

**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ
ОЛИЙ ВА УРТА МАХСУС ТАЪЛИМ ВАЗИРЛИГИ**

ТЕРМИЗ ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ

УМУМИЙ КИМЁ КАФЕДРАСИ

БИОКИМЁ

**фанидан лаборатория машгулотлари учун
услубий кўрсатма**

Термиз-2012

А Н Н О Т А Ц И Я

Ушбу услубий кулланма биология таълим йўналиши талабалари учун мулжалланган бўлиб, намунавий дастур асосида тузилган. Биокимё курсининг ҳамма курсини ўз ичига олган. Хар бир бўлимга оид назарий маълумотлар ҳам берилган.

Мазкур услубий кулланмадан жисмоний маданият таълим йўналиши талабалари ҳам фойдаланиши мумкин.

Тузувчилар: к.ф.н, доцент Аликулов РВ

Ўқ. Амонова Н.Д.

Ўқ. Рўзиева Б.Ю.

Ўқ. Хайитова Ж.М.

Ўқ. Атамуротова Д.М.

Такризчилар: к.ф.н Аллабердиев ФХ

Услубий кулланма Термиз давлат университети илмий кенгашининг 2014 йил «30» августдаги 1-сонли баённомасига асосан фойдаланишга тавсия этилди.

КИМЁ ЛАБОРАТОРИЯЛАРИДА ИШЛАШ ТАРТИБИ

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

1. Лабораторияда ҳар бир талабага алоҳида иш жойи белгиланади. Иш жойида тартиб ва тозаликни сақлаш керак;
2. Лабораторияда халат кийиб ишланади, у ерда овқатланиш, чекиш ва баланд овозда гаплашиш қатъиян ман этилади;
3. Ҳар бир лаборатория ишидан олдин, талаба шу ишга тегишли назарий материалларни ўрганиши керак ҳамда йўриқнома билан чуқур танишиши, ноаниқ саволларни ҳал қилгандан сўнг тажрибани бошлаши лозим;
4. Тажриба учун зарур бўлган кимёвий реактивлар ва асбоб-ускуналар мавжудлиги аниқлангандан кейин тажриба ишини бошлаш керак;
5. Тажрибанинг боришини диққат билан кузатинг, унинг ҳамма тафсилотларини билиб олинг, натижаларни иш дафтарингизга ёзиб боринг. Лозим бўлса асбобнинг расмини чизинг;
6. Электр токи, газ, сув ва реактивлар тежамкорлик билан ишлатилиши лозим. Тажрибалар учун жуда кам миқдорда моддалар олинг. Ишлатилмай қолган ёки ортиқча олинган реактивларни қайта идишга солиш мумкин эмас;
7. Ишлатилгандан сўнг барча реактив ва эритмалар сақланадиган идишларнинг қопқоғини ёпиб қўйинг. Реактивларни идишлари билан китоб ва дафтарларнинг устига қўйиш ман этилади.

Барча ўтказилган тажрибалар натижалари лаборатория журнаliga (дафтарига) ёзилади. Унда айнан шу ишни бажариш учун зарур бўлган назарий маълумотлар, кузатишлар, реакция тенгламалари, ҳисоб-китоблар, саволларга жавоблар, масалалар ечими, анализнинг илмий асосланган натижалари қайд этилади. Журналдаги ёзув тартибли бўлиши ва аниқ ёзилиши керак. Лаборатория журнаlinи тажриба олиб бориш мобайнида тўлдириб бориш лозим. Ҳар қайси иш охирида журнал ўқитувчи томонидан тасдиқланиб борилади.

ЛАБОРАТОРИЯ МАШҒУЛОТЛАРИНИ ЎТКАЗИШДА ХАВФСИЗЛИК ЧОРАЛАРИ

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

1. Зарарли моддалар билан бажариладиган ишларни мўрили шкафда ўтказиш лозим. Концентрланган кислоталар ва ишқорлар ҳам шу ерда сақланади;
2. Моддаларни қўлда олмай, балки шпатель ёки чинни қошиқчаларда олиш керак;

3. Кучли кислоталар, айниқса концентранган сульфат кислотани суолтиришда сувни кислотага эмас, балки кислота сувга томчилаб аралаштирилади;
4. Ажралиб чиқаётган газларни яқин туриб ҳидлаш таъқиқланади. Газни ҳидлаш лозим бўлганда, пробиркани чап қўлга олиб, бурундан пастроқда ушланади ва ўнг қўл билан газ бурун томон елилади;
5. Хлор, бром, водород сульфид ва ис газни билан заҳарланганда, дастлаб заҳарланган кишини очик ҳавога олиб чиқиш ва тегишли ёрдам кўрсатиш керак;
6. Таркибида симоб, мишьяк (маргимуш), барий, кўрғошин бўлган тузлар заҳарли эканини эсда тутиш лозим, улар билан ишлагандан кейин қўлингизни яхшилаб ювинг;
7. Бир реактивни иккинчисига қуйиш чоғида юзингизга ёки кийимингизга сачрамаслиги учун шу идишнинг тепасига энгашиб қараманг;
8. Пробиркага бирор реактив солиб қиздирилаётганда, унинг оғзини ўзингизга ёки ёнингизда турган кишига қаратманг;
9. Юзингизга ёки қўлингизга суюқлик сачраса, тезликда сув билан ювиб, сочиқ билан артинг;
10. Кислоталар ва ишқорлар тўкилган жойни эҳтиёт бўлиб тезда артинг, сув билан ювиб, кислота тўкилган жойни сода эритмаси билан, ишқор тўкилган жойни эса сирка кислотанинг 5% ли эритмаси билан нейтраллаш керак;
11. Осон ёнувчи моддалар билан тажрибаларни оловдан узоқроқда ёки мўрили шкафта ўтказиш лозим;
12. Бензол, бензин ёки эфирлар билан ишлаганингизда олов чиқиб кетса, сув билан ўчиришга уринманг, аланга устига қум сепиб ўчиринг;
13. Иситиш асбобларини: муфель ва тигель печи, электр плита ва шунга ўхшаш асбобларни ўтга чидамли материалдан ясалган тагликлар устига қўйиш керак. Ишлаб турган асбобларни асло назоратсиз қолдирманг;
14. Кумуш тузларининг аммиакли эритмасини узоқ вақт сақлаш мумкин эмас. Чунки вақт ўтиши билан ундан портловчи модда қалдиरोқ кумуш (Ag_3N) ҳосил бўлиши мумкин;
15. Синган пробирка синиқлари ва қоғоз парчаларини махсус идишларга ташлаш лозим;
16. Лаборатория машғулоти тугагач, ҳар бир талаба идишларни ювиши, иш столларини тартибга солиши, газ ва водопровод жўмракларини беркитиши, электр асбобларининг ўчганлигини текширишни унутмаслиги лозим. Реактивларни махсус белгиланган жойларга қўйиб, иш жойингизни лаборантга топширинг.

