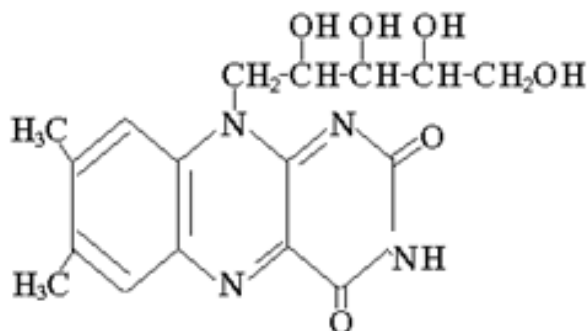
kukunidan qo‘shiladi. Shundan keyin probirka devoribo‘ylab 10 % li natriy bikarbonateritmasidan 6 tomchi tomiziladi. Ikki qavat suyuqlik chegarasida to‘q sariq halqa hosil bo‘ladi.

2-tajriba. Tiaminning tioxromgacha oksidlanish reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga tiaminning 5 % li eritmasidan 3 tomchi, 10 % li kaliy ishqori eritmasidan 5-6 tomchi solinadi, uni ustiga 5 % li qizil qon tuzi ($K_4[Fe(CN)_6]$) dan 2 tomchi tomiziladi va yaxshilab aralashtirganda aralashma sariq rangga bo‘yaladi. Bu eritmani ultrabinafsha nur bilan nurlantirilganda ravshan ko‘k fluoressensiyaga ega bo‘ladi.

55- ish. B₂ vitamining xos qaytaruvchanlik reaksiyasi

B₂vitamini(riboflavin) kimyoviy jihatdan izoalloksazinning hosilasi hisoblanib , uning ilmiy nomlanishi 6-7-dimetil-9-ribitil-izoalloksazindir:



Riboflavinning to‘yingan eritmasi sarg‘ish-yashil rangga bo‘yalgan bo‘ladi. U ultrabinafsha nurda ham o‘ziga xos tavsifli tarzda sarg‘ish-yashil rangga ega bo‘lib fluoressensiyalanadi. Riboflavin oksidlovchi-qaytaruvchi fermentlarning tarkibiga FMN va FAD tarzidagi koferment sifatida kiradi. Riboflavin hayvon mahsulotlari: go‘sh, baliq, tuxum, sutlarda va achitqida ko‘proq, sabzavotlarda kamroq uchraydi.

Odamlarning B₂-vitamining bo‘lgan ehtiyoji 2,0-2,5 mg ni tashkil qiladi

Kerakli biomaterial: dorixonalarda sotuvda bo‘lgan B₂ vitaminini suvdagi 0,025 % li eritmasi.

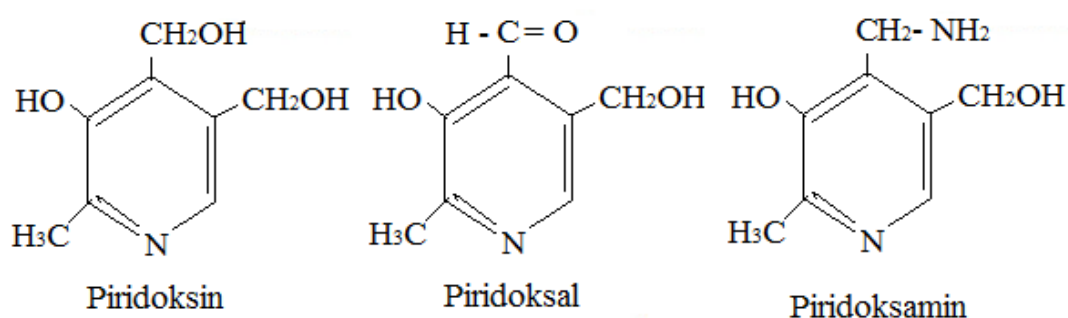
Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: konsentrlangan xlorid kislota, rux metali.

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 10 tomchi B₂ vitaminini 0,025 % li eritmasi va 5 tomchi konsentrlangan xlorid kislota tomizilgandan keyin aralashmaga mosh kattaligidagi rux metali solinadi. Bunda jadal ravishda vodorod ajralaboshlaydi, dastlab aralashma qizil rangga bo'yaladi, chunki qaytarilishning oraliq mahsuloti – rodoflavin hosil bo'ladi. Rodoflavinning qaytarilishi nihoyasigay etgandan keyin qaytadan rangsizlanish yuz beradi.

56-ish. B₆ vitaminiga xos sifat reaksiyalari

B₆ vitamini (piridoksin, piridoksal, piridoksamin) piridinining hosilalari hisoblanadi:



Bu moddalar aminokislotalarning almashinuvida ishtirok etadigan eng muhim fermentlar- aminotransferazalar- dekarboksilazalar- sisteindesulforaza- va boshqalarning kofermentlari vazifasini bajaradi. Shu bois, bu vitaminning tanqisligi aminokislotalarning almashinuvini izdan chiqarish orqali oqsillar, karbonsuvlar va yog'larning umumiy almashinuvini izdan chiqishiga sababchi bo'ladi. Bu vitamin o'simlik va hayvon mahsulotlarida keng tarqalgan. Odamning bu vitamanga bo'lgan ehtiyoji bir kunda 2 mg ni tashkil qiladi. Moddalar almashinuvini so'ngi mahsulotlari sifatida organizmdan ajratiladigan piridoksinli birikmalar siydik tarkibida piridoksilat kislotaning tuzlari tarzida chiqariladi.

Kerakli biomaterial: dorixonalarda sotuvda bo'lgan piridoksin, siydik.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar, gaz gorelkasi, suv hammomi.

Kerakli reaktivlar: temir (III) xloridning 5 % li eritmasi, xlorid kislotaning 10 % li eritmasi, natriy ishqorining 10 % li eritmasi, natriy tetraboratning 1 % eritmasi.

1-tajriba. Piridoksinning ferrixlorid bilan rangli reaksiyasi

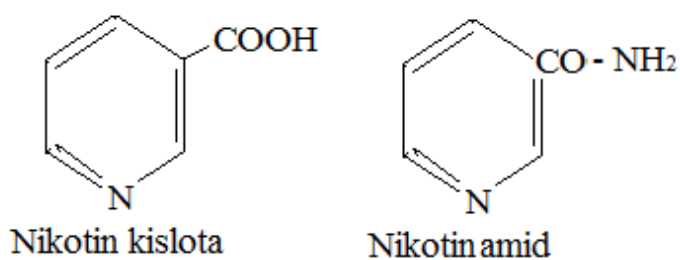
Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5 tomchi piridoksin eritmasi solib, ustiga FeCl_3 ning 5 % li eritmasidan 1tomchi tomiziladi. Aralashma yaxshilab aralashtirgandan so‘ng qizil rangga bo‘yaladi.

2-tajriba. Siydik tarkibidagi piridoksilat kislota ga xos rangli reaksiya

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 3tomchi siydik va 3 tomchi 10 % li xlorid kislota eritmasidan tomizib, qaynab turgan suv hammomida 20 daqiqa qizdiriladi. Probirkadagi aralashma sovigandan keyin unga 10 % li natriy ishqoridan 3 tomchi, 10 tomchi 1 % li natriy tetraborat solinadi. Bunda aralashmaning rangi ko‘k bo‘lib qoladi.

57-ish. PP vitamini (nikotin kislota, nikotinamid) ga xos sifat eaksiyalari

PP vitamini kimyoviy jihatdan piridinning hosilasi bo‘lib, nikotin kislota va uning amidi hisoblanadi:



Bu PP vitamini deb atalishiga sabab, pellagrani oldini olishi(pellagra preventing-so‘zlarining bosh harflari) bilan bog‘liq. Nikotin kislota oksireduktazalarning katta guruhini kofermenti hisoblanib, ularning tarkibida nikotinadenindinukleotid (NAD) va nikotinadenin dinukleotid fosfat (NADF) tarzida uchraydi. Uning tanqisligida terining quyoshdan himoyalanmagan joylari, oshqozon-ichak yo‘llari jarohatlanadi, psixika izdan chiqadi. G‘allasimon o‘simliklarning donida ancha ko‘p bo‘ladi. Odamning 1kunlik ehtiyoji 15-25 mg ni tashkil qiladi.

Kerakli biomaterial:nikotin kislota.

Kerakli jihozlar:shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar, gaz gorelkasi,yoki spirt lampasi.

Kerakli reaktivlar:sirka kislotaning 10 % li eritmasi, mis asetatning 5 % li eritmasi, natriy bikarbonatning 10 % li eritmasi, natriy gidrosulfitning 5 % li eritmasi.

1- tajriba. Nikotin kislotaning mis atsetati bilan rangli reaksiyasi

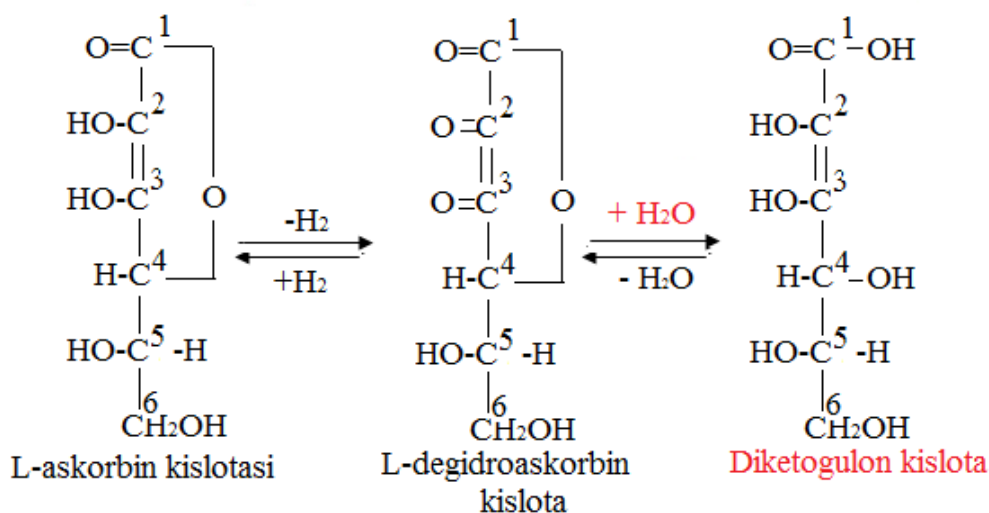
Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5-10 mg nikotin kislota, 10-20 tomchi 10 % li sirka kislota solib qizdiriladi, aralashma qaynash darajasiga yetganda 20 tomchi 5 % li mis atsetati eritmasi qo'shiladi. Bunda aralashma dastlab havorang loyqaga aylanadi, so'ng ko'k rangli cho'kma hosil bo'ladi.

2- tajriba. Nikotin kislotaning natriy gidrosulfat ta'siridagi rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5-10 mg nikotin kislota solib, ustiga 15 tomchi 10 % li natriy bikarbonat tomiziladi va uni aralashtirilgandan so'ng 15 tomchi yangi tayyorlangan 5 % li natriy gidrosulfit qo'shiladi. Bunda aralashma sariq ranga bo'yaladi.

58- ish. C vitaminiga xos reaksiyalar

Kimyoviy tabiati jihatidan C vitamini L- glukoza tuzilmasiga yaqin tuzilishga ega bo'lgan kislotaning laktoni hisoblanadi. C vitamini oksidlanish darajasiga bog'liq holda askorbin kislota, degidroaskorbin kislota va diketogulon kislota holatida bo'lishi mumkin:



Bu ko'rinishlarning hammasida askorbin kislota vitaminlik faollikka ega bo'ladi. C vitamini to'qimalardagi oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarida karbonsuv, yog' va oqsillar almashinuvida muhim ahamiyatga ega. Bu vitamin namatak, sitrus o'simliklari, mevalar va sabzavotlarda, shuningdek ko'k piyoz va ko'katlar tarkibida ko'p bo'ladi. Odamning bu vitamanga bo'lgan bir kunlik ehtiyoji 75-100 mg ni tashkil qiladi.

