

**PROFESSOR Q.T. TOJIBOEV, M.M. IKRAMOVA,
M.Q. ABDULLAYEVA, D.C. TO'YCHIYEVA**

**BIOKIMYODAN
TAJRIBA ISHLARI**

Andijon 2014

**PROFESSOR Q.T. TOJIBOEV, M.M. IKRAMOVA,
M.Q. ABDULLAYEVA, D.C. TO'YCHIYEVA**

***BIOKIMYODAN
TAJRIBA ISHLARI***

**ANDIJON DAVLAT UNIVERSITETINING KENGAYTIRILGAN ILMIY KENGASHIDA №4, BIOLOGIYA,
EKOLOGIYA VA TIBBIYOT YO'NALISHI TALABALARI UCHUN O'QUV USLUBIY OMMABOP QO'LLANMA
SIFATIDA NASHIRGA TAVSIYA ETILDI**

Andijon 2014

SO`Z BOSHI

Ushbu biokimyodan tajriba ishlari universitet va tibbiyot instituti talabalariga moljallangan lotin alifbosidagi o`quv uslubiy qo`llanma bo`lib, biologik kimyoning nazariy asoslari, laboratoriya mashg`ulotlarining o`tkazish qoidalari ko`rsatilgan amaldagi o`quv dasturiga moslab tuzilgan. Har bir mashg`ulotda uning qisqacha nazariy yo`nalishi va maqsadi, qo`llanilayotgan usulning asosi, lozim bo`lgan reaktiv va jihozlar ro`yxati, tekshiriluvchi material nomi ko`rsatilib, ishning bajarilish qismi batafsil yoritilgan.

Laboratoriya mashg`ulotlarini bajarish davomida talabalar olingan axborotlar natijasini mustaqil tahlil qilish imkoniyatiga ega bo`ladilar. O`quv uslubiy qo`llanmada keltirilgan ayrim biokimyoviy usullardan talabalar ilmiy-tadqiqot ishlarida, klinik biokimyo laboratoriyalarida, toksikologik kimyo hamda dorishunoslikda biogen preparatlar va dorivor osimliklar ta'sirini organishda foydalanish mumkinligini nazarda tutib, ularning amaliy ahamiyatiga alohida e'tibor berilgan. Har bir bo`lim nihoyasida nazorat savollari keltirilgan bo`lib, talaba nazariy ko`nikma bilan amaliyot natijalarini bo`g`lay olishiga yordam beradi.

Taqrizchilar:

Kimyo fanlari doktori, professor I. R. Asqarov

Biologiya fanlari doktori, professor T. T. Topvoldiev

Biokimyoviy jarayonlar va tekshirish usullari.

Biokimyoviy jarayonlar odam va yuqori darajada rivojlangan hayvonlar organizmida neytral muhit va normal haroratda katta tezlikda kechadi. Ushbu xususiyatning asosiy omili hujayralar tarkibidagi erigan katalizatorlar – fermentlar bo`lib, ular o`zlari mas'ul bo`lgan birorta yoki bir necha maxsus reaksiyalarni faollashtirish imkoniyatiga ega. Ma'lumki, hujayra tarkibiy qismlari yuqori molekulali birikmalardan iborat bolib, qurilishi bir xil yoki o`xshash monomerlarning polimerlanishi natijasida hosil bo`ladi. Biologik polimerlar ichida eng

amiyatlisi oqsillar va nuklein kislotalar hisoblanib, ular qatoriga murakkab oqsillar korinishidagi fermentlar ham kiradi.

Har qanday kimyoviy birikma hujayrada kechayotgan fizik-kimyoviy va fiziologik sharoitlar ta'sirida har xil korinishdagi ozgarishlarga uchrashi mumkin. Bunday vaziyatlarda organizm boshqaruvchi mexanizmlarini o'zaro kelishib ishlashi va ular ta'sirida hujayradagi modda almashinuvi jarayonlarining yo'nalishi lozim bo'lgan sharoitga imkon qadar moslashishi talab qilinadi. Organizmning normal va patologik holatlarida olingan axborotlarni tahlili sodir bo'lgan fizik-kimyoviy ozgarishlarni baholashda, biokimyoviy tekshirishlar natijasini tushunishda nihoyatda muhim, chunki hujayra va to'qimalardagi kuzatilayotgan korsatkichlar asosida butun organizm faoliyati to'g'risida fikr yuritiladi va kerakli chora-tadbirlar ko'riladi. Qo'yilgan vazifani amalga oshirishda biokimyoviy tekshirish usullari bilan yaqindan tanish bo'lish va undan ma'lum ish sharoitida maqsadga muvofiq foydalanish zaruriyatidir.

Biokimyoviy materiallar, ularning ajratish usullari.

Biologik materiallarni tekshirishda qoyilgan maqsadga binoan lozim bo'lgan usullardan foydalaniladi. Eksperiment sharoitida biokimyoviy tadqiqot uchun har qanday biologik materialni osonlik bilan olish mumkin, klinikada esa bu imkoniyat nisbatan chegaralangan. Farmatsiyada esa biologik material sifatida hayvon to'qimalari va dori preparatlari ishlatiladi. Ko'pincha tekshirish materiallari organizm biologik suyuqliklaridan yoki hujayra qismlaridan iborat bo'lib, ular tarkibida aniqlanayotgan komponentlarning sifat-miqdoriy ozgarishlari yoki shu reaksiyalarda ishtirok etuvchi fermentlar faolligi normal va patologik holatlarda o'zaro solishtirib o'rganiladi.

Plazma, qon zardobi va boshqa biologik suyuqliklar har xil tabiiy moddalarning suvda erigan aralashmasidan iborat. Fermentlar esa tabiatan murakkab oqsillardan tashkil topganligi sababli, ularni aniqlashda biologik suyuqliklarga tarkibini ozgartiruvchi moddalar qoshilmaydi, bordi-yu ferment konsentratsiyasi yuqori bo'lsa, u suyultiriladi. Agarda biologik suyuqlikdagi ferment undagi tekshirilayotgan moddani katalizlab, aniqlashga to'sqinlik qilayotgan bo'lsa, ferment faolligi tegishli reaktiv bilan toxtatiladi. Odatda, bu maqsad uchun uchxlorsirka kislotasi, nitrat, fosforvolframli, sulfat kislotalari yoki termik ta'sir qo'llaniladi. Bunda fermentlar bilan birga boshqa oqsillar ham cho'kmaga tushadi. Biokimyoviy tadqiqotlar hujayra, to'qima, organ tarkibiy qismlarida yoki uning bolakchalarida joylashgan organoidlarida, masalan, membranalarida otkaziladigan bo'lsa, unda hujayra yoki to'qimani avval maydalash kerak bo'ladi. Buning uchun ko'pincha to'qimani gomogenizator yordamida mexanik parchalash usuli qollaniladi.

Gomogenizatorlar ko`rinishi boyicha shisha stakanga oxshash bolib, hajmlari har xil. Ushbu stakanga qaychi bilan maydalangan toqima bolagi va uni intaktligini saqlovchi muhit suyuqligi (odatda saxaroza, kaliy xlorid) solinadi. Elektr toki yordamida stakandagi gomogenizator dastasining aylanishi natijasida h ujayra membranasi parchalanadi, struktura bolakchalari ajraladi. Oddiy sharoitda gomogenat to`qimani farforli hovonchada shisha kukuni yoki kvars qumi bilan maydalab olinadi.

Gomogenatlar tarkibi toqima, hujayraning o`lchovi, shakli, kimyoviy tuzilishi jih atidan har xil bolgan murakkab bolaklari aralashmasidan iborat. Biokimyoviy tadqiqotlar o`tkazishda ularni molekulasi boyicha taqsimlab ajratib olish uchun bir qator fizik-kimyoviy usullardan foydalaniladi.

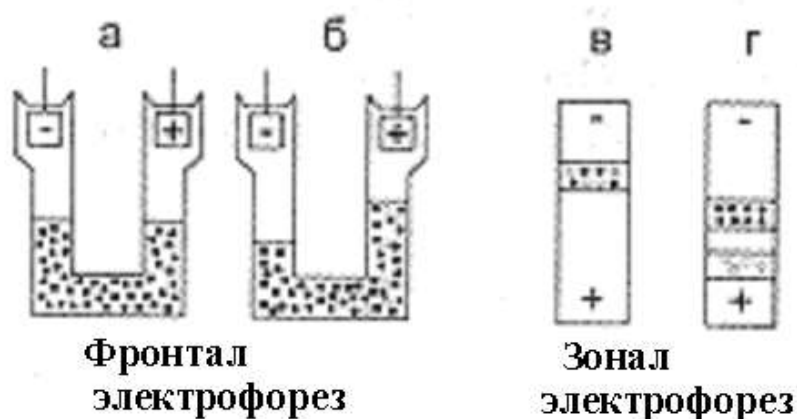
Sentrifugalash – markazdan qochuvchi kuch ta'sirida suyuqlik tarkibidagi og`ir qismlarni yengil qismlaridan ajratish usuli birinchi navbatda aralashmadagi og`irligi katta bo`lgan bolakchalar cho`kadi. Ular ajratib olingach, cho`kma usti suyuqligini (supernatant) katta tezlikda qayta sentrifugalab, boshqa qismlarini ham ajratish mumkin. Aralashmadagi komponentlarni aniqlash maqsadida o`tkaziladigan sentrifugalashni preparativ sentrifugalash deb atalib, undan qonning shaklli elementlarini ajratishda, siydikdagi hujayralarni cho`ktirib, ajratib olishda va boshqa maqsadlarda foydalaniladi.

Klinik-biokimyoviy laboratoriyalarda qo`llaniladigan kichik hajmdagi sentrifugalarning maksimal tezligi daqiqasiga 6000 aylanishdan oshmaydi. Maxsus biokimyoviy tadqiqotlarda oqsillar va nuklein kislotalarning molekula og`irligini aniqlashda, o`lchovi va zichligi bo`yicha farqlanuvchi zarrachalarni bir-biridan ajratishda yuqori tezlikdagi ultratsentrifugalalar (aylanish tezligi daqiqasiga 70000 gacha) qo`llanganligi uchun uni analitik sentrifugalash deb ataladi.

Zarrachalar cho`kish tezligi markazdan qo`chish kuchini ortishi bilan o`lchanadi. U g (gravitatsiya doimiyligi  $980 \text{ sm} \cdot \text{s}^{-2}$ ) birligida ifodalanadi. Amaliyotda g har bir ultratsentrifugani nomogrammasida ko`rsatilgan qo`llanma bo`yicha tuziladi. Masalan, qon shaklli elementlari 300-400 g da 20-30 daqiqa sentrifugalanganda cho`kadi va h .k. Differensial sentrifugalash yordamida subh ujayra qismlari – yadro, mitoxondriya, lizosomalar, mikrosomalar va boshqalar ajratiladi.

Elektroforez. Elektroforez deb tashqi elektr maydoni ta'sirida zaryadlangan zarralarni taqsimlanishiga aytiladi. Elektroforez eksperimentlarda, klinik meditsinada qon oqsillari va peptidlarini, ayniqsa, qon zardobini tahlil qilishda qo`llaniladigan zamonaviy usul hisoblanadi. Zaryadlangan zarralar o`lchovi va zaryadining katta-kichikligiga qarab elektr maydonida har xil tezlikda harakatlanadilar, bu esa ularni o`zaro ajralib, taqsimlanishiga olib keladi.

Elektroforezni ikkita asosiy turi bo`lib, frontal va zonal usullarga bo`linadi, ulardan keyingisi koproq tarqalgan. Bunda oqsil eritmasi bufer eritmasiga yupqa qavat korinishda joylashtiriladi. Elektroforez davomida har xil oqsil molekulalari alohida fraksiyalarga bolinadi. Bu fraksiyalarni alohida-alohida ajratib, osonlik bilan kesib olinadi. Zonal elektroforezni asosi sifatida filtr qog`ozi tasmasi, atsetilsellyuloza, kraxmal kukuni, agar, poliakrilamid geli va boshqa materiallardan foydalaniladi.



1-rasm. Frontal va zonal elektroforezlar.

Hozirgi vaqtda biologik va tibbiy tadqiqotlarda maxsus apparatli poliakrilamidli gel elektroforezi ko`proq ishlatilmoqda.

Fraksiyalarga bo`lingan moddalarning foregrammasi kumassi ko`ki, bromfenol koki yoki amidoshvars 10 V eritmasida 20-30 daqiqa ushlanadi va ular bo`yalgan bo`yoqning quyuqligiga qarab miqdori aniqlanadi, ya`ni har xil oqsilni bo`yoq bilan bo`lgan kursori shu oqsilning miqdoriga to`g`ri proporsional.

Xromatografiya. Xromatografiya har xil aralashmalarni o`z tarkibiy qismlariga taqsimlanishini o`rganadi. Xromatografiyaning asosan to`rt turi mavjud.

a). Informatsion kolonkali xromatografiya - bu usul ion ko`rinishida bo`lgan eruvchi moddalarni taqsimlashda qo`llaniladi. Usulni harakatsiz va harakatli fazalari farqlanib, harakatsiz fazasi asosini ion almashuvchilardan iborat bo`lgan organik polimerlar – smolalar tashkil etadi. Agarda harakatli fazasi sulfat kislotasi qo`ldig`i - karboksil guruh lari, ya`ni musbat zaryadli ionlar saqlasa, bu smola kation almashuvchi deb ataladi. Anion almashuvchilari esa aminlarning xlorli unumlari hisoblanadi.

Mazkur holatda manfiy zaryadli xlor tah lil qilinayotgan namunaning anioni bilan almashinadi. Aralashma eritmadagi moddalar harakatanganda smoladagi harakatlanuvchi ionlar

aralashma tarkibidagi ionlar bilan almashadi va natijada ionlar harakati pasayadi. Bog'lanish darajasi aralashmadagi har bir moddaning zaryadiga bo'g'liq. Zaryad qanchalik ko'p bo'lsa, smolaning o'zaro ta'siri shunchalik ko'p bo'ladi va kolonkadagi modda shunchalik sekinlik bilan harakatlanadi. Ba'zi moddalar kolonkada ushlab qolinadi, ba'zilar esa ushlanmaydi. Kolonkada chokkan moddalar turli pH dagi eritmalar bilan yuvib olinadi. Kolonkadan oqib chiqayotgan suyuqlik – elyuat kollektorda to'planadi.

b) Suyuqlikli xromatografiyada harakatsiz faza o'rnida mikroskopik zarralar qollaniladi. Bu usul katta tezlikka ega bo'lib, qisqa vaqt oralig'ida deyarli har qanday birikmani taqsimlay oladi.

v) Taqsimlovchi xromatografiyada aralashma tarkibidagi moddalar radikallarining katta-kichikligi, funksional (gidrofil) guruh larining bor-yo'qligi, harakatli va harakatsiz eritmalarda har xil erishiga qarab o'z individual komponentlariga taqsimlanadilar.

Xromatografik qog'oz tasmaining pastki chegarasidan 1 sm yuqoriga bir tomchi tekshirilayotgan modda tomizilib, tagida harakatlanuvchi eritma, kopincha, organik eritma saqlagan xromatografiya kamerasiga joylashtiriladi. Kamera atmosferasidagi suv bu g'lariga toyingan modda harakatsiz (polyar) eritmani hosil qiladi. Harakatlanuvchi eritma yuqoriga ozi bilan birga gidrofob moddani olib harakatlanadi, gidrofil moddalar esa suvda erigani uchun startda qoladi. Har bir moddani boyalgandan so'ng individual R_f lari o'lchanadi yoki standart modda bilan identifikatsiya qilinadi.

Optik usullar. Fotokolorimetrik usulda tahlil qilishda tekshirilayotgan eritma rangining ravshanlik darajasi (konsentratsiyasi) avvaldan ma'lum bolgan standart eritma rangi bilan solishtiriladi. Kolorimetrik aniqlashda miqdori o'lchanayotgan moddaning boshqa modda bilan rangli birikma hosil qilish reaksiyasidan foydalaniladi. Olingan eritma rangini jadalligi boyalgan moddaning miqdoriga to'g'ri proporsional. Rang jadalligi qanchalik ko'p bo'lsa, optik zichlik ham shunchalik yuqori bo'ladi. Grafik bo'g'liqlikni aniqlashda absissa o'qiga mol/l (S) da modda miqdori, ordinata o'qiga esa eritmaning optik zichligi (D) qo'yiladi. Uslubni qo'llash uchun D va S korsatkichlari ortasida proporsional bo'g'liqlik bolishi shart.

Spektrofotometrik tahlil usulida eritmada yoki qattiq muhitdagi moddaning nur yutishi ma'lum to'lqin uzunligiga to'g'ri kelishi aniqlanadi. Spektrofotometrni qo'llab spektrni ko'zga ko'rinadigan (600 dan 1100 nm), ultrabinafsha spektr qismida (220 dan 650 nm gacha) ishlash mumkin.

Oqsillarning kimyoviy xususiyatlari va aniqlash usullari.

Tirik organizm hujayralari tarkibiy qismini tashkil etadigan birikmalarning eng muhimi va asosiysi oqsillar hiso`blanadi. Oqsillar tarkibida azot saqlovchi yuqori molekulali birikma bo`lib, jonsiz tabiatda uchramaydi. Tirik organizmlarni tashkil to`pishida va ularda hayotiy jarayonlarni amalga oshishida oqsillarning ahamiyati juda ham katta.

Haqiqatan ham hayotni oqsillarsiz tasavvur etib bolmaydi. Chunki ular tirik organizmdagi moddalar almashinuvi jarayonida xal qiluvchi vazifani bajaradi. Tiriklik ehtiyojlariga xos bo`lgan barcha asosiy xususiyatlar oqsillarda mujassamlashgan. Oqsillarning nih oyatda xilma-xil bolgan vazifalarni bajarishi - ularning kimyoviy tuzilishi yuqori darajada murakkab ekanligidan dalolat beradi. Darhaqiqat, oqsillar tabiatda uchraydigan kimyoviy birikmalarning eng murakkabi bo`lib, organizmda kimyoviy jarayonlarni tezlashtirishda, moddalar almashinuvini boshqarishda, himoya vositalari sifatida muhim fiziologik funksiyalarni bajaradi. Ularning nuklein kislotalar bilan hosil qilgan komplekslari irsiy axborotlarni keyingi avlodlarga o`tkazib, hayotning davomiyligini taminlaydi.

Oqsillar tuzilishi boyicha yuqori molekulali organik birikma bo`lib, tarkibiga 20 xil aminokislotadan tashkil topgan va 2 guruhga bo`linadi:

1. Oddiy oqsillar - faqat aminokislotalar dan iborat;
2. Murakkab oqsillar - oqsil va oqsil bo`lmagan qismlar birikishidan tashkil topgan.

Oqsillarning fizik-kimyoviy xossalari va xilma-xilligi ular tarkibidagi aminokislotalarga bo g`liq.

Oqsillarni aniqlashda o`tkaziladigan barcha sifat reaksiyalari yoki miqdoriy olchovlar, ulardagi funksional guruh larni fizik-kimyoviy xossalariga asoslanadi. Birorta aminokislotani yetishmasligi organizmda oqsil almashinuvining buzilishiga sabab bo`lib, oqibatda turli kasalliklar yuzaga keladi.

OQSILLAR VA AMINOKISLOTALARGA XOS RANGLI REAKSIYALAR

Oqsillar yuqori molekulali kolloid birikmalar bolib, gidrolizlanganda aminokislotalargacha parchalanadi. Oqsil tarkibidagi aminokislotalar ozaro peptid bog`lari orqali birikadi. Oqsillarga xos rangli reaksiyalar ular qurilishida qatnashuvchi aminokislotalarga yoki molekulasidagi kimyoviy guruh larga ham xosdir. Oqsillarning ayrim kimyoviy moddalar bilan reaksiyaga kirishishidan hosil bo`lgan rangli unumlar oqsil tarkibida ma`lum aminokislota yoki uning funksional guruhlari borligini bildiradi.

Ba`zi rangli reaksiyalar yordamida oqsil va uning tarkibidagi aminokislotalar miqdorini aniqlash mumkin.

1- tajriba : Biuret reaksiyasi

Oqsil tarkibida ketma-ket joylashgan aminokislotalarning birinchisidagi SOON va ikkinchisining NH₂ guruhlaridan suvni chiqib ketishi natijasida hosil bo'lgan peptid bog'ini - SO - NH kuchli ishqoriy muhitda mis sulfati bilan ko'kish-binafsha yoki qizil-binafsha rang berishiga asoslangan.

Biuret reaksiyasini hamma oqsillar, ularning to'liq bo'lmagan gidroliz unumlari – peptonlar, polipeptidlar va tarkibida kamida ikkita peptid bog'i bo'lgan peptidlar beradilar. Rangning to'qlik darajasi peptid zanjirining uzunligiga bog'liq.

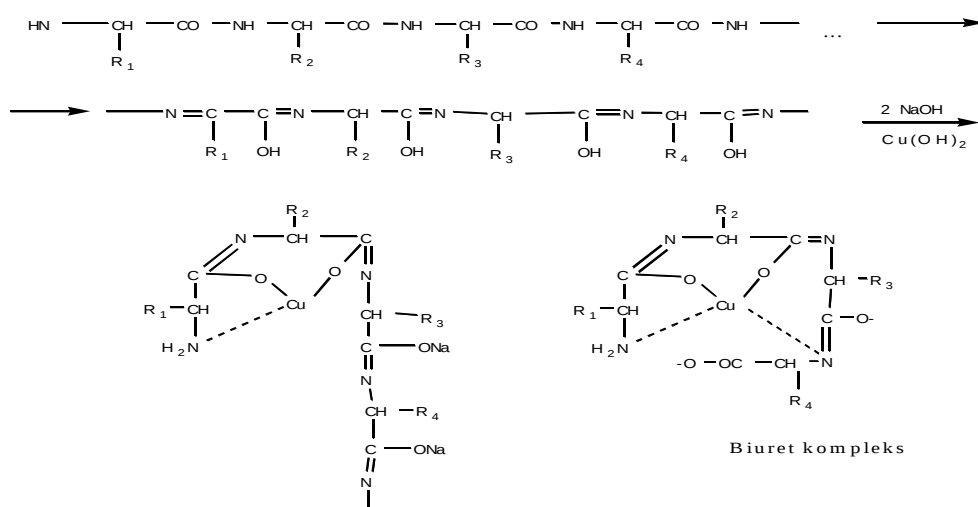
Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi (tayyorlanishi 1-ilovada). 1% li jelatina eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi.

Reaktivlar: Natriy gidroksidning 10% li eritmasi. Mis sulfatning 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativlar. Pipetkalar. Tomizgichlar.

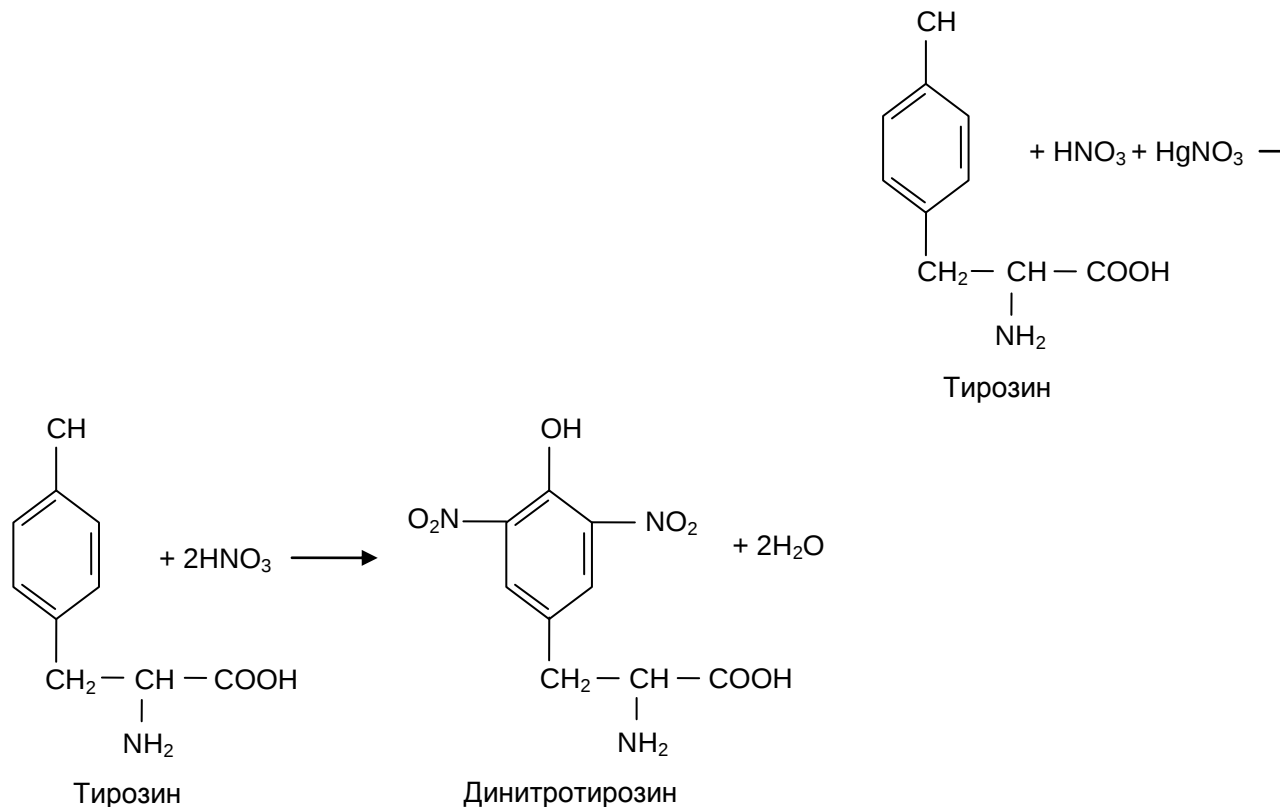
Ishning bajarilishi.

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5-10 tomchi tuxum oqsilining 1% li eritmasidan, ikkinchisiga 5-10 tomchi qon oqsilining 1% li eritmasidan, uchinchisiga 5-10 tomchi jelatinaning 1% li eritmasidan solinadi.
2. Barcha probirkalarga 10 tomchidan natriy gidroksidning 10% li eritmasidan va mis sulfatning 1% li eritmasidan 1 tomchidan tomizilib, aralashtiriladi.
3. Uchala probirkada qizil-binafsha yoki ko'kish-binafsha rang hosil bo'ladi.
4. Polipeptidlarning misli kompleksini sxematik ravishda quyidagicha tasvirlash mumkin:



Millon reaksiyasi.

Oqsil eritmasiga Millon reaktivi (simobning nitrat kislotadagi eritmasi) qoshilganda, chokma tushib, u qizdirilganda qong'ir-qizil rangga kiradi. Reaksiya oqsil tarkibidagi fenol yadroli tirozinning simob bilan dinitrotirozinli tuzi hosil qilganini krsatadi.



Mazkur reaksiya tarkibida tirozin bo'lmagan oqsil molekularida (jelatina) kuzatilmaydi. Erkin tirozin Millon reaktivi bilan qizil rang bersa ham cho`kma hosil qilmaydi.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi.

Reaktivlar: 0,1% li fenol eritmasi. 0,05% li tirozin eritmasi. Millon reaktivi (tayyorlanishi 2-ilovada). 1% li jelatina eritmasi.

Jihozlar: probirkali shtativ. Pipetkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml 1% li tuxum oqsili, ikkinchisiga 1 ml 0,05% li tirozin eritmasi, uchinchisiga 0,1% li 1 ml fenol eritmasidan solinadi.
2. Har bir probirkaga 5 tomchidan Millon reaktivi tomiziladi.
3. Probirkalar sekin-asta qizdirilganda qizil rang hosil bo`ladi.

4. Bajarilgan ish jelatina bilan qaytarilganda suyuqlik rangi o'zgarmaydi, chunki jelatina molekulasida tirozin qoldig'i yoq.

3- tajriba : Ksantoprotein reaksiyasi.

Tarkibida benzol halqali siklik aminokislotalar – tirozin triptofan tutgan ko'pchilik oqsil eritmaları konsentrlangan nitrat kislotasi bilan reaksiyaga kirishib, sariq yoki to'q sariq rang beradi. Bu reaksiya oqsil molekulasidagi aromatik aminokislotalarga xos bolib, ular nitrat kislota bilan ozaro reaksiyaga kirishganda sariq rangli nitrobirikmalarni hosil qiladi. Agar unga ishqor qo'shilsa, to'q sariq rangli xinoid tuziga aylanadi. Bu reaksiyani triptofan bilan ham qaytarsa bo'ladi. Jelatina oqsili tarkibida aromatik aminokislotalar bo'lmaganligi sababli ksantoprotein reaksiyasiga kirishmaydi.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi. 1% li jelatina eritmasi.

Reaktivlar: Konsentrlangan nitrat kislotasi. Natriy gidroksidning 20% li eritmasi yoki konsentrlangan ammiak.

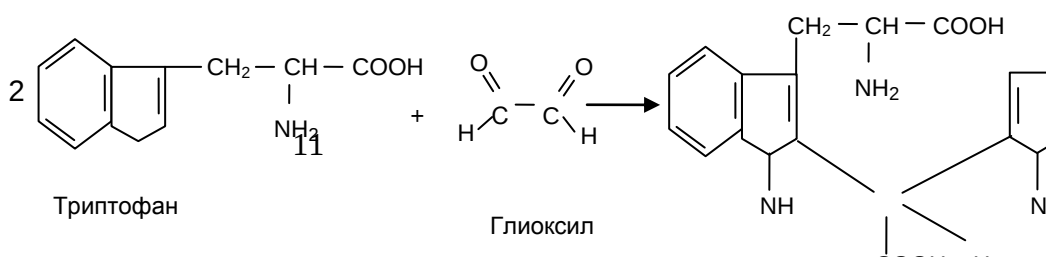
Jihozlar: probirkali shtativlar. Pipetkalar.

Ishning bajarilishi.

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml tuxum oqsili, ikkinchisiga 1 ml qon zardobi oqsili, uchinchisiga 1 ml jelatina quyiladi.
2. Barcha probirkalarga 0,5 ml dan konsentrlangan nitrat kislotasi qo'shiladi.
3. Probirkalar sekinlik bilan qizdirilsa, birinchi va ikkinchi probirkalarda sariq rang paydo bo'ladi. Uchinchi probirkada esa rang o'zgarmaydi.
4. Probirkalar sovutilib, har biriga konsentrlangan ammiak yoki 20% li natriy gidroksid eritmasidan 1 ml dan qo'shilganda dinitrotirozinni natriyli yoki ammoniyli tuzi hosil bo'lganligi sababli probirkadagi sariq rang to'q sariq rangga aylanadi.

4- tajriba : Adamkevich reaksiyasi.

Adamkevich reaksiyasi indol xalqasiga xos bolib, o'qsillar va polipeptidlar konsentrlangan sulfat kislota ishtirokida glioksil kislotasi bilan qizg'ish-binafsha rang berishiga asoslangan. Bu reaksiya oqsil tarkibidagi triptofan kislotali muhitda glioksil kislotasining aldegid guruhi bilan reaksiyaga kirishganida rangli modda kondensati hosil bo'lishiga asoslangan. Glioksilat doimo oz miqdorda muzli sirka kislota tarkibida bo'ladi, shuning uchun bu kislota glioksilatni manbasi sifatida foydalaniladi.



Rangli kondensat

Tekshiriluvchi material: 1% li oqsil eritmasi. 1% li qon zardobi. 1% li jelatina eritmasi

Reaktivlar: Triptofanning 0,05% li eritmasi. Muzli sirka kislotasi. Konsentrlangan sulfat kislotasi.

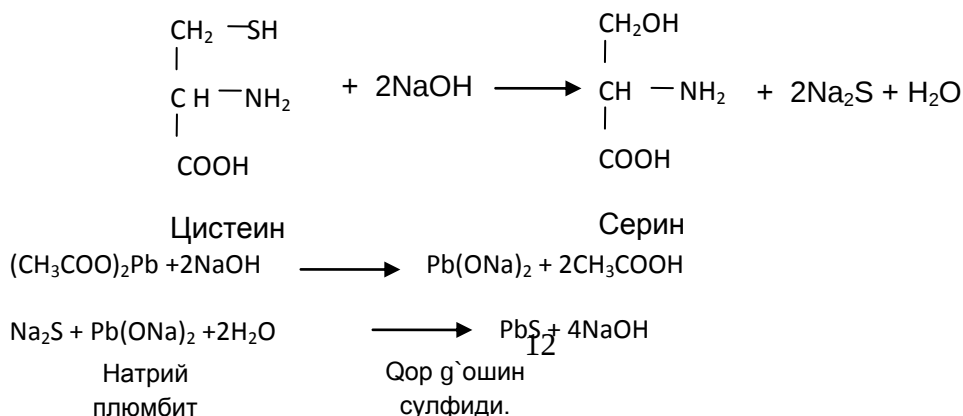
Jihozlar: Probirkali shtativlar Pipetkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 4 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1% li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1% li qon zardobi, uchinchisiga 5 tomchi jelatina eritmasi, to'rtinchisiga 5 tomchi 0,05% li triptofan eritmasidan quyib, ularning har biriga 5 tomchidan sirka kislotasi tomiziladi.
2. Suyuqlikdagi oqsil eriguncha probirkalar asta qizdiriladi.
3. Sovutilgach, probirka devori bo'ylab ohistalik bilan ikkala suyuqlikni aralashtirmasdan 10 tomchidan konsentrlangan sulfat kislotasi tomiziladi.
4. 1-2 daqiqa turgandan keyin 1, 2 va 4 probirkalarda ikkala suyuqlik chegarasi oralig'ida halqasimon qiz g'ish-binafsha rang paydo bo'ladi.
5. Agar probirkalar qaynab turgan suv hammomida isitilsa, rangning paydo bo'lishi tezlashadi.
6. Uchinchi probirkadagi jelatina molekulasida triptofan bo'lmaganligi uchun rang paydo bo'lmaydi.

5- tajriba : Fol reaksiyasi.

Oqsildagi metionin, sistein va sistin ishqorda qizdirib, gidroliz qilinganda ular molekulasidagi oltingugurt bo'sh bog'langanligi sababli vodorod sulfidi shaklida oson ajralib, ishqoriy muhitda natriy yoki kaliy sulfidini hosil qiladi. Sulfidlar qorg'oshin atsetat bilan qo'shilib, qora rangli cho'kma beradi.



kshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi. Q qon zardobi, 1% li jelatina eritmasi.

Reaktivlar: 30% li natriy gidroksid eritmasi. 5% li qorg`oshin atsetat eritmasi. Fol reaktivi (tayyorlanishi 3-ilovada).

Jihozlar: Probirkali shtativ. Pipetkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

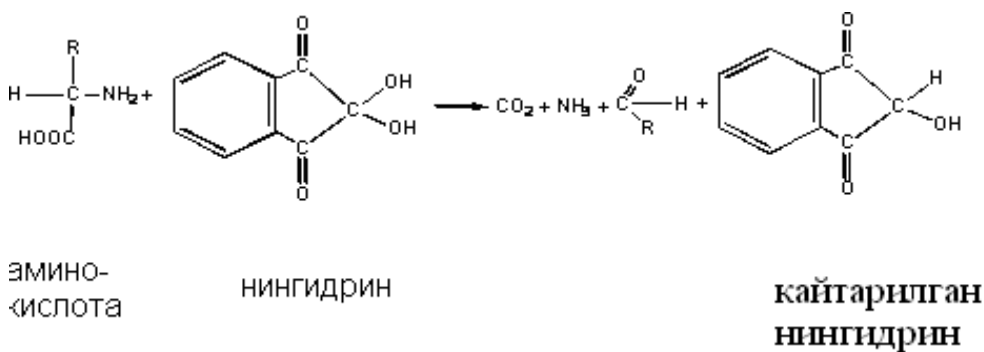
1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml tuxum oqsili eritmasi, ikkinchisiga qon zardobi va uchinchisiga 1 ml jelatina eritmasidan quyiladi.
2. Barcha probirkalarga 30% li natriy gidroksid eritmasidan 1 ml dan qo`shib, 2-5 daqiqa davomida qizdiriladi.
3. Probirkalar sovutilgach, har biriga 0,5 ml 5% li qor g`oshin atsetat qo`shilganda birinchi va ikkinchi probirkalarda qora cho`kma hosil bo`ladi.
4. Uchinchi probirkadagi jelatina tarkibida oltingugurtli aminokislotalar yo`qligi uchun cho`kma h`osil bo`lmaydi.

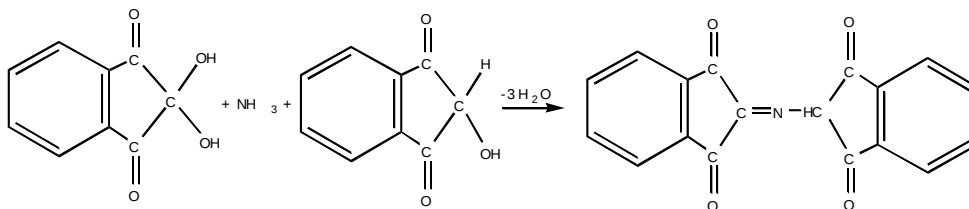
6 - tajriba : Ningidrin reaksiyasi.

Ningidrin reaksiyasi aminokislotalarining α -xolatida turgan aminoguruhlariga xosdir.

Ningidrin kuchli oksidlovchi modda - uning tasirida α -aminokislotalarning dezaminlanishi va dekarboksillanishi natijasida SO_2 , ammiak va aldegid hosil bo`ladi. Qaytarilgan ningidrin ammiak va ortiqcha ningidrin bilan ozaro reaksiyaga kirishib, ko`k-binafsha rangdagi kondensatsiyalangan unumini keltirib chiqaradi.

Reaksiya quyidagicha kechadi:





Kondensatsiyalangan kokish-binafsha unumi

Tekshiriluvchi material: 1% li oqsil eritmasi. 1% li qon zardobi.

Reaktivlar: 0,1% li ningidrinning spirtli eritmasi. 1% li alanin eritmasi.

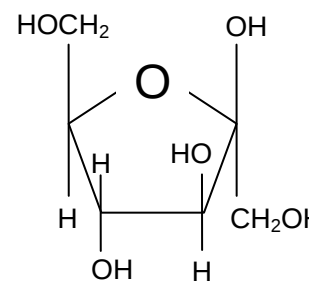
Jihozlar: Probirkali shtativ. Pipetkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi qon zardobi, uchinchisiga 5 tomchi alanin eritmasidan tomiziladi.
2. Har bir probirkaga 5 tomchidan 0,1% li ningidrin eritmasidan tomizilib, 1-2 daqiqa qizdiriladi.
3. Probirkalardagi aralashmalar avval pushti-binafsha yoki ko'kish-binafsha rangga bo'yaladi. Vaqt otishi bilan eritma kokaradi.
4. Bu usul yordamida aminokislotalarni miqdor jihatdan ham aniqlash mumkin.

7- tajriba : Shulse-Raspaylya reaksiyasi

Bu reaksiya oqsil tarkibidagi triptofan qoldig'iga xos reaksiya bo'lib, bunda triptofan oksimetilfurfurol ta'sirida toq qizil rangli kondensatsiyalangan unumini hosil qiladi.



Фруктоза

Oksimetilfurfurol mazkur reaksiyada saxarozaning konsentrlangan sulfat kislotasi ishtirokida parchalanishidan hosil bo'lgan geksoza (fruktoza) ni unumi hisoblanadi:

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili yoki 1% li qon zardobi.

Reaktivlar: Saxarozaning 10% li eritmasi. 0,05% li triptofan eritmasi. Muzli sirka kislotasi. Konsentrlangan sulfat kislotasi.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Pipetkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 5-10 tomchi 1% li tuxum oqsiliga yoki 5-10 tomchi 1% li qon zardobiga 1-2 tomchi 10% li saxaroza eritmasi va probirka devori bo'ylab ohistalik bilan 1 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi tomiziladi.
2. Probirka asta chayqatilib, ikkala suyuqlik aralashtiriladi.
3. Sulfat kislotasining erishi natijasida hosil bo'lgan issiqlik hisobiga ikkala suyuqlik qo'shilishidan to'q qizil rang paydo bo'ladi.

Nazorat savollari

1. Oqsil nima, uning molekulasini nimadan tuzilgan?
2. Proteinogen aminokislotalarni sanab bering, oqsil tarkibida ular qanday bog' bilan bog'langan?
3. Aminokislotalar tasnifi nimaga asoslangan? Siklik, atsiklik aminokislotalarga misollar keltiring.
4. α -aminokislotalar qanday reaksiya bilan ochiladi? Bu reaksiya nimaga asoslangan?
5. Oltingugurt tutuvchi aminokislotalar qurilishi va ularni ochuvchi Fol reaksiyasining mexanizmini yozib bering.
6. Aromatik aminokislotalar va ularni ochishdagi rangli reaksiyasi nimaga asoslangan.
7. Oqsil tarkibidagi aminokislotalarning qanday bog'lari Biuret reaksiyasini ifodalaydi?
8. Oqsildagi qaysi aminokislotasi qoldig'i ksantoprotein reaksiyasini ko'rsatadi? Bu aminokislotani yozib bering.
9. Millon reaksiyasidagi toq qizil rang beruvchi aminokislotani yozib bering.
10. Oqsil tarkibidagi qaysi aminokislotani Adamkevich va Shulze-Raspayli reaksiyalari bilan ochish mumkin?
11. Keltirilgan rangli reaksiyalarning har biri oqsil uchun maxsusmi?
12. Oqsillarga xos rangli reaksiyalarning qanday ahamiyati bor?

Oqsillarning fizik xususiyatlari

Oqsillarning fizik xususiyati ularning struktura tuzilishidan kelib chiqib, polipeptid zanjirini tashkil qiluvchi monomerlardan tubdan farqlanadi. Oqsillarni fizik xususiyatlari biokimyoviy laboratoriyalarda, farmatsevtik amaliyotda va eksperimental biokimyoda qabul

qilingan kopchilik uslublarining asosini tashkil qilib, ularni ajratish va tozalash, sifat va miqdoriy tahlil qilish, ayniqsa, tarkibiy qismlarini aniqlashda o'z ifodasini topgan.

Oqsillarning denaturatsiyasi.

Oqsillar molekulasidagi uchlamchi va tortlamchi qurilish darajalarini buzuvchi moddalar ta'sirida fizik-kimyoviy va biologik xususiyatlarining o'zgarishiga denaturatsiya deyiladi. Denaturatsiyalovchi omillar kimyoviy, fizikaviy va biologik sifatga ega bolishlari mumkin. Bular orasida kimyoviy (kislotalar, og'ir metallar, alkaloidlar, sirt faol moddalar va boshqalar) va fizik omillar (harorat, radiatsiya, ultratovush va boshqalar) nisbatan ko'proq. Biologik denaturatsiya chaqiruvchilar qatorida proteolitik fermentlar ishtirok etadi, ular peptid bog'larini gidrolizlash oldida oqsil molekulasining yuqori qurilish darajalarini buzadi.

Denaturatsiya oqsilni eruvchanligini kamaytirib, cho'kmaga tushiradi. Denaturatsiya deyarli qaytmas jarayon, ammo gohida denaturatsiyalo'vchi omilni olib tashlaganda oqsil molekulasining avvalgi tabiiy holati tiklanishi mumkin, bunga renaturatsiya deyiladi.

Oqsillarning denaturatsiyaga uchrash hodisasidan klinikada, farmatsiyada va biokimyoviy tadqiqotlarda keng foydalaniladi:

- a) biologik materiallarda kichik molekulali substratlarni aniqlashda oqsillar cho'ktiriladi;
- b) har xil biologik suyuqliklar va ekstraktlarda oqsil borligini aniqlashda va uni miqdoriy tahlil qilishda masalan, siydik tarkibidagi oqsilni sifat va miqdoriy aniqlash uni nitrat kislota bilan denaturatsiyaga uchrashiga asoslangan;
- v) oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan bog'lanishi ishlab chiqarishda zaharlanganlarni davolashda qo'llaniladi;
- g) chiqindilarni zararsizlantirishda, teri va shilliq qavatlarni dezinfektsiyasida.

8 - tajriba : Oqsillarning konsentrlangan mineral kislotalari bilan denaturatsiyasi

Tekshiriluvchi material: 1%li tuxum oqsili eritmasi. 1% li qon zardobi.

Reaktivlar: Konsentrlangan nitrat kislota. Mis sulfatning 5% li eritmasi. Qorg'oshin sulfatning 5% li eritmasi. Uchxlorsirka kislotasining 10% li eritmasi. 10% li xlorid kislotasi. 96% li etil spir. Atseton.

Jixozlar: Probirkali shtativ. Pipetkalar, Suv hammomi.

Mineral kislotalar ta'sirida oqsil zaryadi neytrallashib, fazoviy qurilishi buzilishi natijasida denaturatsiyaga uchraydi va cho'kmaga tushadi.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 10 tomchi konsentrlangan nitrat kislota quyiladi.
2. Probirkani 45° li burchak ostida qiyshaytirib ushlangan holda, devori bo'ylab 5 tomchi oqsil eritmasidan ohistalik bilan tomiziladi.
3. Ikki qavat suyuqlik chegarasida denaturatsiyalangan yupqa oqsil halqasi hosil bo'ladi.

9- tajriba : Oqsillarning organik kislotalar bilan denaturatsiyasi

Usul organik kislotalar ta'sirida oqsil zaryadi neytrallanib, fazoviy qurilishi buzilishi natijasida denaturatsiyaga uchrab, cho'kmaga tushishiga asoslangan.

Ishning bajarilishi.

1. 2 ta probirkaga 10 tomchidan oqsil eritmasi tomiziladi.
2. Birinchisiga 2 tomchi 10% li uchxlorsirka kislota, ikkinchisiga 2 tomchi 10% li xlorid kislota qoshilganda oq cho'kma kuzatiladi.

10- tajriba : Oqsillarning og'ir metall tuzlari bilan denaturatsiyasi

Usul og'ir metall tuzlarini oqsil molekulasidagi aminokislotalar yon radikallarining funksional guruh lari bilan bog'lanishi natijasida oqsilning fazoviy qurilishi buzilib, denaturatsiyaga uchrashi va cho'kmaga tushishiga asoslangan. Og'ir metall tuzlaridan (kumush nitrat va simob xloriddan tashqari) ortiqcha miqdorda qoshilganda avval hosil bo'lgan cho'kmani eriganligi kuzatilgan. Bunga sabab metall ionlarini adsorbsiyalanishi oqibatida oqsil molekulasini musbat zaryadga o'tadi.

Ishning bajarilishi.

1. Ikkita probirkaga 10 tomchidan oqsil eritmasidan quyiladi.
2. Birinchi probirkaga mis sulfatning 5% li eritmasidan 1-2 tomchi, ikkinchisiga qo'rg'oshin atsetatning 5% li eritmasidan 1-2 tomchi qo'shiladi.
3. Oqsilning chokmaga tushishi aniqlangach, har ikkala probirkaga oz eritmasidan bir necha tomchi tomizilganda, cho'kmani erishi kuzatiladi.

11- tajriba : Oqsillarning organik erituvchilar bilan denaturatsiyasi

Organik erituvchilar (spirt, atseton, xloroform) ta'sirida oqsil molekulasini suv qobig'i buzilib degidratatsiyalanadi va eruvchanligi pasayishi hisobiga denaturatsiyaga uchrab, cho'kmaga tushadi.

Ishning bajarilishi.

1. Uchta probirkaga 10 tomchidan oqsil va teng hajmda organik eritmalar: birinchisiga etil spirti, ikkinchisiga atseton, uchinchisiga xloroform qo`shib, cho`kmaga tushishi kuzatiladi.

2. Ishni rasmiylashtirishda cho`kmaga tushirish reaksiyalarida denaturatsiyalovchi moddani ta'sir qilish xususiyati korsatiladi. Xulosada oqsilni denaturatsiyaga olib keluvchi sababini keltiriladi.

12 - tajriba : Oqsillar dializi.

Yuqori molekulyar birikmalar kolloid eritmalarini yarim o'tkazuvchan membranalar yordamida past molekulyar organik va anorganik aralashmalardan ajratishga dializ deb ataladi. Dializ davomida kolloid eritmalar membranadan osonlik bilan otuvchi, masalan, elektrolitlardan va boshqa kristalloidlardan osonlik bilan tozalanadi. Shu xususiyati bilan dializ oqsil molekulyalarini kichik molekulyar qoshimchalardan holi bolishida qulay usul hisoblanadi. Odam va hayvon organizmidagi ba'zi membranalaridan oqsil molekulyalari ota olmaydi (buyrakdagi Boumen-Shumlyanskiy kapsulasi, oshqozon-ichak yoli epiteliysining shilliq pardasi va boshqalar).

Dializda ishlatiladigan asbob dializator deb ataladi. Oddiy dializator sifatida suvli stakanga tushirilgan kolloidiy yoki sellofan xaltachasidan foydalansa bo'ladi. Bunda kichik molekulyar moddalar suvga o'tib, xaltachada oqsilning kolloidli eritmasi qoladi.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi. 1% li qon zardobi.

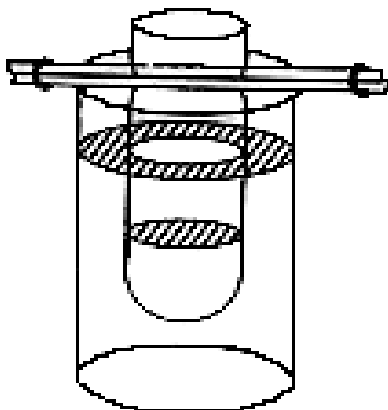
Reaktivlar: ammoniy sulfat tuzining toyingan eritmasi. Bariy xloridining 5% li eritmasi. Biuret reaktivi (mis sulfatning 1% li eritmasi bilan natriy gidroksidning 10% li eritmasi). Distillangan suv.

Jixozlar: 100 ml hajmli stakan. 125x125 mm li sellofan. Shisha tayoqcha. Rezinali bog`lagichlar. Probirkalar. Pipetkalar.

Ishning bajarilishi.

1. 5 ml 1% li tuxum oqsili yoki 1% li qon zardobiga 1-2 tomchi ammoniy sulfat tuzi qoshib, aralashtiriladi.
2. Ikkita probirkaga 10 tomchidan eritma olinib, bittasi bilan Biuret reaksiyasi, ikkinchisi bilan sulfat aniqlanadi.
3. Sulfatlarga tah lil otkazilayotganda probirkaga 2-3 tomchi bariy xlorid eritmasi qo`shiladi.

4. Sellofan xaltachaga (dializator)ning $\frac{1}{3}$ xajmiga qadar tuxum oqsilining ammoniy sulfat aralashgan eritmasidan quyiladi.
5. Xaltacha yuqori qismidan ikkita shisha tayoqchali rezina xalqa yordamida tayyorlangan qisqichga maxkamlanib, distillangan suvli stakanga solib qo'yiladi, Xaltachadagi suyuqlik sath i stakandagi suv sath idan pastroqda bo'lishi kerak.



2-rasm. dializator.

Dializ boshlanishidan bir soat otgandan so'ng stakandagi suvdan (dializat) 10-15 tomchidan ikkita probirkaga olinadi. Birinchisi bilan oqsilga biuret reaksiyasi, ikkinchisiga 3-5 tomchi bariy xlorid qoshib, sulfat ioniga sifat reaksiyasi otkaziladi.

6. Aynan shu reaksiyalar xaltacha ichidagi oqsil bilan ham qaytariladi, so'ngra dializat (tashqaridagi suyuqlik) va dializlanayotgan suyuqlikdan olib, oqsil va sulfatlarga xos reaksiyalar bajariladi, tuz tashqariga chiqqani va oqsil xaltachaning ichida qolganiga ishonch hosil qilinadi.

Mazkur usul oqsillar, nuklein kislotalar, polisaxaridlarni kichik molekulali qo'shimcha moddalardan tozalash bilan birga biokimyoviy tadqiqotlarda, oqsillardan davolash vositalari tayyorlashda, albuminlar va globulinlar fraksiyalarini ajratib olishda qo'llaniladi. Dializ usuli "sun'iy buyrak" apparatining ishlash asosi bo'lib, qonning tabiiy kichik molekulali zaharli moddalardan tozalashda foydalaniladi.

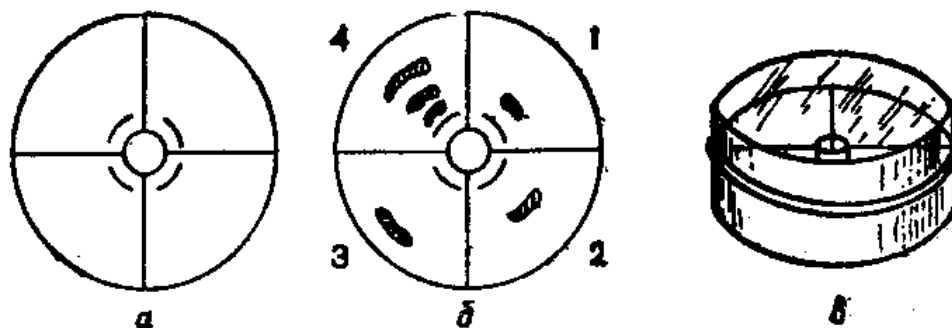
Olingan natijalar jadval korinishida rasmiylashtiriladi. Xulosada dializ usuli oqsilni qaysi xususiyatini belgilashi va qollanilish imkoniyatlarini ko'rsating.

13-tajriba : Aminokislotalarning qog'ozli xromatografiyasi

Mazkur usul oqsil gidrolizati, qon zardobi, siydikdagi aminokislotalarni aniqlashda, jarohatlangan jigar funksiyasining ahvoli to'g'risida fikr yuritishda, ayrim aminokislotalar

alماشinuvinig buzilishi oqibatidagi kasalliklarni aniqlashda zarur tekshirish choralaridan hisoblanadi.