Ҳар бир талаба кимё лабораторияларида ишлаш техника хавф-сизлиги қоидаларини ўрганганидан кейин, лаборатория ишларини бажаришга қўйилади. Шунинг эса тутиш керакки, кимёвий лабораторияларда ишлаш: алоҳида эътибор, тартиб, билим ва ишчанликни талаб этади. Булар албатта, ишдаги ютуқлар мезонидир.

БИРИНЧИ ЁРДАМ КЎРСАТИШ

1. Агар териға концентрланган бирор бир кислота сачраса, дарҳол у ерни кўп миқдордаги сув билан ювиб, жароҳатланган жойға эса калий перманганатнинг 3% ли эритмаси шимдирилган пахта қўйилиши зарур;
2. Агар териға ишқор сачраган бўлса, ўша жой аввал сув билан яхшилаб ювилади, сўнгра эса калий перманганатнинг 3% ли эритмаси ёки танниннинг спиртли эритмаси шимдирилган пахта қўйиб боғлаш лозим;
3. Агар кўзға кислота ёки ишқор сачраган бўлса, кўзни яхшилаб сув билан ювиш, сўнгра эса дарҳол шифокорға мурожаат қилиш керак;
4. Агар териға иссиқ буюм, масалан иссиқ шиша, иссиқ металл тегиб куйдирса, куйган жойни калий перманганатнинг 3% ли эритмаси ёки танниннинг спирттаги эритмаси билан ювиб, сўнгра мазь суркаш зарур;
5. Фосфор таъсиридан куйганда ўша жойға мис (II) сульфатнинг 2% ли эритмаси билан ҳўлланган пахта қўйиб боғлаш керак.
6. Хлор, бром, водород сульфид ва ис гази билан заҳарланган беморни дарҳол очик ҳавоға чиқариб, шифокорға мурожаат қилиш керак.
7. Реактивлар билан киши организми оғиз орқали заҳарланса, кўп сув ичиши лозим. Металларнинг тузлари билан заҳарланганда сутли маҳсулотлар ичиш ёки тухум ютиш керак. Йод таъсирида заҳарланганда чой, кофе ёки сода эритмаси, ишқор билан заҳарланганда сирка ёки лимон кислотанинг 2% ли эритмасидан бир стакан, кислоталардан заҳарланганда 2% ли сода эритмасидан бир стакан ичиш керак;
8. Куйганда ва заҳарланганда ҳамма вақт зарар кўрган кишиға биринчи ёрдам берилгач, дарҳол тиббий муассасаларига мурожаат қилиш лозим.

1-усул. Ҳажми 200 мл ли қолбаға 150 мл концентрланган сульфат кислота қўйилади ва унинг устиға 25 г майдаланган калий бихромат солинади. Ҳосил бўлган аралашма чайқатилиб, эригунча қолдирилади. Бир суткадан сўнг, эритма қорамтир-тўқ сариқ рангға киради. Хроматли аралашмани ишлатишдан олдин 45-50°C гача иситиб олиш керак. Агарда хроматли аралашманинг ранги тўқ-яшил тусға кириб қолган бўлса, уни ишлатишнинг фойдаси йўқ.

2-усул. 1000 мл дистилланган сувда 100 г тозаланмаган калий бихромат эритилади, сўнгра устиға аста-секин 100 мл конц. сульфат кислота қўйилади.

Хроматли аралашмани ишлатишда қуйидагиларга эътибор бериш керак: хроматли аралашма тайёрлаш ва у билан идишларни ювишда қўлга резина қўлқоп кийиб олиш керак, акс ҳолда хроматли аралашма терини қуйдиради; оғиз билан пипеткага хроматли аралашмани сўриб олмаслик керак; кислота қуйилган хроматли аралашмага сув қуймаслик керак.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №1

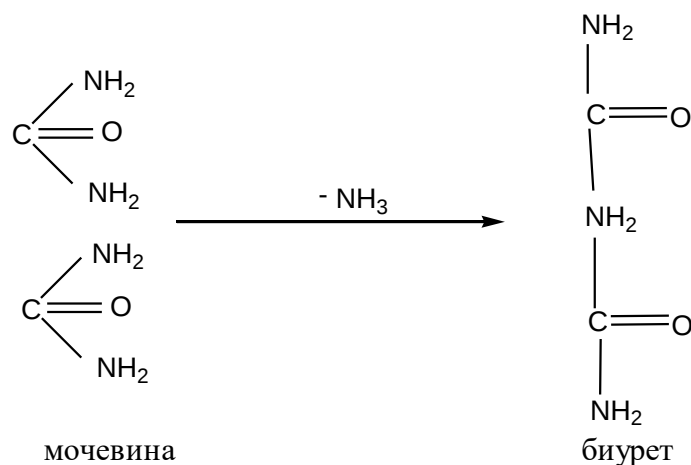
ОҚСИЛ ВА АМИНОКИСЛОТАЛАРГА ХОС РАНГЛИ РЕАКЦИЯЛАР

Оқсил—тирик организмларнинг энг муҳим таркибий қисмини ташкил этади.

Оқсил юқори молекулали коллоид бирикма бўлиб, аминокислоталардан ташкил топган. Улар гидролизланганда аминокислоталаргача парчаланади. Оқсил таркибидаги аминокислоталар ўзаро пептид боғлари орқали бирикади. Айрим аминокислоталар бир-биридан таркибидаги турли-туман функционал группалари билан фарқланади. Бу группаларга хос рангли реакциялар ёрдамида оқсиллар, биологик суюқликлар ва аралашмалар таркибидаги аминокислоталарни аниқлаш мумкин. Оқсил ва аминокислоталарнинг сифат ва миқдор жиҳатдан аниқлашда қўлланиладиган рангли реакциялар икки группага бўлиб ўрганилади: биринчи группага оқсил таркибидаги ҳар хил химиявий боғлар билан ҳосил қилинадиган рангли реакциялар (биурет реакцияси), иккинчи группага эса аминокислоталарнинг функционал группалари билан ҳосил қилинадиган рангли реакциялар киради.

1- иш. Биурет реакцияси

Ишқорий шароитда оқсил эритмалари мис сульфат ионлари иштирокида пушти бинафша ёки кўк бинафша ранг беради. Бу ранг оқсил молекуласи таркибидаги пептид боғлар билан мис ионлари ҳосил қилган комплексга хосдир. Биурет реакциясини оқсиллардан ташқари турлитуман пептидлар, полипептидлар, пептонлар ҳам беради. Бу реакцияни мочевиначининг қосиласи бўлмиш биурет ҳам беради. Реакциянинг номи ҳам ана шу биурет номи билан аталади.