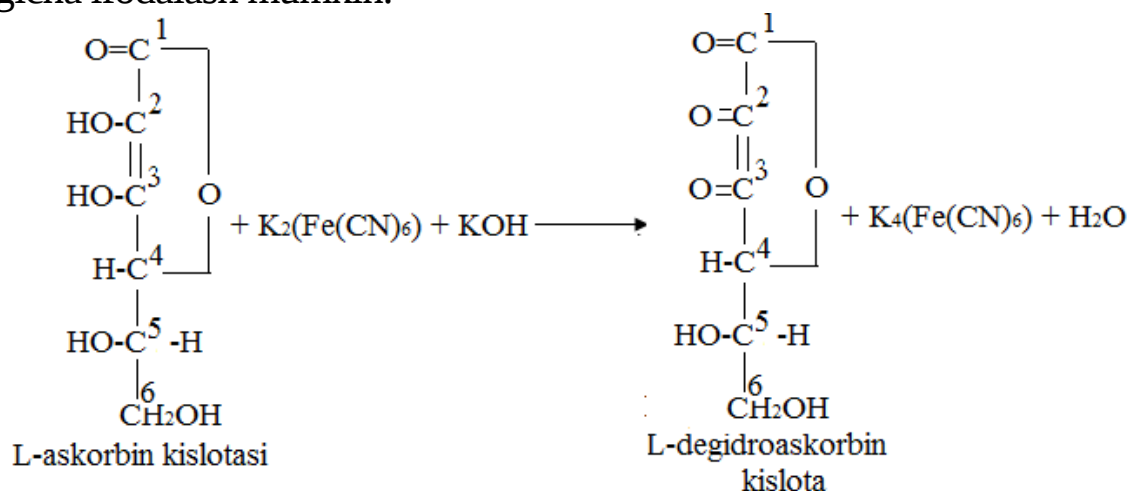
Kerakli biomaterial: na'matak, olma, karam ekstraktlari.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar.

Kerakli reaktivlar: kaliy ferrosianidning 5 % li eritmasi, temir (III) xloridning 1% li eritmasi, distillangan suv, metilen ko'kining 0,01 % li eritmasi, natriy karbonatning 10 % li eritmasi, 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 N eritmasi, xlorid kislotaning 2 % li eritmasi.

1-tajriba. C vitaminining kaliy ferrosianid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. To'rtta probirka olib, ularning hammasiga 2-3 tomchidan 5 % li kaliy ferrosianid va 1 tomchidan temir (III) xloridning 1 % li eritmasidan tomiziladi. So'ng birinchi probirkaga na'matak ekstraktidan 6 tomchi, ikkinchisiga olma ekstraktidan 6 tomchi, uchinchisiga karam ekstraktidan 6 tomchi va to'rtinchisiga distillangan suvdan 6 tomchi tomiziladi. Bunda birinchi, ikkinchi, uchinchi probirkalardagi reaksiya muhitlari C vitamini mavjudligi tufayli aralashmalardagi qizil qon tuzi qaytarilib, sariq qon tuziga aylanadi hamda temir(III) xlorid ishtirokidasuvda yomon eruvchi Berlin zangorisi hosil bo'ladi. Reaksiya aralashmalaridagi Berlin zangorisi rangining jadalligi bu biomaterial tarkibidagi C vitaminining miqdoriga bog'liq bo'ladi. To'rtinchi probirkadagi aralashmani rangi esa o'zgarishsiz qoladi, chunki unda C vitaminni o'rniga distillangan suv qo'shilgan. Reaksiya tenglamasini quyidagicha ifodalash mumkin.



1-tajriba.C vitaminining metilen ko‘ki bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. To‘rtta probirka olib, ularning hammasiga 2 tomchidan 0,01 % li metilen ko‘ki eritmasi va 2 tomchidan 10 % li natriy karbonat eritmasi tomiziladi. So‘ng birinchi probirkaga na‘matak ekstraktidan 10 tomchi, ikkinchisigaolma ekstraktidan 10 tomchi, uchinchisiga karam ekstraktidan 10 tomchi va to‘rtinchisigadistillangan suvdan 10 tomchi tomiziladi. Bunda birinchi, ikkinchi, uchinchi probirkalarda C vitamini ta‘sirida metilen ko‘ki rangsizlanadi, to‘rtinchi probirkadagi aralashma tarkibida C vitamini yo‘qligi sababli rangsizlanmaydi.

3-tajriba. C vitaminning 2,6-dixlorfenolindofenol bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Oltita probirka olib, shtativga ikki qator qilib joylashtirib 1a,1b,2a,2b,3a, 3b tartibda raqamlanadi. So‘ng 1ava1b ga na‘matak ekstraktidan,2a va 2b ga olma ekstraktidan, 3a va 3b ga karam ekstraktidan 3 tomchidan tomiziladi. So‘ng 1a,2a,3a dagi probirkalardagi C vitaminini qaynatish yoki vodorod peroksidi qo‘shish yo‘li bilan parchalanadi. Bundan keyin hamma probirkalarga 1 tomchidan xlorid kislotaning 2 % li eritmasidan qo‘shiladi va birin-ketin tomchilab avval 1b, 2b va 3b probirkalarga 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 N eritmasidan tomiziladi. Bu probirkalarda C vitamini mavjudligi tufayli dastlabki qo‘shilgan indikatorning gulobi rangi yo‘qoladi. Keyinchalik esa namuna tarkibidagi askorbin kislota oksidlanib ketganligi tufayli gulobi rang saqlanib qoladi. Nazorat vazifasini bajargan 1a, 2a, 3a probirkalarda esa askorbin kislota qaynatish yoki vodorod peroksidi ta‘sirida oksidlangan holatga o‘tganligi sababli gulobi rangning rangsizlanishi umuman kuzatilmaydi. Bu o‘rinda C vitamini to‘g‘risidagi fikrni davom ettirib aytish mumkinki, biomateriallar tarkibidagi bu vitaminni miqdorini aniqlashda aynan shu 2,6-dixlorfenolindofenol bilan bo‘lib o‘tadigan rangli reaksiyadan foydalaniladi.

O‘tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar

- 1.Vitaminlar qanday moddalar.
- 2.Vitaminlarning tasniflanishi.

3. Yog‘ da eruvchi vitaminlarni tavsiflang.
4. Suvda eruvchi vitaminlar va ularning umumiy tavsifi.
5. Vitaminsimon moddalar va ularning tavsifi.
6. Gipo-, a- va gipervitaminoz holatlarining kelib chiqish sabablari.
7. A vitaminini uning fiziologik ahamiyati.
8. D vitamini, tuzilishi va ahamiyati.
9. K vitaminini tuzilishi, xossalari va ahamiyati.
10. E vitaminini kimyoviy tuzilishi, xossalari.
11. B guruhi vitaminlari, ularning xossalari.
12. Vitaminsimon moddalar, ularning tuzilishi va fiziologik ahamiyati.
13. Vitaminlarning tabiiy manbalari.
14. Odam organizmining yog‘da eruvchi vitaminlarga bo‘lgan ehtiyojlari.
15. Odamning suvda eruvchi vitaminlarga bo‘lgan kunlik ehtiyojdlari.
17. Koferment vazifasini bajaruvchi suvda eruvchi vitaminlar.
18. Koferment vazifasini bajaruvchi vitaminsimon moddalar.

GORMONLAR

Gormonlar biologik faol moddalar bo‘lib, turli-tuman kimyoviy tuzilishga ega bo‘lgan moddalar hisoblanadi. Ular moddalarni almashinuvini u yoki bu jihatlarga ta’sir etish orqali tirik organizmlardagi o‘sinh, rivojlanish va shunga o‘xshash barcha hayotiy jarayonlarni boshqarib turadi. Gormonlar axborotlarni hujayraga tashuvchi kimyoviy vositachi sifatidagi vazifani ham bajaradi. Ular xilma xil biokimyoviy

jarayonlar uchun zarur bo'lgan ionlarning plazmatik membranalar orqali tashilishidan tortib, to genom transkripsiyasigacha bo'ladigan jarayonlarga ta'sir ko'rsata oladi. Fiziologik sharoitlarda gormonlar tez sintezlanib va parchalanib turadi. Ularning yashash davri bir soatdan oshmaydi va juda murakkab mexanizmlarga ega bo'lib, qondagi konsentratsiyasi 10^{-8} M dan 10^{-12} M gacha bo'lganda ham jarayonlarga o'z ta'sirini ko'rsata oladi. Gormonlar kimyoviy tabiatiga ko'ra: peptid va oqsil tabiatli, aminokislotalarni hosilalari tabiatli, steroid gormonlar va gormonoid moddalarga bo'linadi. Gormonoid moddalar ichki sekretsia bezlarida ishlab chiqilmasdan ko'pchilik organlar va to'qimalarda hosil bo'lib, haqiqiy gormonal ta'sirga ega emas.

19-mavzu. Gormonlarga xos reaksiyalar

Darsning maqsadi. *Gormonlarga xos reaksiyalarni o'tkazish ko'nikmalarini egallash va ularni o'tkazish orqali gormonlarning biologik ahamiyatiga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash*

59- ish. Insulinga xos reaksiyalar

Oshqozon osti bezini – Langergans-Sobolev orolchalarining α – va β -hujayralari ikki xil gormon ishlab chiqaradi, ya'ni ular o'zaro mos holda glyukagon va insulin gormonlari hisoblanadi. Insulin moddalar almashinuviga ta'sir etib, glikogenning sintezini va glukozani oksidlanishini, uch karbon kislotalar va pentoza fosfat sikllarini kuchaytiradi, oqsil sintezini, lipogenezni jadallashtiradi. Insulin oqsil tabiatli modda bo'lib, 51 ta aminokislota qoldig'idan tashkil topganligi uchun oqsillarga tegishli Geller, Biuret va Fol reaksiyalarini beradi.

Kerakli biomaterial.: dorixonadan olingan ampuladagi insulin eritmasi.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar, elektroplitka.

Kerakli reaktivlar: konsentrlangan nitrat kislota, natriy ishqorining 10 % li eritmasi, mis sulfatning 1 % li eritmasi, Fol reaktivi(tayyorlash: Qo'rg'oshin asetatning 5 % li eritmasiga hosil bo'lgan cho'kmani erib ketishigacha miqdorda 10 % natriy ishqori qo'shiladi)

1-tajriba. Insulin bilan Geller reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 10 tomchi konsentrlangan nitrat kislota solinadi va uning devori bo‘ylab 10 tomchi insulineritmasi tomiziladi. Bunda probirkadagi ikkala suyuqlik keskin aralashib ketmasligini ta‘minlash maqsadida probirka 45° burchak bilan ushlab turiladi. Natijada suyuqliklar to‘qnash kelgan chegarada oq amorf cho‘kma hosil bo‘ladi.

2-tajriba. Insulin bilan biuret reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 10 tomchi insulin eritmasi olib, unga 5 tomchi 10 % li natriy ishqori va 1 tomchi 1 % li mis sulfat eritmasi tomizilib yaxshilab aralashtiriladi. Bunda aralashma binafsha rangga bo‘yaladi va bu narsa aralashma tarkibidagi modda oqsil ekanligini va unda peptid bog‘ borligini isbotlaydi.

3-tajriba. Insulin bilan Fol reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5 tomchi insulin eritmasi olib, unga 5 tomchi Fol reaktivi tomizib elektroplitkada qizdiriladi, 1-2 daqiqadan keyin aralashmaning qora rang bilan bo‘yalishi, tadqiq qilinuvchi modda tarkibida oltingugurt tutuvchi aminokislotalar borligidan dalolat beradi.