Usul aminokislotalarning xromatografiya filtr qog'ozida ikkita aralashmaydigan eritmada – biri suv, ikkinchisi suv bilan toyintirilgan organik eritma (fenol, butil spirtining sirka kislota bilan aralashmasi va boshqalar) har xil darajada erishiga asoslangan. Suv harakatlanmaydigan faza, chunki u qog'ozga shimilgan, harakatlanuvchi faza sifatida organik erituvchilardan foydalaniladi. Xromatografiya qog'oziga bir tomchi aminokislota aralashmasidan tomiziladi, qog'ozning ikkinchi uchi tegishli organik erituvchiga tushiriladi. Erituvchi suyuqlik qog'ozga shimilib, ozi bilan birga aminokislota olib harakatlanadi. Aminokislota suvda qancha yaxshi erisa, organik erituvchida shunchalik yomon eriydi va harakatlanish tezligi sekin bo'ladi. Natijada erish koeffitsientiga qarab aminokislotalar turli masofada taqsimlanadilar. Aminokislotalarning qog'ozda harakatlanishi bo'yicha pastdan yuqoriga, yuqoridan pastga, doira bo'ylab (radial) xromatografiya turlari farqlanadi. Aminokislotalarni aniqlashda xromatografiya qog'oziga guvoh aminokislotalar tomizilib, ularni front bo'ylab o'tgan masofasiga qarab yoki tegishli aminokislota taqsimlanish koeffitsienti - R_f ga ko'ra aniqlanadi. $R_f = a/b$ mm da; bunda a – aminokislota tomizilgan joyidan (startdan) boshlab o'tgan masofasi; b – eritmani o'tgan masofasi.



3-rasm. Radial xromatografiya

Tekshiriluvchi material: aminokislota aralashmasi

Reaktivlar: Tirozinning 0,4% li eritmasi. Glutamin kislotasining 0,6% li eritmasi. Leysinning 0,5% li eritmasi. Ningidrinning 0,2% li atsetondagi eritmasi. Erituvchi sistema 15:15:10 nisbatda olingan butil spirit. Sirka kislota va suv aralashmasi.

Jihozlar: Hromatografiya filtr qog'oz. Petri kosachasi. Pipetkalar. Purkagich. 105° li quritish shkafi. Qaychi.

Ishning bajarilishi.

1. Diametri 10-11 sm xromatografiya qog'ozining (olchovi Petri kosachasining o'lchovidan 1 sm enliroq bolishi kerak) markazida qora qalam bilan diametri 1 sm bo'lgan doira chiziladi

va qog`oz tortga bukiladi va tomonlari tartib raqamlari bilan belgilanadi. Doira markazida 4-5 mm qalinlikdagi qog`oz pilik sig`adigan teshik o`yiladi.

2. Songra xromatografiya qog`ozi Petri kosachasiga o`rnatilib, har bir bo`limiga ingichka pipetka bilan aminokislota aralashmasidan to`miziladi va qog`oz markazidagi teshikcha orqali 10-15 ml eritma so`linib, uning shimilishi uchun shu teshikchaga filtr qog`ozidan pilikcha o`rnatiladi.
3. Kamera qopqoq bilan bekitiladi va yurituvchi suyuqlik pilik orqali asta-sekin qog`ozga yoyila boshlaydi. Erituvchi qog`oz chekkasiga yetganda jarayon toxtatiladi va xromatogramma quritgich shkafida 100-120° S da 5-10 daqiqa davomida quritiladi.
4. Xromatogrammadagi aminokislotalar ningidrin purkalib aniqlanadi va Rf topilib, guvohlar bilan solishtiriladi.

Qon zardobi va organizmning boshqa suyuqliklaridagi aminokislotalarni xromatografik tahlil qilish usuli klinikada irsiy kasalliklarga tashxis qo`yishda, kasallik holatini baholashda; farmatsiyada oqsil gidrolizatlarini sifatini aniqlashda, aminokislotalar aralashmasidan tuzilgan preparatlar tarkibini aniqlashda muhim ahamiyatga ega.

Nazorat savollari

1. Oqsil denaturatsiyasi nima, bunda oqsilning qaysi xususiyatlari o`zgaradi?
2. Renaturatsiya va denaturatsiyada oqsilning qurilish darajalari holati qanday bo`ladi?
3. Oqsil dializi nimaga asoslangan, uning amaliyotda qanday ahamiyati bor?
4. Oqsil gidrolizida aminokislotalarning qanday bog`i buziladi?
5. Oqsil gidrolizini qanday xillari bor? Alanin, arginin, triptofan va metionindan tetrapeptid tuzib, nomini ayting.
6. Aminokislotalarning qaysi aminoguruh i peptid bog`i hosil bolishida ishtirok etadi? Arginil-glutamat va glutamil-arginin formulasini yozing.
7. Gidroliz tugaganligini qanday aniqlash mumkin?
8. Oqsilning makromolekulali tabiatini qanday isbotlash mumkin?
9. Oqsil gidrolizatidagi aminokislotalar aralashmasini qanday qilib taqsimlash mumkin?

Oqsillarni cho`ktirish reaksiyalari

Oqsillarning fizik-kimyoviy xossalari ma`lum darajada ularning yuqori molekulali massasi (oqsillar gidrofil kolloidlar), amfoterlik xossasi (oqsillar amfoter elektrolitlar) va ikkilamchi, uchlamchi tuzilishining (strukturasi) beqarorligi bilan belgilanadi. Polipeptid zanjirning ikkilamchi strukturasi saqlab turuvchi vodorod bog`lari nihoyatda bo`sh bog` bo`lib, 60-70° S da qizdirilganda oson buzilib ketadi. Oqsillarning uchlamchi strukturasi tutib

turuvchi disulfid, ion va vodorod bo'g'lari ichki molekulyar kuchlarni boshlashishi natijasida o'z turg'unligini yo'qotishi mumkin. Bunday sharoitda oqsillar biologik xususiyatini yo'qotadilar.

14-tajriba : Oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan cho'ktirish

Oqsillar og'ir metall tuzlari (mis, temir, qor g'oshin, rux, kumush, simob va boshqalar) ta'sirida suvda erimaydigan kompleks hosil qilib, denaturatsiyaga uchraydilar va chokmaga tushadilar. Oqsillarning bu xususiyatidan og'ir metallar (simob, qor g'oshin) bilan zaharlanganda, hali metall so'rilib ulgurmasdan, zah arlanishga qarshi dori sifatida foydalanishga asos bolgan. Tuxum oqsili, sut zah arlanishga qarshi ishlatilganda ularni ko'proq berish kerak, chunki ayrim tuzlarning (qor g'oshin atsetati, mis sulfat) ortiqcha miqdori oqsillar bilan eruvchan birikma hosil qiladi (peptizatsiya). Ayniqsa, simob tuzlari bilan zah arlanganda hosil bo'lgan oqsil cho'kmasi osh tuzi ishtirokida erishi mumkinligini esda saqlash kerak.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi. 1% li qon zardobi.

Reaktivlar: Mis sulfatning 5% li eritmasi. Qo'rg'oshin atsetatning 5% li eritmasi. Kumush nitrat oksidining 3% li eritmasi.

Jixozlar: Probirkalar. Pipetkalar. Shisha tayoqchalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Uchta probirka olib, har biriga 10 tomchidan oqsil eritmasi quyiladi.
2. Birinchi probirkaga 1-2 tomchi 5% li mis sulfati, ikkinchisiga 1-2 tomchi 5% li qor g'oshin atsetati va uchinchisiga 1-2 tmchi 3% li kumush nitrat oksidi tomiziladi.
3. Uchala probirkada ham oqsil chokmasi hosil boladi.
4. Uchala probirkaning har biriga ozini chokmaga tushiruvchi eritmasidan yana 5-10 tomchi qo'shib, shisha tayoqcha bilan aralashtirilganda birinchi va ikkinchi probirkalardagi cho'kmani eriganligi (peptizatsiya), uchinchi probirkadagi cho'kmani esa erimaganligi kuzatiladi.

15- tajriba : Oqsillarning qizdirilganda cho'kmaga tushishi

Deyarli hamma oqsillar qizdirilganda (50-55°S va yuqori) denaturatsiyalanadi, natijada oqsil ozining tabiiy xossasini yoqotadi, eruvchanligi kamayadi. Denaturatsiyalangan oqsilni qizdirilib, cho'kma hosil qilishda uning tarkibidagi tuzlar va vodorod ionlarini konsentratsiyasi katta rol oynaydi. Oqsilni tez va tolaligicha chokmaga tushishi uning izoelektrik nuqtasiga tog'ri keladi, shuning uchun oqsilni qizdirib chokmaga tushirishda muhit reaksiyasini (ph) uning izoelektrik nuqtasiga moslanadi. Kislotali xossaga ega bo'lgan oqsillar kuchsiz kislotali muh

itda, ishqoriy xossalilari esa kuchsiz ishqoriy muh itda cho`kmaga tushiriladi. Kuchli kislotali (nitrat, uchxlorsirka va sulfosalitsil kislotalaridan tashqari) va kuchli ishqoriy eritmalarda qizdirilganda denaturlangan oqsil cho`kmaga tushmaydi, chunki bu muh itda oqsil zarralari qaytadan zaryadlanadi yoki bor zaryadi kuchayadi va birinchi vaziyatda musbat, ikkinchi vaziyatda manfiy zaryadga ega bolib, qarama-qarshi elektrostatik kuchlar ta'sirida ularning turg'unligi oshadi. Shuning uchun kuchli kislotali va kuchli ishqoriy eritmalarda qizdirilganda oqsillar odatda cho`kmaga tushmaydi.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li qon zardobi.

Reaktivlar: 1% li va 10% li sirka kislota eritmasi, natriy xloridning toyingan eritmasi. 10% li natriy gidroksid eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Pipetkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 5 ta probirka olib, har biriga 10 tomchidan dan oqsil eritmasidan quyiladi.
2. Birinchi probirkadagi oqsilni neytral eritmasi qizdirilganda dastlab loyqalanadi, qaynaganda chokmaga tushadi. Qizdirish eh tiyotlik bilan bajarilib, vaqti-vaqti bilan probirka silkitilib, chayqatib turiladi. Loyqalanishni quyuqlashishi erimagan oqsil zarralarini yiriklashishi bilan tushuntiriladi. Ular zaryadga ega bolganliklari uchun erimagan holatda saqlanadilar.
3. Ikkinchi probirkaga 1-2 tomchi 1% li sirka kislotali tomiziladi, bunda cho`kma hosil bolmaydi. Qizdirish davomida avval loyqalanish, songra qaynaganda oq chokma tushadi. Cho`kma hosil bo`lishiga sabab tekshirilayotgan oqsil kuchsiz kislotali muhitda izoelektrik holatida bo`lib, qizdirganda denaturatsiyalanadi va eruvchanligini yo`qotadi.
4. Uchinchi probirkadagi oqsilga 1-3 tomchi 10% li sirka kislotali tomizilib, kuchli kislotali muh itga otkaziladi va qaynaguncha qizdiriladi. Bunda cho`kma tushmaydi, chunki eritmadagi ortiqcha vodorod ionlari ta'sirida avval manfiy zaryadli bolgan oqsil musbat zaryadga otib, barqarorlikka ega bo`ladi.
5. Tortinchi probirkadagi oqsilga 10% li sirka kislotalidan tomizilib, kuchli kislotali muh itga otkaziladi va ustiga 2-3 tomchi osh tuzining to`yingan eritmasidan tomizilib, qaynatganda oq cho`kma hosil bo`ladi. Bunga sabab natriy xlorid ionlarini oqsil zarrachalari adsorbsiya qilishi natijasida oqsilning musbat zaryadi neytrallanadi.
6. Beshinchi probirkadagi oqsilga 2-4 tomchi 10% li oyuvchi natriy qo`shib, ishqoriy muhit hosil qilinadi, so`ngra qaynatganda chokma hosil bo`lmaydi, chunki ishqoriy muh itda oqsilning asos xossasi yo`qotilib, kislotali xossasi oshadi, oqibatda oqsil molekulasini zarrachalarining manfiy zaryadi yana ham oshadi.

Ishni rasmiylashtirishda oqsillarni qizdirgandagi reaksiya natijalari jadval shaklida ifodalanadi. Xulosada har xil muhit sharoitida cho`kma hosil bo`lishi va bo`lmasligi sabablari asoslab beriladi.

1- jadval

Oqsillarni har xil muh itda qizdirilganda cho`kma hosil qilish reaksiyalari

Reaksiya muhiti	Cho`kma rangi va xossasi
Neytral	
Kuchsiz kislotali	
Kuchli kislotali (10% li sirka kislota)	
Kuchli kislotali (10% li sirka kislota + natriy xlorid)	
Ishqoriy (10% li natriy gidroksid)	

16- tajriba : Oqsillarni alkaloidli reaktivlar ta'sirida cho`ktirish

Oqsillarni alkaloid reaktivlar bilan cho`kishi ular tarkibidagi azotli geterotsiklik guruh larini alkaloid molekulasiidagi shu kabi moddalarga (pirrol, indol, imidazol va boshqalar) oxshashligi tufayli bo`lib, kislotali muh itda oqsildagi azotli birikmalar bilan suvda erimaydigan tuzlar hosil qilishiga asoslangan. Ishqoriy xossaga ega bo`lgan oqsillar (protaminlar, gistonlar) alkaloidli reaktivlar bilan neytral muh itda chokmaga tushiriladi.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li qon zardobi.

Reaktivlar: 1% li va 10% li sirka kislota eritmasi. Qizil qon tuzining 5% li eritmasi. Pikrin kislotasining toyingan eritmasi. Tanninning to`yingan eritmasi. Natriy volframat tuzining 10% li eritmasi. Kaliy yoddagi simob yodi eritmasi (tayyorlanishi4-ilovada).

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

A. 1. Ikkita probirkaga 10 tomchidan oqsil eritmasi quyilib, 10% li sirka kislota eritmasining bir necha tomchisi bilan kislotali muhitga o`tkaziladi.

2. Birinchi probirkaga 2-3 tomchi 5% li qizil qon tuzidan, ikkinchisiga 2-3 tomchi 10% li natriy volframatdan qoshib, har bir tomchidan keyin chayqatilib, cho`kma tushishi kuzatiladi.

B. 1. Uchta probirkaga 10 tomchidan oqsil eritmasi va bir necha tomchi 1% li sirka kislotasidan solinadi.

2. Birinchi probirkaga 2-3 tomchi tannin eritmasi, ikkinchisiga 5-6 tomchi pikrin kislotasi eritmasi, uchinchisiga esa 1-2 tomchi simobning yoddagi eritmasidan tomiziladi.

3. Hamma probirkalarda oqsil cho`kmaga tushadi.

Alkoloidlar tananing kuygan qismlarini davolashda qo`llaniladi. Kuygan joyni alkaloid eritmasi bilan yuvilganda denaturatsiyaga uchragan oqsillar himoya qatlamini hosil qilib, to`qimani suvsizlikdan qurishidan va infeksiya tushishidan himoya qiladi.

17- tajriba : Oqsillarni konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida cho`ktirish

Eritmadagi oqsillar konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida (fosfat kislotadan tashqari) denaturatsiyalanadi va chokmaga tushadi. Cho`kma hosil bo`lishi oqsil molekulasini degidratatsiyasi va zaryadining neytrallanishi hamda boshqa sabablarga, masalan, oqsil va kislotadan suvda erimaydigan kompleks hosil bo`lishiga bog`liq bo`lishi mumkin. Sulfat va xlorid kislotalarining uzoq vaqt davomida oqsil cho`kmasiga ta'sir qilishi yoki shu kislotalarning ortiqcha miqdori denaturlangan oqsil cho`kmasini eritib yuborishi mumkin. Nitrat kislotasida bu xususiyat bo`lmaganligi uchun tekshiriluvchi materialda oqsilni aniqlashda ko`pincha nitrat kislotasidan foydalaniladi.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi

Reaktivlar: Konsentrlangan nitrat kislota. Konsentrlangan sulfat kislota. Konsentrlangan xlorid kislota.

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar

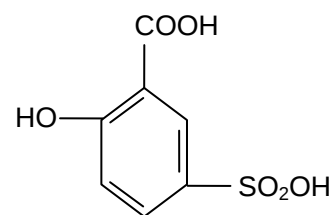
Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga taxminan 1 ml (15-20 tomchi) konsentrlangan nitrat kislotasi va probirkani 45° ga engashtirgan holatda, nihoyatda ehtiyotkorlik bilan probirka devori bo`ylab teng hajmda oqsil eritmasi qo`shiladi.
2. Ikkala suyuqlik bir-biriga tegib turgan joyda halqasimon oq amorf cho`kma ko`rinadi (Geller probasi).
3. Probirkani astalik bilan silkitib, ortiqcha nitrat kislotasi qo`shilganda cho`kma yo`qolmaydi.
4. Aynan shu tajriba nitrat kislotasi o`rniga konsentrlangan sulfat va xlorid kislotalarining ortiqcha miqdori qo`shilib, bajarilganda oqsil cho`kmasi erib ketadi.

Nitrat kislotasi bilan oqsilni cho`ktirish reaksiyasi yuqori darajada sezgirliги va spetsifikliги tufayli klinik tadqiqotlarda siydik tarkibidagi oqsilni sifat va miqdoriy aniqlashda keng qo`llaniladi.

18- tajriba : Oqsillarni organik kislotalar ta'sirida cho`ktirish

Organik kislotalar eritmadagi oqsilni cho`kmaga tushiradi, ammo ularning ta'siri bir-biridan farqlanadi. Sulfosalitsil kislota oqsil bilan birga uning gidrolizlangan unumlari – peptonlar va yuqori molekulali polipeptidlarni ham cho`ktiradi.



sulfosalitsil kislota

Uchxlorsirka kislota esa faqatgina oqsillarni cho`ktiradi, polipeptidlar va kichik molekulali azot saqlovchi oqsil bo`lmagan moddalar eritmada qoladi. Uchxlorsirka kislotasining bu xususiyatidan qondagi oqsil bolmagan (qoldiqli) azot miqdorini aniqlashda foydalaniladi. Ular uchxlorsirka kislota ta'sirida cho`kkan qon oqsillari filtrlab, ajratib olingandan song filtratda qolgan oqsillar almashinuvi va parchalanishidan hosil bo`lgan moddalar polipeptidlar, aminokislotalar, mochevina, siydik kislota va boshqalardan iborat.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi. 1% li suyultirilgan qon zardobi.

Reaktivlar: Sulfosalitsil kislotasining 20% li eritmasi. Uchxlorsirka kislotasining 5% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi:

1. Ikkita probirkaga taxminan 1 ml dan oqsil eritmasi quyiladi.
2. Birinchi probirkaga 1-2 tomchi sulfosalitsil kislota, ikkinchisiga shuncha miqdorda uchxlorsirka kislota qoshib, oqsilning cho`kmaga tushishi kuzatiladi.

19 - tajriba : Oqsillarni organik erituvchilar ta'sirida cho`ktirish

Oqsil eritmasiga organik erituvchilar (spirt, atseton, efir va boshqa) qo`shilganda oqsil cho`kmasi tushadi. Oqsilning tabiatiga qarab cho`kmaga tushiruvchi organik erituvchilarning, masalan, spirtning har xil konsentratsiyasi taqozo etiladi. Cho`kma faqat neytral yoki kuchsiz kislotali muhitda (kuchsiz kislotali sharoitda oqsilning kolloid zarrachalrini zaryadi juda ham pasaygan boladi) va elektrolitlar, masalan, natriy xlorid ishtirokida tolaligicha kuzatiladi. Agarda choktirish jarayoni past haroratda (0-15°S) bajarilib, cho`kma tezlikda spirtidan ajratilsa, oqsil ozining tabiiy holatini qayta tiklashi va suvda yana erishi mumkin. Spirtning uzoq davomli ta'siri oqsilni qaytmas denaturatsiyaga olib keladi. Lekin ayrim oqsillar,

masalan oshqozon osti bezi gormoni – insulin nordonlashtirilgan 60% li spirtida eriydi. Bu sifat ularning birlamchi strukturasining xususiyatiga bog`liq.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi. 1% li suyultirilgan qon zardobi.

Reaktivlar: 1%li sirka kislota eritmasi. 96° li etil Spirit. Atseton. Hloroform. Natriy xloridning toyingan eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi:

1. Probirkaga 1 ml oqsil eritmasi va shu miqdorda etil spirti qo`shib chayqatilsa, eritma xiralashadi. Ustiga 1-2 tomchi 1% li sirka kislotasidan tomizilsa, cho`kma hosil bolishi tezlashadi, agarda unga h am 1-2 tomchi to`yingan osh tuzi eritmasi qo`shilsa cho`kma tushishi yanada tezroq bo`ladi.
2. Xuddi shu reaksiyani spirt ornida atseton bilan ham qaytarsa bo`ladi.
3. Probirkaga 1 ml ga yaqin oqsil eritmasi va teng hajmda xloroform qo`shib, chayqatib aralashtirilsa, suyuqlik ikki qavatga ajralib, yuqoridagi xloroformli qatlamida cho`kma paydo bo`ladi.

Xloroform ishtirokida oqsilning denaturatsiyaga uchrashi nuklein kislotalarni ajratish va tozalashda qo`llaniladi.

20 - tajriba : Oqsillarni fenol ta'sirida cho`ktirish

Oqsillarni fenol bilan cho`ktirish usulidan nuklein kislotalari, maxsus polisaxaridlarni ajratishda va tozalashda foydalaniladi. Fenolni dezinfeksiyalashda qo`llanilishi ham uning oqsillarni denaturatsiyalash ta'siriga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi.

Reaktivlar: Fenolning toyingan eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

Probirkaga 10 tomchi oqsil eritmasi quyilib, ustiga loyqa yoki cho`kma hosil bo`lguncha fenol qo`shib, chayqatiladi. Cho`kma vaqt o`tgan sayin ko`payadi.

Ishni rasmiylashtirishda yuqorida oqsilni cho`ktirish bo`yicha olingan hamma natijalarni jadval korinishida bering. Xulosada oqsilni denaturatsiyaga uchrab, cho`kmaga tushishidagi

ozgarishlarini ko'rsating. Oqsilning ikkilamchi va uchlamchi strukturasidagi bo'sh bog'larning vazifasiga ahamiyat bering.

2 - jadval

Xona haroratida oqsillarni cho'kmaga tushish reaksiyalari

Cho'ktiruvchilar	Reaktivlar	Cho'kma rangi va xossasi	Reaksiya sababi	Reaksiya xususiyati
Og'ir metall tuzlari				
Alkoloid reaktivlar				
Konsentrlangan mineral kislotalar				
Organik kislotalar				
Organik erituvchilar				

21- tajriba : Qon zardobidagi albuminlarni globulinlardan ammoniy sul'fat va natriy xlorid tuzlari yordamida ajratish

Albuminlar va globulinlar tabiatda keng tarqalgan bo'lib, uchrash joyiga qarab (tuxum yoki zardob va boshqalar) nomlanadi. Ular neytral tuzlar, kislotalar va ishqorlarning kuchsiz eritmalarida eriydi. Albuminlar globulinlardan farqli olaroq suvda eriganligi uchun tuxum oqsilini suv bilan suyultirilganda uning tarikbidagi tuzlar konsentratsiyasi kamayishi hisobiga globulinlar cho'kmaga tushadi, agarda yana osh tuzi qoshilsa, cho'kma eriydi. Shu sababdan eritmadagi albuminlarni globulinlardan ajratish usullaridan biri tuz yordamida bajariladi. Ko'pchilik oqsillarni cho'ktirishda tuzlarning har xil konsentratsiyalari kerak bo'ladi, chunki cho'kma hosil bolishi cho'ktiruvchini ion kuchiga va oqsil molekulasining o'lchoviga bog'liq. Masalan globulinlar albuminlarga nisbatan ammoniy sulfat tuzining yarim toyingan, 50% li eritmasida cho'kmaga tushsa, albuminlar uchun uning tola toyintirilgan eritmasi kerak, chunki globulinlarning molekula og'irligi albuminga qaraganda kattaroq.

Osh tuzi, magniy sulfat bilan cho'kma hosil qilishda ularning to'la to'yintirilgan eritmasi ishlatiladi. Bu vaqtda albuminlar uchun eritmani biroz nordonlashtirish lozim, lekin ammoniy sulfat bilan cho'kmaga tushirishda eritmani kislotali muhitga otkazish shart emas, chunki tuzning ozi qisman kislotali xossaga ega. Qon zardobidagi albuminlarni globulinlardan ajratishni diagnostik va prognostik ahamiyati bor. Normada ularning ozaro nisbati $A/G = 1,5/2,3$, patologik

holatlarda bu nisbat ozgaradi, masalan, infeksiyon kasalliklarda qon plazmasida globulinlar miqdori ortadi. Farmatsiyada korsatilgan usullar oqsil va ferment preparatlarini tozalashda, kristall oqsil preparatlari olishda va davolash zardoblari tayyorlashda qo'llaniladi.

Tekshiriluvchi material: Odam yoki hayvon qon zardobining 1% li eritmasi.

Reaktivlar: Ammoniy sulfatning toyingan eritmasi. Natriy xloridning mayda kukuni. Ammoniy sulfatning mayda kukuni. Sirka kislotaning 1% li eritmasi. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi. Mis sulfatning 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Pipetkalar. Filtrlovchi voronkalar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga taxminan 1-1,5 ml (20-30 tomchi) qon zardobi va teng hajmda ammoniy sulfat qo'shilganda yarim toyintirilgan ammoniy sulfat eritmasi hosil bo'lib, globulinlar cho'kmaga tushadi.
2. 10 daqiqadan so'ng globulinlar cho'kmasi filtrlanib, olinadi va filtrda qolgan albuminlar fraksiyasiga ammoniy sulfat kukuni toyinguncha qo'shiladi va albuminlar cho'kmasi hosil bo'ladi.
3. Cho'kma filtrlab ajratilgach, filtrat bilan biuret reaksiyasi o'tkaziladi, manfiy reaksiya natijasi oqsil yoqligini ko'rsatadi.
4. Probirkaga 1-1,5 ml qon zardobi quyilib, toyinguncha natriy xlorid kukuni qo'shiladi, bir necha daqiqadan so'ng globulinlar cho'kmaga tushadi.
5. Cho'kma filtrlab olinadi, filtratda esa albuminlar qoladi. Ularni cho'ktirish uchun filtratga 1-2 tomchi 1% li sirka kislotasi tomizilib, qaynatilgach, albuminlar cho'kmaga tushadi.
6. Ular filtrlab olinadi va filtrat bilan Biuret reaksiyasi asosida oqsil bor-yoqligi aniqlanadi.

Oqsillarni tuz ishtirokida cho'ktirishdan olingan natijalarni jadvalga yozib, "cho'ktiriladigan fraksiyasi" qatoriga musbat (+) belgisi qo'yiladi. Xulosada oqsillarni qaysi fraksiyasi oson cho'kkanligi va uning sababi ko'rsatiladi.

3-jadval

Albumin va globulinlarni tuzlar ishtirokida cho'ktirish

Elektrolit	To'yinish darajasi	Reaksiya muhiti	Cho'ktirilayotgan fraksiya	
			albuminlar	globulinlar

Nazorat savollari

1. Aminokislotalar va oqsillar suvli eritmada yoki kislota va ishqorning miqdori ortiqcha bo'lganda qanday holatda bo'ladilar?
2. Oqsilning eruvchanligi nimaga bog'liq? Qaysi omillar oqsilning eritmadagi tur g'unligini saqlaydi?
3. Oqsilning eritmada chokishini umumiy mexanizmi nimdan iborat?
4. Oqsillarni denaturatsiyaga uchratmasdan qaysi usul bilan chokmaga tushirish mumkin?
5. Oqsillar nima sababdan tuz ishtirokida cho'kadi?
6. Oqsillarning denaturatsiyasi nima? Qanday moddalar denaturatsiyaga sabab bo'ladi?
7. Oqsilning chokmaga tushishi bilan denaturatsiyalanishini farqi nimalardan iborat?
8. Qon zardobi albumin va globulinlarini qaysi yo'llar bilan ajratish mumkin?
9. Oqsilning eritmadagi miqdorini qanday usul bilan aniqlash mumkin?
10. Oqsillar qanday qilib kichik molekulali qoshimchalardan ajratib olinadi?
11. Oqsillarni qaytar va qaytmas cho'kma hosil qilishi nimaga bo'g'liq?
12. Oqsillarni tuz ishtirokida cho'kishini ah amiyati nimada? Ulardan qanday sharoitlarda foydalaniladi?
13. Oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan chokishi nimaga asoslangan va bu xususiyatdan farmatsiyada qanday vaziyatlarda qo'llaniladi?
14. Oqsillarni mineral va organik kislotalar bilan cho'ktirilishining tibbiyotdagi va farmatsiyadagi ahamiyati qanday?

MURAKKAB OQSILLAR

Murakkab oqsillar oqsil va oqsil bolmagan prostetik guruh dan tashkil topgan birikmalardir. Murakkab oqsillarni gidrolizlaganda aminokislotalar bilan birga ozgacha xususiyatli moddalar – nuklein kislotalar, uglevodlar, fosfat kislotasi va boshqalar borligi aniqlangan. Proteinlar prostetik guruh ini kimyoviy turiga qarab nukleoproteinlar, xromoproteinlar, fosfoproteinlar, glikoproteinlar, lipoproteinlar, metalloproteinlarga bo'linadilar.

Nukleoproteidlar.

Nukleoproteinlar murakkab oqsillar bo'lib, tarkibi oddiy oqsil va oqsil bo'lmagan qismi – nuklein kislotalaridan iborat. Ular hayvon va osimlik organizmini barcha hujayralarida, viruslarda uchraydi. Hujayra yadrosining asosiy massasi nukleoproteinlardan tuzilganligi tufayli yadroga boy hujayralarda (buqoq bezi, qora taloq, achitqi, spermatozoidlarda) ularning miqdori ayniqsa ko'p va osonlik bilan ajratish mumkin. Nukleoproteinlar suvda erimaydi, ishqorda erib,

kuchsiz kislotali muh itda chokmaga tushadi. Mineral kislotalarda yuqori darajada suyultirilganda ham osonlikcha eriydi.

Nuklein kislotalari yuqori molekulyar polimer moddalar hisoblanib, kislotali guruhlarini kopincha asos tabiatli oqsillarning (gistonlar, protaminlar) aminoguruh lari bilan bog'langan bo'ladi. Nuklein kislotalarining monomerlari nukleotidlardan iborat, nukleotid esa purin (adenin, guanin) yoki pirimidin (sitozin, uratsil, timin) asoslaridan tuzilib, uglevod bilan (asosan riboza yoki dezoksiriboza) glikozidli bog' bilan bog'lanadi, uglevod esa o'z navbatida fosfat kislotasi efinini hosil qiladi. Nukleotidga misol sifatida adenin, riboza va fosfat kislotasidan tashkil topgan adenzin-5'-monofosfat (AMF) kislotasini korsatish mumkin.

Nuklein kislotalarining nomlanishi ular tarkibidagi uglevod qismiga bog'liq, agar riboza bolsa, ribonuklein kislota (RNK), dezoksiriboza saqlasa, dezoksiribonuklein kislota (DNK) deb ataladi. RNK va DNK tarkibidagi uglevodlar maxsus rangli reaksiyalar – ribozani orsin, dezoksiribozani difenilamin bilan bergan reaksiyasi orqali aniqlanadi. RNK va DNK bir-biridan kimyoviy tarkibidan tashqari struktura tuzilishi bo'yicha ham farqlanadi.

Virus va bakteriyalardan boshqa hamma organizmlarda DNK asosan yadrosida toplanib, genetik axborotni tashuvchi hisoblanadi. RNK esa hujayraning hamma fraksiyalarida uchrab, miqdori ko'prog'i oqsil sintezi kechadigan ribosomalarda joylashgan.

Nuklein kislotalar organizmda juda muhim vazifalarni bajaradi. Ular genetik axborotni saqlash va nasldan-naslga kochirish bilan birga axborotlarni tashilish mexanizmidan ishtirok etuvchi oqsillarning sintezini ta'minlaydi. Ayrim nukleotidlar bir qator oksidlanish qaytarilish reaksiyalari fermentlarining oqsil bo'lmagan qismi bolib, NAD, NADP organizm modda almashinuv reaksiyalarini energetik ta'minotida qatnashadi.

22- tajriba : Achitqi nukleoproteinlarining kislotali gidrolizi va ular tarkibini aniqlash

Achitqi ribonukleoproteinlarga boy bo'lgan material hisoblanadi. Ribonukleoproteinlar molekulasidagi oqsil, purin radikallari, fosfat kislota qoldig'i va uglevodli guruh larini aniqlashda achitqini sulfat kislota bilan qaynatib, gidrolizlanadi. Gidrolizatdagi ribonukleoprotein unumlarini sifat reaksiyalari bilan ochiladi.

Tekshiriluvchi material: quritilgan yoki presslangan achitqi

Reaktivlar: Sulfat kislotaning 5% li eritmasi Natriy gidroksidning 10% li eritmasi. Mis sulfatning 1% li eritmasi. Ammiakning konsentrlangan eritmasi. Kumush azot oksidining ammiakli eritmasi (tayyorlanishi 6-ilovada). Orsin reaktivi (tayyorlanishi 5-ilovada). Ammoniy

molibden oksidining nitrat kislotadagi eritmasi (tayyorlanishi 7-ildovada). Floroglyutsinning 30% li xlorid kislotasidagi 2% li eritmasi. Magniy sulfat tuzining 5% li eritmasi. Ammoniy xloridning 10% li eritmasi. Lakmus qog'oz.

Jihozlar: Dumaloq tagli kolba tiqini bilan. Sovutgichli shisha truba, 50 yoki 100 ml o'lchamli silindr. Filtrli voronkalar. Probirkalar. Tomizgichlar. Pipetkalar. Apteka tarozisi.

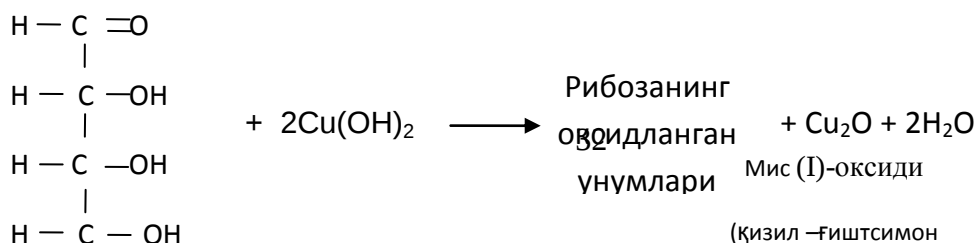
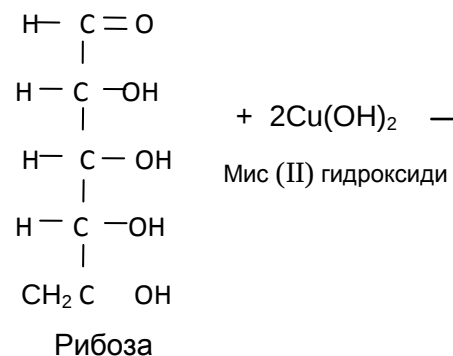
Ishning bajarilishi.

- 100 ml li dumaloq tagli kolbaga 5 g yangi achitqi yoki 1 g quritilgani solinib, ustiga 40 ml 5% li sulfat kislota eritmasi qo'shiladi.
- Teskari sovutgichli kolba tiqin (probka) bilan berkitilib, shtativga o'rnatiladi va havo tortuvchi shkafda asbest tori ustida 1-1,5 soat davomida ehtiyotkorlik bilan qaynatiladi.
- So'ngra ko'ladagi sovutilib, olchamli silindrga quyiladi va distillngan suv bilan suyuqlik avvalgi hajmiga yetkaziladi.
- Olingan eritma filtrlanadi va u bilan oqsil, polipeptid, purin asoslari, uglevod, fosfat kislotasiga reaksiya qilinadi.

a) oqsil va polipeptidlar biuret reaktivi bilan ochiladi. 5 tomchi gidrolizatga 10% li oyuvchi natriy eritmasidan ishqoriy reaksiyagacha (taxminan 10 tomchi) va mis kuporosidan tomchilab (1-2 tomchi) qizil-binafsha yoki och pushti rang hosil bo'lguncha tomiziladi;

b) purin asoslariga kumush tajribasi otkaziladi. 10 tomchi gidrolizatga lakmus boyicha ishqoriy reaksiyaga otguncha (taxminan 2-3 tomchi) ammiak eritmasi, songra 5 tomchi kumush azot oksidini ammiakli eritmasi qoshiladi. Purin asoslari ishtirokida uning kumushli birikmasi qong'ir chokma hosil qiladi. Agarda cho'kma shu zahoti hosil bo'lmasa, biroz kutiladi;

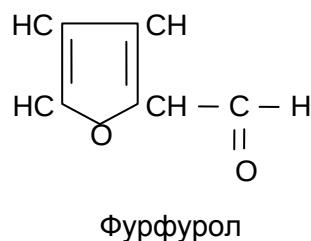
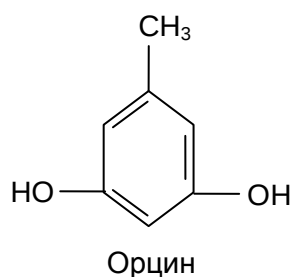
v) uglevodlarni (pentoza) aniqlashda orsin va floroglyutsin bilan Trommer reaksiyasi otkaziladi. Bu reaksiyada pentoza ishqoriy muhitda qizdirilganda uning aldegidli guruh i oksidlanadi, mis gidrati oksidi esa (havorang yoki ko'k cho'kma) mis gidroksidigacha qaytariladi (sariq yoki qiz g'ish rangli chokma). Oksidlanish-qaytarilish reaksiyasi quyidagi korinishda ifodalanadi:



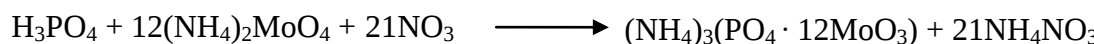
Probirkaga 10 tomchi gidrolizat quyib, lakmus yordamida 10% li o'yuvchi natriy eritmasi bilan neytrallanadi. So'ngra unga teng hajmda 10% li o'yuvchi natriy eritmasi va chayqatilganda o'chmaydigan mis gidroksidining zangori loyqasi hosil bo'lguncha tomchilab 1% li mis sulfat eritmasi qo'shiladi. Probirkadagi suyuqlik ustki qismi qaynaguncha ehtiyotlik bilan qizdiriladi, probirkadagi gidroksidning sariq cho'kmasi yoki mis oksidining qizg'iz rangli cho'kmasi hosil bo'ladi. Cho'kmani hosil bo'lishi gidroliz natijasida gidrolizatda uglevod paydo bo'lganini bildiradi.

Uglevodlarni neytral suyuqlikda aniqlanganda uni oldindan oyuvchi natriy bilan neytrallash shart emas;

g) orsin bilan reaksiya. 10 tomchi gidrolizatga teng hajmda orsinli reaktiv qo'shib, qaynaguncha qizdiriladi. Gidrolizatni ko'k rangga kirishi uning tarkibida pentoza borligini krsatadi. Rang orsinli reaktiv tarkibidagi xlorid kislotasining pentoza bilan qizdirilganda furfurool hosil bolishiga bog'liq bo'lib, u orsin bilan reaksiyaga kirishganda rangli birikma hosil qiladi:



d) fosfat kislotasi molibden reaktivi va magneziya aralashmasi bilan ochiladi. Molibden reaktivi bilan aniqlashda 10 tomchi gidrolizatga teng hajmda ammoniy molibden oksidining azot kislotasidagi eritmasidan qoshib, bir necha daqiqa qaynatiladi. Probirka sovuq suv oqimida sovutilganda sariq limon rangli ammoniy fosfornolibden oksidi kompleksini kristalli birikmasi chokmaga tushganligi kuzatiladi, bu esa gidrolizatda fosfat kislotasi borligini krsatadi



ye) magneziya aralashmasi bilan aniqlashda probirkaga 10 tomchi gidrolizat аммоний фосфорно-молибден оксиди

solinib, uni ammiakning konsentrlangan eritmasi bilan ishqoriy muhitga otkaziladi va teng hajmda magneziya aralashmasi qoshilganda fosfat kislotasining ammoniy magniyli tuzining – $Mg(NH_4)PO_4$ – oq kristall cho`kmasi hosil bo`ladi. Magneziya aralashmasi eritmasi alohida probirkada quyidagicha tayyorlanadi: bir necha tomchi 5% li magniy sulfat (yoki xlorid) eritmasiga tomchilab konsentrlangan magniy eritmasi cho`kma hosil bolishi toxtaguncha, songra 10% li ammoniy xlorid eritmasidan  $Mg(OH)_2$  cho`kmasi eriguncha quyiladi.

4-jadval

Nukleoproteinlar gidrolizi unumlarini ochish reaksiyalari

Gidroliz unumlarining nomlari	Qo`llanilgan reaktivlar va harorat	Qanday ozgarish kuzatilgan	Reaksiya nimaga bog`liq

Xulosada nukleoproteinlar va ularning prostetik qismi qanday tuzilganligini ko`rsating.

Xromoproteidlar

Xromoproteinlar murakkab oqsillar bo`lib, prostetik guruhi umumiy birikma rangini belgilovchi modda(pigment) dan iborat. Organizmda ular muhim oksidlanish-qaytarilish jarayonlarining katalizatorlari hisoblanadi. Xromoproteinlarga vakil sifatida qon eritrotsitlarining kislorod tashuvchi pigmenti gemoglobinni korsatsa bo`ladi. Gemoglobinning oqsil qismini globin, oqsil bolmagan qismini gem tashkil etadi. Gem qurilishi boyicha protoporfirin bo`lib, tarikbidagi pirrol halqalari ikki valentli temir bilan bog`langan. Nafas olganda kislorod gemdagi temir bilan bog`lanadi.

Gemoglobin gidrolizlanganda uch valentli temir tutgan gematin ajralib chiqadi. Unga natriy xlorid ishtirokida konsentrlangan sirka kislotasi ta'sir ettirilsa, gemin kristallari hosil bo`ladi. Uning gemdan farqi tarkibidagi temirni uchinchi valenti xlor bilan bo g`langan boladi. Gemin kristallari hosil bo`lishidan sud tibbiyotida qon dog`larini aniqlashda foydalaniladi. Klinika va sud tibbiyotida qollaniladigan gwayakolli va benzidinli tekshirish usullari yuqori darajada sezgirlikka ega bolganligi uchun biologik ob`ektlarda minimal miqdordagi qonni aniqlashda ishlatiladi.

23 – tajriba. Gemoglobin tarkibidagi temirni ochish

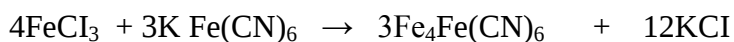
Tekshiriluvchi material: Defibrillangan qon.

Reaktivlar: Konsentrlangan nitrat kislota. Tarkibida temir tutmagan xlorid kislota 10% li eritmasi. Kaliyli qizil qon tuzining 5% li eritmasi. kaliy rodonidining 5% li eritmasi.

Jihozlar: Tigel kosachasi. Tigel qisqichi. Probirkalar. Tomizgichlar. Pipetkalar.

Ishning bajarilishi.

1. Tigel kosachasidagi bir necha tomchi defibrillangan qon havo tortuvchi shkafda quritiladi.
2. So`ngra ustiga 2-3 tomchi konsentrlangan nitrat kislota qo`shilib, kuydirilganda gem organik modda bo`lganligi tufayli parchalanadi va tarkibidagi temir kulga otadi.
3. Quruq qoldiq qirib olinib, kukuni probirkaga solinadi va ustiga 20 tomchi 10% li xlorid kislotasi tomizilib, bir necha daqiqa davomida chayqatilganda qoldiq erib, temir xlorid eritmaga o`tadi.
4. Probirkadagi aralashma ikki qismga bo`linib,  $\text{Fe}^{3+}$  ga reaksiya o`tkaziladi. a) suyuqlikning birinchi qismiga 5% li kaliyli qizil qon tuzidan tomchilab ko`k yoki zzangori rangli berlin ko`ki hosil bo`lguncha qo`shilganda cho`kma tushishi mumkin.



Berlin ko`ki

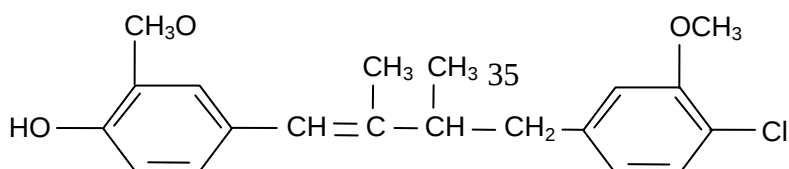
b) suyuqlikning ikkinchi qismiga 5% li kaliy rodonid tomchilab qo`shilganda pushti yoki qizil rang berishi temir rodonidi hosil bo`lganligini bildiradi



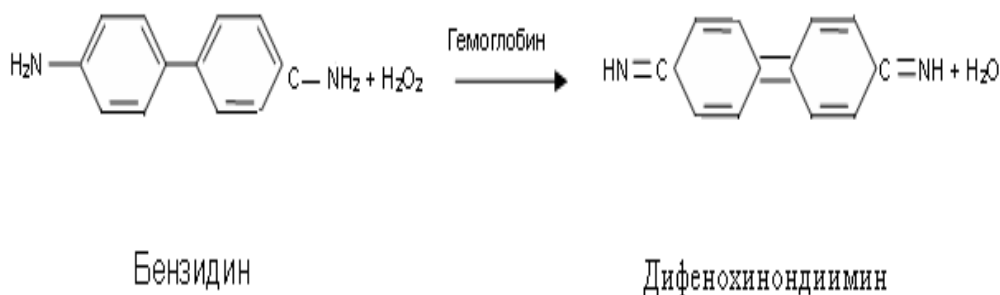
temir rodonidi

24- tajriba : Gemoglobinning gemin guruhini gvayakol va benzidin bilan ochish

Gemin guruh ini gvayakol usulida ochish. Gvayakol smolasi tarkibidagi smollangan gvayakol kislotasining vodorod peroksidi bilan oksidlanishi natijasida zangori (havo rang) rangli ozonid hosil bo`lishiga asoslangan. Reaksiya gem ishtirokida katalizlanadi. Agar tekshirilayotgan materialda qon bo`lsa, gvayakol tekshirish usuli ijobiy bo`ladi. Qondagi peroksidaza fermenti ham katalitik ta`sir etish xususiyatiga ega. Buni peroksidaza prostetik guruhini gemning kimyoviy tabiati bilan oxshashligi asosida tushuntiriladi. Ammo peroksidazadan farqi qon pigmenti o`z katalitik xossasini qaynatilganda ham saqlab qoladi. Bu reaksiyani qonni 1: 10000 nisbatda suyultirilganda eski qon dog`lari, gemin kristallari bilan bajarish mumkin.



Qon pigmenti ta'sirida benzidin vodorod peroksidi bilan difenoxinondimiga oksidlanadi. Difenoxinondimin okidlanmagan benzidin molekulasi bilan kondensatsiyalanish reaksiyasiga kirishib, benzidin ko'kini hosil qiladi.



Tekshiriluvchi material: Defibrillangan qon.

Reaktivlar: Gvayakol smolasining spirtida yangi tayyorlangan eritmasi (tayyorlanishi 8- ilovada). Vodorod peroksidining 3% li eritmasi. Benzidinning muzli sirka kislotada yangi tayyorlangan 5% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar. Pipetkalar.

Ishning bajarilishi.

a) Gvayakol probasi.

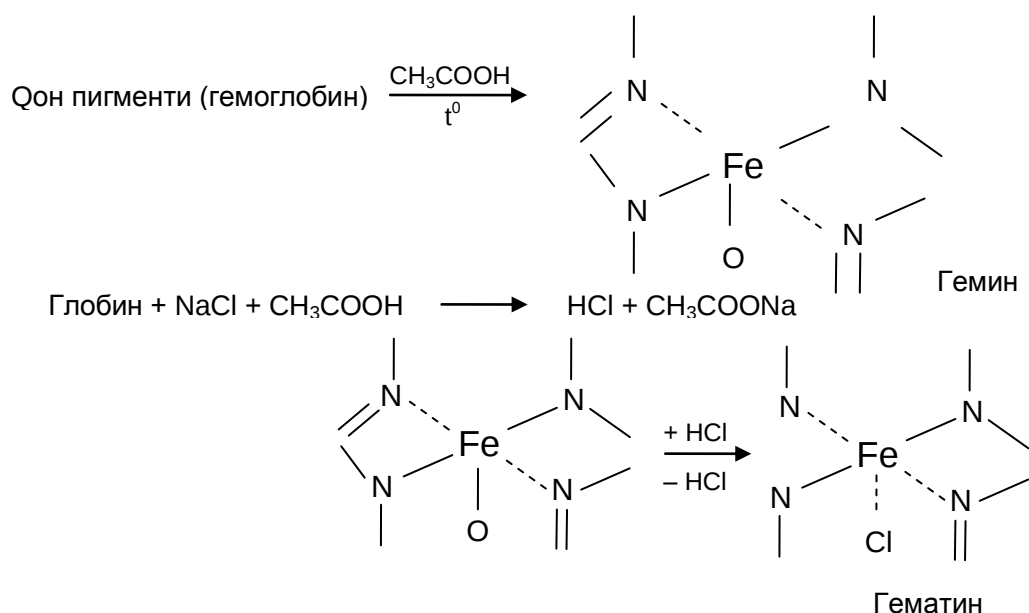
1. Probirkaga 1 tomchi defibrillangan qon tomizilib, suv bilan yuqori darajada suyultiriladi.
2. 10 tomchisini boshqa probirkaga o'tkazib, peroksidaza fermentini parchalash uchun qaynatiladi.
3. Probirka sovutilib, teng hajmda gvayakolning spirtidagi eritmasidan qo'shiladi va ustiga vodorod peroksidning 3% li eritmasidan bir necha tomchi (1-2) tomiziladi.
4. Zangori rangni paydo bolishi gvayakol kislota smolasining ozonidi hosil bo'lganini bildiradi.

b) benzidin probasi.

1. Probirkaga 10 tomchi suyultirilgan qon quyib, qaynatiladi.
2. Sovutilgach, teng hajmda benzidin eritmasi va bir necha tomchi 3% li vodorod peroksidi qo`shiladi.
3. Paydo bo`lgan ko`kmtir rangni zangori (havo rang)ga otishi benzidinni oksidlanishidan hosil bo`lgan unumlariga bog`liqligini ifodalaydi

25- tajriba : **Gemin kristallarini ajratib olish (Teyxman probasi)**

Gemin probasidan sud tibbiyot ekspertizasida qon dog`lari borligini isbotlashda foydalaniladi. Quritilgan qonni muzli sirka kislotasi bilan qizdirilganda qon pigmenti globin va gematinga parchalanadi. Gemin natriy xloridi va sirka kislotasi ta'sirida ozining xlorli unumi bolgan geminga aylanadi, sovutilgach, kristallanadi.



Tekshiriluvchi material: defibrillangan qon.

Reaktivlar: muzli sirka kislotasi.

Jihozlar: Predmetli shisha plastinka. Shisha qoplama. Mikroskop. Shisha tayoqchalar. Tomizgichlar.

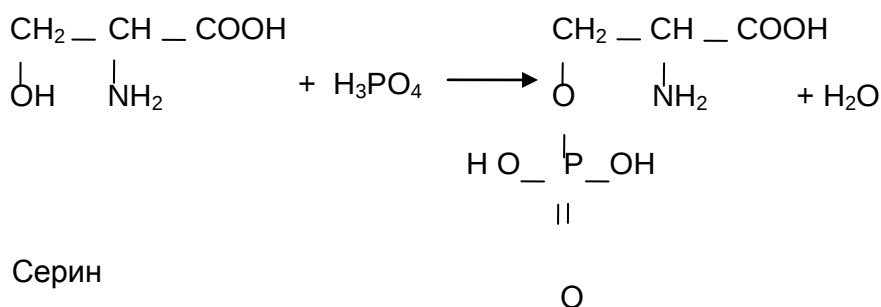
Ishning bajarilishi.

1. Predmetli shishaga qon tomchisi tomizilib, boshqa shisha plastinka qirrasi bilan surkaladi va 60°S dan oshmagan haroratda quritiladi.
2. Tola qurigandan keyin 1-2 tomchi muzli sirka kislotasi tomizilib, shisha qoplamasi bilan yopiladi va ehtiyotlik bilan kichik o`t alangasida qaynashga yaqin (qaynatilmaydi!) qizdiriladi.

3. So`ngra sovutilib, mikroskop ostida ko`riladi, kristallar rasmi chiziladi.
4. Gemin probasi eskirgan qon dog`lari bilan otkazilganda dog` qirib olinadi yoki materialni dog` bor qismi kesib olinib, mayda bo`lakchalarga qirqiladi. Bunda sirka kislotasi tomoshadan oldin osh tuzining kichik kristali qo`shiladi.

Fosfoproteidlar

Fosfoproteinlar tarkibi oddiy oqsil va prostetik guruhi sifatida fosfat kislotasidan tuzilgan. Fosfat kislota oqsil bilan oksiaminokislotalar – serin va treoninning gidroksil guruhi orqali bog`langan.



Fosfoproteinlarga sut oqsili kazein, tuxum sarig`idagi vitellin, ikkadagi ixtulin va boshqa oqsillar kiradi. Fosfoproteinlar embrionlar rivojlanishida zarur bolgan oziqa moddalari qatorida aminokislotalar bilan birga organizmga fosfat kislotasini tashiydi. Fosfat kislotasining osayotgan organizm skeleti va tishlarini takomillashuvida muhim ahamiyati bor.

26- tajriba : Kazeinni gidrolizlash va gidrolizatdagi oqsil va fosfat kislotasini aniqlash

Aniqlashda fosfoprotein sifatida sut kazeinidan foydalaniladi. Kazein ishqoriy muh itda gidrolizlanganda oqsil va fosfat kislotasiga parchalanadi.