Биурет комплексининг ранги эритмадаги мис ионларининг миқдори билан белгиланади. Агар мис сульфат эритмаси кўпроқ қўшилса, кўк ранг камроқ қўшилса пуштиранг устунлик қилади.

Реактивлар: тухум оксилининг эритмаси, чигит оксилининг эритмаси, 30 % ли натрий гидроксид эритмаси, 2 % ли мис сульфат эритмаси ва мочевино.

Иш тартиби. Иккита пробирка олиб, биринчисига 1 мл тухум оксидан, иккинчисига 1 мл чигит оксидан қуйилади. Ҳар иккала пробиркага 30 % ли натрий гидроксид эритмасидан баравар ҳажмда қўшилади. Пробиркаларга 4—5 томчи 2 % ли мис сульфат эритмасидан томизилса пушти бинафша ёки кўк бинафша ранг ҳосил бўлади.

Ишни мочевино билаи ҳам такрорлаш мумкин. Бунинг учун пробиркага озгина мочевино кристалларидан солиб, қиздирилади. Мочевино аввал эрийди, сўнг қота бошлайди. Шу вақтда қиздириш тўхтатилади. Пробирка совигач, унга 1 мл 30 % ли натрий гидроксид эритмасидан қўшилади, унинг устига 4 — 5 томчи 2 % ли мис сульфат эритмасидан солинса, пробиркада бинафша ранг ҳосил бўлади.

2- иш. Ксантопротеин реакцияси

Кўпчилик оксил эритмалари концентранган нитрат кислота билан реакцияга киришиб, сариқ ёки тўқ сариқ (зарғалдоқ) ранг беради. Бу реакция оксил молекуласидаги ароматик (ҳалқали) аминокислоталар (фенилаланин, тирозин, триптофанлар)га хос бўлиб, улар нитрат кислота билан ўзаро реакцияга киришиб, сариқ рангли нитробиркималарни ҳосил қилади:



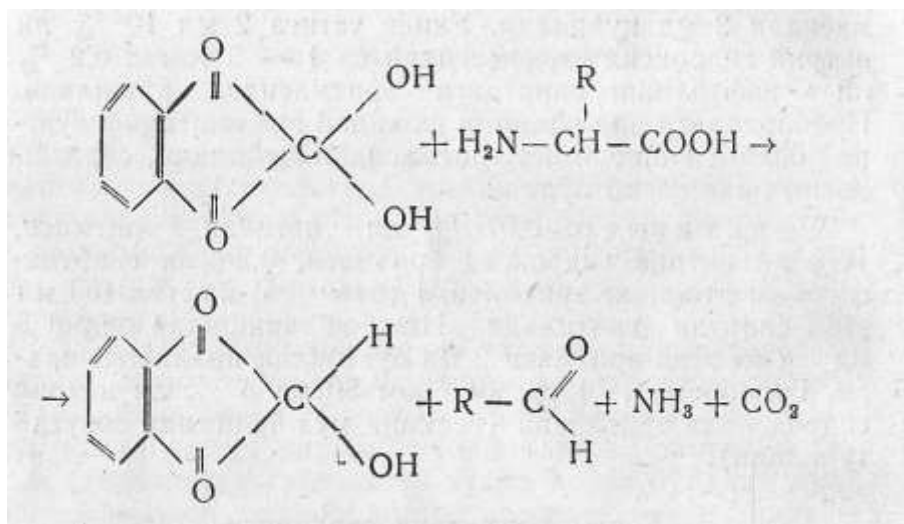
Бу реакция таркибида ароматик амнпокислота тутувчи барча оксилларга хосдир. Желатина оксили таркибида ароматик аминокислоталар бўлмагаилиги сабабли у ксантопротеин реакциясига киришмайди.

Р е а к т и в л а р: тухум оксили эритмаси, чигит оксили эритмаси, 1 % ли желатина эритмаси, 40 % ли натрий гидроксид эритмаси, концентрланган нитрат кислота ва концентрланган аммиак.

Иш тартиби. 3 та пробирка олиб, биринчисига 1 мл тухум оксклидан, иккинчисига 1 мл чигит оксилидан, учинчисига 1 мл желатина қуйилади. Ҳар учала пробиркага 0,5 мл даи кучли нитрат кислотадан қўшилади, Пробиркалар секинлик билан қиздирилса, биринчи ва иккинчи пробиркаларда сарик ранг пайдо бўлади. Учинчи пробиркада эса ранг ўзгармайди. Пробиркалар совитилиб, ҳар бирига концентрланган аммиак ёки 40 % ли натрий гидроксид эритмасидан 1 мл дан қўшилади. Пробиркадаги сарик ранг, тўқ сарик (зарғалдоқ) рангга айланади.

3- иш. Нингидрин реакцияси

Барча α-аминокислоталар нингидрин (трикетогидринденат) билан ўзаро реакцияга киришиб, кўк ёки бинафша рангли бирикма ҳосил қилади. Нингидрин билан аминокислотанинг ўзаро таъсир реакцияси қуйидагича боради:



Реакция натижасида альдегид, аммиак, CO_2 ва қайтарилган нингидрин ҳосил бўлади. Қайтарилган нингидрин, аммиак ва яна бир молекула нингидрин ўзаро реакцияга киришиб, кўк бинафша рангли бирикма ҳосил қилади.

4-иш Тирозин реакцияси.

Реакция Оксил молекуласидаги тирозин аминокислоталарга хос бўлиб, унинг таркибида фенол гуруҳи бор. Унга миллион реактивидан қўшиб қиздирилганда қизил рангли чўкма ҳосил қилади.

Деярли ҳамма оксиллар Миллион реакциясини беради, чунки улар таркибида тирозин аминокислотасини сақлайди. Шунингдек, бу реакция ҳамма феноллар учун ҳам характерлидир.

Керакли асбоблар: пробирка билан штатив; пипеткалар.

Реактивлар: 1) Фенолнинг 0,1 % ли эритмаси. 2) Миллион реактиви: бу реактивни тайёрлаш учун 40 г симоб олиб, 57 мл концентрланган нитрат кислотасидан (хона ҳароратида) эритилади.

Тайёрланган эритмага икки ҳажмда сув қўшиб суюлтирилади ва ҳосил бўлган чўкма тўкиб юборилади. 3) Оксил эритмаси. 4) желатинанинг 0,1 % ли эритмаси.

Ишнинг бориши: Машғулот аввал фенол билан бажариб кўрилади. Пробиркага 2 мл фенол эритмасидан ва 1 мл Миллион реактивидан солиб, аста-секин қиздирилади, натижада пушти ранг ҳосил бўлади. Сўнгра Оксил билан шу реакция бажарилади. Бошқа эритмага 2 мл Оксил эритмасидан солиб, 6-8 томчи Миллион реактивидан қўшилади, реакция натижасида оқ

чўкма ҳосил бўлади. Пробиркага 2 мл желатина эритмасидан солиб, 6-8 томчи Миллион реактивидан қўшиб реакция бажариб кўрилганда Миллион реакцияси рўй бермайди.