60- ish. Qalqonsimon bez gormoni – tiroksinga xos reaksiya

Qalqonsimon bezning hujayralaridan qonga tarkibida 0,2-0,9% yod bo‘ladigan tireoglobulin nomi bilan yuritiladigan oqsil moddasi ajratib chiqariladi. U kimyoviy tabiati jihatidan glikoprotein bo‘lib, molekulyar massasi 660000 Da ga teng. Tireoglobulin shu bez to‘qimasida proteolitik fermentlar ta‘siriga uchrab, molekulasi yod tutadigan gormonlar-tiroksin, triyodtironin, diyodtironinlarga ajraladi. Tireoid gormonlar organizm, organ va to‘qima hujayralarinining reaksiya qobiliyatini oshiradi. Ularning asosiy biologik roli genlar ekspressiyasiga ta‘sir etishdir. Tireoid gormonlarga xos sifat reaksiyasi undagi yodni aniqlashga qaratilgan bo‘ladi. Tiroksinni oksidlash yo‘li bilan parchalaganda erkin holda yod ajralib chiqadi. Erkin yodni esa kraxmal bilan bo‘ladigan reaksiya orqali aniqlash mumkin bo‘ladi:



Kerakli biomaterial. tireoid preparati

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar, hovoncha, shisha tayoqcha, voronka, gidroliz uchun havo sovitqichli tiqinga ega bo'lgan kolbacha, spirt lampasi.

Kerakli reaktivlar: natriy ishqorining 10 % li eritmasi, sulfat kislotaning 10 % li eritmasi, lakmus qog'ozi, kraxmalning 1 % li eritmasi, kaliy yodatning 2 % li eritmasi.

1-tajriba. Tireoidni ishqoriy gidrolizlash

Ishni bajarish tartibi. Hovonchaga tireoid tabletkasidan 5 donasini solib yaxshilab yanchiladi. Maydalangan massani kolbachaga ko'chirib, ustiga 5 ml 10 % li natriy ishqori va 5 ml distillangan suv qo'shiladi. Kolbani havo sovitqichli tiqin bilan yopib, spirt lampasi yordamida 10-15 daqiqa qaynatiladi.

2-tajriba. Tireoid gidrolizatidagi yodni aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Tireoid gidrolizatidan 2 ml ni alohida probirkaga solinadi va uni 10 % li sulfat kislotadan tomchilab qo'shish yo'li bilan neytrallanadi. Neytrallash jarayoni lakmus qog'ozi yordamida nazorat qilinadi. Hosil bo'lgan aralashmaga 1 % li kraxmal eritmasidan 3 tomchi va 2 % kaliy yodat eritmasidan 5 tomchi tomiziladi. Reaksiya natijasida ajralib chiqqan yod kraxmal bilan birikib kompleks hosil qilish asosida suyuqlikning rangini ko'k rangga bo'yaydi.

61- ish. Buyrak usti bezining mag' iz qismi gormonlariga xos reaksiya

Ma'lumki buyrak usti bezining mag'iz qismida katexolaminlar deb umumlashtirib nomlangan adrenalin va noradrenalin gormonlari ishlab chiqariladi. Ular karbonsuvlar almashinuviga ta'sir etadi, kislorodni o'zlashtirilish darajasini kuchaytiradi, tana haroratini oshiradi. Adrenalin qator rangli reaksiyalarga kirishadi. Ular jumlasiga: molibdat, nitrit, diazoreaktiv va temir xloridlar bilan bo'ladigan reaksiyalarni kiritish mumkin.

Kerakli biomaterial: adrenalin eritmasi (1:1000).

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar, spirt lampasi yoki elektroplitka.

Kerakli reaktivlar: kaliy yodatning 1 % li eritmasi, sirka kislotaning 10% li eritmasi, temir (III) xloridning 3 % li eritmasi, ammiakning 10 % li eritmasi, xlorid kislotaning 5 % li eritmasi, nitrit-molibdenli reaktiv (tayyorlash: 10 g natriy nitritga 10 g natriy molibdat qo'shib distillangan suv yordamida hajmi 100 ml ga yetkaziladi), natriy ishqorining 10 % li eritmasi, konsentrlangan xlorid kislota, sulfanil kislotaning 1 % li eritmasi, natriy nitratning 5 % li eritmasi, natriy karbonatning 10 % li eritmasi.

1- tajriba. Adrenalinning kaliy yodat bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. 1 % li kaliy yodat eritmasidan solib, ustiga 0,5 ml 10 % sirka kislotasi eritmasi tomiziladi. Aralashma spirt lampasi yordamida 60-65° C gacha qizdiriladi. Suyuqlikning ravshan qizg'ish-binafsha rangga bo'yalishi aralashma tarkibida adrenalin borligidan dalolat beradi.

2- tajriba. Adrenalinning temir (III)- xlorid bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 0,5 ml adrenalin eritmasi, 2 ml distillangan suv va 1 tomchi 3 % li temir (III)- xlorid solinadi. Aralashma tarkibida adrenalin borligi uchun yashil rangga bo'yaladi. Agar reaksiyani davom ettirib unga 1 tomchi 10 % li ammoniy gidroksid qo'shilsa, aralashma oldin to'qqizil, so'ngra jigar rangga o'tadi.

3- tajriba. Adrenalinning nitrit-molibdenli reaktiv bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 ml adrenalin eritmasi, 1 ml nitrit-molibdenli reaktiv qo‘shib yaxshilab aralashtiriladi. Aralashma tarkibida adrenalin borligi sababli u sarg‘ish-qizil rangga bo‘yaladi.

4-tajriba. Adrenalinga xos diazoreaksiya

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 ml 1 % li **sulfanil kislota** eritmasi, 1 ml 5 % li natriy nitrit eritmasi, 2 ml adrenalin eritmasi va 1 ml 10 % li natriy karbonat eritmasi solinadi. Aralashma tarkibida adrenalin bo‘lganligi va uning diazolanishi tufayli u qizil rangga bo‘yaladi.

62-ish. Steroid gormonlarga xos rangli reaksiyalar

Kimyoviy tarkibi jihatidan steroid gormonlar siklopentanpergidrofenantren xalqasi hosilalari hisoblanadi. Ularga buyrak usti bezining po‘stloq qismi gormonlari mineralokortikoid (aldosteron, dezoksikortikosteron)lar, glukokortikoid (kortizol, kortizon, kortikosteron)lar, ayollar jinsiy gormonlari estrogen (estron va estradiol) lar, erkaklar jinsiy gormonlari androgen (testosteron va androsteron) lar, sariq tana gormonlari progesteron (pregnandiol va progesteron) larni kiritish mumkin. Ayol jinsiy gormonlari (follikulin, estradiol va estriol) fenol xalqasiga ega bo‘lganligi sababli fenollarga xos qator reaksiyalarni beradi. Biomateriallar tarkibida ularni borligini aniqlash uchun fenollarga tegishli reaksiyalarni o‘tkaziladi. Bundan tashqari androsteron, follikulin, kortizol, kortizon va boshqalar 17- ketosteroidlar deb nomlangan, ya’ni 17-karbon atomida keton guruhiga ega bo‘lgan moddalar jumlasiga kiradi. Organizmning ular bilan ta’minlanganlik darajasini siydikdagi miqdorini aniqlash orqali baholanadi.

Kerakli biomaterial: follikulinning spirtli eritmasi (tayyorlash: ajratgich voronkaga 30 ml 3 ta ampuladagi moysimon eritmasidan solinadi; follikulinni bu aralashmadan ekstraksiya qilish yo‘li bilan ajratib olish uchun ancha vaqt davomida chayqatiladi, qatlamlar bir birdan ajralgunga qadar kutib turiladi, keyin pastki moysimon qatlam to‘kib yuboriladi, ustki, spirtli qatlam reaksiyalarni o‘tkazish uchun foydalaniladi), siydik.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan birga, pipetkalar, suv hammomi

Kerakli reaktivlar: natriy ishqorining 30 % li eritmasi, m-dinitrobenzolning etanoldagi 2 % li eritmasi, konsentrlangan sulfat kislota, Folin reaktivi (tayyorlash: teskari sovitqichli tiqinga ega bo'lgan kolbaga 50 g natriy volframat, 10 g fosforomolibdat kislota, 25 ml 85 % li fosfat kislota, 375 ml distillangan suv solinadi. Kolbani sovitqichli tiqin bilan berkitib sovitgichni vodoprovod suviga ulanadi aralashma 10 soat davomida qaynatiladi, sovigandan so'ng uning hajmi distillangan suv yordamida 500 ml ga yetkaziladi. Reaktivni qorong' i va salqin sharoitda 6 oy muddatda saqlash, foydalanish mumkin).

1-tajriba. Follikulinning fenol guruhiga oid rangli reaksiya

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 2 ml follikulinning spirtli eritmasi, 1 ml natriy ishqori eritmasi va 1 ml Folin **eritmasisolinadi**. Bunda aralashma ko'k rangga bo'yaladi.

2-tajriba. Follikulindan fenolyat hosil bo'lishiga oid rangli reaksiya

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib follikulinning spirtli eritmasidan 2 ml dan solinadi. Ularning birinchisiga 10 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 10 tomchi natriy ishqori eritmasidan tomiziladi. Bunda birinchi probirkada loyqalangan follikulinning emulsiyasi hosil bo'lsa, ikkinchi probirkada ishqoriy muhitda loyqalanish yuz bermaydi, chunki eruvchan tavsifli follikulinning fenolyati hosil bo'ladi.

3-tajriba. Follikulindagi 17-ketoguruhga oid rangli reaksiya

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 ml follikulinning spirtli eritmasi, 1 ml 30 % li natriy ishqori eritmasi va 1 ml 2 % li m-dinitrofenol eritmasi solinadi. 5-6 daqiqadan keyin aralashma qizil rangga kiradi.

4-tajriba. Follikulinning sulfat kislota bilan rangli reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 0,5ml follikulinning spirtli eritmasi, 2 ml konsentrlangan sulfat kislota solinadi va aralashma qizdiriladi. Birozdan keyin aralashma sariq rangga kiradi.

O'tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar

1. Qanday moddalar gormonlar deyiladi?
2. Oqsil tabiatli gormonlarni tavsiflang.
3. Aminokislotalar hosilalari turkumidagi gormonlarga qaysilar kiradi?
4. Steroid gormonlarni tavsiflang.
5. Insulinning kimyoviy tabiati va organizmga ta'sir etish doirasi.
6. Ichki sekretiya bezlarining arxitektonikasi.
7. Buyrak usti bezining po'stloq qismi gormonlari va ularga xos rangli reaksiyalar.
8. Buyrak usti bezining miya qismi gormonlari va ularga xos rangli reaksiyalar.
9. Tireoid gormonlar ularga xos rangli reaksiyalar.
10. 17-ketokortikosteroidlar va ularga xos rangli reaksiyalar

FUNKSIONAL BIOKIMYO

Funksional biokimyo - nisbatan yosh fan va u umumiy biokimyoning ancha murakkab tarmog' i bo'lib, uning statistik va dinamik biokimyo tarmoqlari negizida hujayraning tuzilmasi va fizik-kimyoviy asosini tashkil qiladigan makromolekulalarning tuzilmaviy o'zgarishlarini, ularning funksiyalari bilan bog'liqligini biokimyoviy jihatlarini o'rganish bilan shug'ullanadi. Funksional biokimyo hujayra va ba'zi to'qima va organlarning hayotiy faoliyatini tushinib olish imkonini yaratadi. Demak funksional biokimyo barcha to'qimalarda kechadigan biokimyoviy jarayonlarni molekular darajada tushintirish bilan mashg'ul bo'luvchi fandir. Shunday qilib, funksional biokimyoning o'rganish predmeti qonda, jigarda, buyraklarda, o'pkada, mushaklarda, biriktiruvchi va suyak to'qimalarida, nerv tizimida va boshqalarda kechadigan va harqanday tirik organizmning hayotiy faoliyatini ta'minlovchi biokimyoviy jarayonlarning yig'indisini tashkil qiladi. Maskur qo'llanmada hayotiy jarayonlarni **yuz berishi** mexanizmlarini tavsiflovchi asosiy biokimyoviy me'yoriy ko'rsatkichlar moddalar va energiya almashinuvi bilan bog'liqligini hamda bu ko'rsatkichlarni tavsiflovchi ma'lumotlar qon va buyrak faoliyati orqali namoyon bo'lishini e'tiborga olib ish yuritildi. Demak, quyida hayotiy jarayonlarning funksional biokimyoviy tahlil jihatlarini o'rganish qon va siydikda o'tkaziladigan tahlillar asosida amalga oshirilishi nazarda tutiladi.