Gidrolizat tarkibidagi oqsil biuret reaksiyasi bilan, fosfat kislota esa molibden probasi boyicha ochiladi. Fosfat ioni (RO_4^-) kislotali muh itda ammoniy molibdat bilan ammoniy fosfomolibdatga otadi, uning gidroksinon va natriy sulfit ta`sirida qaytarilishi natijasida molibden ko`ki hosil bo`ladi. Rang ravshanligi fosfomolibdat tarkibidagi molibden miqdoriga to`g`ri proporsional bo`lganligi tufayli fosfor miqdoriga ham teng bo`ladi.

Tekshiriluvchi material: quruq kazein kukuni

Reaktivlar: Oyuvchi natriyning 10% li eritmasi. Mis kuporosining 1% li eritmasi. Nitrat kislotaning 25% li yoki konsentrlangan eritmasi. Gidroxinonning 2% li eritmasi (tayyorlanishi

9-ilovada). Sulfit karbonat eritmasi (tayyorlanishi 10-ilovada). Ammoniy molibdatning nitrat kislotadagi eritmasi (tayyorlanishi 7-ilovada).

Jihozlar: Apteka tarozisi. Suv hammomi. 5 ml li pipetkalar. Qog'oz filtrli shisha voronkalar. Probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

A. 1. 100 mg maydalangan quruq kazeinga 5 ml 10% li oyuvchi natriy qo'shilib, 30 daqiqaga vaqti-vaqti bilan chayqatilgan holda qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi.

2. Sovutilgandan song 10 tomchi gidrolizatga 5 tomchi oyuvchi natriy eritmasi qoshilib, ustiga tomchilab 1% li mis sulfat eritmasidan qizil binafsha yoki ko'k binafsha rang hosil bo'lguncha tomiziladi.

3. Biuret reaksiyasining ijobiy bolishi kazein tarkibida oqsil borligini ko'rsatadi.

B. 1. Fosfat kislotani ochish uchun 20 tomchi gidrolizatga 10 tomchi 25% li azot kislotasi va 10 tomchi ammoniy molibdatning nitrat kislotasidagi eritmasidan qoshib, 5 daqiqaga qoldiriladi.

2. Hosil bolgan chokma filtrlab olinib, tarkibida ammoniyfosfomolibden oksidi tutgan filtratga 10 tomchi 2% li gidroksinon eritmasi tomizilib, 5 daqiqaga qoldiriladi.

3. Songra probirkaga sulfit karbonat eritmasidan 20 tomchisini asta-sekinlik bilan (kopik hosil bo'lishini oldini olgan holda) qoshiladi, eritmani ko'k rangga bo'yalishi fosfat kislotasi borligini bildiradi.

Glikoproteidlar

Glikoproteidlar – tarkibida uglevodlar va ularning unumlarini saqlagan murakkab oqsillar. Glikoproteidlar odam va hayvon organizmida keng tarqalgan bo'lib, qator biologik funksiyalarni bajaradi. Masalan, plazma transport oqsillari (gaptoglobin, transferrin, transkordin va boshqalar); qonni ivituvchi omillari (protrombin, fibrinogen), immunoglobulinlar; fermentlar (xolinesteraza, ribonukleaza); gormonlar (gonadotropin, kortikotropin) glikoproteidlardan iborat.

Ayrim glikoproteinlarning uglevod qismi mukopolisaxaridlardan iborat bo'lganligi uchun ular mukoproteinlar deb ataladi. Ularning asosiy vakili mutsin bo'lib, ichki shilliq bezlar sekretida uchraydi. Ovqat hazm qilish yo'llaridagi mutsinlar shilliq qavatlarni kimyoviy, mexanik, termik ta'sirlardan va proteolitik fermentlardan himoya qiladilar. Glikoproteinlar gidrolizlanganda aminokislotalar bilan birga uglevod unumlari – geksozalar, geksozaminlar, glyukuron, sirka va neyramin kislotalari ajraladi. Amaliyotda analiz uchun qulay ob'ekt sifatida so'lak mutsinidan foydalaniladi. So'lak glikoproteinining 40% i oqsil bo'lib, 60% ini uglevodlar tashkil etadi.

27- tajriba : So'lakdan mutsinni ajratib olish va uning tarkibidagi oqsilga - biuret, uglevod guruhlariga naftol - reaksiyalari

Tekshiriluvchi material: So`lak (so`lak olishdan avval og`iz chayiladi. So`ngra og`izga 10 ml suv olib. uni ikki daqiqa ushlab turiladi va ajralayotgan so`lak bilan aralashtirilib, probirkaga bo`shatiladi. So`lak aralashmasi filtrlanadi va shundan so`ng tekshirishda foydalaniladi).

Reaktivlar: Sirka kislotasining 1% li eritmasi. O`yuvchi natriyning 10% li eritmasi. Mis sulfatining 1% li eritmasi. Konsentrlangan sulfat kislotasi. α -naftolning spirtidagi 1% li eritmasi.

Jihozlar: Shisha tayoqchalar. Probirkalar. Tomizgichlar.

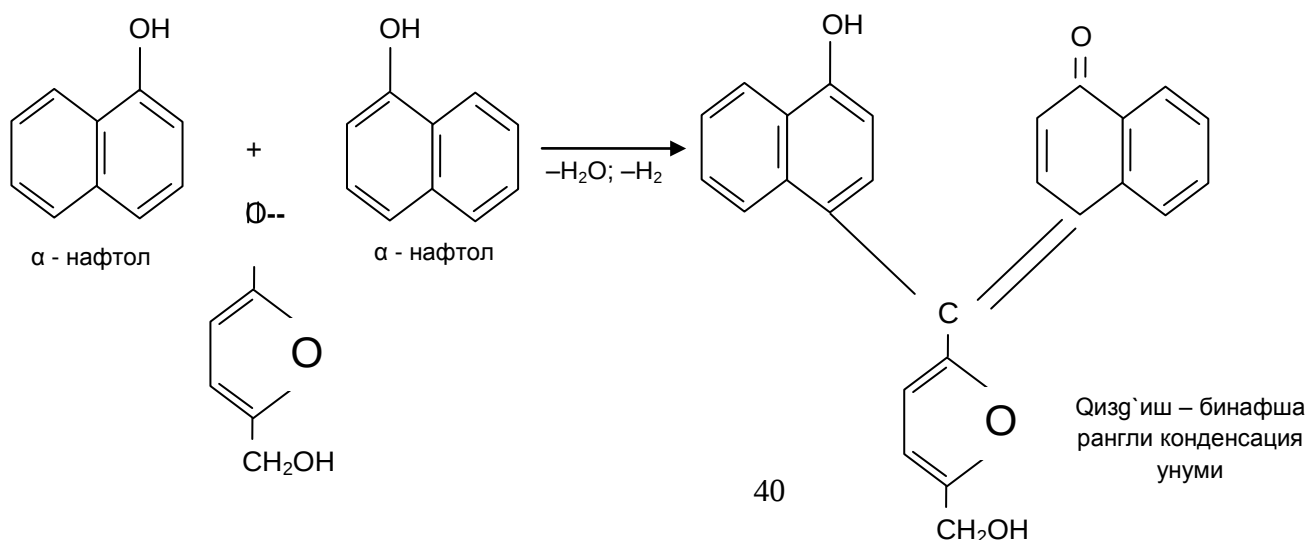
Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 5-10 ml solak quyilib, shisha tayoqcha bilan aralashtirilib turilgan holatda teng hajmda 1% li sirka kislotasi eritmasidan qo`shilganda mutsin cho`kmasi hosil bo`ladi.
2. Mutsinni shisha tayoqcha bilan ushlab turilgan holda probirkadagi suyuqlik olib tashlanadi.
3. So`ngra mutsin cho`kmasi suv bilan yuvilib, ikki qismga bo`linadi va ular bilan oqsil va uglevodlarga xos reaksiyalar qilinadi.

a) Mutsin tarkibidagi oqsilni ochish uchun probirkaga mutsin cho`kmasining bir qismi solinib, ustiga aralashtirilib turilgan holatda 10% li oyuvchi natriydan cho`kma eriguncha qo`shiladi va biuret reaksiyasi mutsinni oqsil tabiatli ekanligini tasdiqlaydi.

b) Mutsin uglevodlari naftol probasi (Podobedov-Molish reaksiyasi) yordamida ochiladi. Reaksiya sulfat kislotasining geksozalar bilan hosil qilgan oksimetilfurfurolni α -naftol bilan ozaro ta`sirlanishiga asoslangan bo`lib, bunda ularning kondensatsiyalangan rangli unumi hosil bo`ladi.

v) Mutsin cho`kmasining ikkinchi yarmiga 10-20 tomchi  $\alpha$ -naftolning spirtidagi 1% li eritmasidan qo`shilib, aralashtiriladi va probirka devori bo`ylab teng hajmda konsentrlangan sulfat kislotasi qo`shilganda suyuqliklar bo`lingan chegarasida asta-sekin qizg`ish-binafsha halqa paydo bolishi mutsin tarkibida uglevod komponenti borligini tasdiqlaydi. Probirka 1 soatga qoldirilganda bo`yalgan halqa oq fonda aniq korinadi. Ushbu reaksiya tarkibidagi uglevod saqlagan har qanday birikma bilan ijobiy natija beradi.



Xromoproteinlar, fosfoproteinlar, glikoproteinlarning prostetik guruh lariga

sifat reaksiyalar

Murakkab oqsilning nomi	Prostetik guruh i	Prostetik guruh ining kimyoviy qurilishi	Prostetik guruh larga xos reaksiyalar	Qanday ozgarish kuzatiladi	Reaksiya nimaga asoslangan

Xulosada oddiy oqsillarning murakkab oqsillardan farqlanishiga diqqat qiling.

Nazorat savollari

1. Murakkab oqsillarning oddiy oqsillardan farqi nimada?
2. Nukleoproteinlar nima, ular qanday tarkibiy qismlardan iborat?
3. Nukleoproteinlar tarkibida qanday oqsillar bor? Ularning aminokislotalik tarkibini ahamiyati nimada?
4. Mononukleotidlar nima, ularni gidrolizlaganda qanday unumlar hosil boladi? Ular qanday sifat reaksiyalari bilan ochiladi?
5. Nuklein kislotalar molekulasida mononukleotidlar ozaro qanday bog`lar yordamida bog`langan?
6. Xromoproteidlar nima, ularning asosiy vakillarini sanab bering.
7. Gemga qanday sifat reaksiyalar o`tkazish mumkin?
8. Glikoproteinlar nima? Ularning uglevod guruhlariga qanday sifat reaksiyalar bor?
9. Glikoproteinlarning uglevod qismini gidrolizlaganda qanday unumlar hosil bo`ladi?
10. Qanday mukopolisaxaridlar bor? Ularning biologik ahamiyati nimada?
11. Fosfoproteinlar nima? Ulardagi fosfat kislotasini qaysi reaksiyalar bilan ochish mumkin?
12. DNK ni toqimadan ajratish va miqdoriy aniqlash nimaga asoslangan?

FERMENTLAR

Fermentlar oqsillardan iborat bo'lib, tirik organizmlarda kechadigan modda almashinuvining kimyoviy reaksiyalarini katalizlaydilar. Fermentlarning katalitik ta'sirida quyidagi asosiy bosqichlar farqlanadi: substrat molekulasi bilan ferment birikishi, birlamchi oraliq birikmani bir yoki bir necha ketma-ket faol komplekslarga aylanishi va reaksiya oxirgi unumini fermentdan ajralishi. Fermentlar tabiatan oddiy va murakkab oqsillardir. Murakkab oqsilli fermentlar ikki qismdan iborat bo'lib, oqsilli qismi apoferment, kichik molekulali komponenti esa koferment yoki prostetik guruh deb ataladi. Fermentativ faollik faqatgina butun fermentga tegishli, koferment va apoferment alohida faollikka ega emas. Fermentlar tarkibidagi kopchilik kofermentlar – vitaminlar unumi, ferment faol markazi qurilishida qatnashib, fermentning katalitik faolligida ishtirok etadi. Faol markaz fermentning substrat bilan bevosita bog'lanadigan qismi hisoblanadi. Agar biror sabab oqibatida faol markazdagi aminokislotalar qoldig'i buzilsa yoki tosilsa ferment faolligi yoqoladi.

Ferment faolligini tosuvchi yoki pasaytiruvchi moddalarga ingibitorlar deyiladi. Ferment katalitik ta'sirini oshiruvchi moddalar esa aktivatorlar deb nomlanadi. Aktivatorlar odatda ferment tarkibiga kirmaydi. Lekin kataliz jarayonida ferment bilan kompleks hosil qilib, reaksiya borishiga yordamlashadi. Ingibitor va aktivatorlar qatorida kopincha har xil tuzlar tarkibiga kiruvchi metall ionlari uchraydi. Masalan, kalsiy, rux, xlor ionlari solak fermenti amilazasining aktivatorlari, mis kationi esa ingibitori hisoblanadi.

Fermentlar oqsil bolganligi sababli issiq sharoitga chidamsiz bo'ladi. 40°S gacha bo'lgan haroratda ferment ta'sirida reaksiya tezligi ortadi, harorat undan oshsa, reaksiya tezligi pasaya boshlaydi, chunki ferment denaturatsiyaga uchraydi. Inson organizmi kopchilik fermentini optimal ta'sir qilish harorati tana haroratiga teng. Ferment faolligiga muhit ph i ham ta'sir qiladi. Har bir fermentning optimal ph k'orsatkichi bo'lib, unda ferment yuqori darajadagi faollikka ega bo'ladi.

Fermentning asosiy xususiyati – ta'sirining o'ziga xosligi (spetsifikligi), ya'ni ferment faqat ma'lum substratga ta'sir etib, faqat shunga xos bo'lgan reaksiyani katalizlaydi. Spetsifiklik – substrat qurilishi bilan ferment faol markazini konformatsiyasi ozgarishi natijasida hosil bolgan o'zaro moslik asosida tushuntiriladi. Fermentlar ozlari katalizlaydigan reaksiya turiga qarab bir necha sinfga bo'linadilar: gidrolazalar (gidrolitik fermentlar), oksidoreduktazalar (oksidlovchi-qaytaruvchi fermentlar) va boshqalar. Hozirgi vaqtda fermentlar nomlanishining (unifikatsiya) raqamlardan iborat xalqaro klassifikatsiyasi qabul qilingan.

Fermentlarning xossalari

Fermentlarning umumiy xossalari ularning yuqori darajadagi katalitik faolligi, ta'sirining spetsifikligi, harorat ozgarishiga sezuvchanligi va yumshoq sharoitda reaksiya tezligini oshira olish xususiyatlari bilan belgilanadi. Deyarli hamma fermentlar ozlari ta'sir korsatayotgan substratlar bilan vaqtinchalik bog'lanadilar va korsatilgan kimyoviy ozgarishlardan song ajralib chiqib, bu reaksiyani yana qaytarishi mumkin.

28- tajriba : Kraxmalni solak α -amilazasi bilan gidrolizlash

So'lak α -amilazasi gidrolazalar guruhiga taalluqli. Polisaxaridlardan kraxmal va glikogen α -amilazaning maxsus substratlaridan hisoblanadi. Kraxmal yod bilan zangori rangli kompleks hosil qiladi va tarkibida erkin aldegid guruhi bolmaganligi uchun, qaytarilish xususiyatiga ega emas. α -amilaza kraxmal, glikogen va oligosaxaridlardagi α -1,4-glikozid bog'larini gidrolizlab, ketma-ket oraliq unumlari – aminodekstrinlar, axrodekstrinlar, maltodekstrinlar va oxirgi unumi sifatida maltoza disaxaridi bilan glyukoza monosaxaridi aralashmasini hosil qiladi. Maltoza va glyukozani erkin aldegid guruhlari bo'lganligi sababli ular qaytarilish imkoniyatiga ega va Trommer reaktivi bilan ochiladi.

Tekshiriluvchi material: Suyultirilgan so'lak (so'lak olishdan avval og'iz chayiladi, so'ngra o'g'izga 10 ml suv olib, uni ikki daqiqa ushlab turiladi va ajralayotgan so'lak bilan aralashtirilib, probirkaga boshatiladi. So'lak aralashmasi filtrlanadi va shundan so'ng tekshirishda foydalaniladi).

Reaktivlar: Kraxmalning yangi tayyorlangan 1% li eritmasi. Yodning kaliy yodiddagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ilovada). Oyuvchi natriyning 10% li eritmasi. Mis sulfatining 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Kichik hajmdagi stakanlar. Filtrli voronkalar. Pipetkalar. Termostat yoki termometrli suv hammomi. Shisha tayoqchalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 5-10 tomchi 1% li kraxmal eritmasiga yodning kaliy yodiddagi eritmasidan 1-2 tomchi tomizilganda kraxmal yod bilan zangori rang beradi.
2. 8-10 ta probirka tayyorlanib, har biriga 1-3 tomchidan yod eritmasi quyiladi.
3. Ikkita boshqa probirkaga taxminan 5 ml 1% li kraxmaldan solinib, ulardan bittasiga 3 ml distillangan suv (nazorat), ikkinchisiga 3 ml suyultirilgan so'lak (tajriba) qoshiladi va shisha tayoqcha bilan aralashtirilgach, 37°S li termostatga ornatilib, vaqti aniqlanadi. 5-7 daqiqa otgach, nazorat va tajriba namunalardan bir necha tomchi olinib, yod saqlagan probirkalarga solinadi va rang hosil bo'lishi kuzatiladi. Yod eritmasi bilan ushbu reaksiya qisqa vaqt oralatib bir necha bor qaytariladi.
4. Ikkala probirkadan boshlanishida olingan namunalarda zangori rang kuzatiladi, songra amilaza saqlagan suyuqlikdan olingan proba yod bilan qizg'ish-qong'ir rangga bo'yala

boshlaydi. Ko'p o'tmay so'lak saqlagan probirkadan olingan suyuqlik yod bilan boshqa bo'yalmaydi. Yodning bu holatdagi har xil bo'yalishi kraxmalni asta-sekin gidrolizlanishi davomida dekstrinlar hosil bo'layotganini ko'rsatadi. Agar so'lakli probirkadan olingan so'nggi proba yodning eritmadagi sarg'ish rangini ozgartirmasa, gidroliz tugagan hisoblanib, tugagan vaqti yozib qo'yiladi.

5. Nazorat suyuqligidan olingan probalarda doimo zangori rangning kuzatilishi uning tarkibida amilaza yoqligi tufayli kraxmal gidrolizga uchramayotganligini bildiradi.
6. Asosiy va nazorat eritmalarining ikkinchi qismida Trommer reaksiyasi otkaziladi. Bunda solakli probirka eritmasida kraxmalning fermentativ gidrolizini oxirgi unumlari bolganligi uchun Trommer reaksiyasining ijobiy bolishi kuzatiladi, nazorat eritmasi esa Trommer probasini bermaydi. Gidroliz jarayoni davomida asosiy tajriba probirkasidagi eritmani quyqalanishi (opalessensiya) ham yo'qoladi.

Ishni rasmiylashtirishda va xulosada amilaza ta'sirida kraxmalni oraliq unumlarini ketma-ket hosil bolishi va uning tana haroratida qisqa vaqtda kechishini ko'rsating. Gidroliz oxirgi unumlari nima uchun ijobiy Trommer reaksiyasini berishini asoslang.

6-jadval

Kraxmalni so'lak α -amilazasi bilan gidrolizlash

Substrat nomi va uning gidrolizlangandagi unumlari	Yo'd bilan reaksiyadagi rangi	Gidroliz uchun ketgan vaqt	Gidrolizz sharoitidagi harorat	Trommer reaksiyasi
--	-------------------------------	----------------------------	--------------------------------	--------------------

29 - tajriba : So'lak α -amilazasining termolabiligi

Fermentativ reaksiyaning tezligi haroratni kotarilishi bilan barobar orta boshlaydi. Harorat 10°S ga ohsa, reaksiya tezligi 2-3 marta kopayadi. Ammo fermentativ katalizning faollashish korsatkichi anorganik kimyoviy reaksiyalardan haroratni nihoyatda tor oralig'ida kechishi bilan farqlanadi. Reaksiyani maksimal tezligini ta'minlovchi harorat chegarasini optimal harorat deb atalib, u 37-40°S ga to'g'ri keladi. Bu ko'rsatkich 40-50°S ga yaqinlashganda kopchilik fermentativ jarayonlarning tezligi pasaya boshlaydi, 80-100°S da esa bir necha daqiqa davomida butunlay yoqoladi. Buning sababi fermentning oqsil molekulasini issiqlik denaturatsiyasi natijasida katalitik faolligini yoqotilishi bilan tushuntiriladi. Qaynatganda fermentni inaktivatsiyalanishini so'lak α -amilazasi misolida ko'rish mumkin.

Tekshiriluvchi material: suyultirilgan so'lak (tayyorlanishi 4.1.1. bo'imda).

Reaktivlar: Kraxmalning yangi tayyorlangan 1% li eritmasi. Yodning kaliy yodiddagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ildovada). Oyvuvchi natriyning 10% li eritmasi. Mis sulfatining 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Pipetkalar. Termostat yoki termometrli suv hammomi. Shisha tayoqchalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 2 ml ga yaqin suyultirilgan solakdan solinib, 2-3 daqiqa davomida qaynatiladi va sovutiladi.
2. Ikkita probirkaga 10 tomchidan 1% li kraxmal eritmasi qoyilib, birinchisiga 10 tomchi suyultirilgan so`lak, ikkinchisiga 10 tomchi qaynatilib sovutilgan so`lakdan tomiziladi.
3. Probirkalar ichidagilari aralashtirilib, 10 daqiqaga 37°S li termostatga qo`yiladi.
4. So`ngra har bir probirka suyuqligidan 3-5 tomchidan olinib, oldindan 1-2 tomchi yod quyib tayyorlangan probirkalarga tomiziladi. Bunda qaynatilmagan so`lakli probirkadagi namuna yod bilan bo`yalgan rang bermaydi, qaynatilgan so`lak saqlagan probirkada zangori rang kuzatiladi.
5. Ikkala probirkada qolgan suyuqliklardagi kraxmalga Trommer reaksiyasi (3.1.1. bo`limga qarang) o`tkazilganda, qaynatilmagan so`lakli namunada ijobiy va oldindan qaynatilgan so`lak ta`sirida esa manfiy reaksiya kuzatilgan.

Olingan natijalar jadvalda keltirilib, xulosada yuqori haroratning α -amilazani gidrolitik faolligiga ta`siri, uning sababi va isbotini ko`rsating.

7-jadval

α -amilaza fermentiga haroratning ta`siri

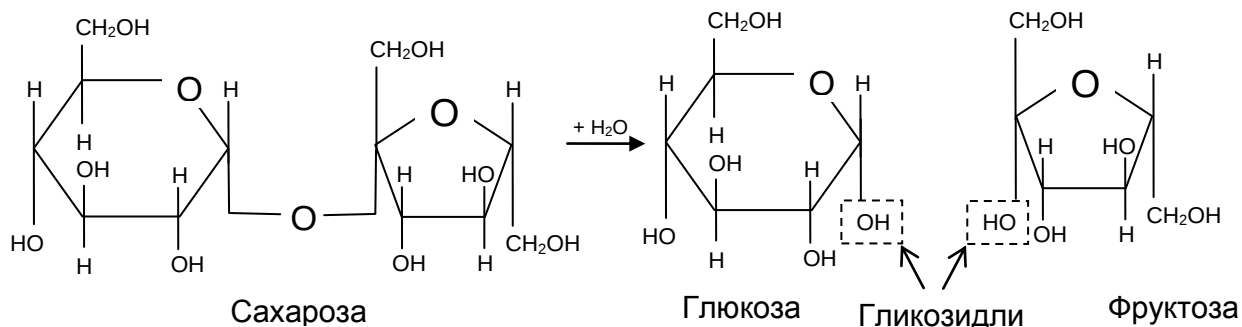
Ferment	Substrat	Gidrolizatda kraxmal bor yoki yoqligi	Trommer reaksiyasi
α -amilaza			
Qaynatilgan amilaza			

30- tajriba :

So`lak α -amilazasining spetsifikligi

Polisaxaridlar – glikogen va kraxmal amilazaning spetsifik substrati hisoblanadi. Saxarazaning substrati esa – disaxarid saxaroza bo`lib, tarkibidagi glyukoza va fruktoza qoldiqlari diglikozid bo`g`i bilan bo`g`langanligi tufayli erkin aldegid yoki keton guruh i yoq va shu sababli Trommer reaksiyasini bermaydi.

Saxaroza gidrolizlanganda glyukozani bo`shatilgan aldegid guruhi bilan fruktozaning keton guruhi ijobiy Trommer reaksiyasini kelib chiqishini asoslaydi. Shuning uchun Trommer reaksiyasi yordamida saxarozani gidrolizga uchragan yoki uchramaganligini aniqlash mumkin. Fermentlar ta`sirining spetsifikligini o`rganishda achitqi tarkibidagi saxarozadan foydalaniladi.



Tekshiriluvchi material: suyultirilgan so`lak

Reaktivlar: Saxaroza manbai sifatida quritilib maydalangan achitqining 20% li filtrlangan eritmasidan foydalaniladi. Kraxmalning yangi tayyorlangan 1% li eritmasi. Saxarozaning 2% li eritmasi. O`yuvchi natriyning 10% li eritmasi. Mis sulfatining 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Pipetkalar. Termostat yoki termometrli suv hammomi.

Ishning bajarilishi.

1. Saxaroza eritmasi bilan Trommer reaksiyasi (3.1.1. bo`limga qarang) o`tkazilib, uni manfiy ekanligiga ishonch hosil qilinadi.
2. Ikkita probirka olinib, bittasiga 10 tomchi 1% li kraxmal eritmasi, ikkinchisiga 10 tomchi 2% li saxaroza eritmasi solinadi. Ikkala probirkaga 5 tomchidan suyultirilgan so`lak qo`shib, aralashtiriladi va 10-15 daqiqaga 37°S li termostatga qo`yiladi.
3. 10-15 daqiqadan so`ng ikkala probirka tarkibidagi suyuqliklar bilan Trommer reaksiyasi o`tkaziladi.

4. Substrat sifatida kraxmal saqlagan probirkaga mis gidrat oksidi qo`shilganda uni qaytarilgani kuzatiladi, bu esa kraxmalni α -amilaza ishtirokida parchalanganligini bildiradi.
5. Saxarozali probirkada mis gidroksidini qaytarilishi kuzatilmaydi. Bu saxarozani gidrolizlamaganligini korsatib, ayni vaqtda saxaroza α -amilazani spetsifik substrati emasligini tasdiqlaydi.
6. Saxarazaning spetsifikligini aniqlashda ikkita probirka olinib, bittasiga 10 tomchi 1% li kraxmal eritmasi, ikkinchisiga esa 10 tomchi 2% li saxaroza eritmasi solinadi.
7. Ikkala probirkaga 5 tomchidan achitqi saxarazasi qoshilib, aralashtirilgach, ularni 10-15 daqiqaga 37°S li termostatga qoyiladi. Korsatilgan vaqt o`tgach, probirkalar olinib, ular tarkibidagi suyuqliklar bilan Trommer reaksiyasi o`tkaziladi. Saxaroza substrat sifatida bo`lgan probirkada mis gidroksidi qaytarilganligi kuzatiladi, bu esa saxarozani saxaraza ta'sirida parchalanganligini ko`rsatadi; kraxmal saqlagan probirka bilan Trommer reaksiyasi manfiy natija beradi, demak kraxmal saxarazaning substrati bo`la olmaydi.

Olingan natijalar jadval korinishida rasmiylashtiriladi va xulosada fermentlar spetsifikligi nimaga bog`liqligi va aniqlanishi ko`rsatiladi.

8-jadval

Amilaza va saxaraza ta'sirining spetsifikligi

Ferment	Substrat	Gidrolizlanish harorati	Trommer reaksiyasi

31 - tajriba : So`lak α -amilazasi faolligiga ph ning ta'siri

Har bir fermentning maxsus muhit ph i bolib, unda ferment eng yuqori faollikka ega. Bu esa fermentning oqsil qismini amfoterlik xususiyatiga va katalitik faolligi ferment faol markaziga kirgan funksional guruh larning ionlashgan darajasiga bog`liqligi bilan tushuntiriladi. ph ning ferment faolligiga ta'sirini amilaza faolligini aniqlash misolida korsatish mumkin. So`lak α -amilazasi ph 6,8 da deyarli neytral reaksiyada yuqori faollikka ega bolib, kislotali va ishqoriy muhitda uning faolligi pasayadi. Muhit reaksiyasini fermentning katalitik xususiyatiga ta'sirini organish uchun har xil ph korsatkichli bir necha eritmalar tayyorlab, ularga ferment, substrat qo`shib, inkubatsiyadan keyin qaysi muhitda kataliz eng katta tezlikda ketayotganini aniqlasa bo`ladi.

Tekshiriluvchi material: suyultirilgan soʻlak (1-2 tomchi soʻlakka 1 ml suv qoʻshiladi)

Reaktivlar: Fosfatli bufer 1/15 M quyidagi pH kursorlari bilan: 5,4; 6,2; 6,8; 7,2; 8,0. Kraxmalning 0,5% li eritmasi. Yodning kaliy yodid eritmasi (tayyorlanishi 11-ildoda).

Jihozlar: Probirkalar. Pipetkalar. Termostat yoki termometrli suv hammomi.

Ishning bajarilishi.

1. 5 ta probirka olib, har biriga 10 tomchidan 1/15 M pH : 5,4; 6,2; 6,8; 7,2; 8,0 boʻlgan fosfat buferi quyiladi, soʻngra hamma probirkalarga 10 tomchidan 0,5% li kraxmal eritmasi va 1 tomchidan suv bilan suyultirilgan soʻlak qoʻshiladi.
2. Probirkalar ichidagilari silkitib aralashtirilgach, tezda 37°S li termostatga joylashtiriladi va vaqti belgilanadi.
3. Hidroliz tezligini aniqlash uchun har 1-2 daqiqa orali gʻida 5 ta probirkadagi har bir suyuqlikdan 1 tomchidan boshqa probirkaga oʻtkazilib, yod eritmasi bilan reaksiya qilinadi.
4. Hidroliz eritrodekstrin paydo bolishigacha oʻtkaziladi, bu bosqichda gidrolizat yod bilan qiz gʻish-qongʻir rangga boʻyaladi.
5. Tah lil nih oyasida har bir probirkada eritrodekstrin paydo boʻlish vaqti daqiqalarda belgilanadi.

Ish natijasi jadval shaklida rasmiylashtiriladi. Amilaza faolligi muhit pH ga bogʻliqligini korsatishda grafik chizigʻining abssissa oqiga kraxmal gidrolizi oʻtkazilayotgan muhit pH i, ordinata oqiga kraxmalni eritrodekstrin bosqichigacha gidrolizlanganida oʻtgan vaqt – daqiqalari qoyiladi va qaysi muhit pH ida soʻlak α -amilazasi optimal taʼsir korsatganligi haqida xulosa chiqariladi.

32- tajriba : Soʻlak α -amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorlarning taʼsiri

Fermentlarning katalitik taʼsiri baʼzi moddalar ishtirokida kuchayadi, bularga aktivatorlar deyiladi. Ferment faolligini pasaytiruvchi moddalarga esa ingibitorlar deb aytiladi. Kopincha aktivlovchi va tormozlovchi taʼsir har xil tuzlar tarkibiga kiruvchi metall ionlariga bogʻliq. Masalan, natriy xlorid taʼsirida amilaza faolligi oshsa, mis sulfat qoshilganda pasayadi. Aktivator va ingibitorlarning taʼsir mexanizmi murakkab boʻlib, unga ferment faol markaziga kiruvchi funksional guruh larni metall ionlari bilan bogʻlanishini sabab qilib koʻrsatadilar.

Aktivatorlar yoki ingibitorlar ta'sirini bah olishda ferment katalitik faolligi osha moddalar ishtirokida sinab koriladi va olingan natijalar nazorat ko'rsatkichlari bilan solishtiriladi.

Tekshiriluvchi material: suyultirilgan solak (1-2 tomchi so'lakka 1 ml suv qo'shiladi).

Reaktivlar: Natriy xloridning 1% li eritmasi. Mis sulfatning 1% li eritmasi. Kraxmalning 0,5% li eritmasi. Yodning kaliy yodiddagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ilovada).

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar. Pipetkalar. Termostat yoki termometrli suv hammomi.

Ishning bajarilishi.

1. Ucha probirka olinib, birinchisi 10 tomchi 1% li natriy xlorid eritmasidan, ikkinchisiga 10 tomchi 1% li mis sulfat eritmasidan, uchinchisiga 10 tomchi suv quyilib, hammasiga 20 tomchidan 0,5% li kraxmal va 1 tomchidan suyultirilgan so'lak qo'shib, aralashtiriladi va tezlikda 37°S li termostatga joylashtirilib, vaqti aniqlanadi.
2. Kraxmalni gidrolizlanish tezligini aniqlash uchun kraxmal gidrolizlanayotgan probirkalardan 1-2 daqiqa oralatib, 1 tomchidan boshqa probirkalarga olinadi va u bilan yodning kaliy yodiddagi eritmasi bilan reaksiya otkaziladi. Gidroliz jarayoni eritrodekstrin bosqichigacha davom ettiriladi va uni paydo bo'lgan vaqti daqiqalarda aniqlanadi.

Tajriba natijalari jadval ko'rinishida yoziladi.

9-jadval

So'lak α -amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorlarning ta'siri

Tekshirilayotgan modda	Ferment	Substrat	Eritrodekstrin hosil bo'lgan vaqti

Birinci ikkita probirkadagi kraxmalni eritrodekstrin bosqichigacha gidrolizlanishi uchun sarf bolgan vaqtni uchinci probirkadagi (nazorat) kraxmalni gidrolizlanish vaqti bilan solishtirilib, tekshirilayotgan moddalarning aktivatorlik yoki ingibitorlik ta'siri to g'risida xulosa chiqariladi.

Ferment faolligini miqdoriy aniqlash

Ferment faolligini miqdoriy aniqlashdan klinikada tashxis qo'yish maqsadida, davolash choralari samarasini bilish va baholashda foydalaniladi. Ferment miqdori to g'risida gapirilganda, odatda uning faolligi tushuniladi, chunki ferment faolligi uning konsentratsiyasi bilan bevosita bo g'liq. Ferment faolligi esa vaqt birligida ta'sir ko'rsatilayotgan substratning

yoki reaksiya natijasida hosil bolgan unumining miqdoriy ozgarishi bo'yicha aniqlanadi. Ferment faolligini aniqlashda qo'llaniladigan usul sharoitiga qat'iy rioya qilish talab qilinadi, chunki reaksiyani kechishi haroratga, muhit ph iga substrat va kofaktorlar miqdoriga uzviy bog'liqligi bilan xarakterlanadi. Ferment faolligini aniqlashda shu fermentga optimal bolgan ph li bufer eritmalaridan, zarur bolgan kofermentlardan, aktivator yoki ingibitorlardan va ayniqsa, ferment oqsili denaturatsiyasini oldini oluvchi stabilizatorlardan foydalaniladi.

Xalqaro biokimyogarlarning uyushmasining tavsiyasiga binoan ferment faolligining birligi 1 mol substratni 1 sekundda (soniya) ozgartira oladigan ferment miqdoriga teng bolib, "katal" yoki qisqacha "kat" deb ataladi. Mazkur faollik mikromolda (10^{-6}) –mikrokatal, nanomolda (10^{-9}) nanokatal va pikomolda (10^{-12}) – pikokatal deb ifodalanadi. Spetsifik faollik katallarni 1 kg oqsilga nisbatan – kat/kg oqsil, molekulyar faollik - katal/mol ferment, ferment faolligining konsentratsiyasi katal/ litr yoki mikrokatal/litr shaklida berilgan.

33 - tajriba : So'lak α -amilazasi faolligini Volgemut bo'yicha aniqlash

Mazkur usul bilan α -amilaza miqdorini aniqlash fermentni maksimal darajada suyultirilganda ham tajribaga olingan kraxmalni eritrodekstringacha parchalay olish xususiyatiga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: 1: 10 nisbatda suyultirilgan so'lak.

Reaktivlar: Kraxmalning 1% li yangi tayyorlangan eritmasi. Yodning kaliy yodidagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ilovada).

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar. Pipetkalar. Byuretkalar. Shishaga yoziladigan qalam. 37°S li termostat yoki termometrli suv hammomi.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkadagi 1 ml solakka byuretkadan 9 ml distillangan suv 1: 10 nisbatda qoshib, yaxshilab aralashtiriladi.
2. 10 ta raqamlangan probirkalar olinib, har biriga 1 ml dan suv solinadi.
3. Birinchi probirkaga 10 marotaba suyultirilgan so'lakdan 1 ml olib, yaxshilab aralashtirilgach, undan 1 ml olib ikkinchi probirkaga o'tkaziladi, aralashtirilgach, aralashmani 1 ml ni uchinchi probirkaga, shu tartibda bajarilayotgan ish tortinchi, beshinchi, toki o'ninchi probirkagacha takrorlanadi va oxirgi probirkadan 1 ml suyuqlik olib tashlanadi.
4. Natijada birinchi probirkadagi so'lak 10 marta suyuladi, ikkinchisidagi 40 marta, uchinchisi 80 marta va hokazo, oninchisi esa 5440 marotaba suyulgan hisoblanadi.

5. Barcha probirkalarga ferment konsentratsiyasi eng kam bo'lgan o'ninchi probirkadan boshlab 2 ml dan 1% li kraxmal eritmasi quyiladi va chayqatilib, aralashtirilgach, 30 daqiqaga 37°S li termostatga qo'yiladi.
6. 30 daqiqadan song probirkalar sovutilib, har biriga 1-2 tomchidan yodning kaliy yodidagi eritmasidan tomiziladi va eng ko'p suyultirilgan probirkadagi so'lak kraxmalni eritrodekstringa parchalab, yod bilan qizg'ish-qo'ng'ir rang hosil qilganligi aniqlanadi.
7. α -amilaza faolligi 1 ml suyultirilmagan solakni 37°S da termostatda 30 daqiqa davomida necha millilitr 1% li kraxmalni parchalay oladigan miqdori bilan olchanadi. Agar qizg'ish-qo'ng'ir rang solak 160 marotaba suyultirilgan to'rtinchi probirkada 2 ml 0,1% kraxmal eritmasi qoshilganda aniqlansa, unda 1 ml suyultirilmagan solak 160 marotaba ko'p 0,1% li kraxmalni parchalagan bo'ladi: 1/160 ml so'lak 2 ml 0,1% kraxmalni parchalasa, 1 ml so'lak 0,1% li kraxmalning qancha miqdorini (X) parchalashi mumkin, ya'ni $X=2 \times 1: 1/160 = 320$ ml 0,1% li kraxmal eritmasini parchalaydi. Shartli ravishda ushbu korsatkich Volgemut boyicha 320 ml α -amilaza birligi hisoblanadi va quyidagicha yoziladi: A 37°S/ 30' =320 birlik.

Volgemut usulidan α -amilazani oshqozon osti bezi shirasida, qonda, siydikda va organizmning boshqa suyuqliklarida aniqlashda foydalanish mumkin. Ammo mazkur usul nisbatan taxminiy bo'lganligi sababli α -amilaza faolligida keskin o'zgarishlar kuzatilganda qo'llaniladi.

Amaliy ishdan olingan natijalarni quyidagi korinishga keltiring.

10-jadval

Volgemut usuli boyicha α -amilaza faolligini so'lakda aniqlash

№ Probirkalar	So'lakni suyultirish darajasi	0,1 % li kraxmal eritmasi miqdori (ml)	Harorat	Yod bilan boradigan reaksiyasining rangi

Xulosada tekshirilayotgan so'lakdagi amilaza faolligini hisoblangan miqdorini bering.

Nazorat savollari

1. Qnday moddalarga fermentlar deyiladi? Organizmda ular qanday vazifani bajaradi?
2. Fermentlarning kimyoviy tabiati va xususiyati nimadan iborat?
3. Ferment ta'sirining spetsifikligi nimada va uni qanday aniqlanadi?
4. Ferment faolligini haroratga, muhit pH ga qanday bog'liqligi bor?

5. Fermentning prostetik guruh i bilan kofermenti ortasida qanday farq bor?
6. Fermentning faol markazini qanday tushunasiz?
7. Fermentlar klassifikatsiyasi qanday, ferment sinflarini sanab bering.
8. So`lak amilazasi fermentlarning qaysi sinfiga kiradi?
9. Qanday birikmalar solak amilazasi substrati bo`la oladi?
10. Maltoza qaysi xususiyati asosida Trommer reaksiyasi bilan ochiladi?
11. Fermentlar eritmasini qaynatganda inaktivatsiyalanishi nima bilan tushuntiriladi va bunga qanday ishonch hosil qilish mumkin?
12. Fermentlar ta`siri anorganik katalizatorlar ta`siridan qaysi xususiyatlari bilan farqlanadi?
13. So`lak amilazasi ta`siridagi spetsifiklikni qanday qilib isbotlasa bo`ladi?
14. Saxaraza fermenti qaysi sinfga kiradi va uning substrati nimadan iborat?
15. Saxaraza ta`siridagi spetsifiklik qaysi reaksiya bilan isbotlanadi? Saxarozani saxaraza bilan gidrolizlanish reaksiyasi formulasini yozing.
16. Nega saxaroza gidrolizgacha Trommer reaksiyasi bilan ochilmaydi?
17. Muhit ph ning ahamiyatini so`lak amilazasiga ta`siri misolida tushuntiring. Qaysi tajribada uni korish mumkin?
18. Qanday moddalar fermentlarning aktivatorlari va ingibitorlari bo`lishi mumkin? Ulardan α -amilaza uchun misollar keltiring.
19. Ferment faolligi birligi nimadan iborat?
20. α -amilazaning diagnostika va terapiyada qanday ahamiyati bor?
21. Fermentlarni aniqlashdagi sifat reaksiyalarning moh iyati nimada?
22. Volgemut usuli nima va qanday kasalliklarni davolashda undan foydalaniladi?

VITAMINLAR

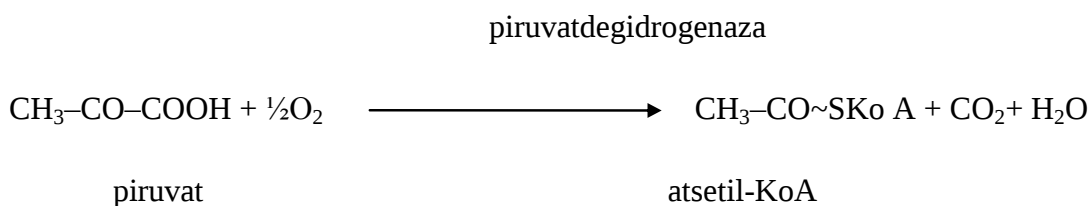
Vitaminlar – inson oziqa moddalari tarkibiga kiruvchi, almashtirib bo`lmaydigan, kichik molekulali organik birikmalardir. Ular odam va hayvon organizmida sintezlanmaydi, boshqa moddalar singari organ va to`qimalar qurilishida ishtirok etmaydilar, energetik manba sifatida ahamiyatga ega emas. Ovqat tarkibidagi oz miqdordagi vitaminlar organizmda kechayotgan kimyoviy jarayonlarning normal holatini ta`minlab, bir qator fiziologik jarayonlarni boshqarishda faol qatnashadilar. Kopchilik vitaminlar fermentlar prostetik guruhi tarkibiga kirganligi tufayli A, K, C vitaminlari, tiamin, niatsin, riboflavin, B6 vitamini, biotin, pantoten kislota, folat kislota, B12 vitaminlarining yetishmovchiligi ferment faolligini pasayishiga sabab bo`lib, ular qatnashayotgan modda almashinuvini buzilishiga olib keladi.

Ayrim vitaminlar (E va C) biologik antioksidant, oksidlanish va qaytarilish metabolik reaksiyalarining kofermenti (niatsin, riboflavin va pantoten kislotasi) sifatida qatnashsalar, A va

D vitaminlari gormonal ta'sirga ega, undan tashqari A vitamini korish jarayonidagi fotoretsepsiyani kofaktori vazifasini ham bajaradi. Oziqa mahsulotlari yoki boshqa biologik unumlardagi vitaminlarni aniqlashda odatda, vitaminlarning kimyoviy reaktivlar bilan rangli reaksiya hosil qilishidan foydalaniladi. Bu vaqtda u yoki bu vitaminni suvda yoki yog'da ko'proq erish xususiyati e'tiborga olinadi.

B₁ *vitamini (tiamin, aneyrin)*

Kimyoviy jihatdan toza B₁ vitamini – rangsiz kristall kukun bo'lib, suvda yaxshi eriydi. Tiamin kislotali muhitda (masalan me'dada) turg'un bo'lib, ishqoriy eritmada parchalanadi. Shu sababli ovqat ishqoriy muhitda pishirilganda vitamin yo'qoladi. B₁ vitamini tarkibi boyicha tiazol va pirimidin halqalari birikmasidan iborat. Odam va hayvon organizmida pirofosfat efiri korinishida lipoil kislota, koenzim A (NSKoA), NAD⁺, FAD⁺ kofermentlar kompleksi bilan birgalikda α-ketokislotalar (piruvat, α-ketoglutarat)ning oksidlanishli dekarboksillanishida qatnashuvchi ferment tizimi tarkibiga kiradi. Ushbu reaksiyani umumiy qisqacha ko'rinishini piruvat misolida quyidagicha yozish mumkin:

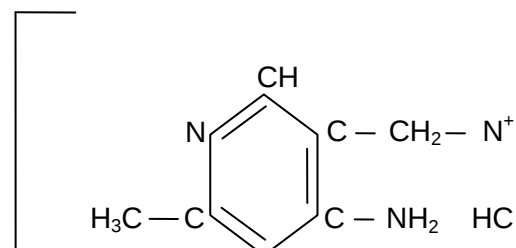


Organizmida tiamin yetishmaganda piruvatni dekarboksillanishi va keyingi oksidlanishini buzilishi kuzatilib, toqimalarda piruvat toplanadi. Piruvatning oksidlanishining keskin buzilishi ayniqsa, bosh miya va periferik nerv sistemasi funksiyasida jiddiy ozgarishlar (nevritlar, paralich va h .k.) ni keltirib chiqaradi.

B₁ vitamini asosan uglevodlar almashinuvini kuchli boshqaruvchisi hisoblanadi, chunki piruvat va α-ketoglutarat uglevodlarning anaerob oksidlanishi natijasida hosil boladi. Ko'proq uglevodlar saqlagan ovqat iste'mol qilinganda organizmni B₁ vitaminiga talabi oshadi. Katta odamning tinch sharoitda aralash ovqat qabul qilganida B₁ vitaminiga ehtiyoji 2 mg ni tashkil etadi.

34- tajriba : B₁ *vitaminini tioxromga oksidlanish reaksiyasi*

Tiamin ishqoriy muhitda qizil qon tuzi ta'sirida tioxromga oksidlanadi, uni eritmadan izobutil spirti bilan ajaratib olinib, ultrabinafsha nurda ko'rilganda ko'kimtir flyuorossensiya beradi:



Tekshiriluvchi material: tiamin kukuni.

Reaktivlar: Qizil qon tuzining 5% li eritmasi. Natriy gidroksidning 30% li eritmasi. Izobutil spirti.

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar. Shisha kurakchalar. Mikropipetkalar. Kapillyarlar. Flyuoroskop.

Ishning bajarilishi.

1. Shisha kurakcha bilan bir chimdim tiamin olib, probirkada 5-10 tomchi suv bilan eritiladi.
2. Eritmaga 5 tomchi 5% li qizil qon tuzi eritmasidan, 10 tomchi 30% li natriy gidroksiddan qoshib, yaxshilab aralashtiriladi.
3. 5-10 daqiqadan song 15 tomchi izobutil spirti qoshib, 0,5-1 daqiqa davomida jadal chayqatiladi va tindiriladi.
4. Yuqoridagi spirtli qatlami kapillyar yoki mikropipetka yordamida toza probirkaga otkazilib, kokimtir flyuoressensiyasini ultrabinafsha nurida kuzatiladi.

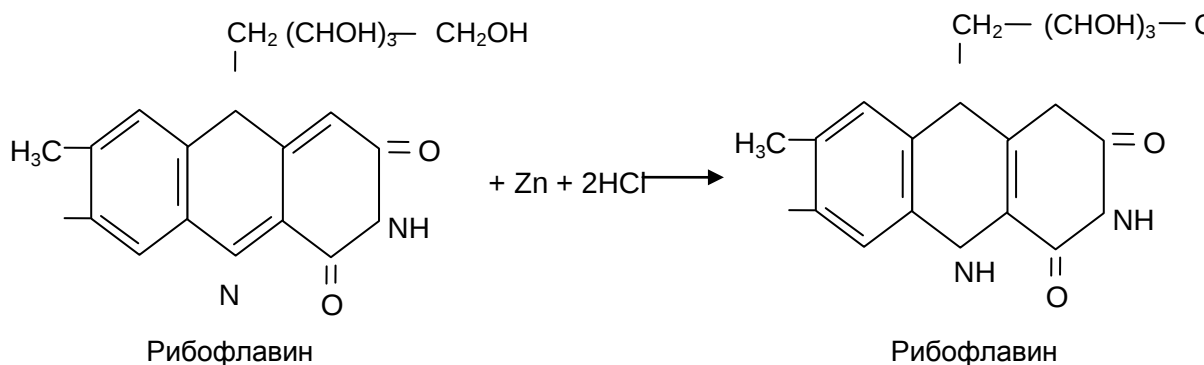
B₂ vitamini (riboflavin)

B₂ vitamini – to`q sariq kristall modda bolib, suvda va spirtda qiyin eriydi. Natriy gidroksid va xlorid kislota eritmalarida oson erib, achchiq ta`mli toq sariq rangli kristallar h osil qiladi. Mazkur vitaminning asosiy manbai sifatida achitqi, tuxum sarig`i, sut, jigar, goshtni korsatsa boladi. Katta yoshdagi kishilarda B₂ vitaminiga bolgan sutkalik talab 1,5-2,5 mg ni tashkil qiladi. B₂ vitaminining alohida yetishmovchiligi odamlarda kam uchraydi, u kopincha sifatsiz ovqatlanish davomida uchraydigan kasalliklarida (dermatoz, katarakta) va pp vitaminini miqdoriy yetishmovchiligida birga kuzatiladi.

B₂ itamini kimyoviy jihatdan izoalloksazin unumini besh atomli spirt ribitol bilan bogʻlangani, uning toʻla nomi – 6,7-dimetil-9-D-ribitil-izoalloksazin yoki riboflavin. U riboflavin -5-fosfat shaklida inson va hayvon organizmi flavinli fermentlarining prostetik guruhlari (FAD) tarkibiga kiradi. Flavoproteidlar biologik oksidlanishda degidrogenlanish reaksiyalarini katalizlashda ishtirok etadi. Shuning uchun riboflavin yetishmovchiligida organizmda oksidlanish-qaytarilish jarayonlari buziladi, oqibatda har xil betoblik belgilari (soch tokilishi, koʻzning xiralashishi, ogiz va lab shilliq qavatlarining shikastlanishi va boshqalar) kelib chiqadi. Biologik oksidlanish jarayonida nikotinamidadenin dinukleotid (NAD) flavinli fermentlarning maxsus substrati sanaladi.

35- tajriba : B₂ vitaminining qaytarilish reaksiyasi

Reaksiya riboflavinni kislotali muhitda oson qaytarilishi va qayta oksidlanishiga asoslangan. Konsentrlangan xlorid kislotasiga rux metali qoshilishidan hosil boʻlgan vodorod qizil rangli oraliq birikma (rodoflavin) yordamida riboflavinning rangsiz leykoflavinga qaytaradi. Bunda eritmaning sariq rangi qizilga otadi, songra eritma rangsizlanadi. Reaksiya mexanizmini quyidagicha ifodalash mumkin.



Tekshiriluvchi material: B₂ vitaminining 0,025% li eritmasi.

qaytarilgan shakli

Reaktivlar: Konsentrlangan xlorid kislota. Rux metali.

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 10 tomchi 0,025% li riboflavin eritmasidan olinib, 5 tomchi konsentrlangan xlorid kislotasi va kichkina rux bolakchasi qoshiladi. Osha zah oti vodorod pufakchalari ajralayotgani korinib, suyuqlik asta-sekin pushti yoki qizil rangga boyaladi, soʻngra suyuqlikning rangi yoqolib, rangsizlanib qoladi.
2. Rangsizlangan suyuqlikni havoda chayqatilsa, leykobirikma yana qaytadan riboflavinga oksidlanadi.

3. Mazkur reaksiya bilan flavinli fermentlarni to'qima nafas olishi jarayonida ta'sir etish mexanizmini namoyish qilsa bo'ladi.

B₆ vitamini (piridoksin, adermin)

B₆ vitamini – suvda va spirtida yaxshi eriydigan rangsiz kristallar bo'lib, ishqor, kislotalar ta'siriga va haroratga chidamli, quyosh nuri, ayniqsa, ultrabinafsha nurlar ta'sirida parchalanadi, lekin oziq-ovqat tayyorlashda va konservalashda yaxshi saqlanadi. Piridoksin - B₆ vitamini faolligiga ega bo'lgan moddalarning umumiy guruh nomi bo'lib, unga piridoksol, piridoksal va piridoksamin kiradi.

Odam organizmida ushbu birikmalar osonlik bilan biri ikkinchisiga aylana oladi va ATF ishtirokida fosforlangan unumlari – 5-fosfopiridoksal, 5-fosfopiridoksaminlar transaminaza va dekarboksilaza fermentlari kofermenti sifatida aminokislotalar almashinuvida muhim vazifani bajaradi. Aminokislotalar almashinuvi ko'pchilik biologik zarur moddalar (gistamin, pp vitamini, gem va boshqalar)ning sintezi bilan bog'liqligini e'tiborga olsak, piridoksin yetishmovchiligi organizm biokimyoviy jarayonlarida jiddiy ozgarishlarni keltirib chiqarishi tabiiy. Inson organizmini B₆ vitaminiga bo'lgan sutkalik zarurati aniqlanmagan, lekin yangi tug'ilgan bolalarga 0,3 mg, kattalarga esa kuniga 1,5-2 mg gacha tavsiya etiladi. B₆ vitaminiga eng boy bolgan manba bug'doy kurtagi, achitqi va jigar hisoblanadi. B₆ vitamini avitaminozi juda kam uchraydi, chunki ichak mikrobi sintezlagan piridoksin miqdori organizm talabini qisman qondirish uchun yetarli. Ammo ba'zi maxsus teri kasalliklari (dermatit)ni, bolalar anemiyasini davolashda yoki sil kasalligini davolashda qollaniladigan piridoksin antagonistlarini nojoya ta'siri (nerv tizimidagi ozgarishlar)ni yoqotishda piridoksin yuboriladi.