5- ИШ Триптофан реакцияси.

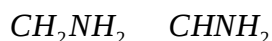
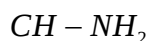
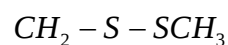
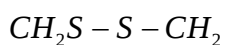
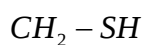
Реактивлар 1) Оқсил эритмаси. 2) сахарозанинг 10 % ли эритмаси. 3) концентрланган сульфат кислота.

Ишнинг бориши: Пробиркага 1 мл Оқсил эритмаси ва 2 томчи сахарозанинг эритмасидан солинади. Сўнгра 1 мл концентрланган сульфат кислотасидан пробирка девори орқали қуйилади. Суюқликлар чегараси оралиғида қизил рангли ҳалқа ҳосил бўлади. Реакциянинг моҳияти шундан иборатки, сульфат кислота таъсирида сахароза моносакхаридларга гидролизланади, сувсизланиб оксиметилфурфуролни ҳосил қилади. Триптофан оксиметилфурфурол билан комплекс бирикма ҳосил қилиб, қизил рангни беради.

6- иш Олтингугурт тутувчи аминокислоталар учун реакция.

Кўпинча Оқсил молекулалари таркибида олтингугурт тутувчи аминокислоталар цистеин, цистин ва метионин сақлайди.

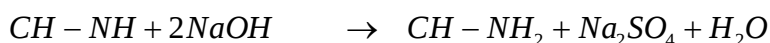
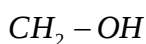
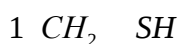
Оқсилга ишқор қўшиб қиздирилганда, бу аминокислоталардан олтингугурт водород сульфид ҳолида ажралиб чиқади. Водород сульфид кўрғошин ацетат билан қора чўкма-кўрғошин сульфидни ҳосил қилади.



Цистиен

Цистин

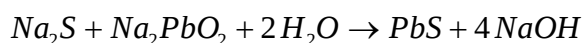
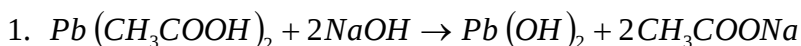
Метионин



Цистеин



Серин



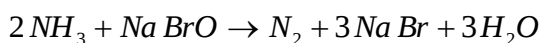
Реактивлар: 1) тухум оксили. 2) натрий гидроксиднинг 20 5 ли эритмаси. 3) кўрғошин ацетатнинг 0,5 % ли эритмаси.

Ишнинг бориши: Пробиркага 1-2 мл Оксил эритмасидан солинади ва тенг ҳажмда натрий ишқоридан кўшилади, қайнагунча қиздирилади ва 1-2 томчи кўрғошин ацетатли тузининг эритмасидан кўшилади. Натижада қора чўкма PbS ҳосил бўлади.

7-иш Аргинин реакцияси.

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

Гипобромид оксидловчидир. Оксидланган аргининни битта аминогуруҳини йўқотиб ($=\text{NH}$), α – нафтол билан бирикади ва тўқ қизил рангли бирикма ҳосил қилади.



Реактивлар. 1) тухум оксилининг эритмаси. 2) 1 % ли α – нафтолнинг эритмаси (96 % ли этил спиртда тайёрланган). Реактивни ишлатишдан олдин 10 мл олиб, 100 мл ҳажмдаги колбада спирт билан суюлтирилади. 3) 15 % ли натрий ишқорининг эритмаси, 150 г натрий ишқори 500 мл сувда эритилади. Эритма қоронғу жойда қора рангга бўялган идишда сақланади.

Ишнинг бориши: Пробиркага 2 мл Оксил эритмаси ва 2-3 томчи натрий гидроксидининг эритмасидан ва 2 томчи α – нафтолдан кўшилади.

Пробиркадаги моддлар яхшилаб ажратилади ва 1 томчи гипобромид қўшилади. Натижада қизил ранг ҳосил бўлади

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №2

Оқсилларни чўктириш реакциялари.

Турли реактивлар Оқсил молекулаларининг физик-кимёвий хоссаларига таъсир этиб, макромолекула структурасини ўзгаришига олиб келади. Оқсилларни чўктириш реакцияларини иккита гуруҳга бўлиш мумкин: оқсилларни денатурациясиз чўктириш (нейтрал ишқорий металл тузлари) ва денатурация йўли билан чўктириш (ҳарорат, минерал ва органик кислоталар, оғир металл тузлари алкалоид реактивлари).

Оқсил чўкмага тушиши унга боғланган сув пардасининг бузилишига боғлиқ. Гидрофил моддалар-нейтрал тузларнинг концентрланган эритмалари оқсилнинг сув пардасини бузиб, унинг эрувчанлигини камайтиради. Мана шу органик эритувчилар, аммоний сульфат, натрий хлорид, натрий сульфат, натрий фосфат ва бошқа эритмалар оқсилга таъсир эттирилганда, Оқсил чўкмага тушади.

Оқсил эритмаларига турли тузлар қўшилганда, унинг чўкмага тушириш реакциялари *оқсилларни тузлаш* дейилади. Бу жараёнда Оқсил молекулалари гидрат пардаларидан ҳоли бўлиб, бир-бири билан осон қўшилади. Оқсил тузланиши натижасида кўпинча табиий ҳолатини ўзгартирмайди, чўкмада туз ионларни диализ йўли билан четлатилганда Оқсил қайтадан эритмага ўтади.

Аммоний сульфат ва натрий сульфат билан тузлаш усули оқсилларни натив ҳолатини бузмай ажратиб олишда қўлланилади. Масалан, қон зардобидаги оқсиллар аммоний сульфат билан чала тўйинтирилганда, глобулинлар ажралиб чиқади, глобулинлар чўкмасини филтрлаб, эритма тўла тўйинтирилган туз кристаллидан қўшилса, альбуминлар функцияси чўкмага тушади.

Оғир металл (мис, симоб, рух, кумуш, қўрғошин ва ҳоказо) тузлари Оқсил эритмасига таъсир этганда, улар Оқсил молекуласидаги- α – сульфгидрил гуруҳ- $-SH$ билан бирикма ҳосил қилиб, Оқсил молекуласининг структурасини ўзгартиради. Оқсилларни оғир металл тузлари билан чўктириш

кайтирилмайдиган жараёндир, яъни чўкмага тушган оксилни қайтадан эритма холига келтириб бўлмайди.

1-иш Оксилларни аммоний сульфат таъсирида чўктириш

Керакли асбоблар: пробиркалари билан штатив, фильтр қоғоз, воронка, 2,5 мл ли пипеткалар.