20- mavzu. Qon biokimyosi

Qon organizmning asosiy ichki muhiti eritmasi hisoblanadi. Tashqi muhitdan kirib kelgan moddalar, hujayra, to'qimaning almashinuv mahsulotlari doimo qonga o'tib turadi. Qon qizil rangli, yopishqoq, kuchsiz ishqoriy (kattalarda pH i 7,36-7,4 , yangi tug'ilgan chaqaloqlarda 7,2-7,3) geterogen suyuqlik. Qon plazmadan, shaklli elementlardan, qon zardobidan tashkil topgan. Plazma birnecha daqiqada iviydi, ya'ni quyqa hosil bo'ladi. Shu iviq qisqarish natijasida qon zardobi ajraladi. Qon zardobi plazmadan tarkibida fibrinogen oqsili yo'qligi bilan farqlanadi. Qon moddalar almashinuv bilan bog'liq holda muhim funksiyalarni bajaradi. Ular jumlasiga:

- o'pkadagi koslorodni to'qimalarga, to'qimalarda hosil bo'lgan karbonat angidridni o'pkaga tashish, ya'ni nafas olish va nafas chiqarish orqali to'qimalarda oksidlanish-qaytarilish va energiya almashinuvini boshqaruv;

- oshqozon-ichak tizimida hazm natijasida hosil bo'lgan mahsulotlarni turli a'zolariga yetkazish orqali oziqlantirish;

- to'qimalarda hosil bo'lgan zaharli moddalar, qon bilan jigarga keltirilib, unda zararsizlantirilgan birikmalarni buyrak orqali tashqariga chiqarilishini, ya'ni ularni ajratilishini ta'minlash;

- leykotsitlar va antitanachalar yordamida, shuningdek suv-tuz, kislota-ishqor muvozanatlarini, haroratni bir me'yorda saqlash orqali organizmda himoya vazifasini bajarish kabilar kiradi.

Qon bo'yicha o'tkaziladigan biokimyoviy tahlillar bo'lajak biologlar uchun organizmning fiziologik holatini baholashda, tibbiy mutaxassislar uchun odamlarning, veterinariya va zoomuhandislik mutaxassislari uchun hayvonlarning fiziologik va patologik holatlarini baholashda amaliy ahamiyatga ega bo'ladi. Bu tahlillar jumlasiga: qon zardobi oqsillari, azotli, azotsiz birikmalari, mineral moddalar miqdorlarini aniqlash, shaklli elementlarning miqdoriy ko'rsatkichlari eritrotsitlarining cho'kish tezligini aniqlash, qon zardobi tarkibidagi har xil fermentlarning faolliklarini aniqlash, qonning solishtirma og'irligi, pH ko'rsatkichi, osmotik bosimini aniqlash kabilar kiradi. Quyida bu biokimyoviy tahlil reaksiyalaridan ayrimlari keltiriladi.

Darsning maqsadi. Qon biokimyosiga oid laboratoriya sharoitida o'tkaziladigan biokimyoviy tajribalarni o'tkazish ko'nikmalarini egallash

va bu tajribalar natijasiga tayangan holda mavzuga oid nazariy bilimlarni mustahkamlash.

63- ish. Qonni fibrindan tozalash va qon gemoglobinini vodorod peroksidini parchalashga oid benzidin bilan reaksiyasi.

Kerakli biomaterial: quyondan olingan qon, fibrinsizlantirilgan qon.

Kerakli jihozlar: qon olish uchun nina, paxta, stakan, shisha tayoqcha, shtativ probirkalari bilan.

Kerakli reaktivlar: ksilol, benzidinning 5 % li eritmasi, vodorod peroksidining 3 % li eritmasi, distillangan suv, 96% li spirt.

Gemoglobin vodorod peroksidini parchalash xossasiga ega, uning bu xossasini tajriba yo‘li bilan isbotlash uchun qonni defibrillangan holatga keltirish lozim. Shu sababli qonni fibrindan xolis qilish talab qilinadi.

1- tajriba. Qondan fibrinni ajratish va defibrinlangan (fibrinsizlantirilgan) qon olish.

Ishni bajarish tartibi. Bu xildagi qonni olish uchun quyonning qulog‘ini junini qirib tashlab paxtaga spirtni xo‘llab artiladi, so‘ng shu joyni iliq suv bilan xo‘llangan paxta bilan artiladi va quruq paxta bilan artib quritilgandan keyin jarohatlanadi, hamda stakanga uning devori bo‘ylab oqizdirib 10 ml qon yig‘iladi. Bu qonni shisha tayoqchani stakan devoriga tekizmasdan asta-sekin aralashtiriladi va uning tarkibidagi fibrinni tayoqchaga o‘rab ajratib olinadi. Stakandagi qon fibrinsizlangan bo‘ladi.

2-tajriba. Fibrinsizlantirilgan qon bilan benzidin reaksiyasi.

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, birinchisiga 5 ml fibrinsizlantirilgan qon, ikkinchisiga 5 tomchi distillangan suv tomiziladi . So‘ng har ikkala probirkaga 5 tomchidan 5 % li benzidin eritmasi va 5 ml dan 3 % li vodorod peroksidi qo‘shiladi.

Reaksiya natijasida birinchi probirkadagi aralashma ko‘kimtir-yashil rangga kiradi, ikkinchi probirkada esa o‘zgarish bo‘lmaydi.

64-ish. Bilirubinga xos reaksiya va uni miqdoriy tahlili

Ma‘lumki, sutemizuvchilarning eritrotsitlari 100-120 kun mavjud bo‘ladi va keyin retikulo-endotelial tizim hujayralarida parchalanadi.

Ajralgan gemoglobin oqsilga va gemgacha parchalanadi. Keyinchalik organizmda gem temirdan xolis bo'lib keyingi almashinuvlarga duch keladi. Ulardan biri biliverdin bo'lib, u qaytarilib bilirubinga aylanadi. Bilirubin taloq, jigar, eritrotsitlarda hosil bo'ladi. Bilirubin jigarda ushlanib, keyin o't bilan birga o't pufagiga, so'ng ishqoriy metallar bilan birikib tuz hosil qilib o'n ikki barmoqli ichakka o'tadi.

Qon zardobida bilirubin erkin, ya'ni suvda erimaydigan, va glukuron kislota bilan birikkan, ya'ni suvda yaxshi eriydigan holatda bo'ladi. Qon zardobi tarkibida bu ikki xil bilirubin ham albumin bilan birikkan holda bo'ladi. Erkin bilirubin diazoreaktiv bilan to'g'ridan to'g'ri pushti rang hosil qilmay, balki bu rangga qon zardobini etil yoki metil spirti bilan ishlov bergandan keyingina bo'yaladi. Shuning uchun uni erkin bilirubin deb yuritiladi. Glukuron kislota bilan bog'langan bilirubin esa, diazoreaksiyasiga birdan kirishadi va shu sababli uni bog'langan bilirubin (bilirubin-glukuronid) deyiladi. Qon zardobi tarkibidagi erkin bilirubin, bog'langan bilirubin va umumiy bilirubinlarning miqdorini aniqlash sariq kasalligi uchun tashxis tavsifiga ega.

Kerakli biomaterial: quyondan olingan qonning zardobi, konservalangan (o't suyuqligi qo'shilgan) qon zardobi .

Kerakli jihozlar: qon olish uchun nina, paxta, stakan, shisha tayoqcha, shtativ probirkalari bilan, byuretk, voronka, qog'oz filtr, pipetkalar, soat oynachasi, FEK, kyuvetalar.

Kerakli reaktivlar: ksilol, benzidinning 5 % li eritmasi, vodorod peroksidining 3% li eritmasi, distillangan suv, diazoreaktiv (tayyorlash: a) 5 g sulfanil kislota 300-400 ml distillangan suvda biroz qizdirish yo'li bilan eritiladi, ustiga 15 ml konsentrlangan xlorid kislota qo'shiladi va hajmi 1 l ga yetkaziladi, bu Diazoreaktiv-I; b) natriy nitratning 0,5%li eritmasi, bu Diazoreaktiv-II. Reaksiyani amalga oshirish uchun 10 ml diazoreaktiv I ni 0,3 ml diazoreaktiv-II bilan aralashtiriladi), etil spirti, kofein reaktivi (tayyorlash: 5 g toza kofein, 7,5 g natriy benzoat, 70 ml distillangan suvda haroratni 80°C gacha qizdirish yo'li bilan eritiladi, so'ng aralashmani hajmi 100 ml ga yetkaziladi), bikarbonatning spirtli eritmasi(tayyorlash: 60 mg natriy bikarbonatva 0,3g natriy xlorid 25 ml suvda eritiladi va unga 75 ml etil spirti qo'shiladi).

1-tajriba. Erkin bilirubinga oid rangli reaksiya

Ishni bajarish tartibi. A) **Erkin bilirubinni aniqlash.** Probirkaga 1 ml qon zardobi, 2 ml etil spirti solinadi va aralashma filtrlanadi. Filtrat ustiga 5 tomchi yangi tayyorlangan diazoreaktivning aralashmasi tomiziladi, natijada qizg'ich-pushti rang hosil bo'ladi.

B) **Bog'langan bilirubinni aniqlash.** Tagiga oq qog'oz to'shab qo'yilgan soat oynachasiga 1 tomchi bog'langan bilirubinli qon zardobi (konservalangan) tomizib ustiga 3 tomchi yangi tayyorlangan diazoreaktivning aralashmasi qo'shib shisha tayoqcha yordamida aralashtiriladi. Bunda bilirubinga xos qizil rang paydo bo'ladi.

2-tajriba. Yendrashek va Kleggori usulida qon zardobi tarkibidagi bilirubin miqdorini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. 1 ml qon zardobiga 1ml distillangan suv qo'shiladi va uchta probirkaga bu suyultirilgan qon zardobidan 0,5 ml dan solinadi. So'ng birinchi va ikkinchi probirkalarga 2 ml dan kofein reaktivdan, uchinchi probirkaga 2 ml 0,9 % li natriy xlorid eritmasi solinadi. Bundan keyin birinchi va uchinchi probirkalarga 0,3 ml dan diazoreaktivdan, ikkinchi probirkaga 0,3 ml 0,9 % li natriy xlorid eritmasidan qo'shib, 10 daqiqa o'tgandan keyin FEK da birinchi va uchinchi probirkalardagi aralashma ikkinchi (nazorat) probirkadagiga qarshi yashil svetofiltrda fotoelektrometrlanadi. Olingan ma'lumotlar kalibrlangan egri chiziq ma'lumotlaridan foydalangan xolda mg/% hisobidagi ko'rsatkichga aylintiriladi. Erkin bilirubinning miqdorini umumiy bilirubin miqdoridan ayirish asosida bog'langan bilirubin miqdorini keltirib chiqariladi. Kalibrlangan egri chiziqni chizish uchun 10 mg bilirubinni 50 ml xloroformda eritiladi, bu eritmaning 1 ml da 0,2 mg bilirubin bo'ladi. to'rtta probirka olib ularning birinchisiga 0,1ml, ikkinchisiga 0,2ml, uchinchisiga 0,3 ml va to'rtinchisiga 0,4 ml dan shu xloroformli standart eritmadan solinadi, ularga bikarbonat eritmasidan 0,8 ml dan va diazoreaktivdan 0,3 ml dan qo'shiladi. Probirkalardagi aralashmalar yaxshilab aralashtirilgandan so'ng ularning har birini hajmi 2,8 ml ga yetkaziladigan hajmda etil spirti qo'shiladi. Aralashmalar yuqorida keltirilganidek yashil svetofiltrda fotokolorometrlanib, olingan ma'lumotlardan kalibrlangan egri chiziq chizishda foydalaniladi.