36- tajriba : B₆ vitaminining temir xlorid bilan reaksiyasi

B₆ vitaminining rangsiz eritmasi temir xloridi ishtirokida temir fenolyati korinishidagi qizil rangli kompleks birikma hosil qiladi. Reaksiya B₆ vitamini molekulasidagi pirimidin halqasining uchinchi orindagi fenol gidroksiliga bog'liq. Aynan shunday rangli reaksiyani temir xloridi ta'sirida piragallol eritmasi bilan ham olsa bo'ladi.

Tekshiriluvchi material: B₆ vitaminining 5% li eritmasi.

Reaktivlar: temir xloridining 5% li eritmasi.

Jihozlar: Shtativli probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 5-10 tomchi B₆ vitaminining eritmasidan olinib, 1-2 tomchi 5% li temir xlorid eritmasidan tomiziladi.

2. Aralashtirilgach, suyuqlik qizil rangga kiradi.

B₁₂ vitamini (siankobalamin, antianemin)

B₁₂ vitamini ignasimon kristallardan iborat bolib, tarkibida kobalt saqlaganligi uchun to`q qizil rangli, suvda va spirta yaxshi eriydi. Odam organizmida B<sub>12</sub> vitamini yetishmasligi oqibatida xavfli anemiya kelib chiqadi. Mazkur kasallik ko`mikda qon shaklli elementlarining sintezini buzilishi tufayli qon tarkibida eritrotsitlar miqdorining kamayishi, yetilmagan yosh shakllarining paydo bo`lishi va asab tizimi ishining izdan chiqishi bilan xarakterlanadi. B<sub>12</sub> vitamini unumlari kobamidli kofermentlar nomi bilan atalib, ko`pchilik modda almashinuv jarayonlarida fermentlar tarkibida metil guruhini almashinuvida qatnashadilar. Ular masalan, tiamin sintezida pirimidin halqasining metillanishini katalizlaydilar. B₁₂ vitamini hayvon mahsulotlarida, asosan mol va jojalar jigarida ko`proq uchraydi. Inson organizmining B<sub>12</sub> vitaminiga sutkalik eh tiyojining miqdori aniqlanmagan, taxminan kuniga 1-1,5 mkg qabul qilish tavsiya etiladi. B<sub>12</sub> vitamini qon hosil bo`lishi buzilganda, jigar va nerv tizimi funksiyalari o`zgarganda dori vositasi sifatida qo`llaniladi.

37- tajriba : B₁₂ vitamini tarkibidagi kobaltni tiomochevinali reaksiya bo`yicha aniqlash

B₁₂ vitamini molekulasida kobalt (4,5%) saqlagan birdan-bir vitamin bo`lib, uni ochish uchun vitamin eritmasi avval minerallashtiriladi, so`ngra tiomochevina ishtirokida aniqlanadi.

Tekshiriluvchi material: ampuladagi B₁₂ vitamini eritmasi.

Reaktivlar: Konsentrlangan sulfat kislota eritmasi. 10% li tiomochevina eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar. Torli shtativ. Kulsiz filtrlar

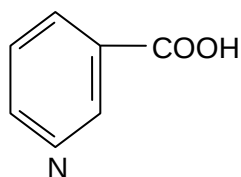
Ishning bajarilishi.

1. B₁₂ vitamini bo`lgan ampula ochilib, ichidagi eritma probirkaga o`tkaziladi.
2. 3-5 tomchi konsentrlangan sulfat kislota tomizilib, probirkani biroz engashtirilgan holatda shtativga mustah kam joylashtiriladi va havo tortuvchi shkafda rangi yoqolguncha yoqiladi.
3. Rangsizlantirilgan suyuqlik mineraliga ehtiyotlik bilan oz-ozdan taxminan 1 ml suv qoshib, aralashtiriladi.
4. 2-3 tomchi 10% li tiomochevina eritmasini kulsiz filtrga tomizilib, setkali gorelka ustida quritiladi.
5. Songra filtratga 1-2 tomchi olingan mineralizatdan tomizilib, yana filtr setka ustida qizdiriladi. Filtr atrofida ko`kimtir bo`yalish hosil bolishi B₁₂ vitamini molekulasida kobalt borligini tasdiqlaydi.

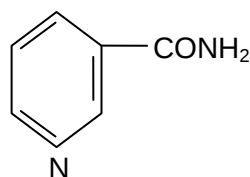
PP vitamini (nikotinamid, antipellagrik)

PP vitamin yoki nikotin kislota va uning amidi bir xil faollikka ega bo'lgan vitaminlar bo'lib, suvda va spirtida eruvchi oq rangli kristallardan iborat. Quyosh nuri va havo ta'sirida, qaynatganda parchalanmaydi. Organizmda nikotin kislota yoki nikotinamiddan oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini katalizlovchi dehidrogenazalarning kofermentlari – nikotinamidadenindinukleotid (NAD) va nikotinamidadenindinukleotid- fosfat (NADF) hosil boladi. Demak ushbu vitaminlarning yetishmasligi NAD va NADF larni kerakli miqdorda sintezlanishini cheklab, to'qima nafas olishida qatnashuvchi substratlarning oksidlanishini to'sishga sabab bo'ladi.

Oziqa tarkibida RR vitamini yetishmasa, odam organizmida pellagra deb ataluvchi kasallikni keltirib chiqaradi, uning asosiy belgilari teri, nerv tizimi va me'da-ichak yollarini jarohatlanishi korinishida kuzatiladi. Kasallikning og'ir yoki yengil kechishi bemor ovqati tarkibidagi triptofan miqdoriga bog'liq, chunki inson organizmida triptofan nikotin kislotasiga aylanadi. PP vitamini achitqi, jigar va buyrak toqimalarida katta miqdorda uchraydi. Katta odamlarni bu vitamining sutkalik ehtiyoji 15-25 mg bo'lsa, bolalar uchun 15 mg ga barobar.



Никотин кислотаси



Никотин амид.

38 - tajriba : Nikotin kislotaga mis atsetat ta'sirida sifat reaksiya

Reaksiya nikotin kislotasi molekulasidagi erkin karboksil guruh ini mis atsetat bilan suvda qiyin eriydigan ko'k rangli mis tuzi hosil qilishiga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: Nikotin kislotasi kukuni.

Reaktivlar: 10% li sirka kislotasi eritmasi. 5% li mis atsetat eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 5-10 mg nikotin kislotasining 10-20 tomchisi 10% li sirka kislotasi eritmasida qizitib, eritiladi.
2. Qaynash darajasigacha qizdirilgan suyuqlikka teng hajmda 5% li mis atsetati qoshiladi. Suyuqlik xiralashib, ko'k rangga boyaladi, vaqt o'tishi bilan nikotin kislotasining ko'k rangli misli tuzi cho'kmaga tushadi.

C vitamini (askorbin kislota, antitsinga vitamini)

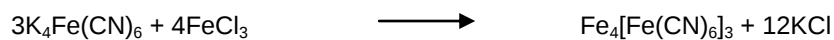
Askorbin kislota nordon mazali, rangsiz kristallardan iborat bo`lib, suvda va spirtida yaxshi eriydi. Organik erituvchilarda erimaydi. C vitamini molekulasida karboksil guruhi bolmasa ham yenolli gidroksillaridan bittasini dissotsiyalanishi va metall kationlari bilan reaksiyaga kirishib, tuz(askorbinatlar) hosil qilishi tufayli kislota xossasiga ega. C vitaminini sifat va miqdoriy aniqlash usullari oksidlanish-qaytarilish reaksiyasiga asoslangan. Askorbin kislota oksidlanganda degidroaskorbin kislotasiga o`tdi, boshqa modda esa, masalan, 2,6-dixlorfenolindofenol qaytariladi.

Organizmida askorbin kislota ba`zi oksidlanish jarayonlariga yordam beradi, masalan, buyrak usti bezida steroidli oksigormonlarni hosil bolishida, folat kislotasini folin kislotasiga o`tishida, dezoksiribonuklein kislotasining sintezida va boshqalar. Inson oziqasida C vitamini yetishmasa singa kasalligi kelib chiqadi. Bu kasallikda qon tomirlari mortlashib, o`tkazuvchanligi oshadi, qon quyilishi kuzatiladi, suyaklar va tishlar tarkibidagi kalsiyni chiqib ketishi natijasida ularning sinishi ortadi, organizmning infeksiyaga qarshilik ko`rsatish imkoniyati keskin kamayadi. Ortacha jismoniy mehnat qiladigan katta odamning C vitamining bir sutkadagi ehtiyoji 50 mg. Ushbu miqdor yoshga, organizm holatiga qarab ozgarishi mumkin. C vitamini limon, qora smorodina, na`matak, qarag`ay bargi, hayvon mahsulotlaridan jigarda nisbatan ko`p.

39- tajriba : C vitamining qizil qon tuzi ishtirokida sifat reaksiya

Reaksiya askorbin kislotasini ishqoriy muhitda degidroaskorbin kislotasiga o`tishi hisobiga qizil qon tuzi $K_3Fe(CN)_6$ (kaliy ferrotsianid)ning $K_4Fe(CN)_6$ ga

qaytarilishi va uning kislotali muhitda temir xloridi bilan berlin lazuri (ko`ki) hosil qilishiga asoslangan:



Tekshiriluvchi material: na`matak ekstrakti.

Reaktivlar: 10% li natriy gidroksid. 5% li qizil qon tuzi eritmasi. 10% li xlorid kislota eritmasi. 1% li temir xlorid eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 10 tomchi na`matak ekstraktidan olinib, 2 tomchi 10% li natriy gidroksid, 2 tomchi 5% li qizil qon tuzidan qo`shib aralashtriladi.

2. Aralashmaga 6 tomchi 10% li xlorid kislotasi eritmasidan tomizilganda berlin lazurining kok rangli chokmasi tushishi na'matak ekstraktida askorbin kislotasi borligini korsatadi.
3. Taqqoslash uchun shu reaksiya na'matak ekstrakti o`rnida distillangan suv bilan o`tkazilsa, suyuqlikni qong`ir rang berishi temir oksidining qizil qon tuzi hosil bo`lganligidan darak beradi.

40- tajriba : C vitaminiga metilen koki bilan sifat reaksiyasi

Reaksiya askorbin kislotasining oksidlanishi davomida metilen ko`kini rangsiz(leyko) shakliga qaytarilishiga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: na'matak ekstrakti.

Reaktivlar: 10% li natriy bikarbonat eritmasi. 0,01% li metilen koki.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 2 tomchi 0,01% li metilen koki eritmasidan, 2 tomchi 10% li natriy bikarbonat eritmasidan, 10 tomchi na'matak ekstraktidan quyilib, qizdirilganda suyuqlik rangsizlanadi.
2. Nazorat uchun shu reaksiya, na'matak ekstrakti o`rniga distillangan suv olinib, qaytarilganda suyuqlik rangini yo`qolishi kuzatilmaydi.

41- tajriba : C vitaminini oziq-ovqat mahsulotlari (na'matak, kartoshka, karam, sut) da 2,6-dixlorfenolindofenol bilan miqdoriy aniqlash

Tekshiriluvchi material: na'matak mevasi, kartoshka, karam, yangi sut.

Reaktivlar: 2% li xlorid kislota eritmasi. 5% li sirka kislota eritmasi. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi 12-ilovada).

Jihozlar: Apteka tarozisi. Hovoncha. Maydalangan shisha kukuni. 3, 5 va 10 ml li pipetkalar.

Qo g`oz filtrli voronkalar. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar. 10 ml li byuretkalar.

Mikrobyuretkalar.

Ishning bajarilishi.

C vitamini miqdori oziq-ovqat mahsulotlarida har xil biologik va texnologik sabablar ta'sirida miqdoriy ozgarishi mumkin – bular oziqa mahsulotining sifatiga, texnologik jarayonga, saqlanish muddatiga, yil fasliga va boshqalarga bog`liq. Askorbin kislotasini oziq-ovqat mahsulotlarida aniqlash ovqat bilan organizmga tushayotgan S vitamini miqdorini bilish uchun zarur hisoblanadi.

C vitaminini miqdoriy aniqlash askorbin kislotasini degidroaskorbinga oksidlanishi va 2,6-dixlorfenolindofenolni rangsiz birikmaga qaytarilishi reaksiyasiga asoslangan.

1. C vitamini kislotali muhitda koproq turg'un bo'lgani uchun, uni oziqa mahsulotidan suyultirilgan kislota bilan ekstraksiya qilinadi.
2. Ekstrakt 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan titrlanadi.
3. Ekstraktidagi barcha askorbin kislotasi oksidlangandan so'ng indikator qaytarilmaydi va uning ortiqcha miqdori eritmaga pushti rang beradi (2,6-dixlorfenolindofenolning oksidlangan shakli kislotali muhitda pushti rangli bo'ladi).
4. Rangni o'zgarishiga qarab, C vitaminini oksidlanishiga sarf bo'lgan reaktiv miqdori boyicha tekshirilayotgan mahsulotdagi S vitamini miqdori aniqlanadi.

42- tajriba : Na'matakda C vitaminini aniqlash.

Tekshiriluvchi material: na'matak mevasi, kartoshka, karam, yangi sut.

Reaktivlar: 2% li xlorid kislota eritmasi. 5% li sirka kislota eritmasi. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi 12-ilovada).

Jihozlar: Apteka tarozisi. Hovoncha. Maydalangan shisha kukuni. 3, 5 va 10 ml li pipetkalar. Qo'zg'oz filtrli voronkalar. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar. 10 ml li byuretkalar. Mikrobyuretkalar.

Ishning bajarilishi.

1. Maydalangan shisha kukuni bilan hovonchada yaxshilab ezilgan na'matak mevasining 0,1 grammiga asta-sekinlik bilan 2% li xlorid kislota eritmasidan 9,9 ml qoshiladi va olingan ekstrakt quruq kolbachaga filtrlanadi.
2. Filtratdan ikkita konussimon kolbachaga 3 ml dan olib, byuretkadagi 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasi bilan och pushti rang hosil bolguncha titrlanadi (rang taxminan 30 soniya saqlanadi), titrlash jarayoni 2 daqiqadan oshmasligi kerak.
3. Titrlash natijalari yozilib, ortacha arifmetik miqdori aniqlanadi va 100 g mahsulotga nisbatan hisoblab chiqariladi. Bunda 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 N li natriyli tuzi eritmasining 1 ml 0,088 mg askorbin kislotasiga to'g'ri kelishiga asoslanib (askorbin kislotasining molekulyar og'irligi 176 ga, gramm ekvivalenti esa 88 ga teng), hisoblash quyidagi formula bo'yicha bajariladi:

$$V \times 0,088 \times 10 \times 100$$

$$X = \frac{\quad}{\quad}$$

$$3 \times v$$

Bunda X – C vitaminining 100 g mah sulotdagi mg miqdori;

V - 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasining titrlashga ketgan ml hajmi;

0,088 - 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasini 1 ml ga teng keladigan askorbin kislotasining mg dagi miqdori;

10 – na'matak ekstraktining ml dagi umumiy miqdori;

100 – 100 g mah sulot uchun olingan h isob koeffitsienti;

3 – titrlash uchun olingan ekstraktning ml dagi miqdori;

V – olingan na'matakning g dagi miqdori.

100 g quritilgan na'matakda askorbin kislotasining ortacha miqdori qizil rangli mevasida – 1500 mg%, to'q qizil mevasida 100 mg% bo'ladi.

43 - tajriba : **Kartoshka tarkibidagi C vitamini miqdorini aniqlash**

Tekshiriluvchi material: na'matak mevasi, kartoshka, karam, yangi sut.

Reaktivlar: 2% li xlorid kislota eritmasi. 5% li sirka kislota eritmasi. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi 12-ilovada).

Jihozlar: Apteka tarozisi. Hovoncha. Maydalangan shisha kukuni. 3, 5 va 10 ml li pipetkalar. Qo'g'oz filtrli voronkalar. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar. 10 ml li byuretkalar. Mikrobyuretkalar.

Ishning bajarilishi.

1. 5 g kartoshkani farforli h ovonchada xlorid kislotasining 2% li eritmasini 16 ml da maydalab, 100 ml konussimon kolbaga quyiladi, hovonchani distillangan suv bilan bir necha marta chayqab, kolbadagiga qo'shiladi.
2. Aralashma 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasi bilan och pushti rang hosil bolguncha titrlanadi, rang 30 soniya davomida ochmasligi kerak.
3. 100 g kartoshkadagi C vitamini miqdori quyidagi formula bo'yicha aniqlanadi:

$$V \times 0,088 \times 10 \times 100$$

$$X = \frac{\quad}{5}$$

Bunda: 5 – kartoshkani g dagi miqdori; qolgan ifodalar esa yuqoridagi ishda ko'rsatilganidek hisoblanadi.

44- tajriba : **Karam tarkibidagi C vitaminini aniqlash**

Tekshiriluvchi material: na'matak mevasi, kartoshka, karam, yangi sut.

Reaktivlar: 2% li xlorid kislota eritmasi. 5% li sirka kislota eritmasi. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi 12-ilovada).

Jihozlar: Apteka tarozisi. Hovoncha. Maydalangan shisha kukuni. 3, 5 va 10 ml li pipetkalar. Qo g`oz filtrli voronkalar. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar. 10 ml li byuretkalar. Mikrobyuretkalar.

Ishning bajarilishi.

1. 2 g yangi karamni 5% li sirka kislota eritmasining 10 ml da hovonchada shisha kukuni bilan maydalab, ekstrakti quruq kolbaga filtrlanadi.
2. Ekstraktdan ikkita 25 ml li konussimon kolbaga 3 ml dan olib, mikrobyuretkadagi 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasi bilan 30 soniya davomida yoqolmaydigan pushti ranggacha titrlanadi.
3. 100 g karamdagi C vitamini miqdori formula bo`yicha hisoblanadi:

$$V \times 0,088 \times 10 \times 100$$

$$X = \frac{\quad}{\quad}$$

$$2 \times 3$$

Bunda: 10 – ekstraktning ml dagi hajmi;

2 – olingan karamning grammdagi miqdori;

3 – titrlash uchun olingan ekstraktning ml dagi miqdori.

Qolgan korsatkichlar yuqorida keltirilgan tajribalarda ko`rsatilgan.

S vitaminining oq karam navidagi ortacha miqdori 30 mg%

45 - tajriba : Sut tarkibida C vitamini miqdorini aniqlash

Tekshiriluvchi material: na'matak mevasi, kartoshka, karam, yangi sut.

Reaktivlar: 2% li xlorid kislota eritmasi. 5% li sirka kislota eritmasi. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi 12-ilovada).

Jihozlar: Apteka tarozisi. Hovoncha. Maydalangan shisha kukuni. 3, 5 va 10 ml li pipetkalar. Qo g`oz filtrli voronkalar. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar. 10 ml li byuretkalar. Mikrobyuretkalar.

Ishning bajarilishi.

1. 5 ml sigir suti distillangan suv bilan 1:2 nisbatda suyultirilib, uni 5 ml ni 2% li xlorid kislotasini 1 ml distillangan suv bilan 15 ml hajmga yetguncha suyultirilgan kolbadagi eritmasiga qo`shiladi.

2. Kolbadagi aralashma asta chayqatilib, 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasi bilan 0,5-1 daqiqa davomida yo`qolmaydigan pushti ranggacha titrlanadi.
3. Tajribani qaytarish uchun suyultirilgan sutni qolgan qismidan foydalaniladi.
4. Sut tarkibidagi C vitamini miqdori formula bo`yicha hisoblanadi:

$$V \times 0,088 \times S \times 100$$

$$X = \frac{\quad}{6} - 5$$

Bunda: X – askorbin kislotasining 100 ml sutdagi mg miqdori

S – suyultirish darajasi (masalan, sutni 1:2 nisbatda suyultirilganda suyultirish darajasi 3 ga teng; 1:5 nisbatda suyultirilganda esa suyultirish darajasi 6 va h .k.)

5 – titrlashga olingan suyultirilgan sutning ml dagi miqdori;

Qolgan ifodalar yuqoridagi tajribalarda korsatilgan. C vitaminining sigir sutidagi o`rtacha miqdori – 1 mg%, ayollar sutida 3 mg%, ot(biya) sutida – 25 mg%.

Tajriba natijalarini jadval shaklida keltiring.

11-jadval

Na`matak, kartoshka, karam va sut tarkibidagi askorbin kislota miqdori

Tekshi-riluvchi material	Miqdori g yoki ml	Ekstrakt-ning umumiy miqdori, ml	Titrlashga olingan miqdori, m	2,6-dixlor - fenolindo-fenolning titrlashga ketgan miqdori, ml	C vitamini -ning 100 g mah sulot dagi miqdori, mg

Xulosada tekshirilayotgan mah sulotlardagi askorbin kislotasining ortacha miqdori taqqoslanib, ularning qaysi biri tarkibida C vitamini miqdorining ko`pligi aniqlanadi.

46- tajriba : C vitamini miqdorini siydikda Tilmans reaktivi bilan aniqlash

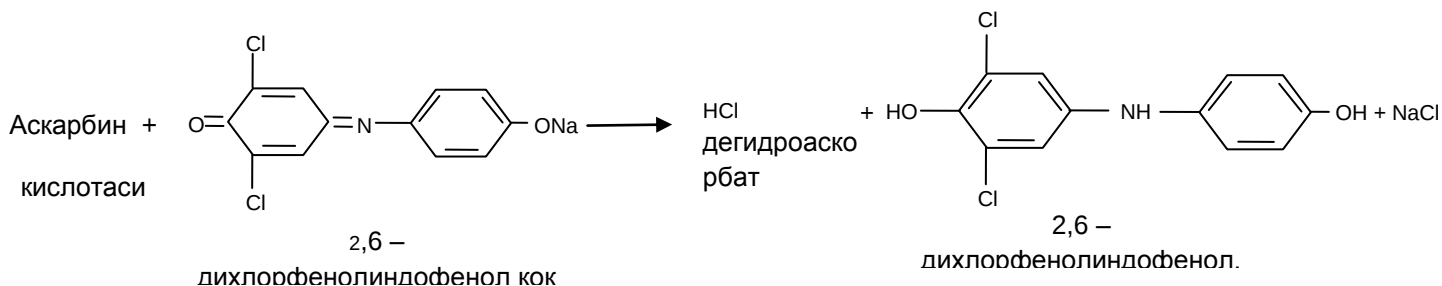
Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: Konsentrlangan sirka kislotasi. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi -ilovada).

Jihozlar: 1, 5 va 10 ml li pipetkalar. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar. byuretkalar, mikrobyuretkalar.

Ishning bajarilishi.

Ushbu usul C vitaminini oziqa mahsulotlarida aniqlash reaksiyalariga oxshash. C vitaminining sutkalik siydikdagi miqdori uning ovqat tarkibidagi miqdoriga, organizmni unga bolgan eh tiyoriga, odamning yoshiga, ichak shilliq qavatida sorilishiga bog`liq. Sog`lom odam ortacha 20-40 mg S vitaminini ajratadi. Siydik orqali bir sutkada chiqarilgan C vitamini miqdoriga qarab, organizmni C vitamini bilan ta`minlanganligi tog`risida fikr yuritish mumkin. Lekin amalda C gipovitaminozini aniqlashda organizmni askorbin kislotasi bilan boyitish usuli koproq ishlatiladi. Bunda askorbin kislotasi miqdorini sutkalik siydikda ikki marotaba – birinchi marta tekshiriluvchi shaxsga o g`iz orqali 100 mg vitamin C berishdan oldin, ikkinchisida esa berilgandan keyin (organizm C vitamini bilan boyitilgandan song) aniqlanadi. Agar organizmda C vitamini yetarli bolsa, uning siydikdagi miqdori “boyitilgandan” song ortadi, aksincha, C gipovitaminozida - toqimalarda C vitamin tanqisligi sezilayotgan sharoitda qabul qilingan askorbin kislota organizmda ushlanib qolinadi va uning miqdori siydikda deyarli oshmaydi.



47- tajriba : C vitaminini siydikni 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan titrlab aniqlash

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: Konsentrlangan sirka kislotasi. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi -ilovada).

Jihozlar: 1, 5 va 10 ml li pipetkalar. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar. byuretkalar, mikrobyuretkalar.

Ishning bajarilishi.

1. Konussimon kolbachaga 10 ml siydik quyib, 10 ml distillangan suv, 1 ml konsentrlangan sirka kislotasi qoshiladi.
2. Aralashma mikrobyuretkadagi 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi bilan barqaror pushti rang hosil bolguncha titrlanadi.
3. Bir sutkada yi g`ilgan siydikdagi C vitaminining miqdori quyidagi formula bo`yicha hisoblanadi:

$$X = \frac{V1 \times 0,088}{V2}$$

Bunda: X – sutka davomida ajralgan askorbin kislotasining mg dagi miqdori;

V – siydikni titrlash uchun ketgan indikatorning ml dagi miqdori;

0,088 – askorbin kislotasining mg dagi miqdori, 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasining 1 ml dagi miqdoriga barobar bolgan koeffitsienti;

V1 – sutka davomida yi g`ilgan siydikni ml dagi umumiy hajmi;

V2 – titrlash uchun olingan siydikni ml dagi miqdori;

Siydikning sutkalik miqdori ayollar uchun 1200 ml ni, erkaklar uchun 1500 ml ni tashkil etadi.

48- tajriba : C vitamini miqdorini 2,6-dixlorfenolindofenolni siydik bilan titrlab aniqlash

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: Konsentrlangan sirka kislotasi. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi -ilovada).

Jihozlar: 1, 5 va 10 ml li pipetkalar. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar. byuretkalar, mikrobyuretkalar.

Ishning bajarilishi.

Konussimon kolbachaga 5 ml distillangan suv va 1 ml 0,001 n 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzi eritmasidan olchab solinadi.

1. Aralashma byuretkadagi sirka kislotasi bilan nordonlashtirilgan siydik bilan pushti rang yoqolguncha titrlanadi (2,6-dixlorfenolindofenol ishqoriy muhitda ko`k rangga, kislotalilikda – pushti rangga ega bo`lib, qaytarilganda rangsizlanadi). Titrlashga bir daqiqadan ortiq vaqt ketmasligi kerak.
2. C vitaminining sutkalik siydikdagi miqdori formula bo`yicha topiladi:

$$X = \frac{V1 \times 0,088}{V2}$$

12-jadval

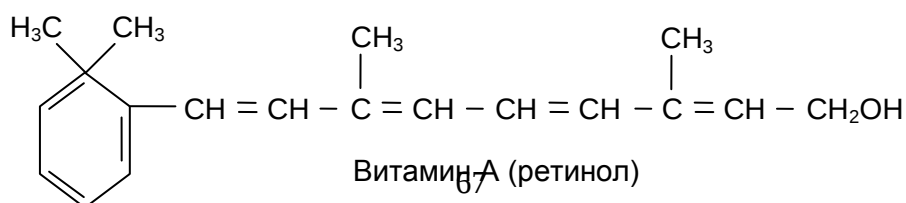
C vitamini miqdorini 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasini siydik bilan titrlab aniqlash

Tekshiri-luvchi material	Sutka davomida yig`ilgan siydikning umumiy hajmi, ml	1 ml 0,001 n 2,6-dixlorfenolindofenol ni titrlash uchun ketgan siydik miqdori, ml	Sutkalik siydikdagi C vitaminining miqdori, mg

Xulosada C vitaminining sutka davomida yig`ilgan siydikdagi miqdorini aniqlashdan olingan natijalarni askorbin kislotasining normadagi korsatkichi bilan taqqoslanadi. Sutkalik siydikdagi askorbin kislotasining miqdori nimaga bog`liqligini korsating.

A vitamini (retinol, antikseroftalmik vitamin)

Kimyoviy tabiati boyicha A vitamini osimliklar sariq pigmenti karotinlar unumi bo`lib, toyinmagan uglevodorodlarga kiradi. A vitamini β -ionon halqasi va yon zanjirli qurilmadan tuzilgan, tarkibida ikkita izopren h alqasi va birlamchi spirt guruhi borligi uchun retinol nomini olgan.



Vitamin kimyoviy toza holda och sariq rangli kristall modda, suvda erimaydi, yog`da va yog` erituvchi organik moddalarda yaxshi eriydi. Molekulasidagi ikkilamchi bog`lari tufayli A vitamini yorug`lik ta`siriga chidamsiz, havo kislorodi bilan oson oksidlanadi, ayniqsa qizdirilganda oz faolligini yoqotadi. Oziqa mah sulotlari tarkibidagi qoshimcha moddalar, avvalo Ye vitamini uni parchalanishdan himoya qiladi.

Odam organizmida A vitamini osimlik pigmenti karotindan karotinaza fermenti ta`sirida jigarda va ichak devorida hosil bo`ladi. Bu vitamin korish jarayonida muhim vazifani bajaradi. Ko`zning to`r pardasi tayoqchalarida yorug`lik ta`sirini qabul qiluvchi rodopsin deb ataluvchi xromoproteid bo`lib, uning tarkibi oqsil – opsin va A vitamini aldegidi – retinal birikmasidan tashkil topgan. A vitamini tanqisligida rodopsin sintezi kamayadi va ko`zning to`r pardasini yorug`likni qabul qilish, ko`rish imkoniyati chegaralanib, qoron g`i tusha boshlaganda ko`rmaydi. Bu holat tibbiyotda gernalopiya (shapko`rlik) deb ataladi. A vitamini avitaminozida ko`zning shox qavatini zararlanishi (kseroftalmiya), teri va shilliq pardalarning o`zgarishi kuzatiladi. A vitamini sariyog`, tuxum sarig`i, jigarda, dengiz baliq`i jigarida (yoki baliq moyida) nisbatan ko`proq. Karotinlar – A vitamini provitaminlari - kelib chiqishi bo`yicha osimlik mahsuloti hisoblanadi.

Katta odamning A vitaminiga bo`lgan sutkalik ehtiyoji 1-2,5 mg A vitaminiga yoki 2-5 mg  $\beta$ -karotinga to`g`ri keladi. A vitamini yoki karotin miqdorini oziqa mah sulotlarida aniqlash bilan ularning vitaminlik ahamiyatiga qiyosiy baho berish mumkin. Qon tarkibidagi A vitamini yoki karotinni aniqlash asosida organizmni A vitamin bilan ta`minlanganlik darajasi to`g`risida fikr yuritiladi. A vitamini va karotinlarning uchxlorosurma bilan reaksiyasi suvsiz muhitda rangli mah sulotlar beradi. Shu sababli ushbu reaksiyadan A vitamini va karotinni sifat va miqdoriy aniqlashda foydalaniladi. Rangning jadalligi ularning tekshiriluvchi mah sulotdagi miqdoriga to`g`ri proporsional.

**49- tajriba : A vitaminini baliq moyida konsentrlangan sulfat
kislota bilan aniqlash**

Baliq moyining xloroformli eritmasini konsentrlangan sulfat kislota bilan aralashishi qizil-qo`ng`ir rang hosil bo`lishiga olib keladi.

Tekshiriluvchi material: yangi baliq moyi.

Reaktivlar: Xloroform. Konsentrlangan sulfat kislota.

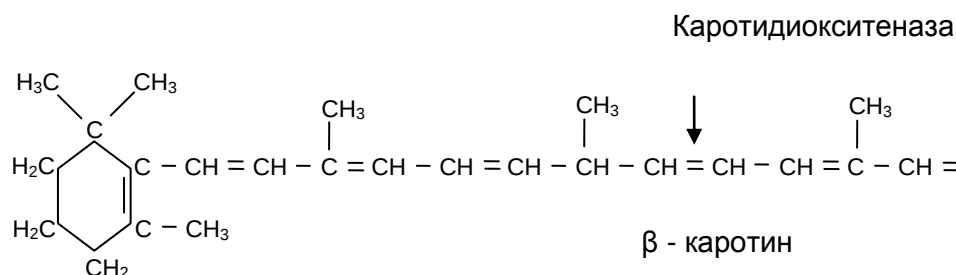
Jihozlar: Probirkali shativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Quruq probirkada 1-2 tomchi baliq moyi 10 tomchi xloroformda eritiladi.
2. Unga har tomchidan song silkitib, aralashtirilgan holatda 1-2 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi tomizilganda ko`k yoki binafsha rang paydo bo`lib, u tezlikda qo`ng`ir-qizil rangga o`tadi.

50- tajriba : Na`matak tarkibidagi karotin va undagi toyinmagan bog`larni aniqlash

Reaksiya karotinni uchxlorsurma yoki konsentrlangan sulfat kislotalari bilan rangli birikma hosil qilishiga asoslangan. Rangni jadalligi na`matakdaagi karotin miqdoriga barobar. Karotin molekulasidagi to`yinmagan boglarni bromli suvni rangsizlanishi bilan ochish mumkin. Bunda karotinni ikkilamchi bog`lari bromni biriktirishi natijasida uziladi.



Tekshiriluvchi material: quritilgan na`matak.

Reaktivlar: Xloroform. Uchxlorsurmaning xloroformdagi toyingan eritmasi. Konsentrlangan sulfat kislotasi. Bromli suv (tayyorlanishi 13-ilovada).

Jihozlar: Farforli hovoncha. Voronkalar. Qog`oz filtr. Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

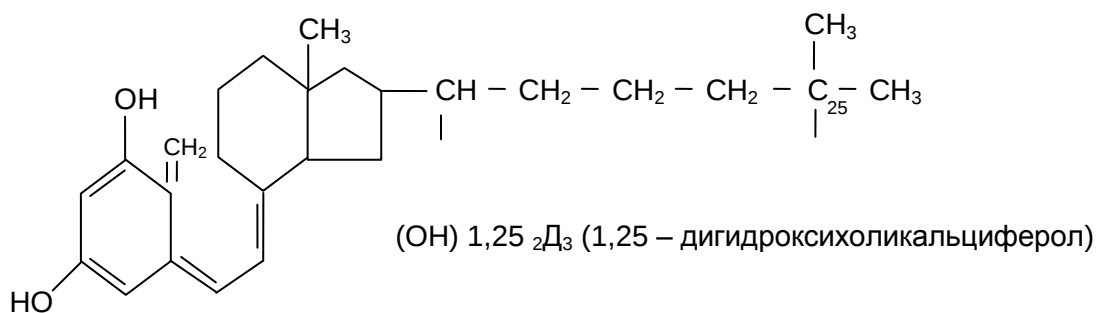
1. Bir-ikkita na`matak mevasi hovonchada maydalanadi, songra 2-3 ml xloroform qo`shib, maydalash yana bir daqiqa davom ettiriladi, filtrlanadi va to`q sariq rangli filtrat olinadi.
2. Tarkibida karotin bolgan shu filtratdan bir necha tomchisi probirkaga olinib, ustiga uchxlorsurmaning xloroformli eritmasidan taxminan 20 tomchisi tomizilganda kok rang paydo boladi, rang vaqt otishi bilan ozgarmaydi.
3. Probirkaga bir necha tomchi xloroformli ekstrakt olib, bir tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi qoshilsa, ko`k rang hosil boladi va vaqt o`tishi bilan rang quyuqlashadi.
4. Bir necha tomchi xloroformli ekstraktga 1-2 tomchi bromli suvdan qo`shib, aralashtirilganda bromli suv rangsizlanadi. Reaksiya davomida karotin ham o`z rangini yo`qotadi. Bromli suvdan ortiqcha quymaslik kerak, chunki u xloroformli qavatda ham rangli ozgarishga sababchi bo`lishi mumkin.

D vitamini (kalsiferol, antiraxit vitamini)

Molekulasi siklopentanpergidrofenantren qurilishidagi bir nechta to'yinmagan sterinlar D avitaminozida vitaminlik faolligiga ega. Bularga ultrabinafsha nurlar ta'sirida ergosterol provitaminidan sun'iy yo'l bilan olinadigan ergokalsiferol (D_2 vitamini) va hayvon, odam terisida, baliq moyida 7-degidroxolesterindan tabiiy hosil boladigan xolekalsiferol (D_3 vitamini) kiradi. Ikkala vitamin toza korinishda rangsiz kristallardan iborat bolib, suvda erimaydi, yog'lar va organik erituvchilar (spirt, efir va boshqalar)da yaxshi eriydi.

D vitaminlari ishqorlar ta'siriga nisbatan chidamli, ammo anorganik kislotalar, havo kislorodini uzoq vaqt davomida ta'sir etishida, vitamin eritmalarini yuqori haroratda ($200^{\circ}S$) qizdirganda parchalanib, biologik faolligini yoqotadi. Organizmda D_3 vitamini faol 1,25-digidroksixolekalsiferolga aylanib, kalsiy bog'lovchi oqsil sintezini stimullash yoli bilan ichakdan kalsiyl, balki fosfatlarni ham so'rilishini oshiradi va fosforli-kalsiy almashinuvini boshqaradi.

D vitamini yetishmovchiligi asosan suyak toqimasiga tegishli bo'lib, bolalarda raxit kasalligini keltirib chiqaradi. Bunda anorganik fosfor va kalsiyni qondagi miqdori kamayib ketadi, suyaklarda kalsiy-fosfat tuzlarini to'planishi buzilishi natijasida suyak toqimasining tarkibiy qismlari sorila boshlaydi, suyakni deminerallashuvi uning yumshashiga va egilishiga olib keladi.



Yosh bolalarning D vitaminiga sutkalik eh tiyoji 15-25 mkg, bu miqdor 500-1000 ME (1 ME=0,025 mkg) D_2 yoki D_3 vitaminiga to g'ri keladi. D vitamini dengiz baliqlari moyida, sariyo g'da, tuxum sari g'ida ko'p.

51- tajriba : D vitaminini baliq moyida anilin reaktivi bilan aniqlash

D vitamini saqlagan baliq moyiga anilin va konsentrlangan xlorid kislota qoshib qizdirilganda aralashmada qizil rang hosil bo'ladi.

Tekshiriluvchi material: baliq moyi

Reaktivlar: Anilin reaktivi (15 qismi anilin va 1 qismi konsentrlangan xlorid kislota).

Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

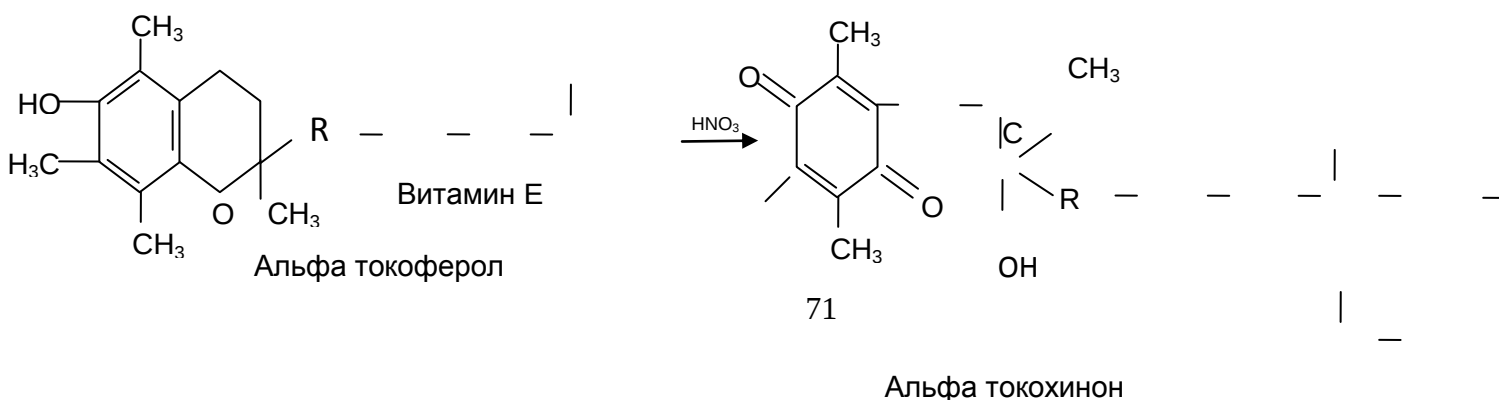
1. Probirkadagi 10 tmchi anilinning konsentrlangan xlorid kislotadagi eritmasiga 5 tomchi baliq moyidan tomiziladi.
2. Aralashmani 30 sekund davomida ehtiyotkorlik bilan qizdirilib, qaynatilganda D vitaminining sariq rangli emulsiyasi avval kokish, songra qong`ir-qizil yoki qizil rang beradi.

E vitamini (tokoferol, kopayish vitamini)

α -tokoferol sirka kislotasi efiri korinishidagi kristall modda shaklida tabiiy osimlik yog`laridan (bu g`doy kurtagidan) ajratib olingan, yog`larda va organik erituvchilarda yaxshi eriydi; kislota va ishqorlar ta`siriga chidamli, odatdagi ovqat tayyorlash sharoitida (170°S gacha) buzilmaydi, suvda erimaydi, ammo kuchli oksidlovchilar ta`sirida biologik inert-xinon tipidagi moddaga aylanadi. E vitamini kopayish uchun zarur, uning hayvonlar oziqasida yetishmasligida bepushtlik kuzatiladi. Odam organizmida uning yetishmovchiligi yetarli organilmagan, chunki oziqa moddalarida keng tarqalganligi sababli inson oddiy hayotda E vitamini bilan yetarli miqdorda ta`minlangan sanaladi. Ammo E vitamini tibbiyot amaliyotida bepushtlikda, asab-mushak tizimi kasalliklarini davolashda qo`llaniladi. Katta kishilar uchun E vitaminiga bolgan sutkalik ehtiyoj 30 mg hisoblanadi. Vitamin miqdor jihatdan bug`doy kurtagi, olma urug`i, na`matak, joxori, loviya, soya tarkibida, hayvon mahsulotlaridan go`sht, yog`, jigar, tuxum sarig`i, sutda ko`p. E vitamini organizmda ozlashtirilishi uchun ichakda o`t suyuqligi bo`lishi kerak.

E vitamini oksidlanishga qarshi samarali ta`sir korsatib, mitoxondriyalar tarkibidagi toyinmagan lipidlarni parchalanishdan himoya qiladi, oziqa moddalaridagi karotin va A vitaminini oksidlanishdan asraydi.

52- tajriba : E vitaminiga konsentrlangan nitrat kislota bilan sifat reaksiyasi



Konsentrlangan nitrat kislota ta'sirida E vitaminining spirtli eritmasidagi α -tokoferolni oksidlanishidan hosil bo'lgan xinoidli unumi qizil rang beradi.

Tekshiriluvchi material: tokoferolning 0,1% spirtli eritmasi.

Reaktivlar: konsentrlangan nitrat kislota

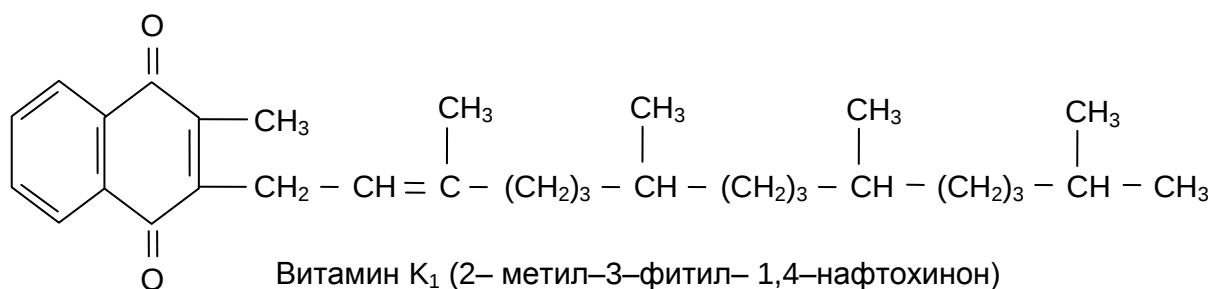
Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 5 tomchi E vitaminining 0,1% spirtli eritmasidan olib, 10 tomchi konsentrlangan nitrat kislotasi qo'shiladi.
2. Hosil bo'lgan emulsiya chayqatilganda asta-sekin qizil rangga bo'yaladi.
3. Vaqt otishi bilan emulsiya ikki qatlamga ajralib, rang yuqoridagi yog' qismida qoladi.

K vitamini (filloxinon, antigemorragik vitamin)

K vitamini (filloxinon) suvda erimaydigan sariq rangli yog' bo'lib, yorug'lik va ishqorlar ta'sirida oson parchalanadi, neytral muhitda qizdirishga chidamli. K₂ vitamini (farnoxinon) – sariq kristalli kukun, suvda erimaydi, qizdirishga va ultrabinafsha nur ta'siriga chidamsiz. Uning biologik faolligi K₁ vitaminiga nisbatan kamroq. Ikkala vitamin sintezlangan bo'lib, 2-metil-1,4-naftoxinonning unumi hisoblanadi:



K vitamini jigar to'qimasida qon ivishida ishtirok etuvchi bir qator omillarning (II, VII, IX, X) sintezlanishi uchun nihoyatda zarur modda hisoblanadi. Ushbu omillarning oqsilli strukturasidagi glutamin kislotalariga yana bitta karboksil guruhi kiritilsa, γ -karboksilglutamin kislotasi qoldig'i hosil bo'lib, u orqali kalsiy ionlari bog'lanadi. Shuning uchun organizmga K vitamini antagonistlari masalan, dikumarol va uning unumlari yuborilganda, qonning ivish vaqti ortadi. K vitamini avitaminozida teri osti va mushak ichida qon quyilishi kuzatilib, qonda protrombin miqdori kamayadi. Ichak mikroflorasi K vitaminini tabiiy manbasi bolganligi tufayli

ayrim ichak kasalliklarida, ot suyuqligi ichakka tushmaganida K vitaminini sorilishi pasayib, odam organizmida K gipovitaminozi belgilari kuzatilishi mumkin.

K vitamin miqdori karamda, ismaloqda, gazanda o'tda, ryabina mevasida, cho'chqa jigarida nisbatan ko'p bo'ladi.

53- tajriba : K vitamining sifati reaksiyalar

Tekshiriluvchi material: K vitaminining etanoldagi to'yingan eritmasi

Reaktivlar: Dietilditiokarbomat natriyning etanoldagi 2% li eritmasi. Natriy gidroksidning etanoldagi 4% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

A. Probirkaga 4 tomchi K vitaminining spirtli eritmasidan olib, 8 tomchi dietilditiokarbomat natriy eritmasidan va 4 tomchi natriy gidroksidning spirtidagi eritmasidan qoshiladi.

1. Probirka chayqatilganda sekin-asta qizil rang paydo bo'ladi.

B. Ishqoriy muhitdagi vikaol eritmasiga sisteyn qoshilganda to'q sariq rang paydo bo'ladi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 5 tomchidan 0,05% vikaol va 0,025% sisteyn eritmalaridan olib, 1 tomchi 10% li natriy gidroksid qoshilganda aralashma to'q sariq rangga kiradi.

Vitaminlarga sifat reaksiyalari natijalarini quyidagi jadval shaklida ko'rsating:

13-jadval

Vitaminlarga xos sifat reaksiyalar

№ Probirkalar	Vitaminli material	Vitamin nomi	Ishlatiladigan reaktivlar	Suyuqlik rangi, chokma, flyuoressensiya, maxsus hid hosil bolishi, suyuqlikning rangsizlanishi	Reaksiya nimaga asoslangan

Xulosada tekshirilayotgan vitaminni struktura formulasini yozing va vitaminning kimyoviy strukturasini bilan sifat reaksiyasi ortasidagi kimyoviy o'zgarishni bog'liqligini ko'rsating.

Nazorat savollari

1. Vitaminlar nima va nima uchun ular shunday nomlangan?
2. Vitaminlar qanday tasniflanadi?
3. Avitaminozlar va gipovitaminozlar nima, ularning kelib chiqish sababi nimada?
4. Oziqa tarkibidagi vitaminlar B₁, B₂, B₆ PP va C yetishmasligidagi avitaminozlarni qanday maxsus belgilari bor?
5. Ovqat tarkibidagi A, D va K vitaminlari yetishmaganda qanday kasalliklar kelib chiqadi?
6. Vitaminlarga xos qanday sifat reaksiyalarni bilasiz?
7. Vitaminlar bilan fermentlar ortasida qanday bog'liqlik bor?
8. Vitaminlar aralashmasini qaysi usul yordamida ajratish mumkin? Mazkur usul nimaga asoslangan?

GORMONLAR

Gormonlar turli kimyoviy tabiatga ega bo'lgan bioorganik birikmalar bo'lib, ko'p hujayrali organizmlarda fiziologik jarayonlarni boshqaradi. Gormonlarning toqima gumoral bioregulyatorlaridan farqi ixtisoslashgan bez hujayralarida hosil bo'ishi bilan boshqaruv funksiyalarini gumoral yol orqali namoyon qiladi. Gormonlar bevosita nerv tizimi ishtirokida periferik organ va toqima hujayralarining metabolizmi, fiziologiyasi va morfologiyasiga turli yonalishlarda ta'sir ko'rsatadi. Ular hujayralarda oqsil va DNK ni sintezlanish darajasini; mitotik faolligini, toqimalar differensiallanishini, metabolik moslashish va gomeostaz barqarorligini, xulq-atvorni belgilaydi. Hozirgi vaqtda ma'lum bo'lgan barcha gormonlarning kimyoviy qurilishi aniqlangan, xossalari organilgan, bular oz navbatida gormonlar biosintezi va metabolizmini tushunishga, biologik materiallarda aniqlash usullarini ishlab chiqishga yordam berdi. Ba'zi gormonlar ozlarining kimyoviy tabiatiga kora oqsil-peptidlarga taalluqli (gipofizning old va orqa qismi gormonlari, insulin), aminokislotalar unumlaridan bo'lgan tiroksin, adrenalin va noradrenalin asosan tirozin metabolitidan iborat. Buyrak usti bezi postloq qismi va jinsiy bez gormonlari yog'da eruvchi steroid xususiyatga ega. Gormonlarni organizm suyuqliklariga chiqishi teskari bog'lanish qoidasi asosida boshqariladi.

Ichki sekretiya bezlari funksiyasi patologiyasi ko'pincha, gormon miqdorining yetishmasligi (gipofunksiya) yoki gormon organizm talabidan ortiqcha (giperfunksiya) ajratilishi

oqibatida kelib chiqadi. Ikkala vaziyatda ham organizm modda almashinuvi boshqarilishida yoki uning alohida olingan qismida jiddiy ozgarishlar kuzatiladi. Bu vaqtda har xil faollikda ishlayotgan bezlar ozlari ajratayotgan gormonlari bilan biri ikkinchisini funksiyasiga salbiy ta'sir ko'rsatishi mumkin. Normal sharoitda va patologik holatlarda endokrin bezlar funksiyasi oliy nerv tizimi nazoarti ostida bo'ladi, aksincha, ayni vaqtda gormonlar ham oliy nerv faoliyatiga o'z ta'sirlarini korsatadilar. Masalan, qalqonsimon bezning tireotoksikoz kasalligida (giperfunksiya) gormon miqdorining ortiqcha ajralishi bir vaqtning o'zida oliy nerv tizimi faoliyatida qoz g'alish jarayonlarini kuchaytiradi. Hozirda aniqlanishicha, har bir gormon o'z ta'sirini hujayra membranasida yoki sitoplazmada joylashgan axborotni qabul qiluvchi maxsus molekula-retseptor orqali ko'rsatadi. Gormonlarni hujayra metabolizmiga ta'sir etish mexanizmida uchta yo'nalish farqlanadi:

1. Gormonlarni modda almashinuvini o'zgartira oladigan asosiy hujayra ichki maxsus fermentlar tizimiga ta'siri.
2. Gormonlarni h ujayra membranalari otkazuvchanligiga ta'siri.
3. Gormonlarni fermentlar yoki strukturali oqsillar biosintezini ta'minlovchi genetik apparatga ta'siri.

Oqsil-peptid gormonlari

Oqsil-peptid qurilishidagi gormonlar qatoriga gipotalamus, gipofiz, qalqonsimon bez oldi bezi, oshqozon osti bezi gormonlari kiradi. Ichki va tashqi qoz g'atuvchi omillar ta'sirida vujudga kelgan impulslar oliy nerv tizimiga, undan birlamchi gormonal faol moddalar sintezlanadigan gipotalamusga tushib, "ma'lum masofada" ta'sir qiluvchi rilizing-omillarni sintezlaydi. Rilizing-omillar qon orqali gipofiz beziga yetib, gipofizda periferik bezlar gormonlarini sintezini stimullashda yoki ingibirlashda ishtirok etuvchi tropinlar biosintezini, bular esa oz navbatida periferik endokrin bezlarida kerak bolgan gormonlarni ishlanishini ta'minlaydi.

Me'da osti bezi gormoni – insulin

Insulin oqsil, ikkita disulfid koprikchalari bilan bog'langan ikki zanjirli (A va B) polipeptid. Disulfid koprikchalarini buzilishi insulinning gormonal faolligini yoqolishiga olib keladi. Kalta A zanjiri 21 ta aminokislota qoldi g'idan, B zanjiri 30 ta aminokislota qoldi g'idan iborat. Alohida olingan har bir zanjiri biologik faollikka ega emas. Insulin me'da osti bezi Langergans orolchalarining β -hujayralarida faol bolmagan 84 ta aminokislotali proinsulindan hosil bo'ladi. Proinsulin qonga otish oldidan karboksipeptidaza fermenti ishtirokida 33 ta aminokislotali S peptidga va 51 ta aminokislota qoldig'idan tuzilgan faol insulinga parchalanadi.