Реактивлар: 1) қон зардоби ёки тухум оксилининг эритмаси; 2) Аммоний сульфатнинг тўйинган эритмаси; 3) Аммоний сульфатнинг кристалл тузи; 4) Натрий ишқорининг 10 % ли эритмаси; 5) Мис сульфатнинг 1 % ли эритмаси.

Ишнинг бориши: Пробиркага 2-3 мл қон зардобидан ёки суюлтирилган тухум оксидан солиб, тенг ҳажмда аммоний сульфатнинг тўйинган эритмасидан қўшилади ва яхшилаб аралаштирилади. Натижада глобулин оксиллари чўкмага тушади. 8-10 дақиқадан кейин филтрланади. Глобулин оксиллари чўкмада, альбуминлар филтратда қолади. Филтратдаги альбуминларни чўктириш учун аммоний сульфатнинг кристалларидан тўйингунча қўшилади, натижада альбуминлар чўкмага тушади, сўнг чўкма филтрланади.

2-3 мл филтратдан олиб, биурет реакцияси бажарилади. Агар оксиллар тўлиқ чўкмага тушган бўлса, филтрат билан биурет реакцияси ҳосил бўлмайди. Глобулинлар ва альбуминлар сувда эритилади ва биурет реакцияси бажарилади.

2-иш Оксилларни натрий хлорид таъсирида чўктириш

Реактивлар: 1) натрий хлорид тузининг кристалли; 2) сирка кислотасининг 2 % ли эритмаси.

Ишнинг бориши: пробиркага 2-3 мл қон зардоби ёки тухум оксидан солиб, натрий хлорид тузининг кристалларидан тўйингунча қўшилади. 3-5 дақиқадан кейин пробиркада глобулинлар чўкмаси ҳосил бўлади. Сўнгра чўкма филтрланади. Филтратда альбуминлар қолади. Альбуминлар тўйинган нейтрал эритмаларда чўкмага тушади. Филтратга 4-6 томчи сирка кислотасининг 2 % ли эритмасидан қўшилади, натижада альбуминлар чўкмага тушади, орадан 10 дақиқа ўтгач чўкма филтрланади. Чўкмалар сувда эритилиб, биурет реакцияси бажариб кўрилади.

3-иш Оқсилларни минерал кислоталар таъсирида чўктириш

Оқсиллар эритмаси концентрацияси юқори минерал кислоталар (ортофосфат кислотадан ташқари) таъсирида чўкмага тушади. Бу реакция қайтмас реакция ҳисобланади, чунки оқсилнинг коллоид заррачалари дегидратацияланади ва уларнинг зарядлари нейтралланади, натижада комплекс бирикмалар ҳосил бўлади. Бундай ҳолларда оқсиллар қайтмас денатурацияга учрайди. Ортиқча минерал кислоталар (нитрат кислотадан ташқари) чўкмага тушган оқсилларни эритиб юборади.

Реактивлар: 1) концентрланган хлорид кислотаси; 2) концентрланган сульфат кислотаси; 3) тухум оқсилининг эритмаси

Ишнинг бориши: Учта пробиркага эҳтиёткорлик билан 1 мл кислота, биринчисига-хлорид, иккинчисига-сульфат ва учинчисига-нитрат кислотасидан солинади. Сўнгра ҳамма пробиркаларга 1 мл дан Оқсил эритмасидан қўшилади. Шунда пробирка секин-аста чайқатилади. Ортиқча хлорид ва сульфат кислота бўлганлиги учун биринчи ва иккинчи пробиркадаги чўкма эриб кетади, учинчи пробиркадаги нитрат кислота билан ҳосил қилинган чўкма эриб кетмайди, чунки ҳосил бўлган чўкма ортиқча нитрат кислотада эримайди.

4-иш Оқсилларни органик эритувчилари билан чўктириш

Органик эритувчилар (спирт, эфир, ацетон ва бошқалар) таъсирида Оқсил макромолекулаларининг сувли қобиғи (гидросфералари) бузилади, яъни денатурацияга учрайди, натижада эритмадан оқсилларнинг эрувчанлиги камаяди ва Оқсил чўкмага тушади. Агар Оқсил эритмасида туз иштирок этса (NaCl), коллоид заррачаларининг зарядини ўзгаришига олиб келади, бу ҳол Оқсил эритмаларининг чидамлилигини янада камайтиради, агар чўктириш спирт (хлороформ) билан совуқ шароитда олиб борилса, ҳосил бўлган Оқсил чўкмаси сувда эрийди, яъни бунда Оқсил хоссалари ўзгармайди, денатурацияга учрашга улгурмайди. Агар Оқсил узоқ вақт спиртда турса денатурацияга учрайди ва ҳосил бўлган чўкма сувда, нейтрал тузлар эритмасида эрийди.

Реактивлар: 1) Оқсил эритмаси; 2) 96 % ли этил спирти; 3) ацетон; 4) хлороформ; 5) натрий хлорид тузининг кристалли.

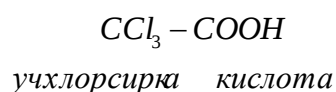
Ишнинг бориши: Учта пробиркага 1-2 мл дан Оксил солинади ва 0,2-0,3 г натрий хлорид тузидан қўшилиб, яхшилаб аралаштирилади.

Биринчи пробиркага томчилаб 2-3 мл спирт, иккинчи пробиркага 2-3 мл ацетон ва учинчи пробиркага 2-3 мл хлороформ солинади. Пробиркалар чайқатилади ва 5-6 дақиқадан кейин Оксил чўкмаси ҳосил бўлганлигини кўриш мумкин.

5-иш Оксилларни органик кислоталари билан чўктириш

Органик кислоталар оксилларни эритмадан қайтмас чўкмага туширади. Турли кислоталарнинг таъсир қилиш кучи бир-биридан фарқ қилади.

Энг самарали ва ўзига хос таъсир қилувчи сульфосалицил ва учхлорсирка кислотасидир.



Учхлорсирка кислота таъсирида фақат оксиллар, сульфосалицил кислота таъсирида эса оксиллардан ташқари, пептонлар ва полипептидлар ҳам чўкмага тушади.

Реактивлар: 1) тухум оксилнинг эритмаси; 2) сульфосалицил кислотасининг 10 % ли эритмаси; 3) учхлорсирка кислотасининг 10 % ли эритмаси.

Ишнинг бориши: Иккита пробирка олиб 2 мл дан Оксил эритмасидан солинади ва биринчи пробиркага 5-8 томчи сульфосалицил кислотасидан, иккинчи пробиркага 5-8 томчи учхлорсирка кислотасидан қўшилади. Пробиркалар чайқатилади ва оксиллар чўкмага тушганлиги кузатилади.

6-иш Оксилларни юқори ҳарорат таъсирида чўкмага тушириш.