65- ish.Qon zardobi tarkibidagi siydikchil miqdorini aniqlash

Ma'lumki, organizmda oqsillar almashinuvining eng so'ngi mahsuloti – siydikchildir. Uning qondagi miqdoriy ko'rsatkichini aniqlash tibbiyot va veterinariyada muhim amaliy ahamiyatga ega. Siydikchil *p*-dimetilaminobenzaldegid bilan sariq rangga bo'yaladi. Rangning jadalligi siydikchilning aralashma tarkibidagi miqdoriga to'g'ri proporsional bo'lganligi sababli uni kolorometrik usulda aniqlash mumkin.

Kerakli biomaterial: qon zardobi.

Kerakli jihozlar: voronka, pipetkalar, o'lchov silindri (100ml li), FEK, shisha tayoqcha, probirkalar sentrifuga, filtr qog'oz.

Kerakli reaktivlar: *p*-dimetilaminobenzaldegidning spirtidagi 4 % li eritmasi, uchxlorsirka kislotaning 10 % li eritmasi, siydikchilning 0,03 % li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Ikkita probirka olib, ularning biriga 1 ml qon zardobi va 1 ml distillangan suv, ikkinchisiga 2 ml distillangan suv quyiladi. So'ngikkala probirkaga 0,5 ml dan *p*-dimetilaminobenzaldegidning spirtidagi 4 % li eritmasi va 2 ml dan uchxlorsirka kislotasining 10 % li eritmasidan quyiladi. Probirkalardagi suyuqlik filtrlash yoki sentrifugalash yo'li bilan cho'kmadan tozalanadi. Filtratlar FEK yordamida ko'k svetofiltrda kolorimetrlanadi va bunda ikkinchi probirkadagi suyuqlik nazorat, birinchisidagi tajriba namunasi hisoblanadi. Siydikchilning miqdoriy ko'rsatkichini hisoblash uchun standart eritma asosida kalibrlangan egri chiziq chizish lozim bo'ladi. Buning uchun esa 17-jadvalda keltirilgan tartibda standart eritmalar tayyorlanadi.

17-jadval.

Siydikchilning standart eritmaları

Kerakli reaktivlar	1	2	3	4	5
Siydikchilning standart eritmasi 0,5 mg/ml, (ml)	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0
Siydikchil miqdori 0, (mg)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Distillangan suv, (ml)	1,8	1,6	1,4	1,2	1,0
p-dimetilaminobenzaldehidning spirtidagi 4 % li eritmasi	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Uchxlorsirka kislotaning 10% li eritmasi, (ml)	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0

Shu yo'sinda aralashmalar tayyorlangandan keyin ularning tiniqlashuvi uchun 10 daqiqa kutib turiladi. So'ngra FEK ning ko'k svetofiltri (475 nm) dan foydalanib kolorimetrlanadi. Bundan keyin standart eritmalarining optik zichligi ko'rsatkichi ordinata o'qiga, siydikchilning konsentratsiyasi ko'rsatkichi abssissa o'qiga joylashtirilib, kalibrlash egri chizig'i chiziladi va keyinchalik undan tajriba namunalaridagi siydikchil miqdori hisoblab topishda foydalaniladi.

21-mavzu. Siydik biokimyosi

Siydik buyrak tomonidan tashqi muhitga ajratiladigan modda almashinuvining so'ngi mahsulotidir. Buyrakning funksiyalari xilma-xil bo'lib, ulardan asosiysi moddalar almashinuvining so'ngi mahsulotlarini tashqi muhitga chiqarish va qonning tarkibini doimiyligini ta'minlashdan iborat. Bir kecha kunduzda buyrak orqali 1000 litr qon aylanib o'tadi va bunda 180 litr birlamchi siydik hosil bo'ladi. Buyrak bunda filtrlangan siydikning faqat 1 % nigina haqiqiy siydikka aylantiradi va tashqi muhitga chiqaradi, birlamchi siydikning qolgan qismi proksimal naychalar tomonidan qaytadan so'riladi (reabsorbsiyalanadi). Bir kecha-kunduzda o'rtacha ayollar 1200 ml, erkaklar 1500 ml siydik ajratadi. Bir kunlik siydik tarkibida taxminan 40 g organik va 20 g anorganik moddalar bo'ladi. Siydik orqali 150 ga yaqin moddalar ajraladi. Siydik vaqti-vaqti bilan ajraladi. Uning kun davomida ajralgan proporsiyalari, kimyoviy tarkibi, nisbiy zichligi va kislotaligi turlicha bo'ladi. Shu sababli siydikning miqdoriy tahliliga oid ma'lumotlar sutkalik siydik namunasida o'tkaziladi. Siydikning sog'lom va patologik holatini aniqlashda uning fizik-kimyoviy xossalari: nisbiy zichligi, rangi, hidi, bir kunlik miqdori, kislotaligi, organik va anorganik tarkibiy qismlari tahlil qilinadi. Bu ko'rsatkichlarni aniqlash

odam va hayvonlarning fiziologik va patologik holatlarini baholashda muhim ahamiyatga ega bo'ladi. Siydik bilan o'tkaziladigan biokimyoviy tahlillarni: siydikning fizik-kimyoviy xossalarni o'rganish, anorganik va organik tarkibini o'rganish, patologik siydik tarkibini o'rganishga ajratish mumkin. Siydikning cho'kmalari bilan o'tkaziladigan mikroskopik tahlil ham tibbiyot va veterinariyada amaliy ahamiyatga ega. Cho'kmalarni tuzilmasiz (kimyoviy moddalar) ga va tuzilmaga ega bo'lgan(harxil hujayralar, bakteriyalar va h.k.)larga bo'linadi. Eritrotsitlar mikroskop ostida sariq diskchalar tusini oladi. Nordon muhitli siydikda eritrositlartishchali qirrali bo'lsa; ishqoriy muhitlida aksincha shishgan holda bo'ladi. Kam miqdorda eritrositlarni sog'lom odamlarni siydigida kuzatish mumkin. Leykositlar kattaligi jihatidan eritrositlardanyirikroq bo'ladi. Siydik tarkibida ular donador sharsimon ko'rinishda bo'ladi va tashqi ko'rinishi jihatidan ba'zi epitelial hujayralarga o'xshaydi. Ularni yodli reaksiya o'tkazish orqali ajratish mumkin, bunda eritrositlar qo'ng'ir, epitelial hujayralar sarg'ish rangga bo'yaladi. Sog'lom odam siydigida kam miqdorda eritrotsitlar uchrashi mumkin. Leykositlarning siydik tarkibida ko'p miqdorda uchrashi, bu- buyrak yoki siydik yo'llaridagi patologik holat mavjudligidan darak beradi. Siydikning klinik tahlili tashxisi tavsifga ega.Siydikning umumiy azotini 1-2 % aminokislotalar ulushiga to'g'ri keladi. Ba'zi kasalliklarda aminokislotalarning siydik tarkibidagi miqdori oshishi mumkin. Aminokislotalar ningidrin bilanko'k yoki binafsha rang beradi, lekin aminokislotalar siydik tarkibida xelat kompleks birikma hosil qilgan holda bo'ladi va aniqlashda qiynchilik tug'diradi. Shu sababli siydik tarkibidagi aminokislotalarni xelat kompleks holatdan siqib chiqarish talab qilinadi. Buning uchun aminokislotalar bilan kompleks hosil qiluvchi kationlarni EDTA(etilendiamintetroatsetat) bilan ishlov beriladi va erkin holatga kelgan aminokislotalarni ningidrin bilan birikishiga imkonniyat yaratiladi. Bunda reaksiya natijasida hosil bo'lgan rangning jadalligini fotokolorimetrlab siydik tarkibidagi aminokislotalarning miqdoriy ko'rsatkichini ham aniqlash mumkin bo'ladi.

Darsning maqsadi. *Otganizmning fiziologik va patologik holatini baholashda foydalaniladigan biokimyoviy ko'rsatkichlar qon va siydikda o'tkaziladigan tahlillar natijasida aniqlanganligi sababli bu xildagi tahlillar bilan tanishish va bo'lajak kasbiy faoliyat davomida ulardan samarali foydalanish ko'nikmalarini shakllantirish.*

66-ish. Siydikning solishtirma og'irligi, reaksiyasi, titrlanuvchi kislotaligini aniqlash

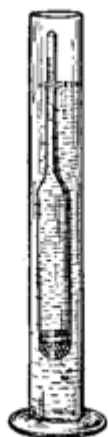
Siydikning solishtirma og'irligi unda erigan moddalarning miqdoriga va kunlik ajratiladigan siydikning miqdoriga bog'liq. Siydik tarkibida 20-35 g siydikchil, 15 g natriy xlor, 4 g fosfatlar bo'ladi. Sog'lom odam siydigini solishtirma og'irligi 15°C da 1,010-1,025ga teng bo'ladi. Patologik holatlarda siydikning solishtirma og'irligi o'zgarishlarga duch keladi. Solishtirma og'irlik maxsus urometr-siydik uchun moslashtirilgan-urometr yordamida o'tkaziladi (12-rasm).

Kerakli biomaterial: siydik.

Kerakli jihozlar: silindr, urometrlar: a) 1,000 dan 1,030 gacha, b) 1,030 dan 1,0-60 gacha, termometr, stakan, filtr qog'oz.

Ishni bajarish tartibi. Silindrga uning devori bo'ylab siydik quyiladi (chayqalsa ko'piklanishi mumkin, unda ko'pik filtr qog'oz bilan yig'ib olib tashlanadi) va urometrni ohista unga botiriladi. Suyuqlikning pastki meniskasiga to'g'rilab urometrni shkalasi orqali o'lchov o'tkaziladi. Agar birinchi urometrning shkalasidan siydikning solishtirma og'irligi ko'pni ko'rsatsa, ikkinchi urometr (1,030 dan 1,0-60 gacha) dan foydalaniladi. Hamma o'lchovlar harorat 15°C da amalga oshiriladi. Harorat 15°C dan ziyod bo'lsa, urometrdan olingan ma'lumotga har bir oshiqcha 3°C ga 0,001 ko'rsatkich qo'shiladi, 15°C dan past bo'lsa, aksincha har 3°C kamligi uchun 0,001 ko'rsatkich ayirib tashlanadi.

67-ish. Siydikning reaksiyasini va titrlanuvchi kislotaligini aniqlash.



12-rasm. Urometr

Sog'lom odamning siydigi kuchsiz kislotali ($\text{pH}=6,0$) reaksiyaga ega. Ko'pincha siydikning reaksiyasi iste'mol qilinadigan ovqat tarkibiga bog'liq. Go'sht mahsulotlarini ko'proq is'temol qilganda siydik reaksiyasi kislotali tomonga qarab o'zgaradi, chunki go'sht tarkibida fosfor va oltingugurt ko'p bo'lganligi tufayli siydik bilan fosfatlar va sulfatlar ajraladi. Aksincha ovqat ratsioni tarkibida o'simlik mahsulotlari ko'p bo'lganda, siydik reaksiyasi ishqoriy tomonga qarab siljiydi, chunki organik kislotalar to'qimalarda oksidlanishga duch kelib, siydik bilan ishqoriy ekvivalentlar ajratiladi. Shunday qilib patologik holatlarda

siydikning muhiti o'zgarishlarga duch keladi. Masalan, qandli diabetda, podagra da u kislota tomonga o'zgarsa, siydik pufagini yallig'lanishida ishqoriy tomonga o'zgaradi. Biokimyoda siydikning bufer sig'imini kislotalik va ishqoriylik birliklarida ifodalash qabul qilingan. Siydikning titrlanuvchi kislotaligi deb fenolftalein bo'yicha bir kunda ajralgan siydikni titrlaganda sarf bo'lgan 0,1 N natriy ishqorini miqdoriga aytiladi. Sog'lom odamda bu kattalik 200-400 ml ga teng bo'ladi.