Insulinning odam va 20 dan ortiq hayvon organizmlarida birlamchi strukturasi oxshashligi aniqlangan. Turlararo farq A zanjirining 8-10 – aminokislotalarida, B zanjirining 30-aminokislotasida topilgan. Hozirgi vaqtda odam insulinining tola kimyoviy va molekulyar biologik (gen injenerlik) sintezi amalga oshirilgan.

Insulinning organizmdagi asosiy funksiyalari quyidagicha: 1) insulin yog` va mushak hujayralari membranasida glyukozaga nisbatan otkazuvchanlikni oshiradi, glyukoza  $SO_2$  va  $N_2O$  gacha oksidlanib, energiya hosil qiladi yoki glikogen va yog`lar sintezida foydalaniladi; 2) jigarda geksokinaza (glyukokinaza) fermenti sintezini faollashtirib, glyukozani fosforlanishini katalizlaydi; 3) glikogen va yog`larni glyukozadan sintezlanishini kuchaytiradi; 4) yog`larni oksidlanishini susaytiradi; 5) glyukoneogenez jarayonining asosiy fermentlarini ingibirlab, oqsillarni glyukozaga aylanishini toxtatadi. Insulinning sanab otilgan ushbu ta`sirlari qon tarkibida qand miqdorini kamayishiga – gipoglikemiyaga olib keladi.

Aksincha, insulin tanqisligida qandli diabet kasalligi kuzatilib, qonda glyukoza miqdorini oshishi (giperglikemiya) oqibatida glyukozani siydik bilan ajralishiga (glyukozuriya) va yog` kislotalarining oksidlanishini kuchayishi hisobiga atseton tanachalarining siydikda paydo bo`lishiga sabab bo`ladi. Uglevodlar va yog`lar almashinuvini normallashtirish uchun qandli diabet bemorlariga parenteral yol bilan hayvon insulini (chochqa yoki mollar me`da osti bezidan olingan) yoki h ozirgi vaqtda gen injenerlik usuli bilan tayyorlanayotgan odam insulini yuboriladi. Insulin ichakda proteolitik fermentlar ta`sirida oson parchalanganligi sababli uni o g`iz orqali ichishni iloji yoq. Insulinning kimyoviy tabiatini aniqlashda oqsillar uchun qollaniladigan rangli va cho`kmaga tushirish reaksiyalaridan foydalaniladi. Insulin tarkibidagi oltingugurt Fol reaksiyasi bilan ochiladi. Insulin oqsil tabiatli gormon bolganligi sababli oqsillarga xos barcha sifat reaksiyalari bilan ochish mumkin.

54- tajriba : Biuret reaksiyasi

Biuret reaksiyasini hamma oqsillar, ularning to`liq bo`lmagan gidroliz unumlari – peptonlar, polipeptidlar va tarkibida kamida ikkita peptid bog`i bo`lgan peptidlar beradilar. Rangning to`qlik darajasi peptid zanjirining uzunligiga bog`liq.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi (tayyorlanishi 1-ilovada). 1% li jelatina eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi.

Reaktivlar: Natriy gidroksidning 10% li eritmasi. Mis sulfatning 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativlar. Pipetkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

5. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5-10 tomchi tuxum oqsilining 1% li eritmasidan, ikkinchisiga 5-10 tomchi qon oqsilining 1% li eritmasidan, uchinchisiga 5-10 tomchi jelatinaning 1% li eritmasidan solinadi.
6. Barcha probirkalarga 10 tomchidan natriy gidroksidning 10% li eritmasidan va mis sulfatning 1% li eritmasidan 1 tomchidan tomizilib, aralashtiriladi.
7. Uchala probirkada qizil-binafsha yoki ko`kish-binafsha rang hosil bo`ladi.
8. Polipeptidlarning misli kompleksini sxematik ravishda quyidagicha tasvirlash mumkin:

55- tajriba : Geller reaksiyasi

Oqsillar eritmasi konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida (fosfat kislotadan tashqari) denaturatsiyalanadi va cho`kmaga tushadi. Cho`kma hosil bolishi oqsil molekulasini degidratatsiyasi va ular zaryadining neytrallanishi hamda boshqa sabablarga, masalan, oqsil va kislotadan suvda erimaydigan kompleks hosil bolishiga bog`liq bolishi mumkin. Sulfat va xlorid kislotalarini uzoq vaqt davomida oqsil cho`kmasiga ta'sir qilishi yoki shu kislotalarning ortiqcha miqdori denaturlangan oqsil cho`kmasini eritib yuborishi mumkin. Nitrat kislotada bu xususiyat bolmaganligi uchun kopincha undan tekshiriluvchi materialda oqsilni aniqlashda foydalaniladi.

Tekshiriluvchi material: ampuladagi insulin eritmasi.

Reaktivlar: Natriy gidroksidning 10% va 30% li eritmasi. Mis sulfatning 1% li eritmasi. 0,1% li fenol eritmasi. 0,05% li tirozin eritmasi. Millon reaktivi (tayyorlanishi 2-ilovada). 1% li jelatina eritmasi. 5% li qor g`oshin atsetat eritmasi. Fol reaktivi (tayyorlanishi 3-ilovada). Konsentrlangan nitrat kislota. Konsentrlangan sulfat kislota. Konsentrlangan xlorid kislota.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Pipetkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga taxminan 1 ml (15-20 tomchi) konsentrlangan nitrat kislotasi va probirkani 45° ga engashtirgan holatda nihoyatda ehtiyotkorlik bilan probirka devori bo`ylab teng hajmda oqsil eritmasi qo`shiladi.
2. Ikkala suyuqlik bir-biriga tegib turgan joyda halqasimon oq amorf cho`kma ko`rinadi (Geller probasi).
3. Probirkani astalik bilan silkitib, ortiqcha nitrat kislotasi qoshilganda cho`kma yo`qolmaydi.
4. Aynan shu tajriba nitrat kislotasi ornida konsentrlangan sulfat yoki xlorid kislotalarining ortiqcha miqdori qo`shilib qaytarilganda oqsil cho`kmasi erib ketadi.

Gormonlar – aminokislotalar unumlari

Bu sinf gormonlari L-tirozin va L-triptofan aminokislotalari unumlaridir. Tirozin unumlari – katexolaminlar va tireoid gormonlari. Triptofan unumlari – melatonin.

Katexolaminlar – adrenalin (epinefrin), noradrenalin (norepinefrin) – buyrak usti bezlarining mag`iz qismida, dofamin esa gipotalamik – gipofizotrop yadrolarda ishlab chiqariladi. Bu birikmalar L-tirozin molekulasining unumlari bo`lib, halqa qismining 3-uglerodiga qoshimcha gidroksil guruhi kiritilgan (dioksifenilalanin), yon zanjiri esa dekarboksillangan.

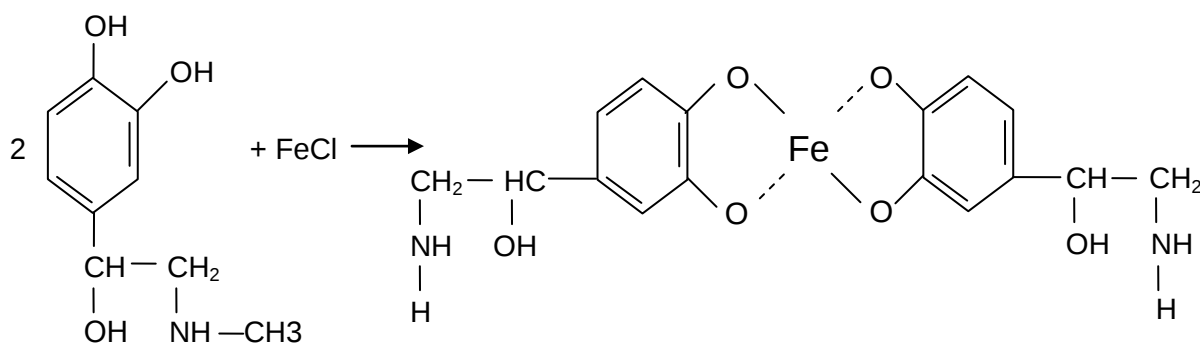
Buyrak usti bezi ma g`iz qismi gormoni – adrenalin

Adrenalin kimyoviy strukturasi asosini pirokatexin yadrosi tashkil qilib, buyrak usti bezi mag`iz qismida va boshqa toplamlardagi xrommafin hujayralarda tirozin aminokislotasidan sintezlanadi. Metil guruhi manbasi sifatida metioninning faol shakli – S-adenozilmetionin qatnashadi. Vena qonidagi adrenalinning miqdoriy ozgarish chegarasi nih oyatda katta – 1,4-15 mkg% (7,6-82 nmol/l) bo`lib, asab taranglashganda bu korsatkich yanada ortadi. Adrenalin bir qancha fiziologik va metabolik jarayonlarga ta`sir ko`rsatib, ular funksiyasini o`zgartiradi. U glikogendan glyukozani hosil bolishini katalizlaydigan fosforilaza fermentini faollashtirib, qonda glyukoza darajasini oshiradi. Adrenalin organizmga yuborilganda giperglikemiya, glyukozuriya holatlari kuzatilgan, to`qimalarda lipaza fermentini faolligi ortib, qonda erkin yo g` kislotalari miqdori ko`paygan. Yurak urishi tezlashib, qon bosimini kotarilishi, uning ta`sirida simpatik nerv tizimi qozg`alishida kuzatiladigan ozgarishlarga oxshashlik borligini ko`rsatadi.

Adrenalin – oq kukunsimon modda, suvda, ayniqsa ishqor va kislotali muhitlarda yaxshi eriydi. Suvli eritmasi ishqoriy xossaga ega. Havo, yorug`lik va issiqlik ta`sirida parchalanib, avval pushti, songra qizil va toq qon g`ir rangga bo`yaladi. Adrenalin juda ham oz miqdorda – 0,1-0,01 mkg /1 kg da (tana vazniga) fiziologik ta`sirga ega. U oshqozon-ichak yo`llarida tez parchalanganligi uchun odatda teri ostiga yoki vena tomiriga yuboriladi.

56- tajriba : Adrenalinga temir xloridi bilan sifat reaksiyasi

Adrenalin temir xloridi bilan reaksiyaga kirishganda och yashil rang beradi. Reaksiya adrenalin molekulasidagi pirokatexin guruhini fenol korinishidagi ko`k rangli birikma hosil qilishiga asoslangan: Aynan shunday bo`yalgan rangli reaksiya temir xloridi ishtirokida pirokatexin bilan ham olinadi.



Tekshiriluvchi material: adrenalinning 0,1% li eritmasi.

Reaktivlar: Temir xloridning 3% li eritmasi. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi. Pirokatexinning 0,05% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar. Pipetkalar.

Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga olingan 10 tomchi adrenalinning 0,1% li eritmasiga 1 tomchi 3% li temir xloridi qoshilganda och yashil rang hosil bo`ladi, ustiga 1 tomchi 10% li natriy gidroksid tomizilsa, probirkadagi suyuqlik rangi avval to`q qizil, so`ngra qo`ng`ir rangga o`tadi.
2. Xuddi shunday reaksiya pirokatexinning 0,05% li eritmasi bilan qaytarilganda ham kuzatilgan. Reaksiya natijasi pirokatexin yadrosida adrenalin molekulasini borligini isbotlaydi.

57- tajriba : Adrenalin miqdorini Folin bo`yicha aniqlash

Mazkur usul adrenalinning Folin reaktivi bilan o`zaro reaksiyaga kirishishidan hosil bo`lgan ko`k rangni ravshanlik darajasini kolorimetrdagi aniqlashga asoslangan. Tarkibida volframfosfat va molibdenfosfat kislotalari tuzlari saqlagan Folin reaktivi adrenalin bilan qaytarilishi natijasida ko`k rangli metall oksidlari kompleksini hosil qiladi.

Tekshiriluvchi material: adrenalinning 0,1% li eritmasi.

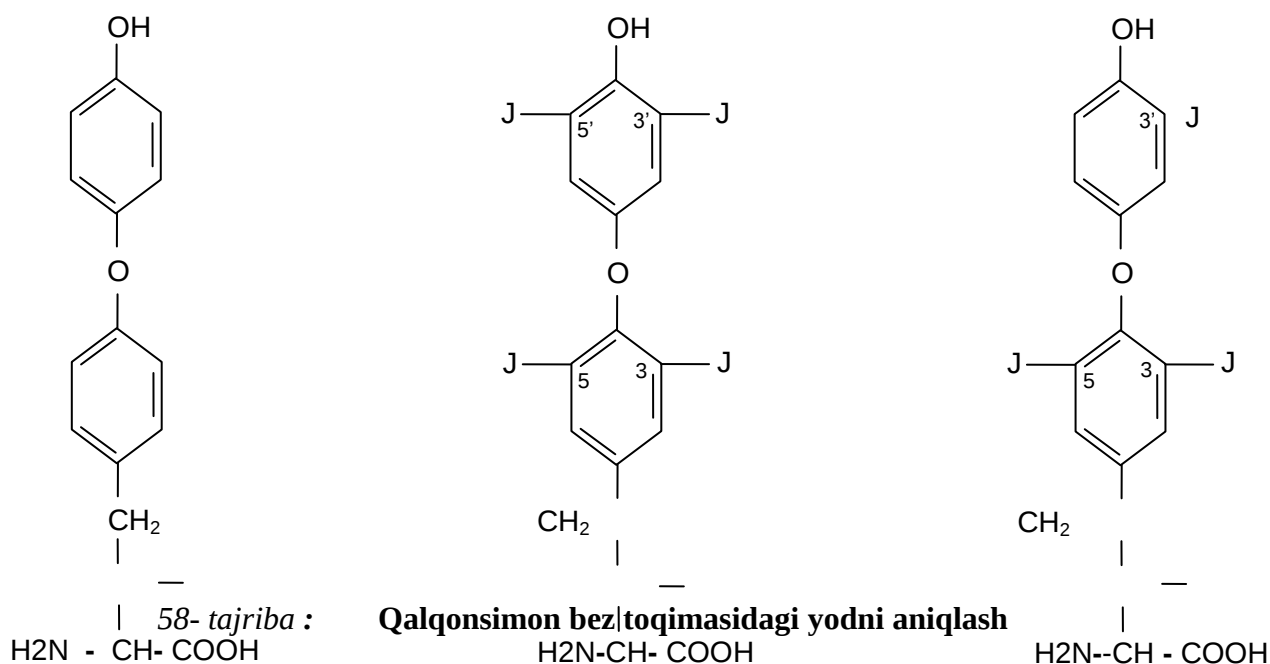
Reaktivlar: Folin reaktivi (tayyorlanishi 14-ildovada). Natriy karbonat tuzining 10% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. 1 va 5 ml li pipetkalar.FEK.

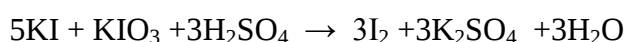
Ishning bajarilishi.

1. Probirkaga 1 ml tekshirilayotgan adrenalin eritmasidan, 4 ml natriy karbonat tuzining 10% li eritmasidan va 0,5 ml Folin reaktividan qoshib, aralashtiriladi.
2. 5 daqiqadan song h osil bolgan kok rangni FEK da qizil filtrda nazoratga (1 ml suv+4 ml 10% karbonat natriy+0,5 ml Folin reaktivi) nisbatan o`lchanadi.
3. Adrenalin miqdori g/l da 0,01; 0,02; 0,04 g/l adrenalin bo`yicha tuzilgan kalibrlash egri chizig`i yordamida aniqlanadi.

alqonsimon bezda L-tironin unumlari bo'lgan ikkita yod saqlagan gormon ishlanadi – bular triyodtironin (T₃) va tetrayodtironin (T₄ tiroksin). Ular qalqonsimon bezning maxsus oqsili tireoglobulin tarkibidagi tirozinning yodlanishi natijasida sintezlanadi. Qonda gormonlar oqsillar bilan bog'langan holda uchraydi, bog'langan shakli muhim diagnostik kursoratkich hisoblanadi. Normada uning miqdori 5 dan 12 mkg% (394-945nmol/l) oralig'ida bo'lib, qalqonsimon bez funksiyasining holatiga qarab kopayishi (gipertireozda) yoki kamayishi (gipotireozda) mumkin. Yosh bolalarda qalqonsimon bez gipofunksiyasi aqliy va jismoniy rivojlanishni toxtatadi, kattalarda esa organizmda suvning toplanishi natijasida shish (miksedema) paydo bolishiga sabab bo'ladi. Bu vaqtda davolash choralari sifatida qalqonsimon bez gormonlari va undan tayyorlangan preparatlar qo'llaniladi. Ayrim hududlarda suvni mineral tarkibida yodni yetishmasligi qalqonsimon bez funksiyasini pasayishiga va uning tashqi ko'rinishi bolgan endemik boqoqni paydo bolishiga olib keladi. Endemik buqoqni oldini olish maqsadida osh tuzi yodlanadi. Qalqonsimon bez gormonlarining faollik darajasi tironin halqalaridagi yodni joylashishiga qarab belgilanadi. Masalan, mono- va diyodtironinlarning gormonal ta'siri yoq. Faqat 3 ta yoki 4 ta yod atomi saqllovchi tironinlar faol ta'sirga ega. Bunda A halqaning 3,5-vaziyatdagi, V halqasining 3' vaziyatdagi uglerodni yodlanishi gormonal faollik bilan bo'g'liq.



Maydalangan va quritilgan qalqonsimon bez toqimasini kaliy yoki natriy karbonat bilan eritib, qotishma qilinganda kaliy yodid hosil boladi. Kaliy yo'did kislotali muhim itda kaliy yod oksidi bilan (KIO₃) reaksiyaga kirishganda erkin yod ajralib chiqadi, uni kraxmalni yod bilan bo'yalishiga qarab aniqlash mumkin:



Tekshiriluvchi material: maydalangan va quritilgan qalqonsimon bez toqimasi.

Reaktivlar: Kaliy yoki natriy karbonat tuzining kukuni ($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$). Konsentrlangan sulfat kislota. Kraxmalning 1% li eritmasi. Kaliy yod oksidining 1% li eritmasi.

Jihozlar: Farforli hovoncha. Farforli tigel. Shisha tayoqchalar. Diametri 3-5 sm li qog'oz filtrli voronkalar. Probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

100-200 mg maydalangan va quritilgan qalqonsimon bezni hovonchada 500 mg kaliy yoki natriy karbonati bilan yaxshilab maydalab, tigelga solinadi va asbest setkasi ustida past olovda qizdiriladi (qoraymasligi kerak!).

1. Qotishma kukunga aylanib, oziga xos hid chiqarganda qizdirish to'xtatiladi.
2. Tigel sovutilib, 2 ml issiq suv qoshiladi, yaxshilab aralashtirilgach, filtrlanadi.
3. Filtratga 3-5 tomchi konsentrlangan sulfat kislota, 2-3 tomchi 1% li kraxmal eritmasi va 1-2 tomchi kaliy yod oksidi qo'shiladi. Ajralayotgan yod kraxmal bilan ko'k rang beradi.

Ish natijasi jadval shaklida rasmiylashtiriladi.

14-jadval

Gormonlarga xos sifat reaksiyalar

Ichki sekretsia bezining nomi	Bez ajratadigan gormon	Gormonning kimyoviy qurilishi	Tekshirilayotgan material	Qo'llanilayotgan reaktivlar	Hosil bo'lgan mahsulot, uning kimyoviy reaksiyasi

Xulosada tekshirilayotgan gormonni modda almashinuvidagi roli, giper- va gipofunksiyasi, bajarilgan sifat reaksiyasini kimyoviy tabiati keltirilsin.

Buyrak usti bezi postloq qismi gormonlari (kortikosteroidlar)

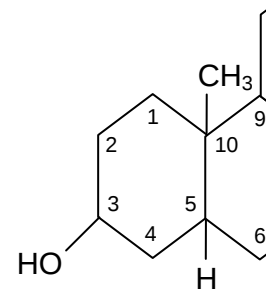
Bu sinf gormonlari lipid tabiatli politsiklik birikmalar bo'lib, qurilishining asosini siklopentanpergidrofenantren tashkil qiladi. Kortikosteroidlar buyrak usti bezi postloq qavatida – uglevodlar va lipidlarni oksidlanishidan hosil bo'lgan sirka kislotasining faol shakli atsetilkoenzim-A dan va xolesterindan sintezlanadi. Bu reaksiyada muhim oraliq mahsulot progesterondan ayollar (estrogenlar) va erkaklar (androgenlar) jinsiy gormonlari hosil boladi. Steroid gormonlar biosintezida NADF (vodorod akseptori), $\text{NADF} \cdot \text{N}_2$ (vodorod donori) ga bo'g'liq bo'lgan bir qator fermentativ reaksiyalar va energiya manbai sifatida ATF ishtirok etadi. Normal sharoitda kortikosteroidlar biosintezi asosan sirka kislotasidan, zoriqish holatlarida esa

(past harorat, jismoniy shikastlanish, qon yoqotish va boshqalar) qisqa yol bilan – xolesterindan sintezlanadilar. Keyingi yol gipofiz oldi qismi gormoni adrenokortikotropin (AKTG) yordamida xolesterinni progesteronga aylanish jarayonini stimullanishi hisobiga bajariladi. Po`stloq qismi gormonlari (kortikosteron, kortizol, kortizon, aldosteron) oqsillar parchalanishini kuchaytirish bilan birga glyukoneogenez jarayonida glyukozani qand xususiyatiga ega bo`lmagan moddalardan sintezlanishida (masalan, aminokislotalarning azotsiz qoldig`idan) qatnashuvchi asosiy fermentlarning faolligini oshiradi. Shuning uchun ham ushbu gormonlarni ortiqcha miqdorda ishlanishi giperglikemiya va glyukozuriya holatlarini keltirib chiqaradi (steroidli diabet). Dezoksikortikosteron va aldosteron minerallar almashinuviga ta'sir krsatadi – natriy va xlor ionlarini organizmda saqlanishiga, kaliy ionlarini siydik bilan chiqib ketishiga yordam beradi, yetishmaganda esa natriy, xlor, bikarbonatlar siydik orqali yo`qotilib, kaliy organizmda ushlab qolinadi.

Normal sharoitda kortikosteroidlarni organizmda doimiy sintezlanib turishiga qaramay, ularning katta qismi jigarda parchalanishi tufayli ortiqcha gormonal faolliqi sezilmaydi.

Gormon degradatsiyaga uchraganda uning siklopentan pergidrofenan- tren yadrosidagi tetratsiklik strukturasi buzilmaydi, 4- va 5-uglerod atomlari orasidagi ikkilamchi bog` uziladi, gormonning biologik faolliqi yoqolib, yon zanjirining 17-orindagi ketoguruhi oksidlanadi. Hosil bo`lgan almashinuv mahsuloti 17-ketosteroidlar degan umumiy nom bilan atalib, sulfat va glyukuron kislotalari bilan qoshaloq birikmalar korinishida siydik orqali ajraladi. 17-ketosteroidlar ayollarda butunlay kortikosteroidlardan, erkaklarda $\frac{2}{3}$ qismi postloq qismi steroidlaridan va $\frac{1}{3}$ qismi esa testikul gormonlari hisobiga hosil boladi. Shuning uchun erkaklarda 17-kortikosteroidlar sutkasiga siydik bilan shu yoshdagi ayollarga nisbatan ko`proq ajratiladi. 17-ketosteroidlarning ko`pchiligi neytral xossali, (neytral 17-ketosteroidlar), ba`zilari esa kislotali (fenolli 17-ketosteroidlar), bularga estrogenlar (estron) kiradi. 17-ketosteroidlarni aniqlashda avval ularni ishqor yordamida neytral 17-ketostereoidlardan ajratib olinadi. Neytral 17-ketosteroidlar strukturasiidagi uchinchi uglerod atomidagi ON guruh ini 10-orindagi uglerod atomi oldidagi SH₃ guruh iga nisbatan “sis” (β) yoki “trans” (α) vaziyatda joylashishiga qarab α - va β -ketosteroidlarga bo`linadilar.

Odam siydigida uchraydigan neytral 17-ketosteroidlar asosan andosteron, etioxolanolon, degidroepiandrosteron, epiandrosteron va boshqalardan iborat.



Buyrak usti bezi, testikul, gipofiz oldi qismi giperfunksiyasi bilan kechadigan kasalliklarda, zoriqish holatlarida 17-ketosteroidlarning siydik bilan ajralishi kopayadi, kamayishi esa shu bezlarni gipofunksiyasida va ba'zi modda almashinuvi kasalliklarida (miksedema va boshqalar) kuzatilgan. 17-ketosteroidlarni siydikda aniqlanishi ma'lum darajada buyrak usti postloq qismi funksiyasini nazorat qilishda, kasalliklarni AKTG va kortikosteroidlar bilan to'g'ri davolashda muhim ahamiyat kasb etadi.

59 - tajriba : Kortizolni aniqlashdagi sifat reaksiyasi

1. 1 ml kortizolning spirtli eritmasiga 0,25 ml tetrametil ammoniy gidroksidi va 0,25 ml tetrazol koki eritmalaridan qo'shib, aralashtiriladi va qorong'ida 25 daqiqaga qoldirilganda suyuqlik pushti rangga bo'yaladi.
2. Ushbu usul kortikosteroidlar miqdorini biologik suyuqliklarda kolorimetr yordamida aniqlashda ham qo'llaniladi.
3. Reaksiya tetrazol kokini siklopentanpergidrofenantren yadrosidagi 17-uglerod atomidagi oksiketon guruhi hisobiga qaytarilishga asoslangan.

Jinsiy bez gormonlari

Jinsiy gormonlar strukturasi asosida siklopentanpergidro-fenantren yadrosida yotadi. Gormonlarning asosiy qismi erkaklik jinsiy bezlarida – androgenlar, tuxumdonda (homiladorlik davrida platsentada ham) – estrogenlar hosil bo'lsa ham, ularning biosintezida ma'lum darajada buyrak usti bezi postloq qismi qatnashadi.

Jinsiy gormonlar biosintezining asosiy manbai xolesterin yoki atsetilkoenzim bo'lib, gipofiz bezi oldi qismi gonadotrop gormonlari tomonidan stimullanadi. Jinsiy gormonlarni parchalanishi buyrak usti bezi gormonlari singari jigarda sodir boladi. Jinsiy bez gormonlari ayollar va erkaklar organizmida jinsiy rivojlanish, ikkilamchi jinsiy belgilar va kopayish funksiyalari takomilini boshqaradi. Tuxumdonning sariq tana gormoni progesteron bachadon shilliq pardasini proliferatsiyasi (osishi)da qatnashib, uning tuxum hujayrasini qabul qilishga tayyorlaydi, homiladorlikni saqlanishi va normal rivojini ta'minlaydi. Jinsiy gormonlar ta'sirida uchkarbon kislotalari siklining bir qator oksidlanish-qaytarilish fermentlarini faolligi oshadi.

Aksincha, mazkur gormonlarning yetishmasligi organizmda oksidlanish jarayonlarini pasaytirgan holda to'qimalarda yog'ni to'planishiga sabab bo'ladi.

Testosteronning anabolik xossalarini o'rganish asosida organizm to'qimalarida oqsillar sintezi, osish jarayoni, gemopoezni stimullovchi preparatlar yaratilgan. Masalan, nerabol, retabolil preparatlari tibbiyotda anabolik sifatida qo'llaniladi. Shu kabi bir qator sintetik kontratseptiv - antiestrogen ta'sirga ega jinsiy gormonlarni jinsiy bezlardan va siydikdan kristall korinishida ajratib olish mumkin. Ular suvda erimay, yo g'larda va yog' erituvchilarda – efir, xloroform, spirt va boshqalarda yaxshi eriydi. Ayollar jinsiy gormonlari (estradiol, estron, estriol) tarkibida fenol halqasi (A) saqlagani sababli fenol uchun xos bo'lgan reaksiyalarni beradi.

60 - tajriba : Estron (follikulin) ga sifat reaksiyalari

Estron diazoreaktiv yoki konsentrlangan sulfat kislotasi bilan ozaro reaksiyaga kirishganida sariq rangli birikma hosil bo'ladi.

Tekshiriluvchi material: follikulinning ampuladagi yo g'li eritmasi.

Reaktivlar: Sulfanil kislotaning 1% li eritmasi. Natriy nitrat oksidining 5% li eritmasi. Natriy karbonatning 10% li eritmasi. Konsentrlangan sulfat kislota.

Jihozlar: Probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

a) diazoreaktivni olish.

1. Buning uchun 3 tomchi sulfanil kislotaning 1% li eritmasini 3 tomchi natriy nitrat oksidining 5% li eritmasi bilan probirkada aralashtiriladi.
2. Olingan diazoreaktivga 3 tomchi follikulinning yog'dagi eritmasidan va 2 tomchi natriy karbonatning 10% li eritmasidan qo'shib, chayqatilganda suyuqlikni asta-sekin sariq rangga kirishi kuzatiladi.

b) konsentrlangan sulfat kislota bilan reaksiya.

1. 20 tomchi follikulinning yog'dagi eritmasiga ehtiyotlik bilan 20 tomchi sulfat kislotasi tomiziladi.
2. 5-10 daqiqaga qoldirilsa, sariq rang paydo bo'ladi, vaqt otishi bilan qo'ng'ir rangga o'tadi.

Nazorat savollari

1. Gormonlar nima, ularning kimyoviy xususiyati qanday?
2. Gormonlar vitaminlar va fermentlardan nimasi bilan farq qiladi?

3. Qalqonsimon bezda qanaqa gormonlar ishlanadi? Qalqonsimon bezda yod borligini qanday aniqlash mumkin?
4. Qanday moddalar tiroksinning otmishdoshi h isoblanadi?
5. Kortikosteroidlar nima? Ular qanday taqsimlanadilar?
6. Kortikosteron, kortizol, kortizon, 11-dezoksikortikosteron, aldosteron formulalarini yozing.
7. Kortikosteroidlar qanday manbalardan sintezlanadi?
8. Adrenalin va noradrenalin nimadan sintezlanadi?
9. Siz adrenaliga xos qanday sifat reaksiyalarni bilasiz va eritmada adrenalin miqdorini qanday aniqlash mumkin?
10. Insulinning kimyoviy tabiati qanday va qaysi sifat reaksiyalar bilan uni ochish mumkin?
11. Ayollar va erkaklar jinsiy gormonlarini kimyoviy qurilishi qanday va follikuliga xos qaysi sifat reaksiyalarni bilasiz?
12. 17-kortikosteroidlarning miqdoriy aniqlash usuli nimaga asoslangan? Bu usulning klinikada qollanilishini ahamiyati nimada?
13. Gipofiz bezini oldi va orqa qismlaridan qaysi gormonlar ajraladi?
14. Gormonlar oqsil, yog` va uglevodlar almashinuviga qanday ta'sir ko`rsatadi?

UGLEVODLAR ALMASHINUVI.

Uglevodlar osimlik va hayvonlar dunyosida keng tarqalgan bo`lib, ular organizmda qurilish va metabolik funksiyalarni bajaradi. Osimliklarda fotosintez jarayonida uglerod oksidi va suvdan sintezlangan glyukoza keyinchalik kraxmal sifatida toplanadi yoki osimlik tuzilishini asosi bolgan selliyuzaga aylanadi. Odam va hayvonlar organizmi yog`lar va oqsillardan ayrim uglevodlarni sintezlash imkoniyatiga ega bolsa ham, ularning asosiy miqdori osimlik oziqalari orqali qabul qilinadi.

Fiziologik ahamiyatga ega bolgan uglevodlarning tuzilishi va xususiyatini bilgan holda ularning moddiy va energetik ta'minotidagi fundamental rolini tushunish mumkin. Uglevodlar orasida olti uglerodli shakar - glyukoza nih oyatda ahamiyatli hisoblanadi. Chunki, oziqa tarkibidagi uglevodlarning asosiy qismi aynan glyukoza shaklida qonga tushadi, jigarda uglevodlar glyukozaga aylanadi va organizmdagi qolgan hamma uglevodlar glyukozadan hosil bo`lishi mumkin. Glyukoza h` ayvon toqimalarida (kavsh qaytaruvchi hayvonlardan tashqari) asosiy yoqilg`i manbai sifatida foydalaniladi, embrion rivojlanishida esa universal energetik material hisoblanadi. U energiyani saqlanish shakli bolgan yuqori darajada maxsus funksiyani bajaruvchi glikogenga aylanadi, undan nuklein kislotalar tarkibini tashkil etuvchi riboza, sut

disaxaridi laktoza tarkibiga kiruvchi galaktoza hosil boladi. Ba'zi uglevodlar murakkab lipidlar strukturasida ishtirok etadi, oqsillar bilan glikoproteinlar va proteoglikanlarni qurilishida qatnashadi. Uglevodlar almashinuvini buzilishi bilan qandli diabet, galaktozemiya, glikogen toplanishi tizimini ozgarishi, sut iste'mol qila olmaslik kabi bir qator kasalliklarni kelib chiqishi uzviy bog'liq.

Hujayralarda glyukoza kislorodli sharoitda ikkiga - dixotomik va apotomik bolinishi yoli bilan parchalanadi. Bunda NADN_2 , NADFN_2 , kofermentlar va fosforlangan birikma hosil bolishi ATF sinteziga olib keladi. Uglevodlar parchalanishi jarayonida organizm hayot faoliyati ta'minoti uchun zarur bo'lgan energiyani asosiy qismi ajraladi. Hosil bolgan energiya qisman issiqlik energiyasiga aylanib, badan haroratini saqlab turishga sarflanadi, qisman makroergik fosfor birikmalari korinishida, asosan adenozinuchfosfat shaklida (ATF) toplanadi. ATF ga bog'langan energiyadan keyinchalik har xil hayotiy funksiyalarni ijrosi uchun lozim bolgan birikmalar biosintezida, mushak tolalari qisqarishida, nerv impulsi otishida, sekretiya xizmatida va boshqalarda foydalaniladi.

Uglevodlar kimyoviy tabiati boyicha kop atomli spirtlarning aldegidlari yoki ketonlari hisoblanadi. Ular ikkita asosiy sinflarga – monosaxaridlar (triozalar, tetrozalar, pentozalar, geksozalar va boshqalar) va polisaxaridlarga bolinadilar. Polisaxaridlar, oz navbatida, tarkibida ikkitadan ontagacha monosaxarid birligi tutgan oligosaxaridlarga va yuqori darajali polisaxaridlarga taqsimlanadilar. Yuqori darajali polisaxaridlar qatoriga glikogen, sellyuloza va kraxmal kabi muhim moddalar kiradi. Uglevodlar bir-biridan molekulasining tuzilishi bilan bog'liq bo'lgan xususiyatlari asosida farqlanadi. Uglevodlarda oksidlanishga oson beriladigan guruhi karbonil hisoblanadi. Shu sabab barcha monosaxaridlar va strukturasida erkin glikozidli gidroksili bolgan oligosaxaridlar qaytaruvchi qobiliyatiga, mutarotatsiya xossasiga (uglevodning α -va β -shakli bolishiga sabab) ega bo'lib, gidrozonlar va ozazonlar hosil qiladi. Tarkibida erkin glikozidli gidroksili bolmagan oligosaxaridlar, masalan, saxaroza qaytaruvchi qobiliyatiga, mutarotatsiya xossasiga ega emas va gidrazonlar va ozazonlar hosil qila olmaydilar. Ko'rsatilgan xususiyat polisaxaridlarda ham uchramaydi, chunki ularning molekulasida erkin glikozidli gidroksillar juda ham kam.

Tarkibida olti atomli uglerod saqlagan monosaxaridlar orasida glyukoza, fruktoza (levuloza, meva qandi) va sut qandi tarkibiga kiruvchi galaktoza keng tarqalgan. Odam organizmi qonida va toqimalar suyuqligida asosan glyukoza qatnashadi. Glyukozani sifat va miqdoriy aniqlashda qollaniladigan ko'pchilik usullar uning qaytaruvchanlik xususiyatiga asoslangan.

Uglevodlarning oraliq almashinuvi.

Odam va h ayvon organizmida uglevodlar ovqat hazm qilish yo`llaridan qonga monosaxarid ko`rinishida, asosan fiziologik nuqtai nazardan juda muhim bo`lgan glyukoza shaklida so`riladi. Glyukoza inson va hayvon barcha to`qimalarida uchraydi, ma'lum miqdorda hamma vaqt qonda bo`ladi, ortiqcha miqdori jigar va mushak toqimalarida polisaxarid - glikogen sifatida to`planadi.

Glyukoza va glikogenni toqimalarda oksidlanishi oqibatida hosil bo`lgan energiya organizm funksiyalarini bajarilishida asosiy manba bolib xizmat qiladi. To`qimalar yetarli darajada kislorod bilan ta'minlanganda uglevodlar o`zlarining oxirgi unumlari CO₂ va suvgacha oksidlanadilar.

Kislorod tanqisligida, masalan, mushaklar ishini zoriqishida uglevodlar anaerob sharoitda glikoliz deb ataluvchi sut kislotasigacha parchalanadi. Uglevodlar almashinuvining asosiy oraliq mah suli glyukoza va fruktozaning fosforli unumlari parchalanishidan - piruvat, laktat hosil bo`ladi.

61 - tajriba : Glikogen miqdorini jigarda antron reaktivi bilan aniqlash

Glikogen (C₆H₁₀O₅)_n polisaxarid bolib, odam va hayvon organizmida uglevodlarning asosiy zah ira shaklidir. Organizm hayot faoliyatida jigarning glikogen va glyukoza hosil qilish funksiyasi alohida orin tutadi. Buning asosida bir tomondan, uning qon tarkibidagi glyukozadan glikogenni sintezlashi bo`lsa, ikkinchi tomondan organizm ehtiyojiga qarab zahiradagi glikogenni glyukozagacha parchalab, qonga chiqarishi yotadi. Odam va sut emizuvchi hayvonlarning jigaridagi glikogen miqdori uning og`irligini 2-8% ni, ayrim holatlarda esa 15-20 % tashkil etishi mumkin. Jigar patologiyasida, ayniqsa, gepatotrop zah arlar va farmakologik preparatlar ta'sirida jigarda glikogen sintezini buzilishi oqibatida uning miqdorini kamayishi kuzatiladi. Masalan, tortxloruglerodi (CCl₄), geliotrin, fosfor organik preparatlari bilan xronik zah arlanganda jigarni glikogen sintez qilish funksiyasida katta ozgarishlar kuzatilgan. Glikogen miqdorini antron bilan aniqlash usuli asosida uni konsentrlangan sulfat kislotasi ishtirokida ko`k rangli kompleks hosil qilishi yotadi. Rangning jadalligi glikogen konsentratsiyasiga bo`g`liq.

Tekshiriluvchi material: eritrotsitlar.

Reaktivlar: Glyukozaning 5% li standart eritmasi. Oyuvchi kaliyning 30 % li eritmasi. 96° li etil spirti. Antron reaktivi-0,3 % antronning konsentrlangan sulfat kislotasidagi eritmasi (solishtirma massasi 1,84). (Korsatilgan kislota konsentratsiyasi quyidagicha tayyorlanadi: 100

ml hajmdagi kolbaga quyilgan 20 ml distillangan suvga eh tiyotlik bilan kolba belgisigacha solishtirma massasi 1,84 bolgan kimyoviy toza sulfat kislotasi toldiriladi. Antron reaktivi tajriba otkaziladigan kuni tayyorlanadi).

Jihozlar: Probirkalar. Pipetkalar. Suv hammomi. Shisha tayoqcha. Sentrifuga, FEK.

Ishning bajarilishi:

1. 0,5 g yangi hayvon jigarini 3 ml 30 % li oyuvchi kaliy saqlagan probirkaga solinadi va qaynab turgan suv hammomida 20-30 daqiqa davomida gomogen eritma holatiga kelguncha ushlab turiladi.
2. So`ngra probirkaga 96<sup>0</sup> etil spirtidan 4 ml qo`shib, shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtiriladi va suv hammomida 30-40 soniya davomida qaynaguncha ushlab turiladi.
3. Probirka suvda sovutilib, aylanish tezligi 3000 bolgan sentrifugaga 15 daqiqaga qo`yiladi.
4. Probirkadagi chokma distillangan suvda eritilib, 100 ml li ko`lbaga o`tkaziladi va yaxshilab aralashtirilgach, eritma hajmini 100 ml ga yetkaziladi.
5. Eritmadan 1 ml probirkaga olinadi, boshqa probirkaga esa 1 ml glyukozani standart eritmasi solinadi. 2 ta boshqa probirkalarga 1 ml dan distillangan suv quyib, nazorat sifatida foydalaniladi.
6. Hama probirkalarga 6 ml dan antron reaktivi qo`shilib, aralashtiriladi va 10 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga qo`yiladi. Probirkalar sovuq suvda sovutilib, standart va tajriba namunalari nazoratga nisbatan 660 nm 10 ml li kyuvetalarda qizil svetofiltrda kolorimetrlanadi. Glikogen miqdori quyidagi formula bo`yicha hisoblanadi.

$$\frac{0,05 \text{ mg} \cdot E_{\text{tajriba}} \cdot A \cdot B \cdot 10}{\text{g/kg}}$$

$$Y_{\text{e standart}} \cdot 1000 \text{ mg} \cdot 1,1$$

Bunda- 0,05 mg – 1ml standart eritmadagi glyukoza miqdori;

A - glikogen eritilgan suvning miqdori;

V - 100 g jigar bo`lagi;

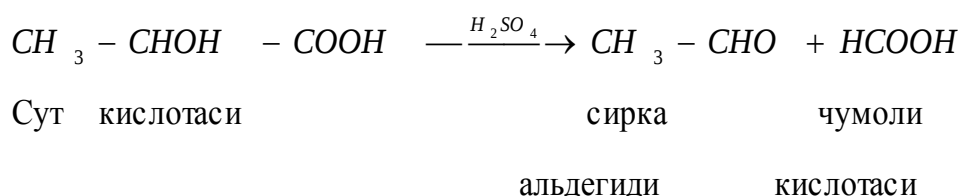
1,1- glyukoza va glikogenni ekstinksiya nisbati.

Normada och qolgan kalamushning jigaridagi glikogen miqdori 15-20 g/kg, toqida 40 g/kg gacha. Tekshirish natijalariga sulfat kislotasining tozaligi va antron reaktivining tayyorlangan muddati ta'sir qiladi

62- tajriba : Glikogenoliz – mushak toqimasi fermentlari ta'sirida

Uglevodlarning toqimalarda oksidlanishi natijasida ajralgan energiya makroergik fosforli birikmalarda, asosan ATF da toplanib reaksiya fermentlar kompleksi ta'sirida ikki xil yo'l bilan amalga oshadi: a) kislorodsiz sharoitda- anaerob parchalanish – glikoliz va glikogenoliz; b) kislorod ishtirokida - aerob parchalanish. Ikkala yo'l hujayralarni ATF bilan ta'minlaydi. Ikkinchi yo'lda hosil bo'lgan energiya miqdori (1 ta glyukoza qoldi g'iga 32 gramm –molekula ATF), birinchi yo'lga nisbatan (1 molekula glyukozaga glikolizda 2 va glikogenolizda 3 gramm - molekula ATF hosil boladi) bir necha marotaba ko'p. Agar anaerob parchalanishda boshlang'ich uglevod glikogen bo'lsa, unda mazkur jarayon glikogenoliz deb nomlanadi, agar glyukoza bo'lsa, glikoliz deb ataladi. Glikogenni ozgarishi uni fosforoliz jarayoniga uchrashi bilan boshlanadi, bu vaqtda glikogenni ferment ta'sirida parchalanishi anorganik fosfat kislotasi va fosforilaza fermenti ishtirokida bajariladi. Fosforilaza ta'sirida glikogen strukturasidagi α -glikozid bog'lari uzilib, glyukozo-1-fosfat ajralib chiqadi. Glyukozo-1-fosfat fosfoglyukomutaza fermenti ta'sirida glyukozo-6-fosfatga o'tadi. Agar uglevodlarning anaerob parchalanishi glyukozadan boshlansa, unda boshlang'ich birlamchi bosqichida glyukozo-6-fosfat hosil boladi. Ushbu reaksiya glyukozani geksokinaza fermenti ta'sirida adenozintrifosfat kislotasi (ATF) hisobiga transfosforillanishi natijasida bajariladi. Glyukozo-6-fosfat hosil bolgandan keyingi glikogenoliz va glikoliz yollari oxshash. Reaksiya davomida oraliq unumlar sifatida fruktozo-6-fosfat, fruktozo-1,6-bisfosfat, triozofosfatlar, piruvat hosil bo'ladi, oxirgi unumi esa sut kislotasi (laktat) dan iborat. Mushaklarda glikogenoliz va glikoliz jarayoni h aqida sut kislotasini hosil bo'lishi bo'yicha fikr yuritiladi, chunki sut kislotasini hosil bo'lishi mushakdagi glikogenni parchalanishida va oraliq bosqichlarida ishtirok etuvchi fermentlar kompleksi ta'siriga bog'liq.

Sut kislotasini aniqlash uni konsentrlangan sulfat kislotasi ta'sirida sirka aldegidga o'tishiga asoslangan:



sirka aldegidini veratrol bilan reaksiyaga kirishishi natijasida hosil b'olgan rangli reaksiya (pirokatexinni dimetil efiri) bilan ochiladi.

Tekshiriluvchi material. Kalamush yoki quyon mushagi muz ustida tezlikda qaychi bilan maydalanadi.

Reaktivlar: 1.Fosfatli bufer, 0,1 m, rN 8,0 (tayyorlanishi 18-ilovada). Glikogenni 1% li eritmasi(tayyorlanishi 19-ilovada). Zarurat bolganda glikogen ornida 1% li kraxmal

eritmasidan yoki 1% li glyukoza eritmasidan foydalanish mumkin. Uchxlorsirka kislotasining 10% li eritmasi. Vazelin moyi. Mis sulfatning 10 %li eritmasi. Kalsiy gidroksidi- $\text{Ca}(\text{OH})_2$, kukuni. Sulfat kislotasi, konsentrlangan. Veratrolni etil spirtidagi 1%li eritmasi. Veratrolni gvayakol (pirokatexinni monometil efiri) bilan almashtirish mumkin.

Jihozlar: .Probirkali shtativ. Tomizgichlar. 1 ml va 3 ml pipetkalar. Apteka tarozilari. Tana haroratigacha isitilgan suv hammomi (termometr bilan) yoki termostat (37°S). Qaynab turgan suv hammomi. Qog`oz filtrli voronkalar.Shisha kurakchalar. Muz.

Ishning bajarilishi:

1. “H” va “T” (“H”-nazorat, “T”-tajriba) harflar bilan belgilangan ikkita probirkaga 3 ml dan fosfat buferi va 1ml dan 1% li glikogen eritmasi (kraxmal yoki glyukoza) olinib, osha zah oti nazorat probirkasiga oqsillarni choktirish va mushak toqimasidagi fermentlar faolligini toxtatish uchun 1 ml 10% li uchxlorsirka kislotasidan qo`shiladi.
2. Ikkala probirkaga sovuq sharoitda maydalangan yangi mushakdan 1 gr dan qoshib, yaxshilab aralashtirilgach, ustiga havo kislorodi bilan aloqasini to`xtatish maqsadida 10 tomchidan vazelin moyi tomiziladi.
3. Ikkala probirka 37°S li suv hammomida yoki termostatda 1-2 soat davomida inkubatsiyalanadi va tajriba probirkasiga 1 ml 10 % li uchxlorsirka kislotasi qoshib, aralashtirilgach, probirkadagi suyuqliklar qo g`oz filtr orqali “H” va “T” belgili toza probirkalarga filtrlanadi.
4. Filtratlardan 1 ml dan toza “H” va “T” probirkalarga olinib, sut kislotasini aniqlashga xalaqit beruvchi uglevodlarni choktirish uchun har bir filtratga 3-4 tomchi mis sulfat (CuSO_4) ni 10 %li eritmasidan, kalsiy gidroksidi kukunidan yarim kurakcha qoshib vaqti-vaqti bilan shisha tayoqcha bilan aralashtirilib turilgan holda 10 daqiqaga qoldiriladi.
5. Ikkala probirkadagi suyuqlik qo g`oz filtr orqali filtrlanadi (filtr qog`ozdagi cho`kma tashlanadi). Filtratli probirkalar muzli suvga joylashtirilib, eh tiyotlik bilan chayqatilib turilgan vaziyatda tomchilab 20 tomchi konsentrlangan sulfat kislotadan tomiziladi (kuchli qizib ketishida sut kislotasi kuyishi mumkin) va qaynab turgan suv hammomida 4 daqiqa ushlanadi.
6. Ko`rsatilgan vaqt o`tgach, probirkalar tezlikda sovutiladi va har bir probirkaga 1 tomchidan veratrolning 1%li eritmasidan tomizilib, asta chayqatiladi va 20 daqiqagacha qoldiriladi.
7. Mushak toqimalaridagi glikogenoliz fermentlari 10 %li uchxlorsirka kislotasi bilan faolsizlantirilmagan tajriba probirkasida qizil yoki pushti rangni hosil bolishi, nazorat probirkasida esa fermentativ sharoit 10 % li UXSK bilan faolsizlantirilgani uchun qizil rangni jadalligi ancha kamligi kuzatiladi.

Nazorat namunasidagi xira rang mushak tarkibidagi tajriba o`tkazilganiga qadar hosil bo`lgan sut kislotasiga bog`liq.

Tajriba natijalari jadval shaklida rasmiylashtiriladi.

15-jadval

Glikogenoliz (glikoliz)

Substrat	Glikolitik fermentlar manbai	Sut kislotasining veratrol bilan reaksiyasi (rangning jadalligi)		Rangning taqqosiy darajasi “T” va “N”	Sut kislotasini aniqlash reaksiyasi nimaga asoslangan
		Tajriba “T”	Nazorat “N”		

Xulosada glikogenoliz qanday sharoit (muhit, harorat, havo kislorodi ta`siri)da bajarilganligi ko`rsatiladi.

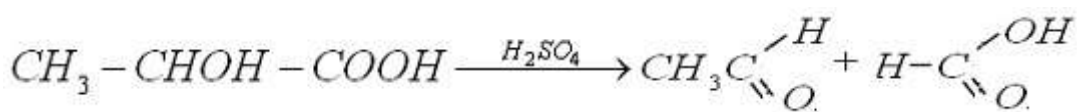
63- tajriba : Qon tarkibidagi sut kislotasi miqdorini n-oksidifenil rangli reaksiyasi bilan aniqlash

Sut kislotasi glikoliz va glikogenoliz jarayonlarining oxirgi unumi hisoblanadi. Sut kislotasi qon oqimi bilan jigarga tushadi va jigarda uning ko`p qismi glikogenga aylanadi, ma`lum qismi esa yurak va mushakda iste`mol qilinadi.

Sog`lom odam qonida sut kislotasining mushaklar harakatsizligi holatidagi miqdori 0,6-1,7 mmol/l (5-15 mg%) atrofida, jismoniy harakat vaqtida sut kislotasining mushaklarda toplanishi kuzatiladi, unda uning qondagi miqdori keskin oshadi va normaga nisbatan 5-10 marotaba ko`payishi mumkin. Yangi tu g`ilgan chaqaloqlarda sut kislotasining qondagi miqdori 2,0 mol/l dan 2,3 mol/l gacha (18-22 mg% gacha), songra asta-sekin kamaya boshlaydi va katta yoshdagi bolalarda uni 1,0-1,7 mmol/l (9-15 mg%)ga yetadi.

Qon tarkibida sut kislotasi miqdorini oshishi har xil kasalliklarda (gipoksiya, opka kasalliklari, yurak-qon tomir kasalliklari oqibatida qon aylanishining buzilishi va boshqalar) uglevodlarning aerob oksidlanishini buzilishi, hamda jigarni sut kislotasini glyukozaga va glikogenga aylantirish imkoniyatini pasayishi (ayrim jigar kasalliklari) natijasida bolishi mumkin. Kislorod gomeostazi holatini tekshirishda laktat konsentratsiyasining ortishi gipoksiya borligi yoki yo`qligini aniq tasdiqlovchi ishonchli korsatkich hisoblanadi, chunki laktatning to`planishi gemodinamika olchamlarini buzilganligi bilan yaqindan bog`liq. Shuning uchun laktat darajasining ozgarishiga qarab nafaqat gipoksiya holati, shu bilan birgalikda davolash choralarini samarasi, qollanilayotgan dori vositalarining effektivligi, bemorning tanglik, mushkul holatidan chiqib keta olish imkoniyati (<3.5mmol/l-96% tirik qolish chegarasi; >9 mmol/l-5% - tiriklik chegarasi) haqida ham fikr yuritiladi.

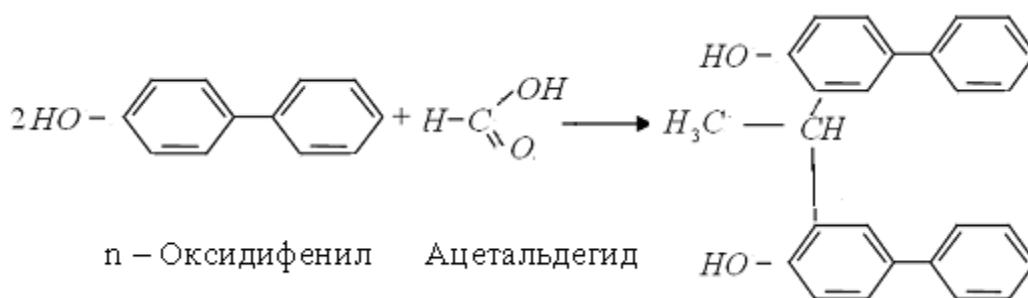
Sut kislotasi miqdorini qonda aniqlash usuli uni konsentrlangan sulfat kislotasi bilan qaynatganda parchalanishidan hosil bo`lgan atsetaldegidni n-oksidifenil bilan reaksiya kirishishi natijasida binafsha rangli kondensatsiyalangan fenol unumi hosil bo`lishiga asoslangan. Rangning jadalligi atsetaldegid miqdoriga, binobarin laktat miqdoriga to`g`ri proporsional.



Sut kislotasi

sirka aldegidi

chumoli kislotasi



1,1-Di(oksidifenil) etan - binafsha rangli konden-satsiya unumi.

Tekshiriluvchi material: qon.