Барча оксиллар юқори ҳарорат таъсирида чўкмага тушади. Оксиллар кучсиз кислотали муҳитда осон чўқади. Кучли ишқорий ва кислотали муҳитда осон чўқади. Кучли ишқорий ва кислотали муҳитда юқори ҳарорат

таъсирида оксиллар чўкмага тушмайди, чунки Оксил молекулалари кучли мусбат ёки кучли манфий зарядга эга бўлади.

Реактивлар: 1) тухум оксилининг эритмаси; 2) сирка кислотасининг 2 % ли эритмаси; 3) натрий ишқорининг 10 % ли эритмаси; 4) натрий хлориднинг тўйинган эритмаси.

Тажрибада олинган натижалар асосида жадвал тўлдирилади.

ПРОБИРКАЛАРНИНГ НОМЕРИ	ПРОБИРКАЛАРГА МОДДАЛАР ТОМЧИЛАБ СОЛИНАДИ			
	ОҚСИЛ	CH_3COOH	$NaOH$	$NaCl$
1	10	-	-	-
2	10	2	-	-
3	10	2	-	4
4	10	10	-	-
5	10	10	-	4
6	10	-	2	-

Ишнинг бориши: Олтита пробирка олиб, 10 томчидан Оксил эритмаси солинди, 2-3-пробиркага 2 томчи сирка кислотасининг 2 % ли эритмаси томизилади. 4-5-пробиркага 10 томчи сирка кислотасининг эритмасидан кўшилади. 6-пробиркага 2 томчи натрий ишқорининг 10 % ли эритмасидан кўшилади. Энди 3 ва 5-пробиркаларга 4 томчи натрий хлориднинг тўйинган эритмаси кўшилади. Ҳамма пробиркалар қайнагунча қиздирилади. Пробиркаларда чўкма ҳосил бўлиш тезлиги белгилаб борилади.

Олинган натижалар асосида хулоса ёзилади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №3

Оқсилларни диализ қилиш ва изоэлектрик нуқтасини аниқлаш

Оқсилларни изоэлектрик нуқтасини аниқлаш

Оқсиллар кимёвий хоссаларига кўра амфотер моддлар ҳисобланади, уларнинг молекуласида эркин карбоксил ва амин гуруҳлари бор. Оқсилларни кислотали хоссалари полипептид занжирлари охиридаги карбоксил гуруҳларига ва дикарбон аминокислоталар ҳисобига намоён бўлади. Кислотали муҳитни ҳосил қилишга таркибидаги фенол гидроксилини тутувчи тирозин ва сульфгидрил гуруҳларини тутувчи аминокислоталар таъсир қилади. Оқсилларни ишқорий хоссалари амин, имин аминокислоталарнинг гуруҳлари ҳисобига рўй беради.

Ҳам манфий, ҳам мусбат зарядли гуруҳлар мавжудлиги туфайли оқсиллар ҳам аминокислоталарга ўхшаб амфотерлик хусусиятига эга. Шунинг учун оқсилларни тахминан $(H_2N)_m \cdot R \cdot (COOH)_n$ шаклида ёзиш мумкин. Сувли эритмада оқсилларнинг ишқор ва кислота гуруҳлари орасида протонларнинг кўчиши туфайли, таркибида кўп $-NH_3^+$ ва $-COOH$ гуруҳ тутувчи амфион $(NH_3^+)_m \cdot R \cdot (COO^-)_n$ ҳосил бўлади. Агар манфий ва мусбат зарядларнинг сони тенг бўлса, Оқсил молекуласининг заряди амалий жиҳатдан нолга тенг бўлиб, электр майдонида ҳечқаёққа силжимайди.

Ишқорий муҳитда оқсиллар ортикча- $COOH$ -гуруҳларига эга бўлиб, анион ролини ўйнайди. Масалан, натрий ишқори билан оқсилларнинг натрийли тузи ҳосил бўлади.

Аксинча, кислотали муҳитда Оқсил ортикча NH_3^+ гуруҳларига эга бўлади ва мусбат ион сифатида катодга қараб ҳаракат қилдаи:

Амфионлар шаклида Оқсил молекуласи заряддан маҳрум бўлади ва бундай коллоид заррачалар эритмада турфинлигини йўқотади. Оқсилларнинг мусбат ва манфий зарядларининг йиғиндиси нолга тенг бўлиб, электр майдонида на катод на анод томонга силжимайдиган рН **оқсилларнинг изоэлектрик нуқтаси** деб аталади. Турли оқсилларнинг изоэлектрик нуқтаси рН нинг ҳар хил ўлчамига тўғри келади, чунки Оқсил молекулаларида ишқор ва кислота характерига эга бўлган гуруҳларнинг сони бир-бирига тенг эмас, рН нинг турли кўрсаткичларида уларнинг диссоцияланиш даражаси бараварлашиб,

молекула, умуман, электронейтрал ҳолатга келади. Масалан, казеннинг рН-4,7; тухум альбуминнинг оқсили-4,8; желатинники-4,9; зеин (жўхори оқсили) ники-6,2 га тенг. Протаминлар ва гистонларнинг изоэлектрик нуқтаси кучсиз ишқорий муҳитга тўғри келади.

Оқсилларнинг изоэлектрик нуқтасида чўкмага туширишни тезлатиш учун сувни тортиб олувчи моддалар (спирт, ацетон, эфир) ёки танин қўшилади. Органик эритувчилар Оқсил макромолекуласининг сув қобиғини бузиб юборади, масалан, танин билан азотли гетероциклик гуруҳлари сувда эримайдиган бирикмаларни ҳосил қилади.

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

Реактивлар: 1) желатинанинг 1 % ли эритмаси; 2) сирка кислотасининг 0,1 н эритмаси; 3) сирка кислотасини натрийли тузининг 0,1 н эритмаси; 4) 96 % ли этил спирти; 5) таниннинг 0,1 н эритмаси.

Ишнинг бориши: Бешта пробиркага турли рН ли буфер эритмалари тайёрланади, яъни сирка кислотасининг эритмасидан ва сирка кислотасининг натрийли тузи эритмасидан, жадвалда кўрсатилган миқдорда солинади. Сўнгра ҳар бир пробиркага 1 мл желатинанинг эритмасидан солиб яхшилаб аралаштирилади. 15-20 дақиқадан кейин пробиркаларда лойқа ҳосил бўлади, лойқаланиш даражаси пробиркадаги буфер аралашмага боғлиқ. Маълумки, рН аралашманинг энг юқори лойқаланиш желатинанинг изоэлектрик нуқтасига тўғри келади. Желатинанинг изоэлектрик нуқтаси рН-4,7. Жадвалда лойқа ҳосил бўлган пробиркаларга қўйилган] ишораси лойқаланиш даражасини кўрсатади.