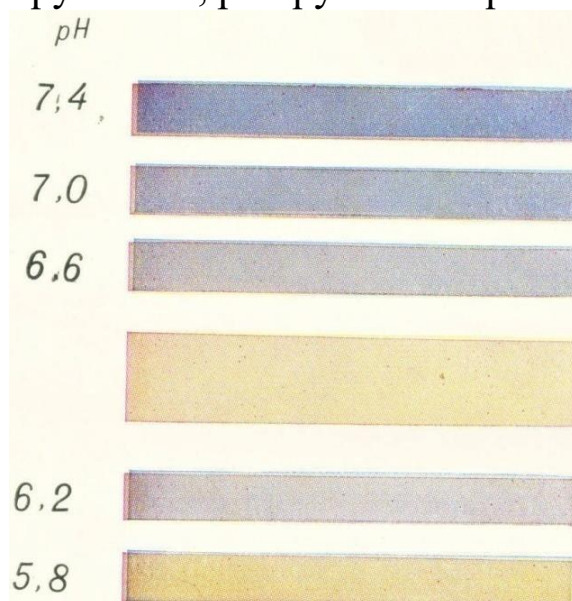
Kerakli biomaterial: siydik.

Kerakli jihozlar: "Rifan" rusumli maxsus indikator qog'ozi va unga tegishli rasm, shtativ probirkalari bilan, konussimon kolba, pipetkalar, mikrobyuretk.

Kerakli reaktivlar: natriy ishqorining 0,1 eritmasi, fenolftaleinning 0,5 % li spirtli eritmasi, otquloq kislotasining natriyli tuzi kukuni.

1- tajriba. «Rifan» indikator qog'ozi yordamida siydikning reaksiyasini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. «Rifan» indikator qog'ozi tekshiruvda bo'lgan siydikka botiriladi va qog'ozning o'zgargan rangi 13-rasmdagi nazorat qog'ozdagi rang bilan qiyoslanib, pH qiymati aniqlanadi.



13-rasm. «Rifan» indikator qog'ozi

2- tajriba. Siydikning titrlanuvchi kislotaliligini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Ikkita konussimon kolba olib ularga 10 ml dan siydik quyiladi, ularning ustiga 6 g dan otquloq kislotasining kaliyli tuzini kukuni va 2-3 tomchidan fenolftalein eritmasi qo'shib aralashtiriladi.

So‘ng kolbadagi aralashmalardan birini natriy ishqorining 0,1 N eritmasi bilan och-pushti rang hosil bo‘lguncha titrlanadi. Rangning paydo bo‘lishini kuzatish uchun ikkinchi kolbadagi siydikning rangi bilan qiyoslanadi. Tajriba natijalari quyidagi formulaga muvofiq sarhisob qilinadi:

$$X = \frac{a \cdot D}{10}$$

Buyerda: a- titrlash uchun sarflangan natriy ishqori(ml);

10- tekshiruv uchun olingan siydik hajmi(ml);

D- bir kunlik siydikning umumiy hajmi (ml).

68- ish. Siydik tarkibidagi organik moddalarga xos reaksiyalar

Siydik tarkibidagi organik moddalar jumlasiga asosan azot almashinuvini so‘ngi mahsulotlari-siydikchil, kreatinin, indikan, aminokislotalar va boshqalar kiradi. Siydik bilan azotsiz mahsulotlar-pirouzum va o‘t kislotalari, ba’zi vitaminlar, gormonlar ajratilishi mumkin. Fermentlar siydik tarkibida juda oz miqdordagina uchraydi. Masalan oz miqdorda amilaza ajralishi mumkin. Lekin amilazaning miqdori oshqozon osti bezi shamollaganda siydik tarkibida ancha oshib ketadi.

Kerakli biomaterial.:siydik.

Kerakli jihozlar: shtativ probirkalari bilan, suv hammomi, byuretkalar, pipetkalar, o‘lchovli probirkalar, voronkalar, shisha tayoqchalar.

Kerakli reaktivlar: kraxmalning 1% li eritmasi, Lyugol eritmasi, EDTA bilan to‘yintirilgan ningidrinning 0,2 % li spitrlri eritmasi.

1- tajriba. Siydik tarkibida diastazani borligini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Oltita o‘lchov probirkalari olib birinchi probirkaga 10 ml, ikkinchisiga 5 ml, uchinchisiga 2,5 ml, to‘rtinchisiga 1,25 ml, beshinchisiga 0,625 ml, oltinchisiga 0,312 ml siydik solinadi. Keyin birinchi probirkadan tashqari hamma probirkalar (2-6) dagi suyuqliklarning hajmini distillangan suv yordamida 10 ml ga yetkaziladi. Barcha probirkalarga 2 ml dan kraxmalning 1 % li eritmasi qo‘shib chiqiladi. Aralashmalar 30 daqiqa 38°C li suv hammomida tutib turiladi. Bundan keyin probirkalar sovutilib ularning har biriga 1 tomchidan Lyugol eritmasi tomizib chiqiladi. Kraxmalning parchalanishi yuz bergan

siydikning eng yuqori suyultirish ko'rsatkichi belgilab olinadi va amilazaning faolligi: $X=2n$ formula asosida hisoblab topiladi. Bu yerda X-siydik tarkibidagi diastazani faolligini; n-siydikning kraxmal parchalanishini ta'minlaydigan eng kichik qiymati.

2- tajriba. Siydik tarkibida aminokislotalar borligini aniqlash

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5 tomchi siydik va 3 tomchitarkibida EDTA bo'lgan ningidrinning 0,2 % li spirtli eritmasi solinadi va biroz qizdiriladi. Aralashmaning ko'k rangga bo'yalishi siydik tarkibida aminokislotalar borligidan dalolat beradi. Rangning jadalligi aminokislotalarning miqdoriy ko'rsatkichiga to'g'ri proporsional bo'ladi.

69-ish.Siydik tarkibidagi mineral moddalarga xos reaksiyalar

Siydik bilan doimiy ravishda xilma xil mineral moddalar ajratiladi. Ular jumlasiga: natriy,kaliy,kalsiy, magniy kationlari; fosfat, sulfat, karbonat, xlor anionlari, shuningdek xilma xil mikroelementlar kiradi.

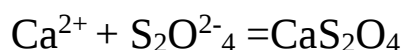
Kerakli biomaterial: siydik.

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

Kerakli reaktivlar: otquloq kislotasining natriyli tuzini to'yingan eritmasi, ammiakning 15 % li eritmasi (tayyorlash:konsentrlangan ammiakni urometr yordamida solishtirma og'irligi aniqlanadi va 1 l hajmda eritma tayyorlash uchun solishtirma og'irligi 0,882 bo'lsa 486 ml; 0,884 bo'lsa 497 ml; 0,886 bo'lsa 514 ml; 0,888 bo'lsa 530 ml; 0,890 bo'lsa 542 ml suv qo'shiladi), sirka kislotasini 2 % li eritmasi, molibdenli reaktivi(tayyorlash:18,75 g ammoniy molibdatga 250 ml suv va 250 ml 32 % li nitrat kislota solinadi hamda tuz erib ketguncha aralashtiriladi),bariy xlorning 1% li eritmasi,kumush nitratning 1% li eritmasi, nitrat kislota konsentrlangan eritmasi.

1 –tajriba. Kalsiy, magniy va fosfatga xos reaksiya

Siydik tarkibidagi kalsiyni otquloq kislota ni ammoniyli tuzini qo'shib kalsiy oksalatga aylantirish yo'li bilan aniqlasa bo'ladi. Reaksiya tenglamasi:



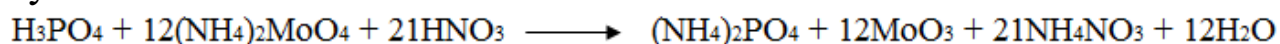
Kalsiy oksalatni filtrlab ajratib olingandan keyin filtrat tarkibida magniy va fosfatni aniqlash mumkin bo'ladi. Buning uchun filtratga ammiak qo'shiladi:



Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 3 ml siydik olib, 5 tomchi sirka kislota va 5 tomchi ammoniy oksalat qo'shiladi. Hosil bo'lgan cho'kma filtratdan ajratib olinadi. Filtratga 4 tomchi ammiak tomiziladi va birozdan so'ng yengil magniy ammoniy fosfat cho'kmasi hosil bo'ladi.

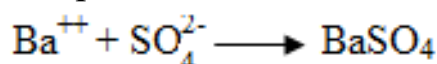
2 –tajriba. Molibden reaktivining fosfat bilan reaksiyasi

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 3 tomchi siydik, 5 tomchi tarkibida ammoniy molibdat bo'lgan molibden reaktivi tomiziladi va biroz qizdiriladi. Aralashma oldin sariq rangga kiradi, so'ng qiyin eriydigan magniy fosfomolibdat cho'kmasi hosil bo'ladi.



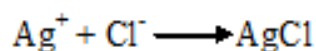
3 –tajriba. Sulfatlarga xos reaksiya

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 3 tomchi siydik, 2 tomchi sirka kislota va 1 tomchi bariy xlorid eritmasi tomiziladi. Bunda aralashma tarkibida sulfat anioni bo'lsa oq cho'kma hosil bo'ladi.



4 –tajriba. Xloridlarga xos reaksiya

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 5 tomchi siydik, 1 tomchi nitrat kislota, 1 tomchi kumush nitrat eritmalaridan tomiziladi. Natijada bulutsimon cho'kma hosil bo'ladi.



70-ish. Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlarni aniqlashga oid sifat reaksiyasi

Kerakli biomateriallar: siydik

Kerakli jihozlar: shtativ, proberkalar, pipetkalar

Kerakli reaktivlar: natriy ishqorining 30% li eritmasi, m-dinitrobenzolning etanoldagi 2% li eritmasi.

Ishni bajarish tartibi. Probirkaga 1 ml siydik, 1 ml 30% li natriy ishqori, 1 ml 2% li m-dinitrobenzolning etanoldagi eritmasi solinadi va aralashma yaxshilab aralashtiriladi. Birozdan so'ng 17-ketosteroidlarga xos bo'lgan to'q qizil rang paydo bo'ladi.

O'tilgan mavzuni mustahkamlash uchun savollar.

1. Funktsional biokimyo nimani o'rgatadi?
2. Qon organizmda qanday funksiyalarni bajaradi?
3. Qon qanday tarkibiy qismlardan tashkil topgan?
4. Qonning shaklli elementlari.
5. Qon plazmasi va uning tarkibi.
6. Qon zardobi va uning tarkibi.
7. Qonning reaksiyasi va solishtirma og'irligi.
8. Qonning bufer tizimi va uning ahamiyati.
9. Qon zarobi oqsillari va ularning ahamiyati.
10. Qon tarkibidagi azot tutuvchi moddalar va ularning ahamiyati.
11. Qon tarkibidagi mineral moddalar va ularning ahamiyati.
12. Qonning izo-, gipo- va gipertonik holatlari.
13. Qonning ivish xususiyati va uning fiziologik ahamiyati.
14. Qonda o'tkaziladigan biokimyoviy tahlillar va ularning amaliy ahamiyati.
15. Qon oqsillarini tahlili.
16. Qon tarkibidagi fermentlar faolligini tahlili va uning amaliy ahamiyati.
17. Qondagi bilirubinni aniqlash va uning ahamiyati.
18. Qondagi mineral moddalarni aniqlash va uning amaliy ahamiyati.
19. Siydikning biokimyoviy tahlilini amaliy ahamiyati.
20. Siydikning fizik-kimyoviy xossalari.
21. Siydikning titrlanuvchi kislotaligi va uni aniqlashning amaliy ahamiyati.
22. Ovqat tarkibining siydik xossasiga ta'siri.
23. Siydik tarkibidagi organik moddalar.
24. Siydik tarkibidagi anorganik moddalar.
25. Siydik tarkibidagi azotli va azotsiz moddalar.
26. Patologik holatlarda siydikning fizik va kimyoviy xossalarini o'zgarishi.