Reaktivlar: Uchxlorsirka kislotasining 10 % li eritmasi. Mis sulfatning 20% li eritmasi. Mis sulfatning 4% li eritmasi. Kalsiy gidroksidi, maydalangan kukuni (kalsiy karbonat qoshimchasiz). Konsentrlangan sulfat kislotasi, solishtirma zichligi - 1,84. 0,5 % li n-oksidifenilning 1,5% li oyuvchi natriydagi eritmasi (tayyorlanishi 64-ilovada). Sut kislotasining 100 mg % li standart eritmasi 106,55 mg sut kislotaning litiyli birikmasi (SN₃SNON-SOOLi) ni 100ml suvda eritiladi. Eritma sut kislotasiga hisoblaganda 100 mg % li sut kislotasi saqlaydi. Uni suyultirib tarkibida 5,10,20,40,60,80 mg % sut kislotasi saqlagan eritma tayyorlanadi. Olingan

eritmalar tezlikda ishlatilishi kerak. Standart eritma kalsiy va ruxli sut kislotalaridan ham tayyorlash mumkin, buning uchun toza sut kislotasi miqdori bo'yicha qayta hisoblanadi.

Jihozlar: .Probirkali shtativ. 0,1, 1 va 5 ml hajmli mikropipetkalar. Barmoqdan qon olish ninasi (skarifikator). Muz solingan kosacha. Sentrifuga. Apteka tarozisi. Shisha tayoqchalar. Qaynab turgan suv hammomi. Termostat yoki 30°S li suv hammomi. FEK.

Ishning bajarilishi:

1. Sentrifugali probirkalarga 0,5 ml suv va 0,1-0,2 ml barmoqdan olingan qon quyiladi, mikropipetka shu suv bilan chayilib, aralashtiriladi. Oqsillarni choktirish uchun 1ml 10 % li uchxlorsirka kislotasidan qoshiladi, muzli idishda 10-15 daqiqa turgach, 3000 aylanishda 3 daqiqa davomida sentrifugalanadi.
2. Sentrifugat boshqa sentrifugali probirkaga o'tkazilib, 0,5 ml 20 % mis sulfat eritmasi va uglevodlarni choktirish uchun 0,5 g kalsiy gidroksidi kukunidan qo'shilganda, aralashma feruza rangga kiradi. Aralashmadagi uglevodlarni tola cho'kish uchun 30 daqiqaga qoldiriladi va so'ngra 3000 aylanish tezligida sentrifugalanadi.
3. Sut kislotasini atsetaldegidga otkazish uchun sentrifugat toza probirkaga olinib, 0,05 (1 tomchi) 4% li mis sulfat eritmasidan tomiziladi, yaxshilab chayqatilgach, muzli idishda turgan holatida eh tiyotlik bilan shisha tayoqcha bilan toxtovsiz aralashtirib turilgan holda 3 ml muzda sovutilgan konsentrlangan sulfat kislotasidan qoshiladi. Aralashma xona haroratiga yetgach, 5 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi.
4. Aralashma sovuq suvda 20°S gacha sovutilgach (etarli darajagacha sovutilmasa n-oksidifenilni parchalanishga olib keladi), 0,05 ml 1,5 % li n-oksidifenilning ishqoriy eritmasidan qoshiladi. n-oksidifenil iloji boricha probirka devoriga yopishib qolmasligi kerak.
5. Probirka vaqti-vaqti bilan chayqatilib turilgan holda (chokma hosil bo'lmasligi uchun) 30 daqiqaga 30°S li suv hammomi yoki termostatga joylashtiriladi. Shu vaqt orali g'ida reaksiya aralashma ko'k rang hosil qiladi (qizil-binafsha rangga kirishi suv haroratini nihoyatda yuqoriligini ko'rsatadi).
6. Probirka 90 soniyagacha qaynab turgan suv hammomiga joylashtirilganda kok rang ozgarmas binafsha rangga otadi. Eritma sovutilib konsentrlangan sulfat kislotasiga nisbatan 574 nm to'liq uzunligida (qizil svetofiltr) fotometrlanadi.
7. Sut kislotasining standart eritmaları ham shu kabi tekshirilib kalibrli grafik tuziladi. Sut kislotasining miqdori formula bo'yicha hisoblanadi.

$$X = \frac{a * 100}{0.1} \text{ mg \% sut kislotasi, bunda } a - \text{ standart egri chiziq bo'yicha topilgan mg dagi}$$

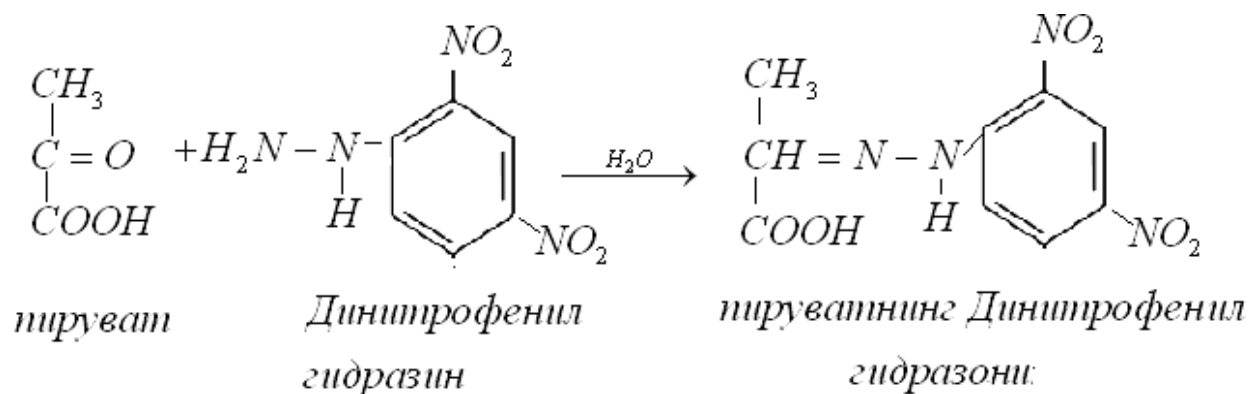
sut kislotasi miqdori; 0.1 tekshirishga olingan ml dagi qon miqdori.

Eslatma. Mazkur usulda foydalanilayotgan idishlarning nih oyatda tozaligi katta ahamiyatga ega.

64 - tajriba : Qon tarkibidagi piruvat (pirouzum kislotali) miqdorini aniqlash

Pirouzum kislotali uglevodlar almashinuvining markaziy metabolitlaridan xisoblanadi. Glikoliz va glikogenoliz jarayonida sut kislotalidan, bir qator aminokislotalar va glitserindan hosil bolgan pirouzum kislotali organizmni energetik ehtiyojiga qarab hujayralarda atsetil – KoAgacha oksidlanib, Krebs sikliga kirishi yoki boshqa moddalar biosintezida (laktat, oksaloatsetat, sirka kislotali, aminokislotalar va boshqalar) qatnashishi mumkin. Normada qondagi pirouzum kislotalining miqdori 0,1 – 0,13 mmol/l ga to`g`ri keladi. Ushbu korsatkichni organizmda tiamin (vitamin B₁) yetishmovchiligida, piruvatdegidrogenaza kompleksi faolligi ingibirlanganda bir qator kasalliklar (diabet, jigar kasalligi yurak faoliyati buzilishi)da ortishi kuzatiladi.

Pirouzum kislotalini miqdoriy aniqlash 2,4-dinitrofenil gidrozinning (2,4-DNFG) pirouzum kislotali bilan reaksiyaga kirishib, 2,4-dinitrofenilgidrozonni hosil qilishiga asoslangan. U boshqa gidrozonlardan farqli o`laroq, toluolda yaxshi eriganligi uchun uni reaksiyon aralashmadan oson ekstraksiya qilib olish mumkin. Piruvatning toluolli ekstraktiga ishqorning spirtli eritmasi qo`shilganda pirouzum kislotalining 2,4- dinitrofenilgidrozoniga xos qizil-sarg`ish rang paydo bo`ladi. Rangning jadalligi tekshirilayotgan eritmadagi pirouzum kislotalining miqdoriga to`g`ri proporsional:



Tekshiruvchi material: qon, siydik va organlar to`qimasi.

Reaktivlar: Uchxlorsirka kislotalining (UXSK) 5% li eritmasi. 2,4 – dinitrofenilgidrazinning 2 mol/l xlorid kislotali eritmasidagi 0,1%li eritmasi (tayyorlanishi 21- ilovada). Toluol (tayyorlanishi 22-ilovada). Natriy karbonatning 10% li eritmasi. Natriy gidroksidning 1,5 mol / l eritmasi.

Jihozlar: Probirkalar. 1 va 5 ml – hajmdagi pipetkalar. 25 ml hajmdagi byuretk. Sentrifuga. FEK .

Ishning bajarilishi:

1. Tah lil uchun 1 ml biologik suyuqlik (qon, siydik) yoki 1 g to`qima olinadi. Agar tekshirishga toqima olinsa, u 10-15 daqiqa davomida 5% li sovutilgan uchxlorsirka kislotasining 1:9 nisbatdagi eritmasida hovonchada yaxshilab eziladi, so`ngra tezligi daqiqasiga 3000 marta aylanishda 10 daqiqa sentrifugalanadi.
2. To`qimaning oqsilsiz qismidan (filtrat) 1 ml, nazorat sifatida 1 ml distillangan suv probirkalarga olinadi. Tahlil qilinayotgan har bir namunadan 2-3 ta parallel namuna olish maqsadga muvofiqdir. Tajriba va nazorat uchun olingan probirkalardagi suyuqliklarga 0,5 ml dan 2,4- dinitrofenilgidrazin eritmasidan quyib, aralashtiriladi, 5 daqiqadan song suv bilan toyintirilgan toluoldan 2,5 ml qo`shilib, 1-2 daqiqa chayqatiladi.
3. Eritma qavatlarga ajralgach, toza probirkaga ustki toluolli qatlamidan 1ml olib, ustiga 2 ml kaliy gidroksidining 2,5 % li spirtidagi eritmasidan qo`shiladi va 15 daqiqadan song FEK ko`k svetofiltrida (465 nm tolqin uzunligida) fotometrlanadi.
4. Hisoblashda kalibrlash egri chizig`idan foydalaniladi. Buning uchun bir nechta raqamlangan probirkalar olib, pirouzum kislotasining standart eritmasidan 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 va 1,0 ml quyiladi va ularning h ar birini umumiy hajmi 1 ml ga yetguncha distillangan suv qo`shiladi. Standart eritmalar bilan qolgan ishlar yuqorida keltirilganidek bajariladi.

Kalibrlash egri chizig`i chizish uchun ordinata o`qiga olchangan o`ptik zichlik, absissa oqiga pirouzum kislotasining mg dagi konsentratsiyasi qo`yiladi. Hisoblash kalibrlash grafigi asosida, suyultirish darajasini hisobga olgan holda bajariladi. Ish natijasini rasmiylashtirishda topilgan pirouzum kislotasi miqdorini ozgarish sabablari to`g`risida xulosa chiqariladi.

65 - tajriba : Qon zardobida sial (neyramin) kislotasi miqdorini aniqlash

Neyramin kislotasi kimyoviy tuzilishi bo`yicha mannozamin va pirouzum kislotasining aldolli kondensatsiyasidan iborat.

N-atsetilneyramin kislotasi unumi bolgan sial kislota organizmda muhim ahamiyatga ega bo`lib, glikoproteinlar tarkibiga kiruvchi polisaxaridlarning oxirgi qismida joylashgan. Glikoproteinlar organizmda himoya va tayanch funksiyasini bajaradi. Ayrim kasalliklarda, jumladan, yalli g`lanish jarayonlarida (revmatizm, nefroz, miokard infarkti, opka va osma kasalliklari va boshqalarda) qon tarkibi va toqimalarda sial kislota miqdori oshadi. Binobarin, qon zardobida sial kislota miqdorini aniqlash kasallik h olatini va davolash choralari aniqlovchi korsatkich hisoblanadi. So g`lom odam qon zardobida sial kislota miqdorini o`rtacha korsatkichi 0,62- 0,73 g/l (62-73 mg/dl) ni tashkil qiladi. Sial kislota miqdorini aniqlashda qollanilgan mazkur uslub qon zardobiga uchxlorsirka kislotasi qoshilganda gidrolizlanish

reaksiyasi natijasida neyramin kislotasining ajralib chiqishiga asoslangan. Ajralgan neyramin kislotasi sirkali sulfat reaktivi bilan reaksiyaga kirishib, qong'ir-pushti rangli birikma hosil qiladi. Rangli eritmaning ravshanlik darajasi sial kislota miqdoriga to'g'ri proporsionaldir:



Tekshirish materiali: qon zardobi

Reaktivlar: Sirka – sulfat reaktivi (95 g sirka kislotasi va 5 g konsentrlangan sulfat kislotasi aralashmasi). 10 % li sirka -sulfat kislotasi eritmasi. N- atsetil neyramin kislotasining standart eritmasi.

Jihozlar. Probirkali shtativ. Sentrifugali probirkalar.1;2 ml li pipetkalar. 10 ml li olchov silindrlari. Suv hammomi. Sentrifuga.

Ishning bajarilishi :

1. Quruq toza sentrifuga probirkalariga 1 ml qon zardobi, 1 ml uchxlorcirka kislotasi (UXSK) solib, aralashtiriladi, probirka zar qog'oz (folga) bilan berkitilib, neyramin kislotasini ajratish uchun qaynab turgan suv hammomiga rosa 5 daqiqaga qoyiladi.
2. Probirkalar suv hammomidan olingach, muzli suvda sovutilib, senrifugalanadi yoki eh tiyotlik bilan filtrlanadi. Agar sentrifugalansa, cho'kma usti suyuqligi quruq probirkaga olinadi.
3. 2 ta probirka olib, birinchisiga 0,4 ml sentrifugat yoki filtrlangan eritma, ikkinchisiga (nazorat) esa 0,4 ml distillangan suv solinadi. Har ikkala probirka sirka – sulfat kislotali reaktivdan 5 ml dan quyiladi, probirkalar zar qog'oz bilan berkitilib, qaynab turgan suv hammomida rosa 30 daqiqa ushlanadi.
4. Probirkalar suv h ammomidan olingach, sovutiladi va hosil bolgan rangli eritma yashil svetofiltrda (540 nm tolqin uzunligida), 1 sm qalinlikdagi kyuvetalarda nazoratga nisbatan FEKda kolorimetrlanadi.

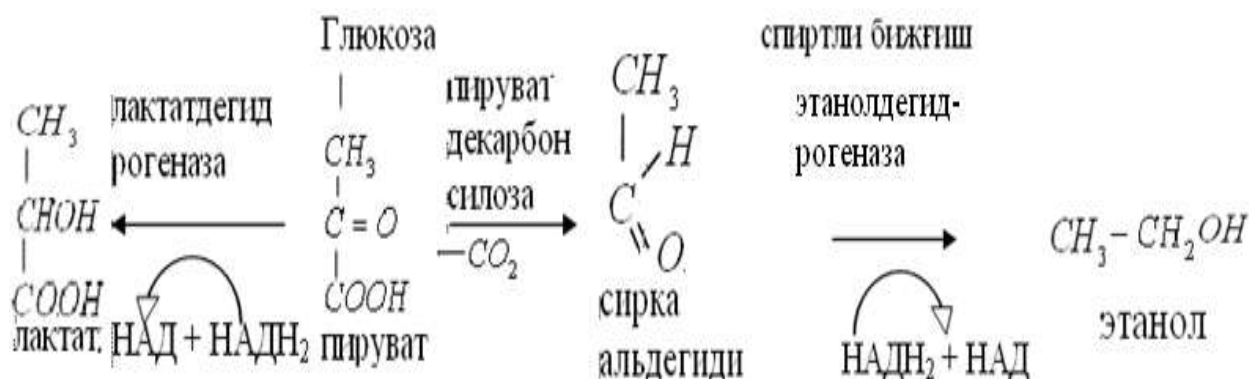
Tajriba eritmalarining optik zichligini bilgan holda kalibrangan egri chiziq bo'yicha sial kislota aniqlanadi.

5. Kalibrlangan egri chiziq tuzishda tarkibida 0,05; 0,1; 0,2 va 0,3 ml sial kislotasi saqlagan standart eritmaları (1 ml da 0,5 mg) h ajmini distillangan suv bilan 0,4 ml ga yetkaziladi. Barcha probirkalarga 5 ml dan sulfat – sirka kislotasi reaktividan quyilib, arlashtiriladi, yuqorida bajarilgani boyicha sial kislotasining standart eritmasidagi miqdori aniqlanadi va ular asosida kalibrlangan egri chizi g'i tuziladi. Ordinata oqiga optik zichlik, absissa o`qiga standart eritmalaridagi sial kislotaning miqdori qo`yiladi. Kesishgan nuqtalar bo`yicha chiziq o`tkaziladi.

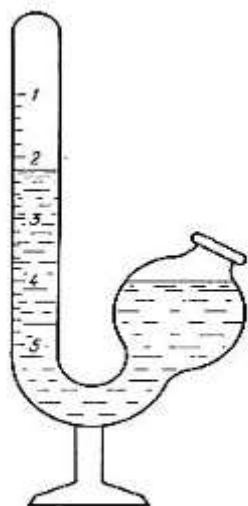
Ishni rasmiylashtirishda olingan natijalar asosida sial kislota miqdori aniqlanib, normada zardob tarkibidagi sial kislota miqdori bilan solishtiriladi va xulosada uning klinik ahamiyati ko`rsatiladi.

66 - tajriba : Glyukozaning spirtli bijg`ishi

Glyukozani anaerob sharoitda achitqi mikroorganizmi fermentlari ishtirokida spirt va uglerod oksidiga aylanishiga spirtli bij g`ish deb ataladi. Bijg`ish jarayonini kechishi uchun kislorod talab qilinmaydi, reaksiya mexanizmi yonalishi bo`yicha glyukozo-6-fosfatdan boshlanib, pirouzum kislotasini hosil bo`lishi bilan tugaguncha mushak toqimalaridagi glikolizning borishiga oxshash. Bular ortasidagi farq hosil bolgan pirouzum kislotasining keyingi ozgarishlariga bog`liq. Glikolizda piruvat laktatdegidrogenaza ishtirokida qaytarilgan nikotinamidadenindinukleotid ( $\text{NAD} \cdot \text{N}_2$ ) bilan ozaro reaksiyaga kirishib, sut kislotasi (laktat) va oksidlangan nikotinamidadenindinukleotid ( $\text{NAD}^+$ )ni hosil qilsa, spirtli bijg`ishda piruvat avval sirka aldegidigacha dekarboksillanib, so`ngra  $\text{NAD} \cdot \text{N}_2$  yordamida etil spirtiga qaytariladi. Glyukozadan tashqari boshqa geksozalar, shuningdek disaxaridlar – maltoza va saxaroza achitqi fermentlari ta'sirida monosaxaridlarga gidrolizlanib, bijg`ish reaksiyalariga beriladilar.



Spirtli bijg`ish maxsus apparatlarda bajarilib, yig`ilgan uglerod oksidi yutilgan ishqor miqdori bilan aniqlanadi.



4-rasm.Bijg'ish apparati

Bij g'igan suyuqlikda etanolni borligi yodoform hosil bo'lish reaksiyasi yordamida tasdiqlanadi.



Tekshiriluvchi material: xamir achitqisi.

Reaktivlar: Yangi yoki quritilgan achitqi. Glyukozaning 5% li eritmasi. Vinnokamen kislotasi (vino durdasidan hosil qilingan kislotaning 1% li eritmasi. Yodning kaliy yoddagi eritmasi (tayyorlanishi 11- ilovada)

Jihozlar: Apteka tarozisi. Hovoncha. 50 ml olchamli silindr. 50 ml li stakanlar. Ikkita achitqi asbobi. Termostat. Qog'oz filtrli voronkalar. Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi.

1. 0,5 g quritilgan yoki 1 g yangi nonvoy achitqisini hovonchada (yoki probirkada shisha tayoqcha bilan) maydalab, 5 % li glyukoza eritmasining 5 ml da bir xil suyuq massa hosil bo'lguncha aralashtiriladi.
2. Songra 30 ml 5% li glyukoza eritmasi saqlagan stakanga otkazilib, 1% li vinnokamen kislotasidan lakmus bo'yicha kuchsiz kislotali muhit hosil bo'lguncha qo'shiladi.
3. Bij g'itish apparatini kengaygan joyigacha suyuqlik toldirilib, 1-1,5 soatga 37°S li termostatga joylashtiriladi, apparat trubkasining ochiq qolgan qismi paxta tiqini bilan berkitiladi.
4. Glyukozali achitqi asbobining yuqori qismida gaz (SO₂) pufakchalari to'plana boshlaydi. Nazorat namunasidan gaz ajralmaydi. Trubkada yig'ilayotgan gaz uglerod oksidi ekanligini isbotlash uchun bijg'itish apparatini 10% li oyuvchi natriy bilan toldirib, teshik o'g'zini bo'sh barmoq bilan berkitiladi. Bunda uglerod oksidi ishqorda yutilib, hosil bo'lgan vakuum barmoqni ichkariga to'rta boshlaydi.

5. Etanolni aniqlash uchun bosh probirkaga bij g'ituvchi apparat trubkasidan 1-2 ml filtrat olib, sariq rang hosil bolguncha yod eritmasidan tomchilab tomiziladi va kuchsiz olovda qizdirilganda etil spirtidan hosil bo'lgan yodoformga xos hid seziladi.
6. Xulosada apparatdagi tajriba va nazorat namunalariida gaz (SO_2) ni hosil bo'lishi taqqoslanadi va kuzatilgan ozgarishga tushuncha beriladi.

Qon tarkibidagi glyukoza miqdorini boshqarilishi

Qondagi glyukoza miqdori bir qator murakkab nerv va gormonal mexanizmlar tomonidan boshqarilishi tufayli deyarli bir xil darajada – 3,6-6,1 mmol/l da saqlanadi. Glyukoza miqdori korsatkichini nisbatan barqarorligi – glyukoza toleranti (yoki glyukoza gomeostazi) – asosiy sababi bir tomondan glikogeni parchalanishi hamda uni glyukoza va uglevod bo'lmagan moddalardan qayta sintezlanishi bo'lsa, ikkinchidan, glyukozani ichak traktidan sorilish tezligi va toqimalarda energiya ajratib, oksidlanishi jiddiy boshqarilish yo'llariga bo'g'liqligini bildiradi. Glyukoza miqdorini qonda kamayishi - gipoglikemiya, normal darajasidan ortishi esa – giperglikemiya deb nomlanadi. Agar glyukoza miqdori yuqori darajalarga kotarilsa, buyrak uni ma'lum miqdorini siydikka ajratishi mumkin. Bu holat buyrak porogi (chegarasi) deb atalib, odatda uning chegarasi 7,8-8,9 mmol/l ga (140-160 mg% - 100 ml qonda) tog'ri keladi.

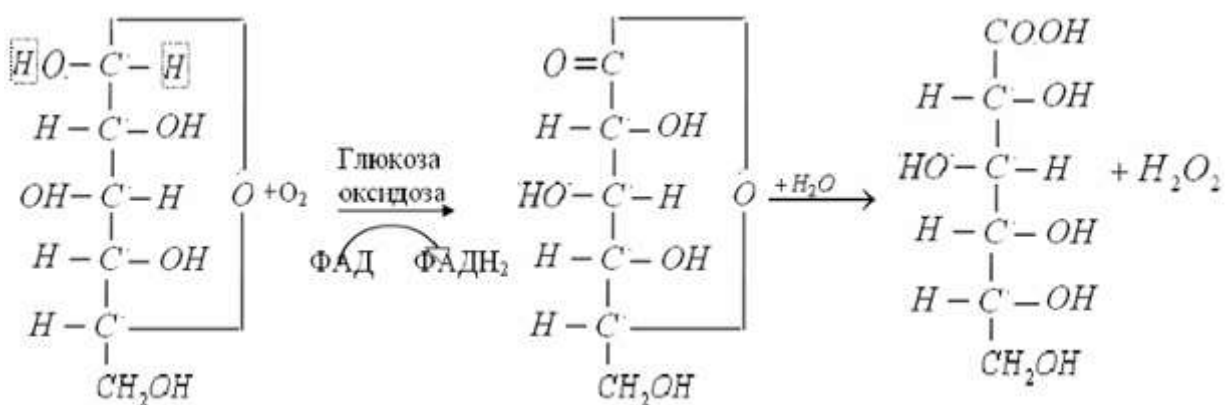
Giperglikemiya holati insulin yetishmovchiligida, oliy nerv tizimida qoz g'alish jarayoni kuchayganda, qalqonsimon bez, buyrak usti bezi postloq qismi gormonal funksiyalari oshganda (glyukokortikoidlarni qondagi miqdorini oshishi oqsillardan glyukoza hosil bolishini kuchaytirish bilan birga glyukozani to'qimlarda foydalanishini tormozlaydi), buyrak usti bezi mag'iz qismida adrenalin koproq ishlanganda va gipofizdan AKTG keragidan koproq ajralganda (AKTG – adrenokortikotrop gormoni buyrak usti bezi po'stloq qismi glyukokortikoidlarini ishlanishi va sekretiysasini stimullaydi) kuzatiladi. Giperglikemiya holati uglevodlarni oziqa sifatida ortiqcha iste'mol qilinganida ichakdan qonga katta miqdorda glyukoza so'rilishi natijasida ham uchraydi (ovqat yoki alimentar giperglikemiya), lekin bu korinish qisqa vaqt oralig'ida 3-5 soat davomida normadagi miqdoriga qaytadi.

Glyukoza darajasini qon tarkibida pasayishi – gipoglikemiya – qandli diabetni davolashda insulin dozasi oshirib yuborilganda, jigar parenximasi shikastlanishi oqibatida kelib chiqadigan kasalliklarda, ingichka ichakdan uglevodlarning sorilishi buzilganda, qalqonsimon bez, buyrak usti bezi po'stloq va mag'iz qismi, gipofiz bezi gormonlari ishlanishi yetishmasligida uchraydi.

67 - tajriba : Qonda glyukoza miqdorini glyukozooksidaza usulida aniqlash

Biologik suyuqliklarda glyukoza miqdorini fermentativ usul bilan aniqlash glyukozooksidazaning maxsus katalitik ta'siriga asoslangan. Mazkur usul glyukozani boshqa uglevodlar va uglevod bolmagan qaytariluvchi moddalar birga bo'lganda ham aniqlash imkoniyatiga ega. Glyukozooksidaza (KF 1.1.3.4.) flavoproteinlarga kiradi, (M.m. 152 kDa), prostetik guruhi FAD.

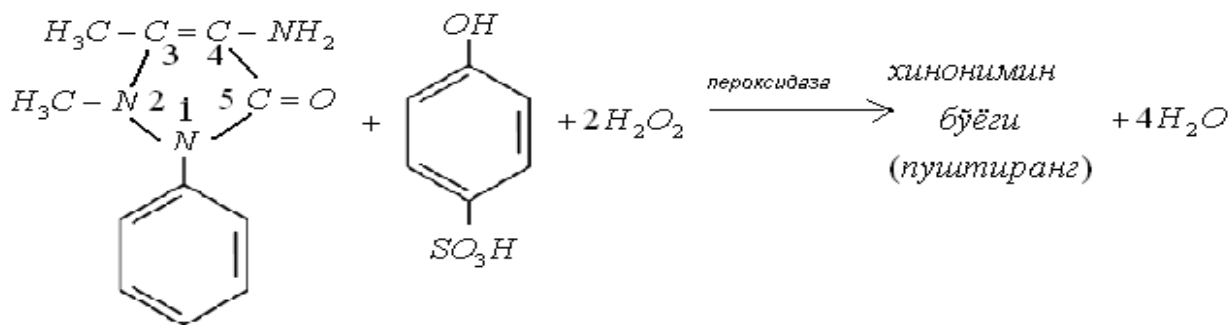
Glyukozooksidaza D-glyukozaning birinchi uglerodidagi ikkita vodorod atomini havo kislorodiga tashilishini maxsus katalizlaydi. Fermentativ reaksiyani boshlanishidagi neytral modda – D-glyukonolakton suv biriktirib, D-glyukon kislotasiga aylanishida ekvimolyar miqdorda vodorod peroksidi hosil bo'ladi.



D-glyukoza

D-glyukonolakton

D-glyukon kislotasi



4 – Аминоантипирин

п – Гидроксibenзолсульфонат

Birinchi reaksiyada hosil bo'lgan vodorod peroksidi xrendan olingan peroksidaza ta'sirida parchalanadi, ajralgan kislorod reaksiya aralashmaga qoshilgan xromogenli kislorod akseptori n-gidroksibenзолsulfonatni oksidlaydi. Oksidlanuvchi bo'yoq sifatida 4-aminoantipirindan foydalaniladi. Benzol halqalarini oksidlanishida pushti rangli xinonimin bo'yog'i va suv hosil boladi (2-reaksiyaga qarang). Glyukoza miqdorini aniqlash bo'yalgan rang

jadalligini o'lchashdan iborat bo'lib, tekshirilayotgan eritma optik zichligi glyukozani kalibrlangan eritmalari rangi bilan taqqoslanadi.

Ushbu usul "haqiqiy" glyukoza miqdorini aniqlash usuli deb ataladi, chunki qondagi boshqa qaytaruvchi moddalar (siydik kislotasi, glyutation, kreatinin) glyukozooksidaza bilan bo'yalgan birikmalar bermaydi.

Tekshiriluvchi material: qon

Reaktivlar: 1. Glyukoza miqdorini qonda va siydikda glyukozooksidaza usulida aniqlash uchun "Glyukoza – FKD" reaktivlar toplami (tayyorlanishi 23-ilovada). Ishchi eritma: ferment-xromogenli aralashma. Kerakli miqdori – 10 (20) ml bitta tajriba uchun, kyuveta qalinligi 5(10) mm. Har bitta qoshimcha olchashga kerak bolgan ishchi eritma 2,5 (5) ml. Kalibrator: glyukoza eritmasi (10 mmol/l) – 0,1 (0,2) ml ishchi eritma. 1.3. Antikoagulyant: natriy oksalat yoki natriy ftorid eritmasi – 1,8 (3,6) ml bitta aniqlashga, keyingi h ar bir aniqlash uchun – 0,9 (1,8) ml. Tibbiyot spirti. 3. Distillangan suv.

Eslatma: qavs ichida korsatilgan raqamlar fotoelektrokolorimetrlashda 10 mm kyuvetadan foydalanilganda olinadigan reaktiv miqdori.

Jihozlar: 1 va 5 ml li pipetkalar. Qon olish uchun 0,1(0,2) ml li pipetkalar. Setrifuga va sentrifuga probirkalari. FEK, 5 va 10 ml li kyuvetalar. Probirkali shtativ. Bir marotabali skarifikator (barmoqdan qon olishda qollaniladigan moslama).

Ishning bajarilishi:

1. Sentrifugali probirkaga 0,9 (1,8) ml antikoagulyant eritmasidan olib, ustiga 0,1 (0,2) ml barmoqdan olingan qon qoshiladi, aralashtirib, 5-7 daqiqa davomida 3000 aylanishda sentrifugalanadi.
2. Toza probirkaga olingan 0,5 (1,0) ml sentrifugatga 2,5 (5) ml ishchi eritmada qoshiladi, chayqatilib, xona h aroratida 25 daqiqaga qoldiriladi. Inkubatsiya vaqtining har 5-10 daqiqasida probirka chayqatilib turiladi.
3. Inkubatsiyadan song tajriba namunasini optik zichligi tarkibida qon bolmagan nazoratga nisbatan 5 (10) mm kyuvetalarda 490-540 nm tolqin uzunligida (ko`k svetofiltr) olchanadi.
4. Ish bajarilishi davomida parallel ravishda kalibrli namunalar ham tayyorlanadi. Ular tarkibida qon ornida 1 mmol/l miqdordagi glyukoza bo'lib, tajriba namunasida korsatilgan barcha ishlar qaytariladi. Qondagi glyukoza miqdori formula bo'yicha hisoblanadi:

$$S = (E_0 / E_k) \cdot 10_1$$

Bunda:

S – glyukozani mmol/l dagi miqdori;

E₀ – tajriba namunasining optik zichligi;

E_k – kalibrlovchi namunaning optik zichligi;

10 – kalibratordagi glyukozani mmol/l dagi miqdori.

Odam qoni zardobi yoki plazmasidagi glyukozani normadagi miqdori 3,6-6,1 mmol/l.

Tekshirish natijalari jadvalda keltiriladi.

16-jadval

Reagentlar tayyorlash sxemasi

Reaktivlar Ml	namunalar					
	Tajriba		Kalibrli		Bosh	
Kyuveta, mm	0,5	10	0,5	10	0,5	10
1.Antikoagulyant	0,9	1,8	0,9	1,8	-	-
2.Qon	0,1	0,2	-	-	-	-
3.Sentrifugat	0,5	1,0	-	-	-	-
4.Kalibrator	-	-	0,1	0,2	-	-
5.Antikoagulyant kalibrator aralashmasi	-	-	0,5	1,0	-	-
6. Ishchi eritma	2,5	5,0	2,5	5,0	2,5	5,0
7.Distillangan suv	-	-	-	-	0,5	1,0

Xulosada otkazilgan tekshirish natijasida olingan glyukoza miqdori qondagi normal miqdori bilan taqqoslanadi va keltirilgan korsatkichlar asosida - norma, giperglikemiya, gipoglikemiya haqida fikr yuritiladi.

17-jadval

Glyukozooksidaza usulida qondagi glyukozani miqdoriy aniqlash

Tekshirish uchun olingan qon miqdori ml	Glyukoza eritmasini kalibrlangan miqdori mmol/l	Tajriba namunasini optik zichligi	Kalibrli namuna ning optik zichligi	Glyukozani qondagi miqdori mmol/l	Usulning asosi
--	--	---	--	--	-------------------

68- tajriba : Qondagi glyukoza miqdorini o-toluidin usulida aniqlash

Glyukoza miqdorini aniqlash uchun qollaniladigan ba'zi usullar qon tarkibidagi hamma qaytariluvchi uglevodlar va uglevod bolmagan (glutution, kreatin, siydik kislotasi) birikmalarni

umumiy yi g`indisini aniqlaydi va natijada glyukoza miqdori qondagi haqiqiy glyukoza darajasidan birmuncha baland bo`ladi. O-toluidin va glyukzooksidaza usullari boshqa usullarga nisbatan biologik materiallarda haqiqiy glyukoza miqdorini aniqlaydi.

Mazkur usul glyukozani o-toluidin ishtirokida sirka kislotasi eritmasida qizdirilganda kok rangli birikma hosil qilishiga asoslangan. Rangning jadallik darajasi glyukoza miqdoriga bog`liq.

Tekshiriluvchi material: barmoqdan olingan qon.

Reaktivlar: Uchxlorsirka kislotasi (UXSK) 30 g/l eritmasi. o-toluidin reaktivi (tayyorlanishi 24-ilovada). Glyukozani yangi tayyorlangan 27,8 mmol/l standart eritmasi.

Jihozlar: Sentrifuga probirkalari. 0,1; 1,0 va 5,0 ml li pipetkalar. Sentrifuga. FEK. Skarifikator.

Ishning bajarilishi:

1. Sentrifuga probirkasiga 0,9 ml UXSK dan olinadi. Tekshirilayotgan sub'ekt barmog`idan mikropipetka bilan 0,1 ml qon olib, UXSK saqlagan probirkaga solinadi, yaxshilab arlashtirilgach, daqiqasiga 3000 aylanish tezligida 10 daqiqa davomida sentrifugalanadi.
2. Sentrifugatdan 0,5 ml olib, boshqa toza probirkaga quyiladi va 2 ml o-toluidin reaktividan qoshib, 8 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi, so`ngra oqib turgan suvda sovutiladi.
3. Standart namuna uchun qon orniga 0,1 ml 5 marta suyultirilgan glyukoza eritmasi olinadi, 0,9 ml UXSK qoshib, arlashtiriladi.
4. Aralashmani 0,5 ml ga 2 ml o-toluidin reaktivi qoshib, reaksiya o`tkaziladi.
5. tajriba va standart namunalar FEK da 590-650 nm tolqin uzunligida (qizil svetofiltr) qalinligi 0,5 sm bo`lgan kyuvetada distillangan suvga nisbatan fotometrlanadi.

Glyukozani qondagi miqdori (X mmol/l) formula bo`yicha hisoblanadi:

$$X = \frac{E_{te} \cdot S_{sn}}{E_{se}}$$

Bunda:

E_{te} – tajriba ekstinksiyasi;

E_{se} – standart ekstinksiyasi;

S_{sn} – standart namunadagi glyukoza miqdori, 5,55 mmol/l ga teng.

Ish natijasini rasmiylashtirishda tekshirilayotgan sub'ekt qonidagi glyukoza miqdori hisoblanadi va uning darajasini ozgarish sabablari to'g'risida xulosa chiqariladi.

Nazorat savollari

1. Qanday mon-, di- va polisaxaridlarni bilasiz?
2. Qondagi qand miqdorini glyukozooksidaza usuli bilan aniqlash nimaga asoslangan? Uning boshqa usullardan afzalligi nimada?
3. Glyukoza miqdorini qonda orto-toluidin usulida aniqlash nimaga asoslangan?
4. Organizmda polisaxaridlarni parchalanishining qanday yollarini bilasiz?
5. Insulin va adrenalin qondagi qand miqdoriga qanday ta'sir krsatadi va ularning ta'sir mexanizmini tushuntiring?
6. Uglevodlarni aerob parchalanishining qaysi yollari sizga tanish?
7. Uglevodlarning aerob va anaerob oksidlanishini energetik samarasi qanday?
8. Uglevodlarning anaerob oksidlanishini biologik ah amiyati nimada? Energetik qimmati qanday?
9. Glikolizni oxirgi mah sulii bolgan sut kislotasini qaysi reaksiya bilan aniqlash mumkin?
10. Piruvatni qaysi reaksiyalar yordamida aniqlanadi? Miqdoriy ozgarishi sabablarini ayting.
11. Spirtli bij g'ishning glikolizdan farqi nimada?
12. Qaysi reaksiyalar yordamida spirtli bij g'ishni oxirgi unumlari aniqlanadi?
13. Sorilgan monosaxaridlar organizmda qanday ozgarishlarga uchraydi? Misollar keltiring.
14. Qondagi qand miqdorini aniqlash uchun uni oqsildan tozalash sababini ayting.
15. Glikoliz, pentozofosfatli sikl va glyukoneogenezni organizm modda almashinuvida o'zaro bog'liqligi qanday?
16. "Haqiqiy glyukoza" ni aniqlashning biokimyoviy ah amiyatini asoslang.
17. Sial kislota miqdorini aniqlashning diagnostik ahamiyati nimada?
18. Siydikda glyukoza miqdorini aniqlashda qollaniladigan Trommer reaksiyasi nima?
19. Glyukozuriya h olatini kelib chiqish sabablarini sanab bering.
20. Giperglikemiya va gipoglikemiya nima, ular qanday kasalliklarda uchraydi?

LIPIDLAR ALMASHINUVI

Lipidlarga neytral yog'lar va yog'simon moddalar (lipoidlar) kiradi. Lipidlar barcha organizmlar tarkibida bolib, kimyoviy tarkibi va strukturasi boyicha farqlanadi, ular suvda erimaydi, organik eritmalar (efir, spirt, benzol, xloroform va boshqalar) da yaxshi eriydi. Lipidlar energiyaga boy manba, organizmda oksidlanganda energetik qimmati 9,0 kkal/g (37,7 kJ/g) ga barobar. Lipidlar hujayra membrana qurilishida qatnashib, uning funksiyasi va ma'lum darajada otkazuvchanligida ishtirok etadi. Hayvon hujayra membranasi qo'sh qavatli oqsil saqllovchi

lipiddan iborat. Qon tarkibida lipidlar xilomikron va lipoproteinlar shaklida harakatlanadilar, tana harorati (issiqlik)ni saqlash va boshqarishda amortizator sifatida muhim ahamiyatga ega. Yog`lar tuzilishi bo`yicha glitserin spirti bilan yuqori molekulyar yog` kislotalar (stearin, palmitin, olein va boshqalar) aralashmasining murakkab efiri hisobalanadi.

Yog`lar tarkibidagi to`yinmagan yog` kislotalari (linol, linolen, araxidon) ning ahamiyati juda katta, chunki ularning oziqa mahsulotlarida yetishmasligi ateroskleroz, tromboz, osma, teri ekzemi, shilliq pardalar yarasi kabi har xil kasalliklarning kelib chiqishiga sabab bo`lishi mumkin. Araxidon kislotasidan hujayralarda prostaglandinlar sintezlanadi, ular qurilishi bo`yicha 20 atomli uglerod zanjirli toyinmagan yog` kislotasi va siklopentan halqasidan tuzilgan. Prostaglandinlar biologik faol moddalar bo`lib, axborot tashishdek zarur vazifalarni bajaradilar, masalan, yurak mushaklari qisqarish kuchi va tezligini o`zgarishida, badanning ayrim qismlaridagi qon tomirlarini kengayishida, bronxlarni kengaytirish ta`siri uchun, bachadon muskullarini qisqarishini oshirishda (tug`ish faoliyatini kuchaytirish maqsadida) va boshqalarda ulardan foydalaniladi. Lipoidlarga fosfolipidlar, glikolipidlar, sulfolipidlar va sterinlar kiradi. Bular ichida eng ko`p tarqalgani fosfatidlar va sterinlar.

Odam organizmidagi yog` kislotalarining ko`pchiligida uglerod atomlari juft sonli bo`ladi.

Turli lipidlar guruhlarining yog` kislota tarkibi turlichadir. Odam yog` toqimasining triatsilglitserinlarida (yog`larida) olein, palmitin, linol yog` kislotalari miqdori boshqalariga nisbatan ko`p va boshqa lipidlarda ham ko`plab uchraydi. Lekin hujayra membranalari glikolipidlari va fosfolipidlarining yog` kislota tarkibi turlari yuqoridagilaridan farqlanadi. Nerv hujayralarining murakkab lipidlarida xarakterli yog` kislotalari borligi aniqlangan. Organizm yog` kislotalarining manbai bo`lib ovqat lipidlari (asosan yog`lar) va uglevodlardan sintezlanadigan yog` kislotalari xizmat qiladi. Yog` kislotalari asosan uch yonalishda sarflanadi: 1) rezerv yog`lar tarkibini tashkil etadi; 2) murakkab lipidlar tuzilishida qatnashadi; 3) karbonat angidrid va suvgacha oksidlanib, hosil bo`lgan energiya ATF sintezida foydalaniladi. Toqimalarda erkin yog` kislotalari miqdori ko`p emas, ular asosan boshqa lipidlar sintezi va parchalanishida oraliq mahsulot shaklida xizmat qiladi. Yog`lar almashinuvining bir qancha xususiyatlari, jumladan qon va limfada tashilishi uchun maxsus mexanizmlar zarurligi, shuningdek hujayralarda glikogen singari toplanishi ularning suvda erimasligi bilan bog`liqdir. Yog`larning biologik funksiyasi ham glikogen funksiyasiga oxshab ketadi, ikkala modda energetik materialni g`amlangan zahira shakllari sifatida xizmat korsatadi.

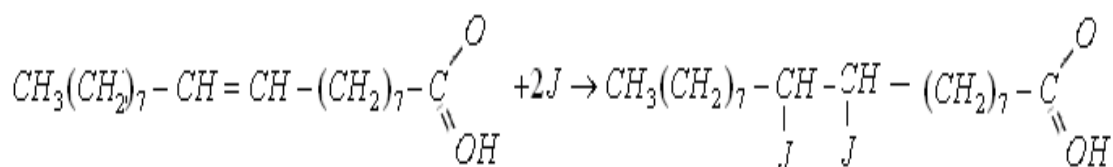
Lipidlarning oraliq almashinuvi

Organizmida lipidlarning oraliq almashinuvini organishda biologik suyuqliklardagi lipidlar tarkibiy qismlari miqdori aniqlanadi. Ba'zi lipidlar murakkab tuzilgan komplekslar – lipoproteidlarni tashkil etsa, ba'zilar plazma yoki zardob oqsillari, asosan, albuminlar bilan adsorbsiyalanadi. Ingichka ichak shilliq qavatida hosil bolib, qonga limfa orqali tushadigan xilomikronlar tarkibida pre-β-lipoproteidlar – zichligi nih oyatda past bolgan lipoproteidlar, β-lipoproteidlar – zichligi past bolgan lipoproteidlar va α-lipoproteidlar – zichligi yuqori lipoproteidlar bor. Mazkur lipoproteidlarning apoproteinlari (oqsil qismi) jigarda sintezlangani uchun lipoproteidlarning qondagi miqdori boyicha nafaqat lipid almashinuvi haqida, shu bilan birga jigar funksiyasi to'g'risida ham fikr yuritiladi.

Klinikada lipidlar almashinuvini tekshirishda lipoproteidlar qatorida qon plazmasi yoki zardobidagi barcha lipidlarning umumiy yig'indisi va ularning alohida olingan fraksiyalari – triatsilglitserinlar, efilanmagan yog' kislotalari (erkin yog' kislotalari), erkin xolesterin va uning efilangan fraksiyasi, fosfolipidlar miqdori aniqlanadi.

69 - tajriba : **Yo g` tarkibidagi toyinmagan yo g` kislotalarini aniqlash**

Toyinmagan yog' kislotalari qo'sh bog'li joylariga galogenlarni oson biriktirib, yog' kislotalarining galogenli unumlarini hosil qilishlari brom yoki yod eritmalarining rangsizlanishi bilan isbotlanadi.



Tekshiriluvchi material: osimlik yog'i yoki baliq moyining xloroformdagi eritmasi.

Reaktivlar: Brom yoki yod. Xloroformli eritma.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi:

1. 15-20 tomchi xloroformdagi yog' eritmasiga chayqatilib turilgan holda bir tomchi brom yoki yodning (boyalgan) xloroformli eritmasidan tomiziladi.
2. Reaksiya boshlanishida yog' kislotasi molekulasidagi qosh bog'lari orniga galoidlarni birikishi natijasida brom yoki yod eritmasini rangsizlanishi kuzatiladi.
3. Toyinmagan bog'lar toyinganidan song qoshilgan brom yoki yod oz rangini yoqotmaydi.

4. Yog` tarkibidagi toyinmagan yog` kislotalari miqdorini “yod miqdori” bo`yicha, ya`ni 100 g yo g`ga birikkan yodning grammdagi korsatkichi asosida aniqlasa boladi.

Xulosada reaksiyani kechishini yozib, tekshirilayotgan yog`da to`yinmagan yog` kislotalari borligini tushuntirib bering.

70 - tajriba : Yog`lar emulsiyasi

Emulsiya jarayoni ovqat tarkibidagi yog`larni ichakda lipaza fermenti ta`sirida hazm bolishini tezlashtirish uchun zarur bo`lib, yog` sathi yuzasini lipazaning suvli eritmasi bilan tegib turishini oshiradi. Emulgatorlarga yuza sirti faol moddalar – oqsillar, ot kislotalari tuzlari, sovunlar kiradi. Yuqori faollikdagi emulgirlovchilar qatorida ot kislotalarining ishqorga ta`sirchan tuzlari bo`lib, ular ot bilan o`n ikki barmoqli ichakka quyiladi va yupqa qavat shaklida yog` tomchilari yuzasida toplanadi. Bunda ot kislotalarining gidrofil guruh lari suv fazasi tomoniga, gidrofob radikallari esa yog`ga yonaltirilgan bo`ladi. Bu vaqtda ikkita fazani bolinib turgan suv/yo g` yuzasida sirt tortish kuchi kamayib, yog` tomchilarini mayda bo`lakchalarga parchalaydi.

Tekshiriluvchi material: osimlik yo g`i yoki baliq moyining xloroformdagi eritmasi.

Reaktivlar: Ikki marta suyultirilgan o`t. Oqsil eritmasi (tayyorlanishi 26-ilovada). Natriyli sovunning 1% li eritmasi. Natriyli uglerod oksidi (soda)ning 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi:

1. 5 ta probirka olib, birinchisiga 15 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 15 tomchi suyultirilgan ot, uchinchisiga 15 tomchi suyultirilgan oqsil, tortinchisiga 15 tomchi 1% li sovun eritmasi va beshinchisiga 15 tomchi 1% li soda eritmasi quyiladi.
2. H ar bir probirkaga 3-4 tomchidan osimlik yo g`i qoshilib, aralashtiriladi va tartib bilan shtativga o`rnatiladi.
3. Birinchi probirkada tur g`un bolmagan yo g` va suv qavatiga ajralgan emulsiya yoq, ikkinchi, uchinchi, tortinchi va beshinchi probirkalarda emulsiya hosil bo`lganligi kuzatiladi.

Yo g`ni soda bilan emulgirlanishi natriy uglerod oksidini yog`dagi erkin yog` kislotalari bilan reaksiyaga kirishishi oqibatida sovun hosil bolishiga bog`liq.

Tajriba natijalarini jadvalda keltirib, turg`un emulsiya hosil bo`lganligining taqsimlanish darajalarini ko`rsating.

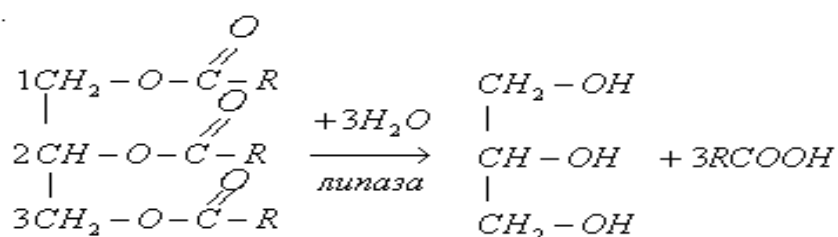
Xulosada qaysi emulgator ta`sirida eng barqaror emulsiya hosil bo`lganligini korsating. Har xil fiziologik emulgatorlarni yog`larning ichakda hazm bo`lishidagi qiyosiy ahamiyatini aniqlang.

Yog'larni emulsiyalanishi

Tekshirilayotgan yog`	Emulgatorlar				
	Yoq	o`l	oqsil	sovun	Soda

71 - tajriba : Pankreatik lipaza faolligiga o`l kislotalarining ta`siri

Yog'larni ichakda glitserin va yuqori yog` kislotalariga parchalanishi asosan me`da osti bezidan ajraluvchi lipaza, qisman ichak shilliq bezlarida ishlanadigan lipazalar ishtirokida bajariladi. Lipaza ta`sirida triglitseridlardan  $\alpha$ -h olatidagi yog` kislota qoldiqlari ajralib chiqadi. Hosil bolgan β -monoglitserid avval α -monoglitseridga izomerlanadi, songra u ham lipaza ta`sirida glitserin va yog` kislotasiga parchalanishi mumkin. Natijada triglitserid glitserin va uch molekula yog` kislotasiga bo`linadi.



Triglitserid glitserin yog` kislotasi

Lipazani yog`ga ta`sir qilishida jigarda hosil bo`ladigan o`l kislotalarini qatnashishi zarur. O`l kislotalari yog'larni emulgirlab, ularni lipaza ta`siriga berilishini oshiradi. Shuning uchun ham tekshirishda sut qulay material hisoblanadi, chunki sutda yog` emulgirlangan holatda boladi. Lipaza manbai sifatida me`da osti bezi ekstraktidan yoki quritilgan pankeratindan foydalaniladi.

Tajriba sut yog`ini lipaza ta`sirida glitserin va yog` kislotalariga parchalanishiga asoslangan. Yog` kislotalari reaksiya muh itini kislotali tomonga surgani uchun uni ishqor bilan titrlab aniqlanadi. Tajriba sut yog`iga ta`sir ko`rsatishi mumkin bolgan uchta yolni nazarda tutadi: 1) o`l qoshilmagan lipaza; 2) o`l qo`shilgan lipaza; 3) lipaza qoshilmagan o`l.

Tekshiriluvchi material: qaynatilgan sut

Reaktivlar: Fenolftaleinning etil spirtidagi 1% li eritmasi. 10 % li oyuvchi natriy eritmasi. O'yuvchi natriyning 0,1 n eritmasi. Pankreatin-lipaza saqlagan (miqdori 100 mg dan) me'da osti preparati. O't.

Jihozlar: O'lchov silindri. 25, 50 ml konussimon kolbalar. Byuretkalar. 5 ml li pipetkalar.

Ishning bajarilishi:

1. Kolbaga 20 ml sut quyib, tarkibidagi nordon tuzlari bergan kislotalik xususiyati neytrallanadi. Buning uchun kolbaga 2 tomchi 1% li fenolftaleinning 2 tomchisi va 4 tomchi 10% li oyuvchi natriy (ortiqcha bolmasligi kerak) tomiziladi va aralashtirilib turilgan holda eh tiyotlik bilan kolbadagiga oyuvchi natriyning 0,1 n eritmasidan och pushti rang hosil bo'lguncha qo'shiladi.
2. Neytrallangan sutdan konussimon kolbalarda quyidagi sxema (23-jadval) boyicha tajriba namunalari tayyorlanadi va yaxshilab aralashtirilib, xona haroratida qoldiriladi.
3. Inkubatsiya boshlanishidan 15 daqiqa otgach, namunalar byuretkadagi 0,1 n NaOH eritmasi bilan och pushti ranggacha titrlanadi, songra yana xona haroratida qoldiriladi. Sarflangan ishqor miqdori 23-jadvalda yoziladi.
4. Inkubatsiya boshlanishidan otgan 15, 30, 45 va 60 daqiqalarda namunalarni titrlash qaytariladi. Har bir titrlashda, ya'ni 15 daqiqa vaqt oralig'ida lipaza ta'sirida sut yog'ini gidrolizi natijasida ajralayotgan yog' kislotali miqdori aniqlanadi.

Ishni rasmiylashtirishda har bir namuna uchun yog'ni lipaza ta'sirida parchalanish dinamikasini grafik ko'rinishida ifodalanadi.