Оқсилларнинг изоэлектрик нуқтасини аниқлаш

ПРОБ ИРКА ЛАР	БУФЕР АРАЛАШМАЛАРНИНГ МИҚДОРИ, МЛ	АРАЛА ШМАЛ АРНИН	ЖЕЛАТИ НАНИНГ 1 % ЛИ	ЭТИЛ СПИР ТИ,	ЛОЙҚ АЛАН ИШ
---------------------	---	------------------------	----------------------------	---------------------	--------------------

НОМ ЕРИ	0,1 Н CH_3COOH	0.1 Н CH_3COONa	Г РН	ЭРИТМА СИ, МЛ	МЛ	ДАРА ЖАСИ (I)
1	1,8	0,2	3,8	1	4	
2	1,4	0,6	4,4	1	4	
3	1,0	1,0	4,7	1	4	
4	0,6	1,4	5,0	1	4	
5	0,2	1,8	5,7	1	4	

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №4

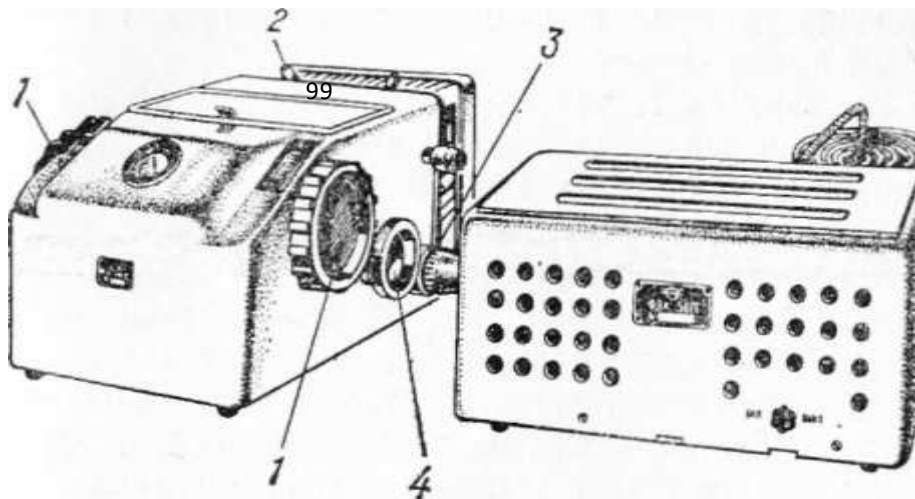
Оқсил миқдорини биурет реакцияси бўйича аниқлаш

Оқсиллар ишқорий шароитда мис атомлари билан реакцияга киришиб кўк-бинафша ранг ҳосил қилади. Бу рангнинг интенсивлиги эритмадаги оқсил миқдорига қараб ўзгаради. Биурет усули Кьельдал усулига иисбатан тез ва осонлик билан бажарилади. Бу усул фақат оқсил миқдори юқори бўлган материалларни текширишда қўлланиладп.

Реактивлар: чигитдан олинган ацетон порошок, Биурет реактиви 1 л эритмада 9 г, сегнет тузи, 3 г мис сульфат 5 г калий йодид эритилади. Сегнет тузи 400 мл 0,2 н натрий гидроксидида эритилиб, мис сульфат қўшилади. Тузлар яхши эригач калий йодид қўшилади ва эритма ҳажми 1л га етказилади.

Иш тартиби. Чнгитдан тайёрланган ацетон унидан 1—1,5 г олиб чинни ҳовончада 3 мл борат буфер ёрдамида эзилади. Кейин яна 1 мл буфер қўшилади ва эзиш давом эттирилади. Шу йўл билан тайёрланган аралашма 30 минут қолдирилади. Сўнгра центрифугаланади ва эритмадаги оқсил миқдори аниқланади.

Пробиркага 1 мл эритмадан солиб, устига 1,5 мл биурет реактивидан қўшилади. Аралашма чайқатилиб 30 минутга қолдирилади. Кейин фотоколориметрда 1 см



1-расм. Фотоэлектроколориметр;

1— ҳисоб олувчи барабан, 2—ёруглик тиркишини очувчи даста. 3—ўлчовчи блок ва трансформаторнинг уланган жойи, 4—кюветаларни алмаштирувчи бурама.

кювета ёрдамида 540 нм тўлқин узунлигида (яшил филътр) кўрилади. Оксил миқдори стандарт оксил ёр-дамида аниқланган колибровка чизиғи бўйича топилади. Колибровка чизиғини тузиш учун тоза кристалл оксиддан 100 мг олиб 10 мл дистилланган сувда эритилади ва ундан 1 мл эритмада 1 мг дан 10 мг гача оксиди бўлган стандарт эритмалар тайёрланади. Буларни биурет реакцияси ёрдамида фотоколориметрда кўрилиб, қиймати аниқланади. Шу қиймат асосида колибровка чизиғи чизилади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №5

Оксил миқдорини Лоури усулида аниқлаш

Оксил миқдорини аниқлашда қўлланиладиган усуллардан энг кенг тарқалгани Лоури усули ҳисобланиб у ўта аниқлиги ва қулайлиги билан бошқа усуллардан фарқ қилади. Лоури усули оксилларнинг биурет ва фолин реактивлари таъсирида рангли комплекслар ҳосил қилиш хусусиятига асосланган. Комплекс рангининг интенсивлиги текшириляётган эритмадаги оксил миқдорига боғлиқ бўлиб бу фотоколориметр ёрдамида аниқланади. Бу усул ўта суялтирилган эритмалар таркибидаги жуда кам миқдордаги оксилларни аниқлашга имкон беради.

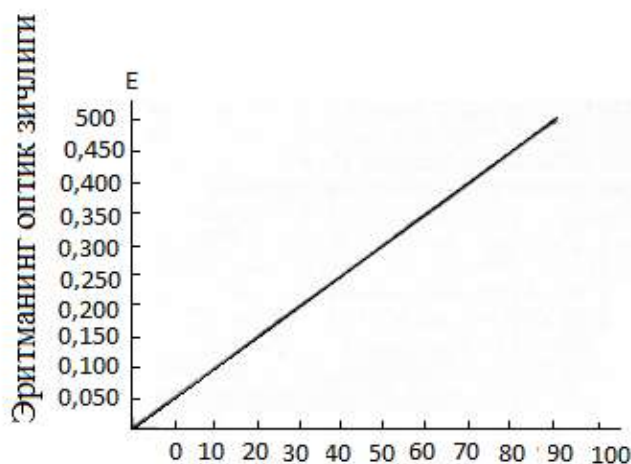
Р е а к т и в л а р: А реактиви—натрий карбонат тузининг 0,1 н, натрий гидроксидидаги 0,2 %ли эритмаси. Б реактиви - мис сульфатнинг 1 %ли цитрат иатрқйдаги 0,5 % ли эритмаси, В реактиви — 60 мл А эритмасини 1 мл Б реактиви билан аралашмаси.