Foydalanilganadabiyotlar

1. Ё.Х.Тўракулов.Биохимия.Тошкент «Ўзбекистон».1996 й.
2. М.Н. Валиханов. Биокимё. Тошкент. Университет. 2009 й.
3. Д.Г.Кнорре, С.Д.Мызина. Биологическая химия. Москва. «Высшая школа» .2000 г.
4. Т.Березов. Биологическая химия. Москва.2000 г.
5. Я. Кольман, К. Рём. Наглядная биохимия. Москва.2000 г
6. Биохимия: учеб. под ред. Е. С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп. – М: ГЭОТАР-Медиа, 2011.
7. Қосимов А.Қ., Қўчқоров Қ.Қ., Муборакова Д.Х. Биохимиядан амалий машғулотлар. Тошкент. «Ўқитувчи». 1989.
- 8.Султонов Р.Ғ., Холмухамедова Н.М. Биохимиядан амалий машғулотлар. Тошкент. «Меҳнат».1992.
9. Ҳасанов М. Ҳайвонлар биохимияси ҳамда физик ва коллоид химия асосларидан амалий машғулотлар. Тошкент. «Меҳнат».1992.
10. Шапиро Д.К. «Практикум по биологической химии», М., Высшая школа. 2004.
- 11.Игамназаров Р.П., Абдуллаева М.М. Биокимёдан кичик амалий машғулотлар. Тошкент. 2007 йил.
12. Практикум по биохимии. Под общей редакцией проф.Н.П .Мешковой и акад. С.Е Северина. Изд-во МГУ. 1979.
13. Цынко. Т. Ф. Диагностика заболеваний по анализу крови и мочи. Ростов-на- Дону.«Фенкс». 2005.
14. Шпатова Е.Ю., Ростовка Л.О Лабораторные методы диагностики. Учебное пособие. Ростов-на- Дону. «Фенкс». 2007.
- 15.Неменова Ю.М. Клиник лабораторияда текшириш усуллари. Тошкент. «Медицина». 1972.
16. Савронь Е.С., Воронянский В.И., Кисилев Г.И. Чечеткин А.В., Докторович Н.Л. Практикум по биохимии животных. «Высшая школа». М.,1967.

Qo‘shimchaadabiyotlar

1. Е.С. Северин. Биохимия. М. 2004 г.
2. Р.П. Игамназаров, М.М. Абдуллаева, Г.Б. Умарова. Биокимёвий тадқиқот услублари. Тошкент. 2003 й.
3. Д.К. Шапиро. Практикум по биологической химии. Москва. «Высшая школа»2004 г.

4. Олий таълим жараёнида замонавий педагогик технология асосида ўқув фаолиятини услуб ва воситалари ташкил этиш. Тошкент Давлат техника университети. Тошкент. 2007.

5. Биохимия с упражнениями и задачами: учеб. для вузов / под ред. Е. С. Северина. –М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010..

Internet sayetlari:

1. www.ziynet.uz
2. www.maik.ru
3. www.pedagog.ru
4. www.bioxim.ru

MUNDARIJA

SO‘Z BOSHI	3
1-mavzu. Laboratoriya mashg‘ulotlari jarayonidagi tartib-qoidalar. Eritmalarni tayyorlash.....	5
OQSILLAR BIOKIMYOSI	11
2-mavzu. To‘qimavaorganiksuyuqliklardan oqsillarni ajratish usullarivaularning eruvchanligini aniqlash	16
1-ish.Mushakto‘qimalardan oqsillarni ajratish.....	16
2-ish.Sutdankazeinoqsilini ajratish	17
3- ish.Tuxumoqsilidan albuminni ajratish	19
4-ish.Bug‘doy (arpa, sulini) umumiy oqsillarini ajratib olish.....	19
5- ish.Bug‘doy (arpa, sulini) lardan albumin oqsilini ajratib olish.....	20
6-ish.Oqsillarni eruvchanligini aniqlash.....	20
3-mavzu. Oqsillarni cho‘ktirish reaksiyalari.....	23
7 - ish.Oqsillarni qaynatish yo‘li bilan cho‘ktirish.....	24
8- ish. Xona haroratida oqsillarni neytral tuzlar yordamida cho‘ktirish reaksiyalari.....	25
9-ish.Oqsillarni og‘ir tuzlari ta’sirida cho‘ktirish.....	27
10-ish.Oqsillarni organik va mineral kislotalar ta’sirida cho‘ktirish ...	27
11-ish.Oqsillarni alkaloid reaktivlar bilan cho‘ktirish	28
12-ish.Oqsillarni organik erituvchilar ta’sirida cho‘ktirish	28
4-mavzu. Oqsillarga xos rangli reaksiyalar.....	29
13-ish.Biuret reaksiyasi.....	31
14-ish.Ningidrin reaksiyasi	34
15-ish.Ksantoprotein reaksiyasi	35
16-ish.Millon reaksiyasi	36
17- ish.Fol reaksiyasi.....	37
18- ish.Sakaguchi reaksiyasi	38
19- ish.Adamkevich va Gopkins–Kol reaksiyasi.....	38
20- ish.Oqsil tarkibidagi triptofanning oksimetilfurfurol bilan reaksiyasi.....	40
5 –mavzu. Oqsillarni dializ qilish va ularning izoelektirik nuqtalarini aniqlash.....	41
21-ish.Oqsillarni dializlash.....	43
22-ish..Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash.....	45
6- mavzu. Oqsillarni miqdoriy ko‘rsatkichlarini aniqlash.....	47

23-ish.Kolorimetrik uslubda oqsil miqdorini aniqlash.....	47
24-ish. Konvey uslubida yordamida azot miqdori asosida oqsil miqdorini aniqlash	49
25- ish.Oqsil miqdorini refraktometrik uslubida aniqlash	51
26-ish.Oqsil miqdorini spektrofotometrik uslubda aniqlash.....	54
7-mavzu. Oqsillarni gidrolizlash.....	55
27- ish.Oqsillarni kislotali gidrolizi	58
8-mavzu. Aminokislotalarni qog'oz xromatografiyasi uslubida o'rganish.....	63
28- ish.Aminokislotalarni qog'oz xromatografiyasi usulida ajratish	65
NUKLYEIN KISLOTALAR BIOKIMYOSI	68
9- mavzu. Umumiy nukleoprotein (NP) larni va dezoksiriboprotein(DRNP) larni biomateriallardan ajratib olish.....	72
29- ish.Biomateriallardan nukleoproteinlarni ajratish	72
10-mavzu. Nukleoproteinlarni gidrolizi va gidrolizat tarkibidagi moddalarga xos sifat reaksiyalari	74
30- ish.Nukleoproteinlarni kislotali gidrolizi	74
31-ish.Achitqivataloqyoki jigar nukleoproteinlarigidrolizatlari tarkibini tahlili.....	75
FERMENT (Enzim) LAR BIOKIMYOSI	78
11-mavzu. Fermentlarning xossalari o'rganish	82
32-ish.Fermentlar faolligiga xaroratning ta'siri	82
33-ish.Fermentlarning maxsusligi.....	84
34-ish.Fermentlar faolligiga pH ning ta'siri.....	85
35-ish.Fermentiv reaksiya tezligiga ferment konsentratsiyasi ta'siri (Volgemut uslub) ni aniqlash	88
36-ish.Fermentlar faolligiga faollovchilar va ingibitorlarning ta'siri ...	90
12-mavzu. Fermentlarni biomateriallardan ajratib olish va faolligini aniqlash	92
37- ish.Ayrim fermentlarni biomateriallardan ajratib olish.....	92
13-mavzu. Fermentlarni sifatini aniqlash.....	94
38-ish.Fermentlarga xos sifat reaksiyalari.....	95
KARBONSUVLAR BIOKIMYOSI	99
14-mavzu. Monosaxaridlarga xos sifat reaksiyalari	105
39-ish.Aldozalarga xos ayrim sifat reaksiyalari	105
40-ish.Aldozalarning qaytaruvchanlik xossalari	106
41-ish. Ketozalarga xos Selivanov reaksiyasi.....	109

15-mavzu. Polisaxaridlarni ajratib olish va ularga xos ayrim reaksiylar	114
42-ish.Polisaxaridlarni ajratib olish.....	114
43-ish.Polisaxaridlarga xos rangli reaksiylar va ularni gidrolizlash.	116
LIPIDLAR BIOKIMYOSI	118
16- mavzu. Neytral yog‘larni tuzilishi, xossalarini o‘rganishga oid reaksiylar	124
44-ish.Yog‘larning eruvchanligini aniqlash.....	126
45-ish.Yog‘larning emulsiyalanishi.....	126
46- ish.Yog‘lar tarkibidagi glitserin (akrolein sinovi) ga xos reaksiya	127
47- ish.Yog‘larning gidrolizi, erkin yog‘ kislotalarini ajratish, sovunni tuz yordamida cho‘ktirish har xil sovunlarning eruvchanligi.....	127
48-ish.Yog‘lar tarkibidagi to‘yinmagan yog‘ kislotalarini aniqlash	129
7- mavzu. Lipoidlarni biomateriallardan ajratib olish va xossalarini o‘rganishga oid reaksiylar	132
49- ish.Hayvon to‘qimasidan lesitinni ajratib olish, gidrolizlash va tarkibini o‘rganishga oid reaksiylar.....	132
50- ish.Biologik materialdan xolesterinni ajratib olish va unga xos sifat reaksiyalari.....	134
VITAMINLAR BIOKIMYOSI	136
18–mavzu. Yog‘da va suvda eruvchi vitaminlarga xos reaksiylar	137
51- ish.A vitaminiga xos reaksiylar	137
52- ish.D vitaminiga xos reaksiylar	139
53- ish.E vitaminiga xos reaksiylar	140
54-ish.B ₁ vitaminiga xos reaksiylar	141
55- ish.B ₂ vitamininga xos qaytaruvchanlik reaksiyasi	142
56-ish.B ₆ vitaminiga xos sifat reaksiyalari.....	143
57-ish.PP (nikotin kislota, nikotinamid) ga xos sifat reaksiyalari.	144
58- ish. C vitaminiga xos reaksiylar	146
GORMONLAR BIOKIMYOSI	149
19-mavzu. Gormonlarga xos reaksiylar	149
59- ish.Insulinga xos reaksiylar.....	149
60- ish.Qalqonsimon bez gormoni – tiroksinga xos reaksiya	150
61- ish.Buyrak usti bezining mag‘iz qismi gormonlariga xos reaksiya.	151
62-ish. Steroid gormonlarga xos rangli reaksiylar	153
FUNKSIONAL BIOKIMYO	155
20- mavzu. Qon biokimyosi	156

63- ish.Qonni fibrindan tozalash va qon gemoglobinini vodorod peroksidini parchalashiga oid benzidin bilan reaksiyasi	157
64-ish.Bilirubinga xos reaksiya va uni miqdoriy tahlili	157
65- ish.Qonzardobitarkibidagisiydikchilmiqdorinianiqlash.....	159
21- mavzu. Siydik biokimyosi	161
66-ish.Siydikning solishtirma og‘irligi, reaksiyasi, titrlanuvchi kislotaligini aniqlash	162
67-ish.Siydikning reaksiyasini va titrlanuvchi kislotaligini aniqlash	163
68- ish.Siydik tarkibidagi organik moddalarga xos reaksiyalar.....	165
69-ish.Siydik tarkibidagi mineral moddalarga xos reaksiyalar	166
70-ish.Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlarni aniqlashga oid sifat reaksiyasi	167