19-jadval

Sut yog'ini lipaza bilan gidrolizlash

№ Namunalar	Sut ml	Pankeatin mg	O't ml	Suv ml	0,1 n NaOH eritmasi bilan titrlash natijalari vaqti, ml			
					15 daqiqa	30 daqiqa	45 daqiqa	60 daqiqa
1.	5	100	-	1				
2.	5	100	1	-				
3.	5	-	1	-				

Abssissa oqiga vaqt daqiqalari, ordinata oqiga shu vaqt ichida (15,30,45, 60 daqiqalar) hosil bolgan yog` kislotalarini neytrallashga sarf qilingan natriy gidroksidning 0,1 n eritmasini ml dagi miqdori qo`yiladi.

Lipaza faolligi tekshirish vaqti davomida 100 ml sutdan hosil bo`lgan yog` kislotalarini karboksil guruhini miqdori quyidagi formula bo`yicha belgilanadi:

$$X = \frac{G - \text{экв } COOH - G_{\text{pynn}} \cdot 0,1 \cdot A \cdot 100}{5}$$

Bunda:

X-100 ml sutdan hosil bo`lgan mg% dagi COOH guruhi konsentratsiyasi

0,1- natriy gidroksid eritmasi normalligi

A-5 ml sutni butun inkubatsiya vaqti davomida titrlash uchun sarflangan 0,1 n natriy gidroksid eritmasini ml dagi miqdori.

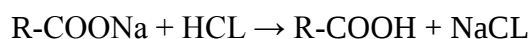
5- titrlanuvchi namunadagi sutni ml dagi miqdori.

Grafikdagi egri chiziq va karboksil guruh lar boyicha olingan natijalar asosida lipaza faolligini ot kislotalariga bo`g`liqligi haqida xulosa chiqariladi. Hosil bo`lgan erkin yog` kislotalari miqdorini ferment ta`sirini davomiyliги bilan bog`liqligini korsating.

72- tajriba : Yuqori yog` kislotalarining qonda tashilishida zardob albuminining ahamiyati

Organizmدا oziqa lipidlari va yog` depolarini lipaza ta`sirida fermentativ parchalanishi oqibatida qonda doimo ma`lum miqdorda erkin (efirlanmagan) yog` kislotalari bo`ladi. Yuqori darajadagi (yoki uzun zanjirli) yog` kislotalari suvda erimaydilar, qon plazmasida ular asosan albuminlar kompleksi korinishida harakatlanadilar. Albuminlar molekulasida aminokislotalarning gidrofob radikallari ishtirokida hosil bolgan boshliq bolib, unga yog` kislotalarining uglevodorodli zanjiri joylashishi mumkin.

Mazkur tajribada erkin yog` kislotalari va ularning zardob albuminli komplekslari eruvchanligi taqqoslanadi. Yuqori yog` kislotalarining natriyli tuzi (sovun) albuminlar bilan ozaro reaksiyaga kirishganda ularning kompleksi tashkil topadi. Kompleksga xlorid kislotasi qoshilganda natriy siqib chiqariladi va erkin yog` kislotalari hosil bo`ladi:



Zardob albumini bilan kompleks hosil qilgan yuqori yog` kislotalari eritmada qoladi, albumin yoqligida esa chokmaga tushadi. Ishni bajarishda xlorid kislotasini ortiqcha miqdori

bolmasligi kerak, chunki u oqsilni denaturatsiyaga uchratib, uni kompleks hosil qilish imkoniyatini buzishi mumkin.

Tekshiriluvchi material: natriyli sovunning 1% li eritmasi.

Reaktivlar: Qon zardobi. 1% li xlorid kislota.

Jihozlar: Probirkali shtativ.

Ishning bajarilishi:

5. Inkubatsiya boshlanishidan 15 daqiqa otgach, namunalar byuretkadagi 0,1 n NaOH eritmasi bilan och pushti ranggacha titrlanadi, songra yana xona haroratida qoldiriladi. Sarflangan ishqor miqdori 23-jadvalda yoziladi.
6. Inkubatsiya boshlanishidan otgan 15, 30, 45 va 60 daqiqalarda namunalarni titrlash qaytariladi. Har bir titrlashda, ya'ni 15 daqiqa vaqt oralig'ida lipaza ta'sirida sut yog'ini gidrolizi natijasida ajralayotgan yog' kislota miqdori aniqlanadi.
1. Ikkita probirkaga 6 tomchidan sovun eritmasi tomiziladi. Birinchi probirkaga 20 tomchi qon zardobi, ikkinchisiga shuncha miqdorda suv qo'shiladi. Probirkadagi suyuqliklar yengil silkitilib, aralashtiriladi.
2. Suv qoshilgan probirkaga 1-2 tomchi 1% li xlorid kislota qo'shilganda erkin yog' kislotalarining chokmasi paydo bo'ladi.
3. Qon zardobi tutgan probirkaga shuncha miqdorda xlorid kislota qo'shilganda yog' kislotalari cho'kmaga tushmaydi, chunki ular zardob albumini bilan kompleks birikma hosil qilgan.

Tekshirish natijalarini yozganda yog' kislotalari va ularning albuminlar bilan hosil qilgan komplekslarini eruvchanligidagi farqni asoslang, kompleks hosil bo'lish ahamiyatini ko'rsating.

73 - tajriba : Qon zardobidagi lipidlarning umumiy miqdorini

aniqlash

Fiziologik sharoitda qon tarkibida lipidlar miqdorini ortishi (giperlipemiya) yog'ga boy bo'lgan ovqat moddasi iste'mol qilinganda 1-4 soat otgandan keyin kuzatiladi. Nahorda umumiy lipidlar miqdori pasayadi (gipoglipemiya). Qon zardobida umumiy lipidlarning normal miqdori (normolipemiya) 4,0-8,0 g/l ga to'g'ri keladi. Ko'pchilik patologik vaziyatlarda giperlipemiya holati uchraydi, masalan, qandli diabet, buyrak kasalliklari, jigar jarohatlari, semizlik, ateroskleroz, alkogolni iste'mol qiluvchilarda giperlipemiya yuqori darajalarda (20 g/l gacha) oshganligi aniqlangan. Qon zardobida lipidlar umumiy miqdorini aniqlash to'yinmagan

lipidlarning parchalangan unumlarini fosfovanilin reaktivi bilan rangli birikma hosil qilishiga asoslangan. Rangning jadallik darajasi zardobdagi umumiy lipidlar miqdoriga proporsional.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi

Reaktivlar: Konsentrlangan sulfat kislotasi. Fosfovanilin reaktivi
(tayyorlanishi 27-ilovada).

Jihozlar: Probirkali shtativ. 0,1; 1,0 va 10 ml hajmli pipetkalar. Shisha tayoqchalar. Suv hammomi.

Ishning bajarilishi:

1. Ikkita quruq va toza probirka olib, birinchisiga – tajriba probirkasiga 0,1 ml qon zardobi va ehtiyotlik bilan maxsus pipetkada 2,9 ml konsentrlangan sulfat kislotasi, ikkinchisiga – nazorat probirkasiga 0,2 ml distillangan suv va 5,8 ml konsentrlangan sulfat kislotasi quyiladi.
2. Probirkalardagi suyuqliklar shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtirilib, ehtiyotlik bilan 10 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga qoyiladi, songra tezlikda ikkala probirka suv oqimida xona haroratigacha sovutiladi.
3. Tajriba probirkasidan 0,2 ml nazorat probirkasidan 0,4 ml sovutilgan suyuqliklardan olib, avvaldan tajriba uchun 3 ml, nazorat uchun 6 ml fosfovanilin reaktivi saqlagan probirkalarga o'tkaziladi.
4. Namunalar shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtirilib, rang hosil bo'lishi uchun 45 daqiqaga xona haroratidagi qorong'i joyga qo'yiladi.
5. Tajriba namunasini nazoratga nisbatan FEK da 500-560 nm (kok svetofiltr) qalinligi 0,5 sm li kyuvetada fotometrlanadi.

Umumiy lipidlarni qon zardobidagi miqdori x (g/l) formula boyicha hisoblanadi:

$$X = \frac{m \cdot 10000 \cdot 3}{0,2 \text{ ml} \cdot 1000}$$

Bunda:

m - kalibrlangan grafik asosida topilgan umumiy lipidlarning namunadagi mg miqdori (qarang, kalibrlangan grafik);

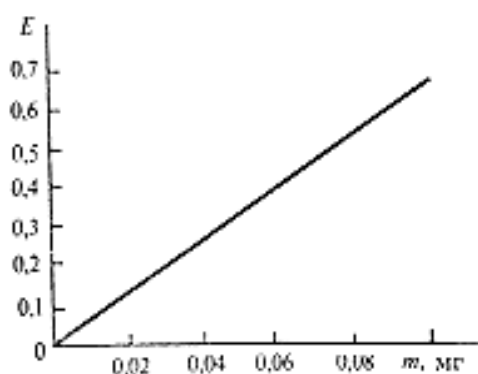
10000 – 1 l qon zardobiga hisoblangan koeffitsient;

1000 – milligrammlarni grammga otkazish koeffitsienti;

3 – tekshiriluvchi arlashmani boshlan g`ich umumiy hajmi (0,1 ml qon zardobi + 2,9 ml konsentrlangan sulfat kislotasi) ml;

0,2 ml – rangli reaksiya o`tkazish uchun olingan aralashma hajmi.

Ishni rasmiylashtirishda aniqlangan ekstinksiya asosida qondagi umumiy lipidlar miqdori hisoblanadi, agar ozgarishlar kuzatilsa, ularni sabablari ko`rsatiladi. Xulosada umumiy lipidlar miqdorini klinik laboratoriyalarda aniqlanishini lipidlar almashinuvidagi amaliy ahamiyati ko`rsatiladi.



6-rasm. Qon zardobidagi umumiy lipidlar miqdorini aniqlash uchun kalibrlangan grafik.

74 tajriba : Qon zardobidagi erkin yo g` kislotalari miqdorini aniqlash

Organizmida yog` kislotalarning asosiy manbai bo`lib ovqat lipidlari, lipaza ta'sirida parchalanadigan yog` to`qimalari va ular sintezida qatnashadigan uglevodlar xizmat qiladi. Yo g` kislotalari uch xil yonalishda sarflanadi: 1) rezerv yog`lar tarkibiga qoshiladi; 2) murakkab lipidlar qurilishida qatnashadi; 3) karbonat angidridi va suvgacha okidlanib, uning energiyasidan ATF sintezlanadi. Erkin yo g` kislotalari to`qimalarda boshqa lipidlar sintezi va parchalanishida oraliq mahsulot hisoblanganligi tufayli oz miqdorda (0,5-0,7 mg ekv/l yoki 500-700 mkmol/l) uchraydi. Yog` toqimasi triatsilglitserinlari gidrolizidan hosil bo`gan va jigarda sintezlanadigan yog` kislotalari qonda plazma albumini bilan birikkan holda bo`ladi. Erkin yoki efrilanmagan yog` kislotalarini miya hujayralaridan tashqari, kopchilik toqimalar ozlashtirish va sintez qilish imkoniyatiga ega, lekin asosiy iste'molchilari yog` to`qimasi, yurak va skelet mushaklaridir.

Erkin yog` kislotalarining miqdoriy o`zgarishi klinik-tashxis ahamiyatiga ega. Ular konsentratsiyasining qon zardobida kopayishi qandli diabetda, adrenalin ta'sirida, och qolganda, kamayishi esa qonga insulin, glyukoza yuborilganda kuzatiladi.

Erkin yog` kislotalarining miqdoriy aniqlash ularning misli tuzlarini natriy dietilditiokarbomat bilan rangli birikma kompleksini hosil qilishiga asoslangan bo`lib, rangning ravshanlik darajasi erkin yog` kislotalari miqdoriga proporsional.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: Palmitin kislotasining standart eritmasi (25,6 mg palmitat 100 ml xloroformda eritiladi; 1 ml eritmada 0,256 mg palmitat boladi). Xloroform. Misli reaktiv (tayyorlanishi 28-ildovada). Natriy dietilditiokarbomatning n-butanolda haydalgan 1% li eritmasi.

Jihozlar: Sentrifuga. FEK. Zich berkitiladigan probirkalar. Sentrifuga probirkalari. 1 va 5 ml li pipetkalar. Shisha tayoqchalar.

Ishning bajarilishi:

1. Ikkita zich berkitiladigan probirka olib, birinchisiga 0,5 ml qon zardobi, ikkinchisiga 1 ml palmitin kislotasining xloroformdagi eritmasidan quyiladi.
2. Tajriba probirkasiga 5 ml, standartli probirkaga 4,5 ml xloroform solib, ikkala probirkaga 2,5 ml dan misli reaktiv qoshiladi.
3. Bir vaqtning ozida nazorat namunalari tayyorlanadi. 5 ml xloroformga 2,5 ml misli reaktiv qoshiladi.
4. Probirkalar berkitilib, 3 daqiqa davomida chayqatiladi. So`ngra eritmalar sentrifuga probirkalariga otkazilib, 15 daqiqa davomida daqiqasiga 3000 aylanishda sentrifugalanadi.
5. Probirkalardagi suyuqliklar 3 qavatga ajaraladi: xloroform, oqsil va suv. Misli reaktivni ortiqcha miqdorini saqlagan yuqoridagi suv qavati olib tashlanadi, oqsilli parda probirka devoriga suriladi, xloroformli qavati esa boshqa probirkaga olinadi.
6. Xloroformli qismiga o`tgan yog` kislotalariga dietilditiokarbomat natriyning butanoldagi 0,1 % li eritmasidan 0,5 ml qoshib aralashtiriladi.
7. Tajriba va standart namunalarini FEK da kok svetofiltrda 5 mm li kyuvetalarda nazoratga nisbatan kolorimetrlanadi. Erkin yog` kislotalari formulaga binoan hisoblanadi:

$$Y_{e_{tajriba}} \cdot 1000$$

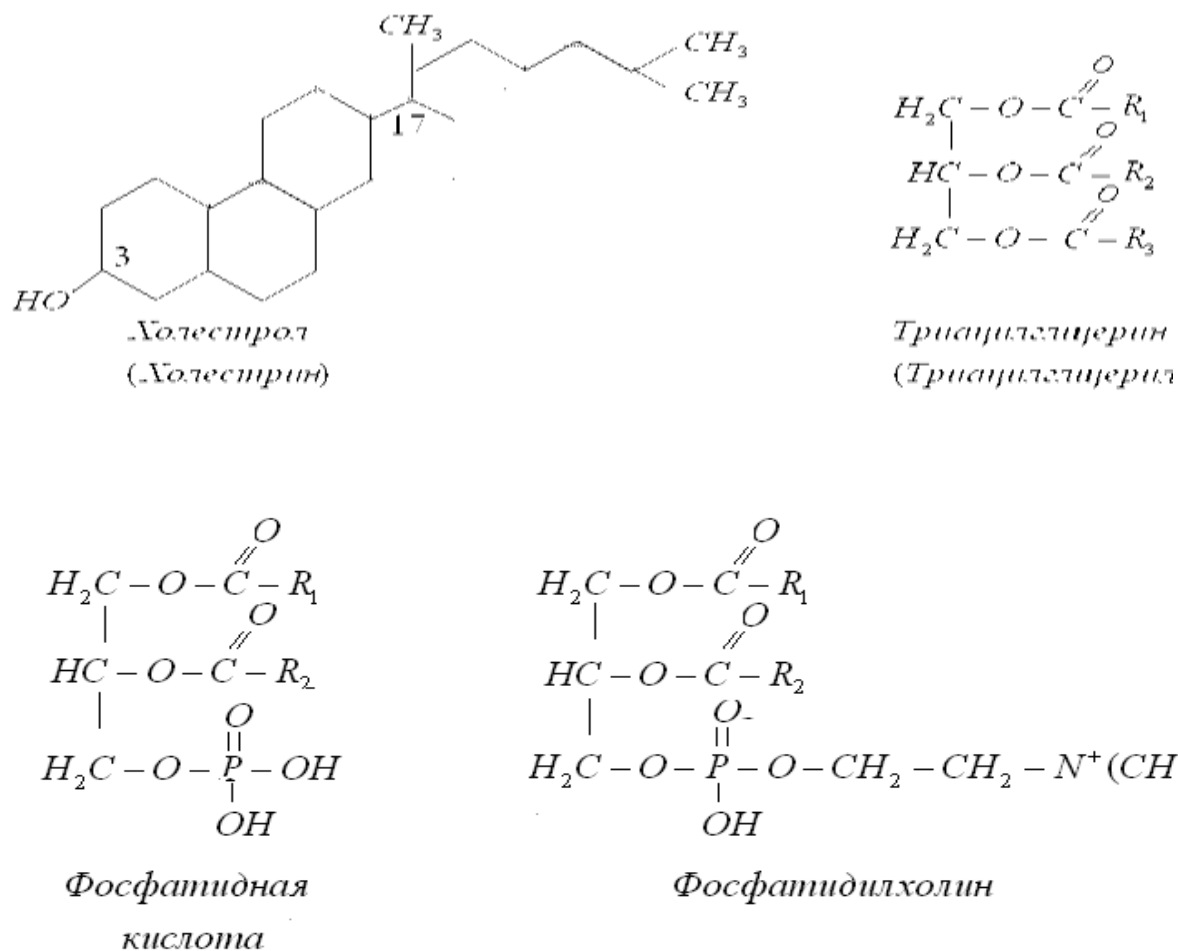
$$\frac{Y_{e_{standart}} \cdot 0,5}{\text{mkmol/l}}$$

Natijalarni rasmiylashtirishda olingan erkin kislota miqdorini uning normal ko`rsatkichiga taqqoslanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

Fosfolipidlar

Fosfolipidlar yoki fosfatidlar tarkibida fosfor saqllovchi lipidlar guruhiga taalluqli bolib, tuzilishida fosfat kislotasidan tashqari yuqori molekulali toyingan va toyinmagan yog` kislotalari, yuqori yog` kislotalarining aldegidlari, spirtlar (glitserin, inozit, sfingozin) va azot

asoslari (xolin, etanolamin, serin) saqlaydi. Qurilishida qatnashayotgan spirtga qarab ularni uch guruh ga taqsimlash mumkin: fosfoglitseridlar, fosfosfingozinlar va fosfoinozitlar. Bular ichida miqdor jihatidan keng tarqalgani fosfoglitseridlar bo'lib, ular kimyoviy unumlari bo'yicha fosfatidilxolinlarga (letsitinlar), fosfatidiletanolaminlarga (kefalinlar), fosfatidilserinlarga (serinfosfatidlar), atsetalfosfatidlarga, inozitfosfatidlarga, kardiolipinlarga taqsimlanadilar.



Fosfolipidlar tirik organizm barcha hujayra membranalari tarkibiga kiradi, ayniqsa, nerv toqimasi va tuxum sarig'ida ko'roq bo'ladi. Fosfolipidlar oqsillar bilan murakkab lipoproteinlar kompleksi hosil qilish xususiyatiga ega. Fosfolipidlarning qon zardobidagi umumiy normal miqdori 1,52 – 3,62 g/l (152-362 mg%), fosfatidilxolinniki esa – 0,75-1,2 g/l (75-120 mg%).

Fosfolipidlarning umumiy konsentratsiyasini lipiddagi fosfor miqdori bo'yicha aniqlasa boladi, chunki fosfor ulushi fosfolipidlar molekulyar massasining 4 % iga to'g'ri keladi. Lipidda topilgan fosfor miqdorini 25 ga ko'paytirib, umumiy fosfolipidlar miqdori aniqlanadi.

Fosfolipidlarning qon zardobidagi darajasi qandli diabetning o'g'ir shaklida, buyrak va jigar kasalliklarida ortadi, aksincha, ateroskleroz, kamqonlik, ozishda kamayadi.

75- tajriba : Qon zardobidagi fosfolipidlar miqdorini fosfor

bo'yicha aniqlash

Fosfolipidlar uchxlorsirka kislotasi yordamida qon oqsillari bilan birgalikda choktiriladi. Olingan chokma minerallashtirilib, qoldi g'ida anorganik fosfor aniqlanadi. Kolorimetrlashda aniqlangan fosfor miqdori asosida qon zardobidagi fosfolipid miqdori h aqida fikr yuritiladi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: Uchxlorsirka kislotasining 10% li eritmasi. 57% li xlor kislotasi eritmasi. Ammoniy molibdatning 4% li eritmasi (tayyorlanishi 29-ildovada). Aminonaftolsulfon kislotasi –eykonogenning ishchi eritmasi. 1 ml da 0,01 mg fosfor saqlagan kaliy digidrofosfatning (KH_2PO_4) standart ishchi eritmasi (tayyorlanishi 31-ildovada)

Jihozlar: 0,2 ml li mikropipetka. 1, 2, 5 va 10 ml li pipetkalar. Oddiy va sentrifuga probirkalari. Sentrifuga. Shisha munchoqlar. Qum hammomi. Fotoelektrokolorimetr

Ishning bajarilishi:

1. Sentrifuga probirkasiga 3 ml distillangan suv va 0,2 ml qon zardobidan olib, 3 ml 10% li uchxlorsirka kislotasi (birinchi 1,5 ml tomchilab) qoshiladi, chayqatilib, 1-2 daqiqaga qoldiriladi.
2. 1-2 daqiqadan keyin probirkadagi suyuqlik daqiqasiga 3000 aylanishda sentrifugalanadi, cho'ma ustki suyuqligi batamom olib tashlanib, cho'kmaga 1 ml 57% li xlor kislotasi va bir tekis qaynashi uchun 1-2 ta shisha munchoq solinadi.
3. Probirkadagi aralashma 20-30 daqiqa davomida 180°S li qum hammomida rangsizlanguncha qizdiriladi. Songra sovutilib, tajriba namunasiga h ajmi 7 ml bolguncha distillangan suv qoshiladi. Nazorat namunasini tayyorlash uchun 0,8 ml 57% li xlorid kislotasi eritmasi olinib, hajmi suv bilan 7 ml ga yetkaziladi.
4. Tekshirish jarayoni ishonchli bolishi uchun uchta probirkada 2 ml dan kaliy digidrofosfatni ishchi standart eritmasi va 0,8 ml dan 57% li xlorid kislotasi eritmasi bolgan nazorat standarti tayyorlanadi hamda har birining hajmi 7 ml ga yetguncha distillangan suv qo'shiladi.
5. Fosforni aniqlash uchun har bir probirkaga (tajriba, nazorat v standart) 4% li ammoniy molibdat eritmasidan 1 ml dan qoshib, aralashtirilgach, 1 ml dan aminonaftolsulfon kislotasidan solib, hajmi distillangan suv bilan 10 ml ga yetkaziladi.
6. Aminonaftolsulfon kislotasi qoshilganidan 20 daqiqa otkazib, paydo bo'lgan rang jadalligi FEK da 630-690 nm (qizil svetofiltr) tolqin uzunligida qalinligi 1 sm li kyuvetada o'lchanadi.

100 ml zardobdagi lipoidli fosfor mg% da formula bo'yicha hisoblanadi:

$$X = Y_{\text{op}} \cdot 0,02 \cdot 100 / Y_{\text{st}} \cdot 0,2 = Y_{\text{op}} \cdot 10 / Y_{\text{st}}$$

Bunda

X – mg% lipidli fosfor;

Y_{op} – tajriba namunasining optik zichligi;

Y_{st} – standart namunasini optik zichligi;

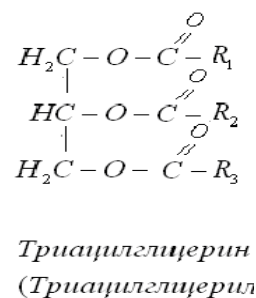
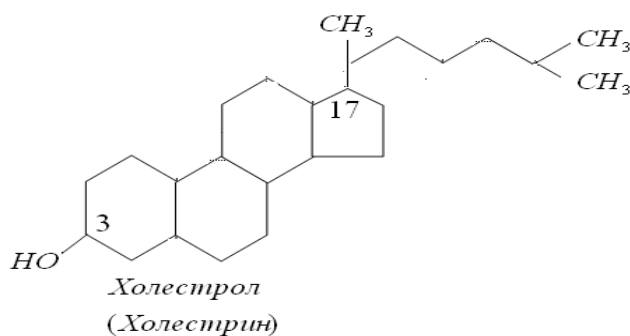
0,02 – 2 ml standartdagi fosfor miqdori, mg;

0,2 – tajribaga olingan zardob miqdori, ml;

Lipoidli fosfor fosfolipid molekulasini 4% (1/25 qismi)ni tashkil etgani uchun aniqlangan lipidli fosfor miqdorini 25 ga kopaytirib fosfolipidlarning umumiy miqdori topiladi. Katta yoshdagi kishilarda lipidli fosforni normadagi miqdori 6,1 dan 14,5 mg% gacha yoki 1,97-4,68 mmol/l (qayta hisoblash koeffitsienti - 0,323).

Sterinlar (sterollar) va steridlar

Sterinlar – siklopentanpergidrofenantren yadroli bir atomli to'ynmagan siklik spirtlar. Inson va hayvon organizmida xolesterin sterinlar vakili hisoblanadi. Ayrim toqimalarida asosan eterefikatsiyalanmagan xolesterin (eritrotsitlarda) bo'sa, boshqa toqimalarda – buyrak usti bezida, qon zardobida va boshqalarda xolesterinning yuqori molekulali yog' kislotalari bilan bog'langan efiri korinishidagi unumlari – steridlar ham uchraydi. Xolesterin toqima va qondagi lipoproteinlar tarkibiga kiradi. Qon plazmasida xolesterin murakkab lipoproteidlar kompleksining (xilomikronlar, zichligi juda past lipoproteinlar, o'rtacha zichlikka ega lipoproteinlar, zichligi past lipoproteinlar va zichligi yuqori lipoproteinlar) tarkibiy qismi hisoblanadi. Ayniqsa, miya toqimasi, buyrak usti bezlari, tuxum sarig'i, ot suyuqligi xolesteringa juda boy. Xolesterin biosintezi NADFN₂ ishtirokida ATF energiyasidan foydalanib, atsetilkoenzim A (SH₃-SO~S- KoA) dan amalga oshiriladi. Xolesterinning ozidan esa vitamin D, o't kislotalari, kortikosteroidlar, estrogenlar va androgenlar sintezlanishida foydalaniladi. Xolesterin almashinuvi buzilganda u aorta va arteriya tomirlari devorlarida (ateroskleroz), teri gistiotsitlari va paylarda (ksantomatoz) to'planishi, shuningdek o't qopida xolesterindan tosh hosil bolishi mumkin.



Xolesterin suvda erimaydi; xloroform, efir, atseton, isitilgan spirt va boshqa organik erituvchilarda va yog'larda eriydi.

76- tajriba : Qon zardobidagi xolesterinning umumiy miqdorini aniqlash

Xolesterinning yog` kislotalari bilan hosil qilgan unumlari uning umumiy miqdorini 60-70% ini tashkil etadi, qolgan 30-40% erkin xolesteringa to`g`ri keladi. Qon zardobida erkin xolesterinning efirlangan qismiga bo`lgan nisbati doimo bir xil. Miksedema, diabet, ateroskleroz va jigarning ayrim kasalliklarida qon plazmasi tarkibida xolesterin miqdorini ortishi (giperxolesterinemiya), kamayishi esa (gipoxolesterinemiya) surunkali yurak yetishmovchiligida, o`tkir yuqumli kasalliklarda, poliartrit va gipertireozlarda kuzatiladi.

Xolesterinni miqdoriy aniqlash usuli asosida uning temir xloridi ishtirokida sirka va sulfat kislotalari aralashmalari bilan qizil-pushti rangli mah sulot hosil qilishi yotadi. Rangning jadalligi tekshirilayotgan namunadagi xolesterin miqdoriga to`g`ri proporsional.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: Muzli sirka kislotasi (tozaligini tekshirish 32– ilovada). Asosiy eritmadan tayyorlangan temir xloridini ishchi eritmasi (tayyorlanishi 33-ilovada). 1 ml da 1 mg xolesterin bo`lgan xolesterinning asosiy standart eritmasi (tayyorlanishi 34-ilovada).

Jihozlar: 0,1 ml li mikropipetka. 1, 2 va 5 ml dagi o`lchamli pipetkalar. Probirkali shtativ. Fotoelektrokolorimetr.

Ishning bajarilishi:

1. 0,1 ml qon zardobiga 3 ml muzlatilgan sirka kislotasi va 2 ml temir xloridning ishchi eritmasidan qoshib, yaxshilab aralashtiriladi va 15 daqiqaga xona haroratida qoldiriladi.
2. FEK da 510-560 nm tolqin uzunligida (ko`k svetofiltr) qalinligi 1 sm bo`lgan kyuvetada nazoratga nisbatan kolorimetrlanadi.
3. Nazorat - 0,1 ml distillangan suvga 3 ml muzlatilgan sirka kislotasi va 2 ml temir xloridining ishchi eritmasidan qo`shiladi. Qolgan ishlar tajriba namunasi singari.
4. Hisoblash kalibrli garfik bo`yicha bajariladi.
5. Kalibrlash grafigini tuzish. 24-jadvalda korsatilganidek, xolesterinning asosiy standart eritmasini suyultirib tayyorlanadi.
6. 20 daqiqadan so`ng tekshiriluvchi namuna nazoratga nisbatan fotometrlanadi. Xolesterinning qon zardobidagi normal miqdori 120-250 mg% (3,12-6,50 mmol/l)

Xolesterinning suyultirilgan standart eritmaları

Probikalar №	Xolesterinning asosiy standart eritmasi, Ml	Muzlatilgan sirka kislotali, ml	Temir xlorid ning ishchi eritmasi, ml	Namunadagi xolesterin miqdori, mg%
1	0,1	3,0	2,0	100
2	0,2	3,0	2,0	200
3	0,3	3,0	2,0	300
4	0,4	3,0	2,0	400
5	0,5	3,0	2,0	500

Eslatma: Xolesterin miqdori 350 mg% dan ortiq bo'lganda tekshirilayotgan zardobni fiziologik eritma bilan suyultirib, olingan natijani suyultirish ko'rsatkichiga ko'paytiriladi.

Ishni rasmiylashtirishda tuzilgan grafikdan foydalanib, qon zardobidagi xolesterin miqdori aniqlanadi va xulosada olingan natija normal ko'rsatkich bilan taqqoslanadi.

77 tajriba : Miya toqimasidagi xolesterinni sifat reaksiyasi bilan aniqlash

Xolesterin asosan hujayra membranasi tarkibiga kirganligi tufayli uni to'qimalardan organik erituvchilar yo'rdamida ekstraksiya qilib olinadi.

Tekshiriluvchi material: miya toqimasi.

Reaktivlar: Kalsiy sulfat tuzi (gips kukuni). Xloroform. Konsentrlangan sulfat kislotali. Sirka anhidridi.

Jihozlar: Apteka tarozisi. Farforli hovoncha. Quritadigan shkaf. Skalpel yoki pichoq. Shisha tayoqcha. 5 ml li pipetka. Qog'oz filtrli voronkalar. Probirkalar. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi:

1. Gips bilan quritilgan miya toqimasini xloroformni 5 ml da 5 daqiqa davomida xona haroratida doimiy chayqatib turgan holatda ekstraksiyalanadi.
2. Ekstrakt quruq probirkaga filtrlab olinib, ikki qismga bo'linadi va ikki xil reaksiya bilan xolesterin aniqlanadi.

3. Miyaning xloroformli ekstraktini bir qismiga teng hajmda konsentrlangan sulfat kislotasi quyib, probirka ehtiyotlik bilan chayqatilib, aralashtiriladi. Biroz muddatdan song xloroformli yuqori qavatida xolesterinning degidratatsiyasi natijasida hosil bo`gan unumi – xolesterilen hisobiga qizil rangga bo`yaladi. Pastki qavati (H_2SO_4) ko`k flyuororessensiyali sariq-qon g`ir rang beradi.
4. Miya to`qimasining xloroformli ekstraktini ikkinchi qismi bilan Liberman-Burxard reaksiyasi otkziladi. Buning uchun xloroformli ekstraktga 7 tomchi sirka anhidridi va 1-2 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi tomiziladi.
5. Suyuqlik yaxshilab aralashtirilganda avval ko`kimtir, so`ngra ko`k-yashil va nihoyat yashil rangga o`tadi. Agar eritmada ozgina xolesterin bo`lsa, tezlikda yashil rang bo`ladi. Eritmada xolesterin miqdori 1% dan ortiq bo`lsa, avval hosil bo`lgan qizil rang tezlikda pushti, keyin ko`k va oxiri yashil rangga o`zgaradi. Oxirgi rang xolesterinni sulfokislotasi hosil bo`ganligi bilan bo`g`liq.

Xolesterinning rangli reaksiyalari uni konsentrlangan sulfat kislotasi ta'sirida degidratatsiyalanishi natijasida qo'shbog`li toyinmagan uglevodorodli unumlari hosil bo`lishi bilan tushuntiriladi.

Lipoproteidlar almashinuvi

Lipoproteidlar (LP) lipidlar va boshqa gidrofob birikmalarning qon tarkibidagi transport shakli bolib, fosfolipidlar, xolesterin va triglitseridlarni tashuvchi sharsimon zarrachalardir. Lipoproteidlar asosan qon plazmasidagi albuminlar bilan birikadi va ingichka ichakdan sorilgan xilomikronlar hisobiga murakkab oqsil-lipid komplekslarini – pre- β -lipoproteidlar (zichligi juda past lipoproteidlar), β -lipoproteidlar (zichligi past lipoproteidlar), α -lipoproteidlar (zichligi yuqori lipoproteidlar) ni hosil qiladi. Uchala turdagi lipoproteidlarning oqsil qismi (apoproteidlari) jigarda sintezlanishi tufayli qondagi lipoproteidlar miqdorini ozgarishi faqatgina lipidlar almashinuvini emas, balki jigar funksiyasi tog`risida ham fikr yuritishga asos bo`ladi. Lipoproteid fraksiyalari molekulyar massasiga nisbatan tarkibidagi oqsil va alohida olingan lipid qismi miqdori boyicha ham bir-biridan farqlanadilar. Masalan, α -lipoproteidlar tarkibidagi oqsil miqdori kop bo`lganligi uchun (50-60%) nisbiy zichligi anchagina baland (1,063-1,21),  $\beta$ - va pre- $\beta$ -lipoproteidlarda oqsil qismi kam bo`lib, lipid miqdori massasini 95 % gacha tashkil etadi, binobarin nisbiy zichligi ham past (1,01-1,063). Normada qon zardobida lipoproteidlar miqdori 3,6-6,5 g/l ga to`g`ri kelsa, ular darajasini kotarilishi qon zardobida xolesterinni kopayishiga bog`liq, chunki β -lipoproteidlar xolesteringa juda ham boy. β - va pre- β - lipoproteidlar miqdorining ortishi lipidlar almashinuvining buzilishi oqibatida ateroskleroz, qand diabeti, gepatitlar va semirish kabi holatlarda kuzatiladi.

78 - tajriba : Qon zardobidagi lipoproteidlar umumiy miqdori va fraksiyalarini miqdoriy aniqlash

Qon zardobidagi β - va pre- β -lipoproteidlarni aniqlash ularning geparin va kalsiy xloridi ishtirokida cho'kmaga tushishiga asoslangan. Eritmaning loyqalanish darajasi lipoproteidlarning qon zardobidagi miqdoriga to'g'ri keladi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: Kalsiy xloridning 0,025 m yoki 0,27% li eritmasi (suvsiz reaktivdan tayyorlanadi). Geparinning 1% li eritmasi (tekshirish vaqtida tayyorlanadi), uning 1 ml da 1000 birlik saqlanishi kerak.

Jihozlar: 0,2 ml li pipetkalar. Fotoelektrokolorimetr.

Ishning bajarilishi:

1. Qalinligi 0,5 sm bolgan FEK ning ong va chap kyuvetalariga 2 ml dan kalsiy xlorid eritmasi quyiladi. Chap baraban shkalasini 720 nm (qizil svetofiltr) da nol nuqtasiga qo'yiladi.
2. Ong kyuvetaga toza mikropipetkada 0,2 ml zardob solinadi va bir necha marta chayqab yuviladi.
3. Ekstinksiyani (E_1) boshlang'ich qiymati aniqlangach, mikropipetka bilan 0,04 ml geparin qoshiladi (pipetka bir necha marotaba kyuvetadagi suyuqlik bilan yuvib, qoshiladi) va kyuvetadagi suyuqliklar aralashtiriladi.
4. Rosa 4 daqiqadan song (sekundomer asosida) yana ekstinksiya o'lchanadi (E_2).

Qon zardobidagi β - va pre- β -lipoproteidlar miqdori – X (g/l) formula bo'yicha topiladi.

$$X = (E_1 - E_2) \cdot 11,65$$

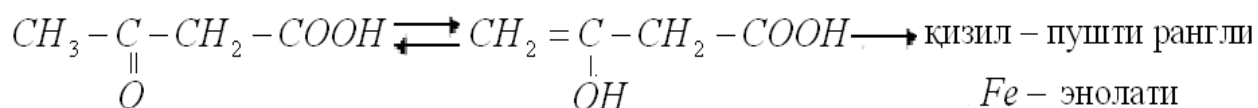
Bunda – 11,65 β - va pre- β -lipoproteidlar miqdorini (g/l) ga aylantirilgan empirik koeffitsienti.

Ishni rasmiylashtirishda ekstinksiya ko'rsatkichlari bo'yicha topilgan qon zardobidagi lipoproteidlar miqdori hisoblanadi va uning ozgarishiga qarab xulosa chiqariladi.

Normada β -lipoproteidlar miqdori 3,0-4,5 g/l (300-450 mg%)ga to'g'ri kelib, jinsga va yoshga qarab o'zgarishi mumkin.

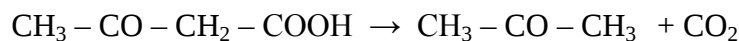
79- tajriba : Atsetosirka kislotasiga temir xlorid (Gerxard) reaksiyasi

Atsetosirka kislotasining temir xloridi bilan ozaro reaksiyaga kirishishida temirni atsetosirka kislotasining yenol shakli bilan qizil-pushti rangli kompleksi hosil bo'ladi.



Ацетосирка
кислотаси

Ацетосирка кислотасининг
энол шакли



Atsetosirka kislota

Atseton

Tekshiriluvchi material: atsetosirka kislotali siydik.

Reaktivlar: temir xloridning 10% li eritmasi.

Jihozlar: 1. Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi:

1. Probirkaga 20 tomchi siydik solib, 10% li temir xlorid eritmasidan tomchilab temir fosfatning FePO_4 shaklidagi cho`kmasi cho`kishini to`xtagunicha qo`shiladi.
2. Cho`kma hosil bo`lishi toxtagandan so`ng yana suyuqlik rangi qizil-pushti rangga kirguncha temir xlorid eritmasidan tomchilab qo`shiladi. Vaqt o`tishi bilan rang asta-sekin yo`qola boshlaydi, qaynatganda esa atsetosirka kislotasini dekarboksillanishi oqibatida rang tezlikda yo`qoladi.
3. Xuddi shu kabi rangni ba`zi dori moddalari (salitsil kislotasi, antipirin) qabul qilinganda siydikda atsetosirka kislotasi yoqligida ham uchraydi. Bunda vaqt o`tishi bilan yoki 2 daqiqa davomida qaynatilganda ham rang yo`qolmaydi.

80- tajriba : Qon plazmasida lipidlar gidroperoksidi miqdorini

spektrofotometrik usulda aniqlash

Har xil kimyoviy moddalar, dori preparatlari ta'sirida va kasallik tufayli kuzatiladigan lipidlarning peroksidli oksidlanish faolligini baholashda qon tarkibidagi lipidlar gidroperoksidi miqdorini olchash muhim diagnostik ahamiyatga ega. Mazkur usul lipidlar gidroperoksidining kon'yugirlashgan dienli unumlarini 232-234 nm da jadal nur yutishiga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: qon plazmasi, uni olishda stabilizator sifatida erkin radikalli oksidlanish ingibitori 1 mg/ml EDTA li eritmadan foydalaniladi.

Reaktivlar: Etilendiamintetraatsetat (EDTA) ning 1 mg/ml dagi nisbatidagi eritmasi. Izopril spirti. Geptan. 0,1 n xlorid kislota, rN – 2,0

Jihozlar: Spektrofotometr. Laboratoriya silkitgichi. 0,1, 0,2 va 0,5 ml hajmdagi pipetkalar. Probirkalar.

Ishning bajarilishi:

1. 0,2 ml plazmaga 4 ml geptan – izopril spirti (1: 1 nisbatda) qo`shilib, laboratoriya silkitgichida 15 daqiqa davomida chayqatiladi.
2. Probirkadagi 1 ml xlorid kislotasiga (ph 2,0) 2 ml geptan qo`shib, yaxshilab aralashtiriladi.
3. 30 daqiqadan keyin aralashma tinib, qavatlarga ajralgach, geptanli qavati ehtiyotlik bilan olinadi va 233 nm da fotometrlanadi.
4. Nazorat namunasiga plazma orniga 2 ml distillangan suv olinib, yuqoridagi tekshirish amallari qaytariladi.
5. Lipidlar gidroperoksidining 1 ml plazmadagi miqdori nisbiy birlikda formula bo`yicha topiladi:

$$\frac{D \cdot 233 \cdot V_e}{V_n} = D \cdot 233 \cdot 20 \quad 1 \text{ ml plazmaga}$$

Bunda: D 233 – olchangan optik zichlik qiymati;

V_e – 4 ml geptanli ekstraktning oxirgi hajmi;

V_n – 0,2 ml qon plazmasini olingan hajmi.

yoki 1 mg lipiddagi (D 233 1 mg lipidga) nisbiy birlikda.

Ayni holda plazma tarkibida lipidlar miqdorini parallel aniqlash kerak bo`ladi. Kalamush qoni plazmasida lipidlar miqdori: umumiy lipidlar 1,64-2,8 g/l, lipidlar gidroksidi 1 ml plazmadagi nisbiy birligi 1,34-2,37, 1 mg lipidlarda 0,83-0,85. Geptan qavatini olishda oxirigacha olmaslik kerak, chunki ozgina suv qo`shilsa geptan qavati xiralashib, 233 qiymati ortib ketadi.

81- tajriba : Malon dialdegidi miqdorini aniqlash

Malon dialdegidi (MDA) ni ikki molekula tiobarbiturat kislotasi (TBK) bilan 100° S haroratda hosil qilgan rangli kompleksi konsentratsiyasini 532-535 nm da o`lchanadi.

Tekshiriluvchi material: 0,5 g muzlatilgan o`rgan (jigar, miya, mushak va boshqalar) maydalanib, 4,5 ml metafosfor kislotasi qo`shiladi, aralashtirilgach, daqiqasiga 5000 aylanish tezligida 10 daqiqa davomida sentrifugalanadi. Cho`kmaning ustki qismi yana filtrlanib, tajriba uchun filtratdan 2 ml olinadi.

Reaktivlar: TBK ning 0,5% li eritmasi (tayyorlanishi 35-ilovada). Metafosfor kislotasining 5% li eritmasi (tayyorlanishi 36 - ilovada).

Jihozlar: Spektrofotometr. Suv hammomi. Sentrifuga va sentrifugali probirkalar. 0,1, 0,2, 1 va 5 ml hajmli pipetkalar. Chinni hovoncha.

Ishning bajarilishi:

1. Ikkita probirka olib, birinchisiga 2 ml filtrat (tajriba), ikkinchisiga 2 ml metafosfor quyiladi.
2. Ikkala probirkaga 1 ml dan TBK eritmasi qo`shilib, aralashtiriladi va suv hammomiga 10 daqiqaga qo`yiladi.
3. Probirkalar suv oqimida sovutilib, suyuq qismi sentrifugali probirkaga o`tkaziladi va 6000 aylanish tezligida 10 daqiqa sentrifugalanadi.
4. Sentrifugat 532 nm da 1 sm li kyuvetada nazoratga nisbatan fotometrlanadi.
5. Malon dialdegidi miqdori mk mol da toqima gramiga nisbatan formula yordamida aniqlanadi:

$$S = \frac{D \cdot 5 \cdot 3}{a}$$

Bunda: D – optik zichlik;

a – ekstinksiya molyar koeffitsienti – $1,56 \cdot 10^5$ ga teng.

5 – suyultirish darajasi;

3 – tekshirilayotgan namuna hajmi.

Eslatma: TBK eritmasidagi quyqadan qutulish uchun fotometrlash oldidan sentrifugalanadi.

Nazorat savollari

1. Qanday moddalarga lipidlar deb aytiladi? Lipidlarning tasnifi nimaga asoslangan?
2. Lipidlarni oshqozon-ichak yolida h azm bolishi va sorilishini tushuntiring.
3. Olein, stearin va linol kislotalaridan hosil bo`lgan aralashma triglitserid qurilishini yozing.
4. Neytral yog`larni lipaza yoki ishqor ta'sirida gidrolizlanish reaksiyasini ko`rsating.
5. Glitserin va palmitat kislotasidan tuzilgan mono-, di- va triglitseridlarning suvda eruvchanlik darajasiga qarab joylashtiring. Javobingizni izoh lab bering.
6. Yog`larni hazm bolishi va so`rilishida o`tning ahamiyati nimada, o`t kislotalarining kimyoviy tabiati qanday?
7. Nima uchun o`t kislotalari yog`larni emulsiyalaydi? Tushuntirib bering.

8. Lipazaning katalitik faolligini qanday aniqlash mumkin?
9. Fosfatidilxolinning gidrolizlanish reaksiyasini yozing. Qaysi reaksiyalar bilan uning tarkibini aniqlasa bo'ladi?
10. Xolesterin va xolesteridlarning kimyoviy tabiati qanday?
11. Qon tarkibidagi xolesterinni qanday qilib aniqlasa bo'ladi?
12. Erkin yog' kislotalari nima? Qanday qilib ularni qonda aniqlash mumkin?
13. Umumiy lipidlarni qon tarkibida aniqlashdan maqsad nima? Bunda qaysi usuldan foydalaniladi?
14. Fosfolipidlarni gidrolizida qanday fermentlar ishtirok etadi? Yozib ko'rsating.
15. Xolesterinning odam organizmidagi biologik ahamiyati nimadan iborat?
16. Xolesterinning odam qon zardobida miqdoriy aniqlashni qanday diagnostik ahamiyati bor?
17. β -lipoproteidlarning tarkibi, biologik ahamiyati nimadan iborat? Biosintezi boradigan joyini ko'rsating.
18. Qon zardobidagi lipoproteinlarni sanab bering, ularni qanday usul bilan fraksiyalarga ajratish mumkin?
19. Xolesterin, zichligi yuqori lipoproteinlar va jinsiy gormonlar orasida qanday bog'liqlik bor? Javobingizni izohlang.
20. Atsetil-KoA xolesterin sintezining asosiy mahsuloti. Energiyaga ehtiyoj ortganda va pasayganda xolesterin sintezida qanday o'zgarishlar kuzatiladi?
21. Nima sababdan ateroskleroz kasalligida α - va β -lipoproteidlar miqdori aniqlanadi va taqqoslanadi?
22. Lipoproteidlar fraksiyalarining tarkibiy qismlarini yozing, farqini ko'rsating, diagnostik ahamiyatini tushuntirib bering.
23. Keton tanachalari biosintezi qayerda kechadi va ular miqdorini qonda aniqlashdan maqsad nima?
24. Siydikdagi keton tanachalarini aniqlashning qanday diagnostik ahamiyati bor?
25. Keton tanachalarini sanab bering, ularning miqdori qanday aniqlanadi? Qaysi kasalliklarda ularning miqdoriy o'zgarishi kuzatiladi?
26. Lipidlarning peroksidli oksidlanishini odam organizmidagi biologik ahamiyati qanday? Prooksidantlar va antioksidantlar nima, misollar keltiring?

OQSILLAR ALMASHINUVI.

Oqsillar almashinuvining boshqa modda almashinuv xillari orasida alohida o'rnini bor. Ushbu sifat oqsillar bajaradigan bir qator maxsus funksiyalar va ularning energetik material korinishidagi imkoniyatlari bilan tushuntiriladi. Ammo oqsillarning bu funksiyasini uglevodlar va yog'lar bilan butunlay toldirish mumkin. Ta'kidlash lozimki, ovqat tarkibidan uglevodlarni

uzoq muddat davomida chiqarib tashlanganda ham organizmda deyarli katta ozgarish kuzatilmaydi. Oziqadan oqsillarni qisqa muddatga chiqarish esa jiddiy ozgarishlarni, gohida qayta tiklanmaydigan patologik holatlarni keltirib chiqaradi. Kishilarda oqsillarni yetarli darajada iste'mol qilinmasligi oqsil yetishmasligiga sabab bo'lib, organizmdagi bir qator muhim fiziologik funksiyalarni buzilishi bilan xarakterlanadi.

Nima uchun oqsillar albatta oziqani tarkibida bo'lishi kerak? Oqsillar barcha organ va to'qimalar, umuman organizm butunligini ta'minlovchi hujayralarning struktura asosini tashkil qiladi, ya'ni ular plastik funksiyani bajaradi. Eksperimental tekshirishlar natijalarining ko'rsatishicha, oqsillar yetishmovchiligi faqatgina organ va to'qimalar massasini kamayishigina bo'lmay, shu bilan birga organizmdagi kimyoviy ozgarishlarni mutloq zarur omili bo'lgan fermentlar faolligini pasayishida ham kuzatiladi.

Korinib turibdiki, oqsillar organizmda asosan fermentativ, boshqaruvchi va plastik funksiyalarni bajaradi. Hayot faoliyati davomida to'qima oqsillarini uzluksiz parchalanib, yangitdan tiklanishi organizmni muttasil ravishda oqsillar bilan ta'minlanib turishiga bog'liq. Oqsillar hazm qilish yollarining proteolitik fermentlari ta'sirida kichik molekulali polipeptidlar va aminokislotalargacha parchalanib, qonga sorilgach, ulardan organizm eh tiyojiga qarab to'qima oqsillari, oqsil tabiatli biologik faol moddalar – fermentlar, gormonlar, vitaminlar va boshqa muhim birikmalar sintezlanadi. Biosintetik jarayonlarda foydalanilmagan va organizm toqima oqsillarini parchalanishi natijasida hosil bo'ladigan aminokislotalar keyinchalik jigar va boshqa toqimalarda dezaminlanish, transaminlanish va dekarboksillanishlarga uchraydilar. Dezaminlanish natijasida hosil bo'lgan ammiak organizm uchun zaharli bo'lib, uni jigarda mochevina sintez qilinishi, ko'pchilik organlarda (miya, buyrak, jigar va boshqalarda) glyutamin va buyrakda ammoniy tuzlari hosil bo'lishi yo'llari bilan zaharsizlantiriladi. Mochevina, ammoniy tuzlari, ular qatorida aminokislotalar, kreatinin, siydik kislotasi va tarkibida azot saqlovchi boshqa moddalar siydik bilan ajraladilar. Aminokislotalarning azotsiz qoldiqlari (ketokislotalar) aminokislotalar, yog'lar, uglevodlar sintezida ishtirok etadi, ularning bir qismi oksidlanib, energiya ajratadi. Organizmda oksidlanayotgan oqsillarni energetik qiymati 4 kkal/g (16,7 kJ/g) ga tog'ri keladi.

Oqsillarning hazm bo'lishi

Oqsillarni oshqozon ichak yollarida hazm bo'lishida pepsin, tripsin, ximotripsin va peptidazalar qatnashadi. Oshqozonda pepsin ishtirokida oqsillar yuqori molekulali polipeptidlarga parchalanadi. Parchalanmagan oqsillar, polipeptidlar o'n ikki barmoqli ichakda tripsin, ximotripsin, peptidazalar (karboksipeptidaza, aminopeptidaza, dipeptidaza) ta'sirida

keyingi ozgarishlarga uchraydi. Tripsin, ximotripsin va karboksipeptidaza me'da osti bezida ishlanib, uning shirasi bilan birga ajraladi, aminopeptidaza esa ichak shilliq pardasida sintezlanib, uning shirasida saqlanadi. Tripsin va ximotripsin avval faol bolmagan proferment – tripsinogen va ximotripsinogen korinishida sintezlanib, keyinchalik ichak shirasidagi enterokinaza ta'sirida faol funksional shakl – tripsin va ximotripsinga o'tadi.

Oqsillarni tripsin va ximotripsin ta'siridagi gidrolizlangan unumlari asosan polipeptidlardan iborat. Mazkur fermentlar oqsil molekulasidagi har xil peptid bog'larini uzadi va eng yuqori faolligi neytral yoki bosh ishqoriy muhitda (pH 7,0-8,0) namoyon bo'ladi.

Polipeptidlar ichak peptidazalari ta'siri ostida keyingi ozgarishlarga beriladilar. Karboksipeptidazalar me'da osti bezi peptidazalariga mansub bolib, oxirgi peptid bog'ini erkin karboksil guruh i tomonidan uzadi, aminopeptidazalar peptid bog'ini uzishni erkin aminoguruhi tomonidan boshlaydi. Karboksi- va aminopeptidazalar polipeptidlarni dipeptidlar hosil bo'lguncha, ular esa oz navbatida dipeptidazalar yordamida oshqozon-ichak yollarida oziqa oqsillari hazm bo'lishini oxirgi unumi bolgan alohida aminokislotalarga parchalaydilar.

Ichakdan so'rilgan aminokislotalar darvoza venasi orqali birinchi navbatda jigarga tushadi va u yerda bir qator ozgarishlarga uchrab, bir qismi qon orqali butun organizmga tarqaladi va qurilish materiali sifatida maxsus to'qima oqsillari, fermentlar va biologik faol birikmalar sintezi uchun ishlatiladi. Aminokislotalarning ma'lum miqdori dezaminlanish, dekarboksillanish va boshqa reaksiyalar ishtirokida parchalanib, oqsillar almashinuvining oxirgi mahsulati ammiak, mochevina va boshqalarni hosil qiladi va energiya ajralib chiqadi. Parchalanishga beriladigan aminokislotalar miqdori bir tomondan oziqa sifatiga, ikkinchidan organizm holatiga bog'liq. Masalan, och qolganda yoki qisman oqsil yetishmaganda siydik bilan ma'lum miqdorda, azot birikmalari chiqariladi.

82 - tajriba : Oqsillarni pepsin ta'sirida hazm bolishi

Oqsillarni hazm bolishi me'dada me'da shirasi ta'sirida boshlanadi. Me'da devori shilliq pardalari bezlaridan ajralib chiqadigan me'da shirasi rangsiz yoki biroz sarg'ish, kuchli kislotali tiniq suyuqlik bolib, tarkibini 99% suv, erkin xlorid kislotasi, nordon reaksiyali fosfatlar, natriy xlorid, proteolitik ferment – pepsin, lipolitik ferment – lipaza (faqat emulgirlangan yog'ni parchalaydi), mutsin, oqsillar tashkil qiladi. Pepsin me'da shilliq bezlari muhitidan faol bolmagan proferment – pepsinogen shaklida ajraladi. Xlorid kislotasi ta'sirida pepsinogendan polipeptid ajralishi natijasida pepsinogen oqsillar tarkibidagi peptid bog'larini gidrolizlash imkoniyatiga ega bolgan faol ferment - pepsinga aylanadi. Inson organizmida pepsinni optimal pH qiymati 1,5-2,5 bo'lib, u neytral va ishqoriy muhitda faollikka ega emas. Xlorid kislotasi

pepsinni faollashtirish bilan birga oqsilni bo'kishi va denaturatsiyaga uchrashiga yordamlashib, pepsin ta'sir qilishiga qulay sharoit yaratadi.

Pepsin endopeptidazalarga kirib, asosan ichki peptid bog'lariga ta'sir ko'rsatadi. Ammo ba'zida pepsin ta'sirida polipeptid zanjirining oxiridagi peptid bog'larini uzilishi va oqibatda erkin aminokislotalar paydo bo'lishi kuzatilgan. Oqsillarning pepsin ta'sirida gidrolizlanishida polipeptidlar aralashmasi – peptonlar va oz miqdorda erkin aminokislotalar hosil bo'ladi.

Tekshiriluvchi material: fibrin.

Reaktivlar: Me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinning 0,1% li eritmasi (tayyorlanishi 38-ildovada). Natriy karbonat oksidining 2% li eritmasi. Oyuvchi natriyning 0,4% li eritmasi. Xlorid kislotasining 0,2% li eritmasi. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi. Mis sulfatning 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Lakmus qo'g'zi. Tomizgichlar. Termometr. Suv hammomi yoki 38-40°S li termostat.

Ishning bajarilishi.

Beshta probirka olib, har biriga quyidagi tartibda reaktivlar quyiladi:

1. Birinchisiga 20 tomchi me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinni 0,1 % li eritmasidan;
2. Ikkinchisiga soda bilan neytrallangan 20 tomchi me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinni 0,1 % li eritmasidan;
3. Uchinchisiga oldindan 0,4% li natriy gidroksid eritmasi bilan ishqoriy muhitga otkazilgan 20 tomchi me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinni 0,1 % li eritmasidan;
4. Tortinchisiga avval qaynatilgan 20 tomchi me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinni 0,1 % li eritmasidan;
5. Beshinchisiga 20 tomchi 0,2% li xlorid kislota eritmasidan;
6. Barcha probirkalarga bir xil miqdordagi fibrin bo'lakchalari qo'shilib, 38-40° termostatga o'rnatiladi;
7. Birinchi probirkadagi fibrin hazm bo'lganidan (eriganidan) so'ng, taxminan tajriba boshlanishidan 30 daqiqa o'tgach, barcha probirkalar termostatdan olinadi va fibrindagi o'zgarish kuzatiladi.

Birinchi probirkadagi fibrinni hazm bolishi pepsinni xlorid kislotasi ishtirokida ta'sir qilishini korsatadi. Ikkinchi va uchinchi probirkalardagi fibrin o'zgarishga berilmaydi, chunki neytral va ishqoriy muhitda pepsin faollashmaydi. To'rtinchi probirkada ferment qaynatilib,

faolligi yo`qotilgani va beshinchi probirkadagi pepsin yo`qligi tufayli xlorid kislotasi ta'sirida fibrin nam tortib, bokishi kuzatiladi.

8. Har bir probirka tarkibi filtrlanadi va filtrat bilan biuret reaksiyasi (2.1.1. ga qarang) o`tkaziladi. Ijobiy reaksiya faqatgina pepsin, xlorid kislota, fibrin tutgan birinchi probirkada kuzatilishi filtratda hazm bo`lgan oqsil mahsulotlari borligini ko`rsatadi. O`tkazilgan ishni rasmiylashtirishda olingan natijalar jadval ko`rinishida keltiriladi.

21-jadval

Pepsinni fibringa har xil sharoitda ta'siri

№ namu-nalar	Ferment	Substrat	Reaksiya muhiti	Pepsin faolligi qaynatib yo`qotilgan	Fibrinda ko`rinadigan o`zgarishlar	Biuret reaksiyasi

Xulosada olingan natijalar asosida pepsin ta'sirida oqsil hazm bo`lishi uchun optimal sharoit va bu jarayonda xlorid kislotasining ahamiyati ko`rsatiladi.

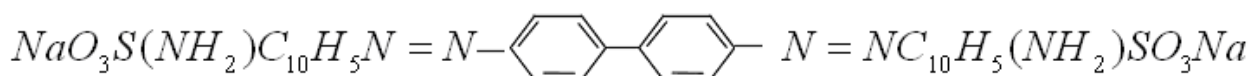
83 - tajriba : Me'da shirasidagi kislotalarni aniqlash

No`rmada toza oshqozon shirasi tarkibidagi xlorid kislotasi (0,4-0,5% xlorid kislota) hisobiga kuchli kislotali reaksiyaga (rN 1 ga yaqin) ega. Odatda, me'da shirasini tekshirishda sinash uchun berilgan ovqatdan keyin ma'lum vaqt o'tgach, zond bilan chiqarilgan shiradan foydalaniladi. Ushbu yo`l bilan olingan me'da shirasining normadagi phi 1,5-2,5 atrofida bo`lib, xlorid kislotasi miqdori 0,1-0,2 %ga yetadi. Tahlil qilinishidan oldin me'da shirasi filtrlanadi yoki sentrifugalanadi. Me'da shirasini klinik tah lilida quyidagilar farqlanadi: 1) erkin holatda bo`lgan va ionlarga dissotsiyalangan "erkin xlorid kislotasi"; 2) oqsillar va ularni hazm bo`lgan mah sulotlari bilan tuzsimon birikmalar korinishidagi "bog`langan xlorid kislotasi; 3) erkin va bo g`langan xlorid kislotalarining yig`indisi bolgan - umumiy xlorid kislotasi"; 4) "umumiy kislotalilik" barcha nordon reaksiyali moddalarning birlashgan yi g`indisi (erkin va bo g`langan xlorid kislotalari, fosfat kislotasining nordon tuzlari, patologik holatlarda sut kislotasi va uchuvchi yog` kislotalari). Normal me'da shirasida sut va boshqa organik kislotalari minimal miqdorda uchraydi (ovqat bilan, masalan,non bilan tushishi mumkin). Me'da funksiyasi pasayganda yoki me'da shirasida xlorid kislotasi yoqligida, (asosan me'da rakida) sut kislotali

bijg`ish natijasida sut kislotasining katta miqdorda ortishi kuzatiladi. Uning me`da shirasida aniqlanishi tashxis maqsadlari uchun nihoyatda zarur. Bakteriotsidli yoki dezinfeksiyalovchi ta`sirga ega bo`lgan xlorid kislotasining yoqligi me`dada mikroorganizmlar ta`sirida uchuvchi yog` kislotalari hosil qiluvchi boshqa turdagi bijg`ishlarni (sirka, moy valeryan kislotasi) keltirib chiqarishi mumkin. Ularni oziga xos maxsus hidi va tekshirilayotgan me`da shirasi tutgan probirka qizdirilganda undan ajralayotgan suvda h`ollangan ko`k lakmus qog`ozini qizarishi bilan aniqlanadi.

84 - tajriba : Me`da shirasidagi erkin xlorid kislotasiga kongo-qizil qo g`ozi yordamida sifat reaksiyasi

Kongo-qizili qurilishi bo`yicha sulfokislotaning natriyli tuzidan iborat.



КОНГО ҚИЗИЛ (СУЛЬФОКИСЛОТАНИНГ НАТРИЙЛИ ТУЗИ)

Kongo-qizil (sulfokislotaning natriyli tuzi) mineral kislotalarning kuchli dissotsiyalangan kislotali muhitida kongo ko`k rangli bo`lib, kuchsiz kislotali, neytral va ishqoriy muhitda qizil rangga ega. Indikatorni kok rangdagi holatida ph 3,0 dan kam bo`lib, qizil rangga o`tish chegarasi ph ni 3,0-5,2 oralig`ida kuzatiladi. Me`da shirasida bunga mos ph faqat erkin xlorid kislotasiga bo g`liq.

Tekshiriluvchi material: tarkibida erkin xlorid kislotasi bo`lgan va xlorid kislotasi bo`lmagan me`da shirasi (tayyorlanishi 39-ilovada).

Reaktivlar: Xlorid kislotasining 0,2% li eritmasi. Kongo-qizil qog`ozi (kongo-qizil indikator eritmasi shimdirilgan va quritilgan filtr qo g`ozi yoki 0,1% li suvdagi eritmasi.

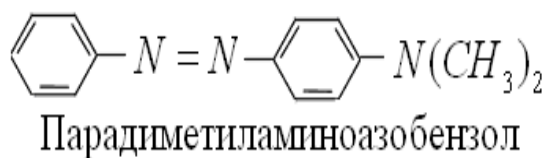
Jihozlar: Probirkali shtativ.Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi:

1. Tarkibida erkin xlorid kislotasi saqlagan me`da shirasining 1-2 tomchisini kongo-qizil qog`oziga tomiziladi. Agarda kongo-qizil eritmasidan foydalanilsa, 20 tomchi me`da shirasiga 1-2 tomchi indikator qo`shiladi.
2. Aynan shu ishlar erkin xlorid kislotasi saqlamagan me`da shirasi va xlorid kislotaning 0,2 % li eritmasi bilan ham bajariladi.
3. Indikator rangini ozgarishiga qarab tekshirilayotgan me`da shirasida erkin xlorid kislotasi borligi yoki yoqligi haqida xulosa chiqariladi.

**85 - tajriba : Me'da shirasidagi erkin xlorid kislotasiga
paradimetilaminoazobenzol eritmasi yordamida sifat reaksiyasi**

Paradimetilaminoazobenzol rangini ozgarish chegarasi pH 2,9-4,0 oralig'ida kuzatiladi. Faqat mineral kislotalar qatnashsa, (pH -2,9 dan kam) indikator olcha-qizil rangli bo'ladi. Tekshirilayotgan suyuqlik pH i 4,0 dan yuqori bo'lsa, rang sarg'ayadi. Kop miqdorda sut kislotasi bo'lsa, indikator qiz g'ish-sariq rangga bo'yaladi.



Tekshiriluvchi material: tarkibida erkin xlorid kislotasi bolgan va xlorid kislotasi bo'lmagan me'da shirasi (tayyorlanishi 39,40-ilovada)

Reaktivlar: Xlorid kislotasining 0,2%li eritmasi. Paradimetilaminoazobenzolning spirtidagi 0,5% li eritmasi.

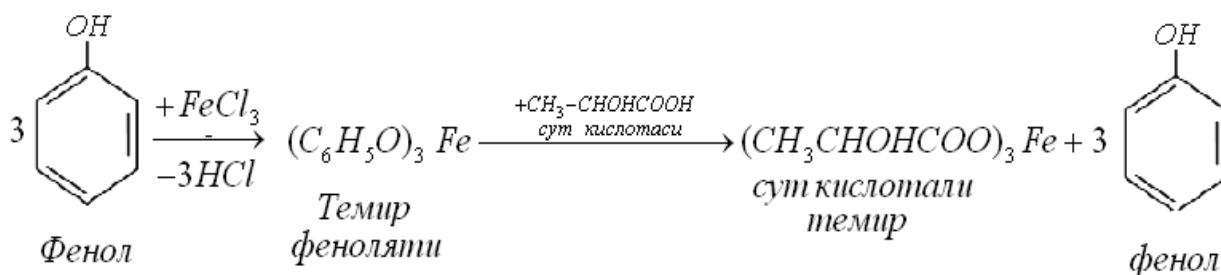
Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi:

1. Uchta probirkaga 20 tomchidan tekshirilayotgan eritmalardan va 1-2 tomchidan paradimetilaminoazobenzolning spirtidagi 0,5% li eritmasidan tomiziladi.
2. Uchala probirkadagi ranglarni ozgarishi ozaro taqqoslanib, olcha-qizil rangli bo'yoq faqatgina xlorid kislotali probirkalarda paydo bo'lganligiga ishonch hosil qilinadi.

86 - tajriba : Me'da shirasidagi sut kislotasiga sifat (Ufelman) reaksiyasi

Reaksiya sut kislotasini temir fenolyati bilan o'zaro ta'sirlanishidan kelib chiqadigan pushti rangga asoslangan. Reaksiya natijasida kokimtir sariq rangli temirning sutli oksidi hosil bo'ladi. Temir fenolyati temir xloridini fenolga ta'sir qilib olinadi.



Tekshiriluvchi material: tarkibida sut kislotasi bo'lgan va sut kislotasi bo'lmagan me'da shirasi.

Reaktivlar: Fenolning 2% li eritmasi. Temir xloridining 1 % li eritmasi. Sut kislotasining 1% li eritmasi.

Jihozlar: Probirkali shtativ. Tomizgichlar.

Ishning bajarilishi:

1. 2% li fenol eritmasining 25 tomchisiga 2-3 tomchi 1% li temir xloridi tomizilganda to'q-pushti rangli eritma hosil bo'ladi. Reaktiv kuchsiz rang qolguncha suv bilan suyultiriladi.
2. Olingan reaktiv tarkibida temir fenolyati bo'lib, uni uchta probirkaga taqsimlanadi.
3. Birinchi probirkaga tomchilab, 1% li sut kislotasi eritmasidan ko'kimtir-sariq rang paydo bo'lguncha tomizilganda rangni hosil bo'lishi temir sut oksidi ajarayotganligini bildiradi.
4. Ikkinchi probirkaga tarkibida sut kislotasi tutgan me'da shirasi tomchilab, qo'shiladi. Agar me'da shirasida xlorid kislotasi bo'lmasa yoki juda oz miqdorda bo'lsa, ko'kimtir-sariq rang paydo bo'ladi. Reaksiya kuchli xlorid kislotasini temirning fenol bilan hosil qilgan kompleksini butunlay parchalashi va nisbatan kuchsizroq bo'lgan sut kislotasini uning tuzidan siqib chiqarilishi bilan tushuntiriladi.
5. Uchinchi probirkaga tarkibida sut kislotasi bo'lmagan me'da shirasi tomchilab qo'shilganda pushti rang yo'qoladi, lekin ko'kimtir-sariq rang paydo bo'lmaydi.

22-jadval

Me'da shirasi kislotalariga sifat reaksiyalar

Aniqlanadigan kislotalar	Indikator yoki reaktiv	Kuzatiladigan rang
Erkin xlorid kislota		
Sut kislota		

Ish natijalarini rasmiylashtirishda tekshirilayotgan me'da shiralari tarkibidagi kislotalar to'g'risida xulosa chiqariladi.

87- tajriba : Me'da shirasidagi umumiy, erkin va bo'lgan xlorid kislotalari miqdorini titrlab aniqlash

Me'da shirasidagi kislotalar 0,1 n o'yuvchi natriy eritmasi bilan titrlanadi. Erkin xlorid kislotasi va boshqa nordon reaksiyali birikmalarni tola tirlanganligini aniqlashda rang intensivligi har xil bo'lgan indikatorlar qo'llaniladi. Titrlash oq fonda bajariladi.

Tekshiriluvchi material: me'da shirasi (tayyorlanishi 39,40- ilovalarda)

Reaktivlar: Fenolftaleinning spirtidagi 1% li eritmasi. Bo'yoqni ozgarish intervali pH 8,2-10,0 kuzatiladi, xona haroratida saqlanganda o'zgarmaydi. 4-dimetilaminoazobenzol (metil yoki dimetil sari g'i) 0,5% li spirtli eritmasi. Rangni ozgarish intervali 2,9-4,0 pH da xona haroratida turganda o'zgarmaydi. Alizarin sulfon natriy oksidi (alizarin qizili), 1% li suvdagi eritmasi. Rangni ozgarish intervali 4,3-6,3 pH da. Xona haroratida o'zgarmaydi. Oyuvchi natriyning 0,1 n li eritmasi.

Jihozlar: 5 ml li pipetkalar. 50 ml konussimon kolbalar. 25,50 va 100 ml byuretkalar.

Ishning bajarilishi:

1. Kolbaga 5 ml filtrlangan me'da shirasi qoyiladi va 1-2 tomchi fenolftaleinning 1% li spirtli eritmasidan, 1-2 tomchi 0,5% li dimetilaminoazobenzolning spirtli eritmasidan tomizilib, doimiy chayqatilib turilgan holda 0,1 n o'yuvchi natriy bilan boshlang'ich qizil rangni sarg'ish-pushti rangga otguncha titrlanadi. Titrlashga sarf bo'lgan ishqor miqdori erkin xlorid kislotasiga mos kelib dimetilaminoazobenzol indikatorini bilan aniqlanadi.
2. Byuretkadagi ishqor sath ini boshlang'ich holatiga keltirmasdan turib, suyuqlik rangi yoqolmaydigan turg'un qizil rangga otguncha titrlash davom ettiriladi. Byuretkadagi ishqorni boshlang'ich sathidan boshlab sarf bolgan umumiy miqdori me'da shirasidagi kislotaning umumiy miqdoriga to'g'ri keladi va fenolftalein indikatorini bilan aniqlanadi.
3. Boshqa kolbaga 5 ml me'da shirasidan olib, 1-2 tomchi alizarinsulfon natriy oksidining 1% li suvli eritmasidan tomiziladi va chayqatilib turilgan holda boshlan g'ich sariq rangni pushtiga otguncha titrlanadi. Titrlashga sarflangan ishqor miqdori bog'langan xlorid kislotasidan tashqari kislotali reaksiya beruvchi barcha moddalarning umumiy miqdoriga to'g'ri keladi va alizarin sulfon natriy oksidi indikatorini bilan aniqlanadi.

Zond orqali olingan me'da shirasining har bir porsiyasida erkin xlorid kislotasi, umumiy kislotalilik va zaruriyat bolganda bog'langan xlorid kislotasi aniqlanadi.

Hisoblash. Titrlash natijalari 100 ml me'da shirasidagi erkin xlorid kislotasi va boshqa nordon reaksiya beruvchi birikmalarni neytrallashtirish uchun sarflangan 0,1 n oyuvchi natriyning ml dagi miqdori boyicha hisoblanadi (shartli titrlash birligi). Titrlash uchun olingan me'da shirasi 5 ml, hisoblash esa 100 ml ga moljallanganligini nazarda tutib, sarflangan ishqor miqdori 20 ga ko'paytiriladi. Bitta shartli titrlash birligi 1 mmol/l xlorid kislotasi miqdoriga barobar.

Hisoblash uchun misol.

Birinchi qismi (birinchi kolba):

- 1,5 ml 0,1 n natriy gidroksid (sarg'ish-pushti rang).
 - 2,6 ml 0,1 n natriy gidroksid (qizil rang).
- Erkin xlorid kislota – $15-20 = 30$ titr birlikda (30 mmol/l)

Umumiy kislotalilik $-2,6 \cdot 20 = 52$ titr birlikda (52 mmol/l)

Ikkinchi qismi (ikkinchi kolba);

2 ml 0,1 n natriy gidroksid (pushti rang)

Bog'langan xlorid kislotasidan tashqari, kislotali reaksiya beruvchi barcha moddalar - $2,0 \cdot 20 = 40$ titr birlikda (40 mmol/l)

Bog'langan xlorid kislota $52 - 40 = 12$ titr birlikda (12 mmol/l)

Normadagi olchamlari:

Erkin xlorid kislota – 20-40 titr birlikda (20-40 mmol/l)

Umumiy kislotalilik – 40-60 titr birlikda (40-60 mmol/l)

Bog'langan xlorid kislota – 4-20 titr birlikda (4-20 mmol/l)

Bir qator kasalliklarda giperxloridriya – erkin xlorid kislotasi va umumiy kislotalilik miqdorini oshishi (me'da yarasi kasalligida, giperatsidli gastritda) yoki gipoxloridriya – erkin xlorid kislotasi va umumiy kislotalilik miqdorini kamayishi (me'da rakida, gipoatsidli gastritda, yomon sifatli kamqonlikda) yoki axloridriya – erkin xlorid kislotasini butunlay yoqligi va umumiy kislotalilikni katta miqdorda kamayishi (me'da raki kasalliklarida, surunkali me'da yallig'lanishining oxirgi bosqichlarida) kuzatiladi.

Titrlash natijalari jadvalda keltiriladi.

23-jadval

Me'da shirasi kislotalarini titrlash

Titrlashga olingan me'da shirasi	Titrlashga sarflangan 0,1 n o'yuvchi natriy eritmasining miqdori, ml			Titrlash birligi miqdori (mmol/l)		
	Sariq och qizil rang-	Qizil rang-gacha	Pushti rang-gacha	Erkin xlorid kislotasi	Umumiy kislotalilik	Bog'langan xlorid kislota

	gacha					
--	-------	--	--	--	--	--

Titrlashga olingan natijalar norma bilan taqqoslanadi va me'da shirasi sekretsiyasi xususiyati boyicha (giper-, norma-, gipo- yoki axlorgidriya) xulosa chiqariladi.

ILOVA

BUFER ERITMALAR TAYYORLASH

Fosfat-sitrat buferi, pH = 2,2-8,0.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, nisbiy molekular massasi 178,05, 0,2 M eritma tayyorlash uchun 35,61 g tuz 1 litr suvda eritiladi.

Sitrat kislota H_2O , nisbiy molekular massasi 210,14, 0,1 M eritma tayyorlash uchun 21,018 g kislota 1 litr suvda eritiladi.

pH	0,2 M Na_2HPO_4 , ml	0,1 M sitrat kislota, ml	pH	0,2 M Na_2HPO_4 , ml	0,1 M sitrat kislota, ml
2,2	0,40	19,60	5,2	10,72	9,28
2,4	1,24	18,76	5,4	11,15	8,85
2,6	2,18	17,82	5,6	11,60	8,40
2,8	3,17	16,83	5,8	12,09	7,91
3,0	4,11	15,89	6,0	12,63	7,37

3,2	4,94	15,06	6,2	13,22	6,78
3,4	5,70	14,30	6,4	13,85	6,15
3,6	6,44	13,56	6,6	14,55	5,45
3,8	7,10	12,90	6,8	14,55	4,55
4,0	7,71	12,29	7,0	16,47	3,55
4,2	8,82	11,72	7,2	17,39	2,61
4,4	8,82	11,18	7,4	18,17	1,84
4,6	9,35	10,65	7,6	18,23	1,27
4,8	9,86	10,14	7,8	19,15	0,85
5,0	10,30	9,70	8,0	19,15	0,55

Borat buferi (0,2 M), pH = 7,4-9,0.

Natriy tetraborat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/10\text{N}_2\text{O}$). Mol massasi - 381,43. 19 072 g natriy tetraborat tuzi 1 litr suvda eritiladi. Borat kislota molekular massasi 61,840. 12,37 g borat kislota 1 litr suvda eritiladi.

pH	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/10\text{H}_2\text{O}$, 0,05 M, ml	Borat kislota 0,2 M, ml	pH	$\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/10\text{H}_2\text{O}$ 0,05 M, ml	Borat kislota 0,2 M, ml
7,4	1,0	9,0	8,2	3,5	6,5
7,6	1,5	8,5	8,4	4,5	5,5
7,8	2,0	8,0	8,7	6,0	4,0
8,0	3,0	7,0	9,0	8,0	2,0

Asetat buferi (0,2 M), pH = 3,6-5,8.

Natriy asetat, nisbiy molekular massasi 136,09.

pH	Natriy asetat 0,2 M, ml	Asetat kislota 0,2 M, ml	pH	Natriy asetat 0,2 M, ml	Asetat kislota 0,2 M, ml
3,6	0,75	7,25	4,8	5,90	4,10
3,8	1,20	8,80	5,0	7,00	3,00
4,0	1,80	8,0	5,2	7,90	2,10
4,2	2,65	7,35	5,4	8,60	1,40
4,4	3,70	6,0	5,6	9,10	0,90
4,6	4,90	5,10	5,8	9,40	0,60

Tris buferi (0,05 M), pH = 7,2-9,1.

Tris nisbiy molekular massasi 121,14, eritma hajmi distillangan suv bilan 100 ml ga yetkaziladi.

pH		Tris 0,2M ml	Xlorid kislota, 0,1 M, ml	H ₂ O, ml
23 °C	37 °C			
7,20	7,05	25	45,0	100 ml gacha

7,36	7,22	25	42,5	100 ml gacha
7,54	7,40	25	40,0	100 ml gacha
7,66	7,52	25	37,5	100 ml gacha
7,77	7,63	25	35,0	100 ml gacha
7,87	7,73	25	32,5	100 ml gacha
7,96	7,82	25	30,0	100 ml gacha
8,05	7,90	25	27,5	100 ml gacha
8,14	8,00	25	25,0	100 ml gacha
8,23	8,10	25	22,5	100 ml gacha
8,32	8,18	25	20,0	100 ml gacha
8,40	8,27	25	17,5	100 ml gacha
8,50	8,37	25	15,0	100 ml gacha
8,62	8,48	25	12,5	100 ml gacha
8,74	8,60	25	10,0	100 ml gacha
8,92	8,78	25	7,5	100 ml gacha
9,10	8,95	25	5,0	100 ml gacha

Aminokislotalarni xromatografiy yordamida ajratish koeffitsiyenti

Aminokislotalar	Turli xil eritmalaridagi qiymati			
Guanin	0,40	0,26	0,17	0,08
Alanin	0,10	0,38	0,24	0,13
Serin	0,11	0,27	0,16	0,08
Sestein	—	0,07	0,08	0,02
Sestin	0,22	0,08	0,05	—
Meteonin	0,79	0,55	0,44	0,25
Treonin	0,49	0,35	0,17	0,13
Valin	0,79	0,60	0,45	0,24
Leysin	0,82	0,73	0,61	0,41
Izoleysin	0,83	0,72	0,59	0,37
Arginin	0,54	0,20	0,10	0,05
Lizin	0,46	0,14	0,08	0,03
Glutamat kislota	0,29	0,30	0,17	0,03
Aspartat kislota	0,13	0,24	0,16	0,02
Fenilalanin	0,84	0,68	0,53	0,34
Tirozin	0,58	0,45	0,24	0,24
Gistidin	0,66	0,20	0,10	0,13

Triptofan	0,75	0,50	0,43	0,17
Prolin	0,88	0,43	0,30	0,13

1 - Fenol - suv (4:1)

2 - N. Butanol - aseton kislota - suv (4:1:1).

3 - N. Butanol - asetat kislota - suv (4:5:5).

4 - N. Butanol - etanol - suv (4:1:4).

Qon plazmasi va qon zardobining biokimyoviy ko'rsatkichlari

Aniqlanuvchi komponent	Tekshiriluvchi material	Normal kattaliklar		
		An'anaviy birlikda	Hisoblash koeffitsiyenti	Tavsiya qilinuvchi birlik (SI)
Adrenalin	Plazma	0,35-0,45	5,458	1,92-2,46 nmol/l
Aminli azot	Zardob yoki plazma	20-35 mkg/l	0,714	14,3-25,6 mmol/l
Ammiakli azot	Qon	25-50 mkg/l	0,714	17,5-35,7
	Plazma	10-30 mkg/l	0,714	7,14-21,42 mkmol/l
Qoldikli azot	Qon	20-40 mg/100 ml	0,714	14,3-28,6 mmol/l
Tuzli fraksiyalangan albumin	Zardob	3,2-4,5 g/100 ml	10,0	32-45 g/l
	Zardob	3,2-4,6 g/100 ml	0,154	0,49-0,69 mmol/l
Elektroforez albumini	Zardob	3,2-5,6 g/100 ml	0,154	0,49-0,86 mmol/l
Alfa-amino-levulin kislota	Zardob	0,01-0,03 mg/100 ml	76,0	0,76-2,28 mkmol/l
Alfa-anti-ripsin	Plazma	200-400 mg/100 ml	0,1852	37,04-74,08 mkmol/l
sAMF	Plazma	0,25-1,0 mkg/100 ml	30,37	7,6-30,4 nmol/l
Aseton	Qon	0,3 mg/100 ml	172,18	0,5-6,5 mkmol/l
Umumiy oqsil		6,0-7,8 g/100 ml	10,0	60-78 g/l
Bilirubin: bevosita	Zardob	0,05-1 } 15 гмг/100 ml	17,104	0,86-4,3 mkmol

Bilvosita	Zardob	0,1-1,0 mg/ 100' ml	17,104	1,7-17,1 mkmol
Umumiy	Zardob	0,1—12 mkg/ 100 ml	17,104	1,7-20,5 mkmol
Vitamin A	Zardob	15-60 mkg/ 100 ml	0,035	0,52-2,1 : mkmol
Vitamin Bj	Plazma	1,0-1,5 mkg/100 ml	0,03	0,03-0,045 mkmol
Vitamin B'2	Qon	12 mkg/100 ml	0,275	0,033 mkmol
Vitamin B 12	Qon	0,06-0,14 mkg/100: ml	• 7,367	0.44-1,03 nmol
Vitamin C	Plazma	0,6-1,6 rag/ 100 ml	56,776	34,1-90,8 mkmol/1
	Qon	0,7-2,0 mg/ 100 ml	'56,776	39,7-113,6 mkmol/1
H (biotin)	Plazma	0,9 1,8 mkg/ 100 ml	40,93	36,8-65,5 nmol/1
H (biotin) B ₆	Plazma	1-18 mkg/ 100 ml	0,059	0,059-1,06 mkmol/1
Galaktoza	Zardob	2-17 mg/100 ml	55,51	111-943,7 mkml/1
Gemoglobin: erkaklarda	Zardob yo plazma Qon	i3,,5- m ,0g/ 100 ml	0,155	2,09-2,79 mmol/1
Ayollarda	Qon	12,0-16,0 g/ 100 ml	0,155	1,86-2,48 mmol/1
Gemopeksin	Plazma	70-30 mg/100 ml	0,125	8.75-16-25 mkmol/1
Gistamin	Qon	0,2-0,8 mkg/ 100 ml	89,93	17,99-71,94 nmol/1
Glikogen	Qon	1,62-3,87 mg/100 ml	10,0	16,2-38,7 mg/1
Globulinlar	Zardob	2,3-3,5 g/100 ml	10,0	23-35 g/1
Glukoza	Zardob yo plazma	70-110 mg/ 100 ml	0,0555	3,88-6,105 mmol/1
Glukaz- aminlar: kattalarda	Zardob	61-78 mg/ 100 ml	0,0558	3,4-4,35 mmol/1
Bolalarda	Zardob	52-69 mg/ 100 ml	0,0558	2,5-3,85 mmol/1
Glukuron k-ta	Zardob	1,2-1,3 mg/100 ml	51,506 6	61,81-66,96 mkmol
O't kislotalar	Zardob	0-3,0 mg/100 ml	25,47	0,76-4 mkmol
Temir	Zardob	65-175 mkg/100 ml	0,1791	44.8-80,6 mkmol

Immuno-globulin G	Plazma	100-1800 mg/100 ml	0,0625	50-112,5 mkmol
Immuno-globulinlar: A	Plazma	90-450 mg/100 ml	0,0625	5,62-28,12 mkmol
M	Plazma	60-250 mg/ 100 ml	0,01	0,6-2,5 mkmol
D	Plazma	5 mg/100 ml	0,0502	0,26 mkmol
E	Plazma	0,006-0,6 mg/100 ml	50,0	0,3-30,0 nmol/1
Indikan	Zardob	0,03-0,08 mg/100 ml	39,79	1,19-3,18 mkmol/1
Yod: Bog'langan oqsil bilan	Zardob	4,0-8,0 mkg/100 ml	78,796	315,18-630,37 nmol/1
Ekstrallangan butanol	Zardob	3,5-6,5 kg/ 100 ml	78,796	275,79-512,17 nmol/1
Kaliy	Plazma	3,8-4,6 mg - ekv/1	1,0	3,8-4,6 mmol/1
	Plazma	15-18 mg/ 100 ml	0,256	3,8-4,6 mmol/I
	Eritro-tsitlar	79,8-99,3 mg-ekv/1	1,0	79,8-99,3 mmol/1
	Eritro-tsitlar	312-388 mg/100 ml	0,256	79,8-99,3 mmol/1
Kalsiy:	Zardob	4,2-5,2 mg/ 100 ml	0,2495	1,05-1,30 mmol/1
Ionlangan	Zardob	2,1-2,6 mg-ekv/1	0,5	1,05-1,30 mmol/1
Umumiy	Zardob	9,0-10,6 mg/100 ml	0,2495	2,25-2,64 mmol/1
Umumiy	Zardob	4,4-5,2 mg-ekv/1	0,5	2,2-2,6 mmol/1
Bolalarda	Zardob	11,0-13,0 mg/100 ml	0,2495	2,74-3,24 mmol/1
Keton tanachalar	Qon	3 mg/100 ml	10,0	30 mg/1
17-ketoste-roidlar	Plazma	25-125 mkg/100 ml	0,0345	0,86-4,31 mk/mol
Kislota-ishqor muvozanati: standart bikarbonat		21-25 mg-ekv/1	10	21-25 mmol/1
Vodorod ko'rsatkichi (pH)	Arteriya qoni	7,36-7,42	1,0	7,36-7,42
	Vena qoni	7.26-7,36	1,0	7,26-7,36

Ortiqcha ishqor (BE)	Plazma	(-2,4)-(+2,3) mg-ekv/1	1,0	(-2,4)- (+2,3) mmol/1
CO ₂ ning par- sial bosimi	Arteriya qoni	35,8-46,6 mm s.u.	0,133	4,76-6,2 kPa
	Vena qoni	46-58 mm s.u.	0,133	6,1-7,7 kPa
Kislorodning parsial bosimi	Arteriya qoni	95-100 mm s.u.	0,133	12,6-13,3 kPa
	Vena qoni	40-45 mm s.u.	0,133	5,3-6,0 kPa
Umumiy kar- bonat anhidrid	Plazma	23—33 mm/1	1,0	23-33 mmol/1
Kortizol: 8-10 soat	Plazma	5-25 mkg/ 100 ml	27,588 5	137,9-689,7 nmol/1
16-18 soat	Plazma	2-18 mkg/ 100 ml	27,588 5	55,2-496,6 nmol/1
Kreatinin: erkaklarda	Zardob yo plazma	0,2-0,6 mg/ 100 ml	76,254 3	15,25-45,75 mkmol/1
Ayollarda	Zardob yo plazma	0,6-1-2 mg/100 ml	76,254 3	45,75-76,25 mkmol/1
Kreatinin	Zardob yo plazma	0,6-1,2 mg/ 100 ml	88,401 6	53,0-106,1 mkmol/1
Lizotsin	Plazma	0,5-1,5 mg/100 ml	0,6667	0,3-1,0 mkmol/1
Limon kislota	Zardob yoki plazma	0,7 g-3,0 mg/100 ml	52,048 1	88,5-156,1 mkmol/1
Umumiy yog'lar	Zardob	400-800 mg/100 ml	0,01	4,0-8,0 g/1
Yog' kislotalar: umumiy ovqatlangan- dan so'ng	Zardob	9-15 mm/1	1,0	9-16 mmol/1
	Plazma	640-880 mkg- ekv/1	1,0	640-880 mkmol
	Plazma	640-880 mkg- ekv/1	1,0	640-880 mkmol
	Plazma	780-1180 mkg-ekv/1	1,0	780-1180 mkmol
Triglitsridlar :	Zardob yoki plazma	50-150 mg/ 100 ml	0,0118	0,59-1,77 mmol/1
Fosfolipidlar: umumiy	Zardob	152,5-362,5 mg/100 ml	0,01	1,52-3,62 g/1
Fosforğa nisbatan	Zardob	6,1-14,5 mg/ 100 ml	0,3223	1,97-4,68 mmol/1
Umumiy xolesterin	Plazma	115-340 mg/ 100 ml	0,258	2,97-8,79 mmol/1

Alfa lipoproteidlar erkaklarda	Plazma	125-425 mg/100 ml	0,01	1,25-4,25 g/l
Ayollarda	Plazma	250-650 mg/ 100 ml	0,01	2,5-6,5 g/l
Beta-lipoproteidlar	Plazma	300-450 mg/100 ml	0,01	3,0-4,5 g/l
Magniy	Zardob	1,5-2,5 mg- ekv/1	0,5	0,75-1,25 mmol
Alfa-makroglobulin	Plazma	150-350 mg/ 100 ml	0,0122	1,83-4,27 mkmol/1
Mis: erkaklarda	Zardob yoki	70-140 mkg/ 100 ml	0,1574	11,0-22,0 mkmol/1
Ayollarda	Plazma	85-155 mkg/ 100 ml	0,1574	13,4-24,4 mkmol/1
Metgemo- globin	Qon	0,0-0,24 g/ 100 ml	155,0	0-37,2 mkmol/1
Sut kislotasi	Arteriya qoni	3-7 mg/ 100 ml	0,111	0,33-0,78 mmol/1
	Vena qoni	5-20 mg/ 100 ml	0,111	0,55-2,22 mmol/1
Siydik kislota: erkaklarda	Zardob	2,1-7,8 mg/ 100 ml	0,0594	0,12-0,46 mmol/1
Ayollarda	Zardob	2,0-6,4 mg/ 100 ml	0,0594	0,12-0,38 mmol/1
Siydikchil	Qon	20-50 mg/ 100 ml	0,1665	3,33-8,32 mmol/1
Natriy	Plazma	134-169 mg- ekv/1	1,0	134-169 mmol/1
	Plazma	310-290 mg/ 100 ml	0,4345	134-169 mmol/1
	Eritro- tsitlar	31-50 mg/ 100 ml	0,4345	13,4-21,7 mmol/1
	Eritro- tsitlar	13,4-21,7 mg-ekv/1	1,0	13,4-21,7 mmol/1
Neyramin kislota	Zardob	65 mg/100 ml	32,3311	2101 mmol/1
Noradrenalin	Plazma	0,65-0,81 mkg/100 ml	59,11	38,42-47,88 nmol/1
P-oksikortiko- steroidlar	Plazma	13-23 kg/ 100 ml	10,0	130-230 mkg/1
17-oksikorti- kosteroidlar erkaklarda	Plazma Plazma	7-19 mkg/ 100 ml	27,5886	193, 12- 524,18 nmoVI
Ayollarda	Plazma	9-21 mkg/ 100 ml	27,5886	248,3-579, 36 nmol/1
Beta-yog'- oksikislota	Qon	0,14-1,9 mkg/100 ml	96,05	13,4-182,5 mkmol/1

Pirouzum kis-lota	Qon	0,3-0,9 mkg/100 ml	113,56	34,07-102,2 mkmol/1
Plazminogen	Plazma	20-40 mkg/100 ml	0,07	1,4-2,8 mkmol/1
Prealbumin	Plazma	10-40 mkg/100 ml	0,1639	1,64-6,56 mkmol/1
Protoporfirin	Eritro-tsitlar	15-50 mkg/100 ml	0,0178	0,27-0,89 mkmol/1
Qand	Qon	80-120 mg/100 ml	0,01	0,8-1,2 g/1
Sial kislotalar	Zardob	55-79 mg/100 ml	10,0	550-790 ml/1
Serotonin	Qon	5,0-30,0 mkg/100 ml	0,0568	0,3-1,7 mkmol/1
Somatotropin	Zardob	10 mg/ml	0,0465	0,47 nmol/1
Testosteron: erkaklarda	Zardob yoki plazma	400-1200 mg/100 ml	0,0347	13,8-41,6 nmol/1
Ayollarda	Zardob yoki plazma	30-120 mg/100 ml	0,0347	1,04-4,16 nmol/1
Tireoglobulin	Zardob	10-26 mkg/100 ml	10,0	100-260 mkg/1
Umumiy tiroksin		5-11 mkg/100 ml	12,872	64.36-141,59 nmol/1
Transferrin	Zardob	170-400 mg/100 ml	0,1136	19,3-45.4 mkmol/1
Fenilalanin: kattalarda	Zardob	3 mg/100 ml	0,0605	0,18 mmol/1
chaqaloqlarda	Zardob	1,2-3,5 mg/100 ml	0,0605	0,073-0,212 mmol/1
Fibrinogen	Plazma	200-400 mg/100 ml	6,0293	5,9-11,7 mkmol/1
Noorganik fosfor: kattalarda	Zardob	2-4 mg/ 100 ml	0,3228	0,64-1,29 mmol/1
Bolalarda	Zardob	4-7,1 mg/ 100 ml	0,3228	1,29-2,26 mmol/1
Fruktoza	Qon	0,1-0,5 mg/100 ml	55,8	5,55-7,75 mkmol/1
Fukoza	Zardob	7,7-0,9 mg/100 ml	60,9156	469,05-548,24 mkmol/1
Xloridlar	Qon	295 mg/100 ml	0,282	83,19 mmol/1
	Zardob	95-103 mg-ekv/1	1,0	95-103 mmol/1
Seruloplazmin	Zardob	23-50 mg/100 ml	0,0662	1,52-3,31 mkmol/1

MUNDARIJA

Soʻz bosi	3
Biokimyoviy jarayonlar va tekshirish usullari.....	4
Biokimyoviy materiallar, ularni ajratish usullari.....	4
Oqsillarning kimyoviy xususiyatlari va aniqlash usullari.	9
Oqsillar va aminokislotalarga xos rangli reaksiyalar.	10
1- tajriba. Biuret reaksiyasi	10
2- tajriba. Millon reaksiyasi	12
3- tajriba. Ksantoprotein reaksiyasi	13
4- tajriba. Adamkevich reaksiyasi	14
5- tajriba. Fol reaksiyasi	15
6- tajriba. Ningidrin reaksiyasi	16
7- tajriba. Shulse-Raspaylya reaksiyasi	17
Oqsillarning fizik xususiyatlari	19

Oqsillarning denaturatsiyasi	19
8 - <i>tajriba</i> . Oqsillarning konsentrlangan mineral kislotalari bilan denaturatsiyasi.....	20
9- <i>tajriba</i> . Oqsillarning organik kislotalar bilan denaturatsiyasi	20
10- <i>tajriba</i> . Oqsillarning og`ir metall tuzlari bilan denaturatsiyasi	21
11- <i>tajriba</i> . Oqsillarning organik erituvchilar bilan denaturatsiyasi.....	21
12- <i>tajriba</i> . Oqsillar dializi	22
13- <i>tajriba</i> . Aminokislotalarning qog`ozli xromatografiyasi.....	24
Oqsillarni cho`ktirish reaksiyalari	26
14- <i>tajriba</i> . Oqsillarni og`ir metall tuzlari yordamida cho`ktirish	27
15- <i>tajriba</i> . Oqsillarni qizdirilganda cho`kmaga tushishi	27
16- <i>tajriba</i> . Oqsillarni alkaloidli reaktivlar ta'sirida cho`ktirish	29
17- <i>tajriba</i> . Oqsillarni konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida cho`ktirish.	30
18- <i>tajriba</i> . Oqsillarni organik kislotalar ta'sirida cho`ktirish	31
19- <i>tajriba</i> . Oqsillarni organik erituvchilar ta'sirida cho`ktirish	32
20- <i>tajriba</i> . Oqsillarni fenol ta'sirida cho`ktirish	33
21- <i>tajriba</i> . Qon zardobi tarkibidagi albuminlarni globulindan ammoniy sul`fat va natriy xlorid tuzlari yordamida ajratish	35
Murakkab oqsillar	37
Nukleoproteinlar	38
22- <i>tajriba</i> . Achitqi nukleoproteinlarining kislotali gidrolizi va ular tarkibini aniqlash	39
Xromoproteinlar	42
23- <i>tajriba</i> . Gemoglobin tarkibidagi temirni ochish.....	43
24- <i>tajriba</i> . Gemoglobinning gemin guruhini gvayakol va benzidin bilan ochish.....	44
25 – <i>tajriba</i> . Gemin kristallarini ajratib olish (Teyxman probasi).....	46
Fosfoproteinlar	47
26- <i>tajriba</i> . Kazeinni gidrolizlash va gidrolizatdagi oqsil va fosfat kislotasini aniqlash.....	47
Glikoproteinlar	49
27- <i>tajriba</i> . So`lakdan mutsinni ajratib olish va uning tarkibidagi oqsilga -biuret va	

uglevod guruh lariga naftol reaksiyalari ..	49
Fermentlar	52
Fermentlarning xossalari	53
28 – <i>tajriba</i> . Kraxmalni solak α -amilazasi bilan gidrolizlash.....	53
29- <i>tajriba</i> .. So`lak α -amilazasining termolabiligi....	55
30- <i>tajriba</i> . So`lak α -amilazasining spetsifikligi.....	57
31- <i>tajriba</i> . So`lak $\alpha$ -amilazasi faolligiga ph ning ta`siri.....	59
32- <i>tajriba</i> . So`lak $\alpha$ -amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorlarning ta`siri	60
Ferment faolligini miqdoriy aniqlash	62
33- <i>tajriba</i> . So`lak $\alpha$ -amilazasi faolligini Volgemut usuli bo`yicha aniqlash...	62
Vitaminlar	65
V₁ vitamini (tiamin, aneyrin).	66
34- <i>tajriba</i> . V ₁ vitaminini tioxromga oksidlanish reaksiyasi	67
V₂ vitamini (riboflavin)	68
35- <i>tajriba</i> . V ₂ vitaminining qaytarilish reaksiyasi.	68
V₆ vitamini (piridoksin, adermin).	69
36- <i>tajriba</i> . V ₆ vitaminining temir xlorid bilan reaksiyasi	70
V₁₂ vitamini (siankobalamin, antianemin)	71
37- <i>tajriba</i> . V ₁₂ vitamini tarkibidagi kobaltni tiomochevinali reaksiya bo`yicha aniqlash. . . .	71
.....	71
PP vitamini (nikotinamid, antipellagrin	72
38- <i>tajriba</i> . Nikotin kislotasiga mis atsetat ta`siridagi sifat reaksiyasi	73
C vitamini (askorbin kislota, antitsinga vitamini)	73
39- <i>tajriba</i> . C vitaminiga qizil qon tuzi ishtirokida sifat reaksiyasi.	74
40- <i>tajriba</i> . C vitaminiga metilen koki bilan sifat reaksiyasi	74
41- <i>tajriba</i> . C vitaminini oziq-ovqat mahsulotlari (na`matak, kartoshka, karam, sut) da 2,6-dixlorfenolindofenol bilan miqdoriy aniqlash	75
42- <i>tajriba</i> . Na`matakda S vitaminini aniqlash	76
43 – <i>tajriba</i> . Kartoshka tarkibidagi S vitamini miqdorini aniqlash.....	77
44- <i>tajriba</i> . Karam tarkibidagi S vitaminini aniqlash	78
45 – <i>tajriba</i> . Sut tarkibida S vitamini miqdorini aniqlash.....	78
46- <i>tajriba</i> . C vitamini miqdorini siydikda Tilmans reaktivi bilan aniqlash..	80
47- <i>tajriba</i> . C vitaminini siydikni 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan titrlab aniqlash . .	

.....	81
48- <i>tajriba</i> . S vitamini miqdorini 2,6-dixlorfenolindofenolni siydik bilan titrlab aniqlash.....	82
A vitamini (retinol, antikseroftalmik vitamin).....	82
49- <i>tajriba</i> . A vitaminini baliq moyida konsentrlangan sulfat kislota bilan aniqlash.	82
.....	82
50- <i>tajriba</i> . Na'matak tarkibidagi karotin va undagi toyinmagan bog'larni aniqlash	85
.....	85
D vitamini (kalsiferol, antiraxit vitamini).	86
51- <i>tajriba</i> . D vitaminini baliq moyida anilin reaktivi bilan aniqlash.	87
Ye vitamini (tokoferollar, ko'payish vitamini)	88
52- <i>tajriba</i> . Ye vitaminiga konsentrlangan nitrat kislota bilan sifat reaksiyasi	88
K vitamini (filloxinon, antigemorragik vitamin)	89
53- <i>tajriba</i> . K vitamininga sifat reaksiyalari.	90
Gormonlar	92
Oqsil-peptid gormonlari	93
Me'da osti bezi gormoni – insulin	93
54- <i>tajriba</i> . Biuret reaksiyasi	54
55- <i>tajriba</i> . Geller reaksiyasi	95
Gormonlar – aminokislotalar unumlari	96
Buyrak usti bezi ma g'iz qismi gormoni adrenalin	96
56- <i>tajriba</i> . Adrenalinga temir xloridi bilan sifat reaksiyasi	97
57- <i>tajriba</i> . Adrenalin miqdorini Folin bo'yicha aniqlash	98
Qalqonsimon bez gormonlari	99
58- <i>tajriba</i> . Qalqonsimon bez to'qimasidagi yodni aniqlash	100
Buyrak usti bezi postloq qismi gormonlari (kortikosteroidlar)	101
59- <i>tajriba</i> . Kortizolni aniqlash uchun sifat reaksiyasi.	103
Jinsiy bez gormonlari	103
60- <i>tajriba</i> . Estron (follikulin)ga xos sifat reaksiyalari	104
Uglevodlar almashinuvi	113
Uglevodlarning oraliq almashinuvi	105
61- <i>tajriba</i> . Glikogen miqdorini jigarda antron reaktivi bilan aniqlash	108
62- <i>tajriba</i> . Glikogenoliz –mushak toqimasi fermentlari ta'sirida	110

63-tajriba. Qon tarkibidagi sut kislotasi miqdorini n-oksidifenilangli reaksiyasi bilan aniqlash	113
64- tajriba. Qon tarkibidagi piruvat (pirouzum kislota) miqdorini aniqlash.....	116
65-tajriba. Qon zardobidagi sial(neyramin) kislotasi miqdorini aniqlash. . . .	118
66- tajriba. Glyukozaning spirtli bijg`ishi	120
Qon tarkibidagi glyukoza miqdorini boshqarilishi.	122
67-tajriba. Qondagi glyukoza miqdorini glyukozooksidaza usulida aniqlash.	123
68- tajriba. Qondagi glyukoza miqdorini O-toluidin usulida aniqlash	127
Lipidlar almashinuvi	129
Lipidlarning oraliq almashinuvi	131
69- tajriba. Yog` tarkibidagi to`yinmagan yog` kislotalarini aniqlash	132
70- tajriba. Yog`lar emulsiyasi	132
71- tajriba. Pankreatik lipaza faolligiga o`t kislotalarining ta`siri	134
72-tajriba. Yuqori yog` kislotalarining qonda tashilishida zardob albuminining ahamiyati	137
73- tajriba. Qon zardobidagi lipidlarning umumiy miqdorini aniqlash	138
74- tajriba. Qon zardobidagi yo g` kislotalari miqdorini aniqlash	140
Fosfolipidlar	142
75- tajriba. Qon zardobidagi fosfolipidlar miqdorini fosfor bo`yicha aniqlash.	143
Sterinlar (sterollar) va steridlar	145
76- tajriba. Qon zardobidagi xolesterinning umumiy miqdorini aniqlash	146
77- tajriba. Miya to`qimasidagi xolesterinni sifat reaksiyasi bilan aniqlash..	148
Lipoproteidlar almashinuvi	149
78- tajriba. Qon zardobidagi lipoproteidlar umumiy miqdori va fraksiyalarini miqdoriy aniqlash	150
79- tajriba. Atsetosirka kislotasiga temir xlorid (Gerxard) reaksiyasi	151
80-tajriba. Qon plazmasida lipidlar gidroperoksidi miqdorini spektrofotometrik usulda aniqlash	152
81- tajriba. Malon dialdegidi miqdorini aniqlash	153
Oqsillar almashinuvi	155
Oqsillarning hazm bolishi	157
82- tajriba. Oqsillarning pepsin ta`sirida hazm bo`lishi	158
83- tajriba. Me`da shirasidagi kislotalarni aniqlash	160
84- tajriba. Me`da shirasidagi erkin xlorid kislotasiga kongo qizil qog`ozi yordamida sifat	

reaksiyasi	161
85- <i>tajriba</i> . Me'da shirasidagi erkin xlorid kislotasiga paradimetilaminoazobenzol eritmasi yordamida sifat reaksiyasi	162
86- <i>tajriba</i> . Me'da shirasidagi sut kislotasiga sifat (Ufelman) reaksiyasi.....	163
87- <i>tajriba</i> . Me'da shirasidagi umumiy, erkin va bog'langan xlorid kislotalari miqdorini titrlab aniqlash	164
Ilovalar	168

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Берёзов Т.Т. и др. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. Москва. 1976
2. Кушмаова О.Д. , Ивченко Г.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. Москва. 1983

3. Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. Москва. 1988
4. Шарпенак А.Э., Конышев В.А. Практикум по биологической химии Москва. 1969
5. Строев Е.А. Макарова В.Г. Практикум по биологической химии Москва. 1986
6. Мирхамидова П. ва бошқалар. Ҳайвонлар биохимияси. Тошкент-1990й.
7. Абдуллаев Р. ва бошқалар. Ўсимликлар биохимиясидан амалий машғулотлар. Тошкент 1994й.

Professor. Qo'ldoshali Tojiboev

Muqaddam Ikramova

Mavsuma Abdullaeva

Dilfuza To'ychieva

BIOKIMYODAN TAJRIBA ISHLARI

BIOLOGIYA, EKOLOGIYA VA TIBBIYOT YO'NALISHI TALABALARI UCHUN
O'QUV USLUBIY OMMABOP QO'LLANMA

Bosiishga ruxsat etildi 28..12.2013/ Xajmi 11 bosma taboq. Bichimi 80x84. Adadi 100 nusxa.
Buyurtma 27