Содержание

Предус ловие	3
1-тема. Правила соблюдаемые во время выполнения лабораторных работ. Приготовление реактивов.	5
Биохимия белков	11
2-тема. Выделение белков из тканей и биологических жидкостей и определение их растворимости.....	16
1-работа.Выделение белков из мышечной ткани.....	16
2-работа. Выделение казеина из молока.....	17
3- работа.Выделение альбумина из белков	19
4- работа.Выделение общего белка пшеницы(ячменя, овса)..	19
5- работа.Выделение альбумина из пшеницы(ячменя, овса)	20
6- работа.Определение растворимости белков	20
3- тема. Реакции осаждения белков	23
7- работа. Осаждение белков путём кипячения.....	24
8- работа. Реакции осаждения белков при комнатной температуре при помощи нейтральных солей.....	25
9- работа.Осаждение белков под действием солей тяжёлых металлов .	27
10- работа. Осаждение белков под действием органических и минеральных кислот	27
11- работа.Осаждение белков под действием алкалоидных реактивов	28
12-работа.Осаждение белков под действием органическихрастворителей	28
4- тема. Цветные реакции свойственные на белки	29
13- работа.Биуретовая реакция.....	31
14- работа.Нингидриновая реакция	34
15- работа.Ксантопротеиновая реакция	35
16- работа.Реакция Миллона.....	36
17- работа. Фолевая реакция	37
18-работа.Реакция Сакагучи.....	38
19- работа.Реакция Адамкевича и Гопкинса- Коля.....	38
20- работа.Реакциянатриптофанприсутствующийивсоставебелков	40
5 - тема. Диализ белков и определение их изоэлектрической точки...	33

21- работа.Диализ белков.....	43
22- работа.Определение изоэлектрической точки белков.....	45
6- тема. Опредедение количественных показателей белков...	47
23-работа. Определение количество белков методом колориметрии...	47
24- работа. Определение количества белка методом Конвея...	49
25- работа. Определение количество белка рефрактометрическим методом.....	51
26- работа.Определение количество белка рефрактометрическим методом.....	54
7- тема. Гидролиз белков.....	55
27- работа.Кислотный гидролиз белков.....	58
8- тема. Изучение аминокислот методом бумажной хроматографии ...	63
28- работа. Разделение аминокислот методом бумажной хроматографии.....	65
БИОХИМИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ	68
9-тема. Выделение общих нуклеопротеинов (НП) и дезоксинуклеопротеинов из биологических материалов	72
29- работа. Выделение нуклеопротеинов из биологических материалов	72
10- тема. Гидролиз нуклеопротеинов и качественные реакции на веществ гидролизата.....	74
30- работа. Кислотный гидролиз нуклеопротеинов.....	74
31-работа. Анализ гидролизатов нуклеопротеинов дрожжей,селезёнки или печени.....	75
БИОХИМИЯ ФЕРМЕНТ(ЭНЗИМ)ОВ.....	78
11- тема. Изучение свойств ферментов	82
32- работа. Действие на активность ферментов температуры.....	82
33- работа.Специфичность ферментов	84
34- работа.Действие рН среды на активность ферментов...	85
35- работа.Определение влияние концентрации (метод Вольгемута) на активность фермента.....	88
36- работа. Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов.....	90
12– тема. Выделение ферментов из биоматериалов и	

определение их активности.....	92
37- работа. Выделение некоторых ферментов из биоматериалов	92
13- тема. Качественное определение ферментов.....	94
38– работа. Качественные реакции на ферментов	98
БИОХИМИЯ УГЛЕВОДОВ	99
14-тема. Качественные реакции на моносахариды.....	105
39- работа. Качественные реакции на альдозы.....	105
40- работа. Восстановительные реакции на альдозы	106
41- работа. Реакция Селиванова на кетозы.....	109
15- тема. Выделение полисахаридов и некоторые реакции на них.....	114
42- работа. Выделение полисахаридов.....	114
43- работа. Цветные реакции полисахаридов и их гидролиз...	116
БИОХИМИЯ ЛИПИДОВ	118
16- тема. Реакции по изучению строения, свойства нейтральных жиров..	124
44- работа. Определение растворимости жиров	126
45- работа. Эмульсирование жиров	126
46- работа. Реакция на наличие глицерина в составе жиров (Акролеиновая проба).....	127
47- работа. Гидролиз жиров, выделение свободных кислот, омыление мыла при помощи солей, растворимость различных мыл	127
48- работа. Определение свободных жирных кислот в составе жиров...	129
17- тема. Реакции по изучению выделения липоидов из биоматериалов и их свойств.....	132
49- работа. Выделение лецитина из животных тканей, гидролиз и реакции по изучению его состава.....	132
50- работа. Выделение холестерина из биоматериала и свойственная ему качественная реакция.....	134
БИОХИМИЯ ВИТАМИНОВ	137
18– тема. Реакции свойственные на жирно- и водорастворимые витамины.	137
51- работа. Реакция на витамин А.....	137
52- работа. Реакция на витамин D.....	139
53- работа. Реакция на витамин E.....	140

54- работа. Реакция на витамин В ₁	141
55- работа. Восстановительные реакция свойственные на витамин В ₂	142
56- работа. Качественные реакции на В ₆	143
57- работа. Качественные реакция на витамин РР.....	144
58- работа. Реакция свойственная на витамин С	146
БИОХИМИЯ ГОРМОНОВ	149
19- тема. Реакции свойственные на гормоны.....	149
59- работа. Реакция на инсулин	149
60- работа. Реакция свойственная на гормон щитовидной железы-тироксин.....	150
61- работа. Реакции свойственные на мозговой части надпочечников...	151
62- работа . Реакции свойственные на стероидные гормоны.....	153
ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ БИОХИМИЯ	155
20- тема. Биохимия крови.....	156
63- работа. Очистка крови от фибрина и реакция бензидиновая реакция разложения гемоглобина перекисью водорода.	157
64- работа. Реакция свойственная на билирубин и его количественный анализ.....	157
65- работа. Количественное определение мочевины в составе сыворотки крови.....	159
21- тема. Биохимия мочи	161
66- работа. Определение удельного веса.....	162
67- работа. Определение реакции и титрирующуюся кислотность мочи ..	163
68- работа. Реакции свойственные органическим веществам мочи	165
69- работа. Реакции свойственные минеральным веществам мочи ...	166
70- работа. Качественная реакция определяющая наличие 17-кортикостероидов в составе мочи	167

DITION.....	
1- topic. Rules to be observed during laboratory work. Preparation of reagents	
BIOCHEMISTRY OF PROTEINS.....	
2-topic. Isolation of proteins from tissues and biological fluids, and the determination of their solubility	
1- work. Isolation of proteins from muscle tissue	
2 -work. Isolation of casein from milk	
3-work.Vydelenie albumin proteins from	
4- work. Isolation of total protein wheat (barley, oats)	
5- work. Isolation of wheat albumin (barley, oats)	
6- work. Determination of protein solubility	
3-topic. Reactions deposition of proteins	
7 work. Precipitation of proteins by kipecheniya	
8-work. Protein precipitation reaction at room temperature using a neutral salt	
9- work. Precipitation of proteins by the action of heavy metal salts.....	
10-work. Precipitation of proteins by the action of organic and inorganic acids	
11-work. Precipitation of proteins by the action alkaloid reagents ...	
12- work. Precipitation of proteins by the action of organic solvents	
4- topic. Color reactions inherent to the proteins.....	
13- work. Biuret reaction	
14- work. Ninhydrin reaction	
15- work. Ksantoprotein reaction	
16 -work. Millon's reaction	
17- work. Folic reaction	
18- work. Sakaguchi reaction	
19 -work. Reaction Adamkevicha and Gopkinsa- Kohl	
20- work. The reaction to tryptophan in the composition of proteins prisutstvuyuschy	
5 - topic. Dialysis of proteins and to determine their isoelectric points. ..	
21- work. Dialysis of proteins	
22- work. Determination of the isoelectric point of proteins	

6- topic. Oprededenie quantitative protein.	
23- work. Determination of proteins by colorimetry	
24- work. Determination of the amount of protein by Conway	
25 -work. Determination of the amount of protein refractometric method	
26- work. Determination of the amount of protein refractometric method	
7 -topic. Hydrolysis of proteins	
27- work. Acid hydrolysis of proteins	
8- topic. Study paper chromatography amino acids	
28- work. Separation of amino acids by paper chromatography.	
BIOCHEMISTRY OF NUCLEIC ACIDS	
9- topic. Allocation of common nucleoprotein (NP) and dezoksinukleoproteinov from biological materials	
29- work. Isolation nucleoprotein from biological materials	
10- topic. Hydrolysis of nucleoprotein and qualitative reactions to substances hydrolyzate	
30- work. Acid hydrolysis of nucleoprotein	
31- work. Analysis of hydrolysates of yeast nucleoprotein, spleen or liver ..	
BIOCHEMISTRY ENZYMES	
11- topic. Studying the properties of enzymes	
32- work. Action on the temperature of the enzyme activity	
33- work. The specificity of the enzyme	
34- work. The action of pH on the activity of enzymes	
35- work. Determination of the effect of concentration (Wohlgemuth method) on the enzyme activity	
36- work. Influence of activators and inhibitors on the enzyme activity.	
12- topic. Isolation of enzymes of biomaterials and determining their activities	
37- work. Allocation of certain enzymes from iomaterialov	
13- topic. Qualitative determination of enzymes	
38- work. Qualitative reaction to enzymes	
BIOCHEMISTRY CARBOHYDRATE	
14- topic. Qualitative reaction monosaccharides.	
39- work. Qualitative reactions on aldose	

40- work. Reduction reactions on aldose	
41- work. Selivanov's reaction to ketoses	
15- topic. Isolation of the polysaccharides and some reactions to them	
42- work. Isolation of polysaccharides	
43- work. Color reaction of polysaccharides and their hydrolysis ..	
BIOCHEMISTRY LIPID	
16- topic. Reactions to study the structure, properties of neutral fats ..	
44- work. Determination of fat solubility	
45-work. Emulsifying fat	
46- work. The reaction to the presence of glycerin in the state of fat (Akroleinoaya test)	
47- work. The hydrolysis of fats, the allocation of the free acids, soaps ostozhdenie using salts rostvorumost various soaps.....	
48- work. Opedelenie free fatty acids in the fat composition of	
17-topic. Reactions on the study of biomaterials separation of lipids and their svoystov	
49-work. Isolation from animal tissues lecithin, hydrolysis and reaction on the study of its composition	
50-work. Isolation of cholesterol from the biomaterial and it's inherent quality response	
BIOCHEMISTRY VITAMINS	
18- topic. The reactions peculiar to the fat- and water-soluble vitamins.....	
51- work. The reaction to vitamin A	
52- work. The reaction to vitamin D.	
53- work. The reaction to the vitamin E	
54- work. The reaction to vitamin B ₁	
55- work. Reduction reactions peculiar to the vitamin B ₂	
56- work. Qualitative reaction to B ₆	
57- work. Qualitative reaction to vitamin PP	
58- work. The response characteristic of vitamin C	
BIOCHEMISTRY HORMONES	
19- topic. Reactions peculiar to hormones.	
59- work. The response to insulin	
60- work. The reaction inherent in the thyroid hormone thyroxine	

61- work. The reactions inherent in the brain of the adrenal glands	
62- work. The reactions peculiar to steroids	
BIOCHEMISTRY FUNCTIONAL.....	
20- topic. Biochemistry blood	
63- work. Cleaning the blood of fibrin and benzidine reaction decomposition reaction of hemoglobin with hydrogen peroxide	
64 -work. The response characteristic of bilirubin and its quantitative analysis	
65- work. Quantitative determination of urea in the blood serum ...	
21- topic. Biochemistry urine	
66- work. Determining the proportion of	
67- work. Determination of reaction and titrimetric acidity of urine ...	
68- work. Reactions peculiar to organic substances urine	
69- work. Reactions peculiar to mineral substances urine	
70- work. Qualitative reaction determines the presence of 17- corticosteroid in the composition of urine	