Фойдаланишдан олдин аралаштирилади. Фолин реактиви, ҳажми 1 л бўлган колбага 50 г натрий вольфрамат, 12,5 г натрий молибдат ва 350 мл дистилланган сув қўшилади. Колба совигач 25 мл 85%ли ортофосфат кислота ва 50 мл хлорид кислота қўшилади. Колбага қайтар совитгич уланиб 10 соат давомида қайнатилади. Сўнггра яна 75 г литий сульфат, 25 мл сув, 2—3 томчи бром қўшилади ва 15 минут давомида совиткичсиз қайнатилади. Аралашма совигандан кейини ҳажми сув ёрдамида 500 мл га етказилади. Эритма тиниқ бўлиб ранги тўқ сариқ бўлиши керак.

Иш тартиби. Пробиркага таркибида 5 — 10 мкг оқскл бўлган текширилаётган эритмадан 0,1 — 0,2 мл олинад. Унинг устига 1 мл В реактивидан қўшилади ва яхшилаб аралаштирилиб 10 минут қолдирилади. Аралашма устига 0,1 мл Фолин реактивидан тезда қўшиб, чайқатилади ва 30 — 40 минутга қолдиритади. Бунда пробиркадаги сариқ ранг аста-секин кўк ранггача ўзгаради. Эритма рангининг интенсивлиги фотоколориметрда (қизил ёруғлик фильтри ёрдамида) ёки спектрофотометрда 750 нм тўлқин узунлигида ўлчанади (бунда калинлиги 1 см ли кюветалардан фойдаланилади).

Текширилаётган намуна таркибидаги оқсил миқдори тоза оқсил ёрдамида тайёрланган колибровка чизиғи бўйича аниқланади.

Калибровка чизиғини тузиш. Аввало маълум кон-центрацияга эга бўлган оқсил эритмалари тайёрланади. Бунинг учун тайёрланган оқсил эритмасидан фойдаланиб бир қатор стандарт эритмалар ҳам тайёрланади. Улардаги оқсил миқдори 10, 20.... ва ҳоказо 100 мкг бўлиши керак. Кристалик оқсиллар, масалан ҳайвон альбумини, казеин ёки тухум альбуминидан 100 мг олиб, 100 мл ўювчи натрийнинг 0,1 н эритмасида эритилади. Ҳажми 10 милли 10 дона ўлчов пробиркага тайёрланган оқсил эритмасидан ортиб борувчи миқдорда яъни биринчи пробиркага 1 мл, иккинчи пробиркага 2 мл ва ҳоказо 10- пробиркага 10 мл оқсил эритмасидан қуйилади. Пробиркадаги эритмалар дистилланган сув билан чизиққача етказилади. Бунда пробиркалардаги оқсил миқдори 0,1 мг дан 1 мг гача боради. Пробиркадаги эритмалар яхшилаб аралаштирилади. Оқсил миқдорини аниқлаш учун ҳар бир пробиркадан 0,1 — 0,2 мл олиниб юқорида кўрсатилган реактивлар қўшилади. Турғун ранг ҳосил бўлгач ФЭК ёки спектрофотометр ёрдамида ранг интенсивлиги аниқланади. Тайёрланган эритмаларнинг ҳар бири билан камида 3 марта Лоури реакциясини қайтариш керак ва олинган ўртача маълумотга қараб калибровка чизиғи тузилади (2-расм).



Эритма таркибидаги оксил концентрацияси, мкг

2-расм. Стандарт оксил эритмаси асосида тузилган калибровка чизиғи.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №6

АДРЕНАЛИН ВА ИНСУЛИНГА ХОС СИФАТ РЕАКЦИЯЛАР

1. Темир-III-хлорид билан реакцияси-адреналинга темир хлорид эритмасидан қўшилганда, яшил ранг ҳосил бўлади, бунда адреналиннинг пирокатехин ҳалқаси темир хлориди билан яшил рангли комплекс бирикма ҳосил қилади. Пирокатехин ҳам шундай реакция беради.

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

Реактивлар: 1) адреналиннинг 0,01 % ли эритмаси (ампулада) 2) темир -III- хлориднинг 3 % ли эритмаси. 3) пирокатехиннинг 0,05 5 ли эритмаси.

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

2. Калий йодат (KJO_3) билан реакцияси.

Реактивлар: 1) адреналиннинг 0,01 5 ли эритмаси. 2) калий йодатнинг 1 % ли эритмаси. 3) сирка кислотасининг 10 % ли эритмаси.

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

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №7

НУКЛЕИН КИСЛОТАЛАР

Нуклеин кислоталар муҳим биологик функцияларни бажаради. Унинг таркибида Оксиллар синтезини назорат қилиш, ирсий информацияларни узатиш ва хотирада сақлаш такрорланиш, алмашинуви ва авлоддан-авлодга кучирилишини таъминлайди. Баъзи бир нуклеин кислоталарнинг функцияси, биологик роли узаро боғланган. Нуклеин кислоталар юқори молекуляр нуклеотидлардан тузулган.

Нуклеин кислоталарнинг структура элементлари таркибига баъзи бир ферментлар, унинг фаоллигини тартибга солувчи (ҳалқали нуклеотидлар), энергияни сақловчи ва ташувчи молекула вазифасини бажарувчи сифатида иштирок этади. АТФ Лар ди- ва трифосфатнуклеотидлар.

Нуклеин кислоталарга оид тажрибалар

1-иш. Жигар ёки талокдан дезоксирибонуклеопротеинлар (ДХП) ажратиб олиш

ДХП ларни ажратиб олиш учун қулай биологик материаллар бўқоқ беи, талок, жигар, сперматозоидлардир.

Ҳавончада 5 г талок ёки жигар шунча миқдордаги майдай ва тоза қум билан яхшилаб эзилади. Сўнгра аралашмага ош тузининг 2М эритмасидан 5 мл қуйилади. Кейинчалик ош тузининг 1М эритмасидан 25 мл қўшилади. Яна 10-15 минут эзилади (ҳавончани музда совитиб туриш керак). Сўнгра масса тсентрифугаланади. Тсентрифугатнинг ҳажми ўлчанади ва ундан 6 ҳисса кўпроқ сувга секин аца қуйилади. Сув чўп билан аралаштириб турилса, ДХП ипчалари чўпга илашиб чиқади. Агар чўкма паға-паға бўлса, тиндириб сентрафугалаш ёли билан ажратиб олиш мумкин. Ҳосил бўлган чўкмадан кейинги тажрибада фойдаланилади.

2-иш. ДНК учун сифат реакция

Олдинги тажрибада олинган ДНП чўкмасини гидролизлаш ёли билан таркибий қисмларга ажратиш ва унинг ҳар бир компоненти учун сифат реакция утказиш мумкин. Дацлаб ДНП оддий оксил (протаминлар ва

гицонлар) ва ДНК га парчаланади. Сўнгра ДНК нинг децруксияланиши (парчаланиши) натижасида пурин асослари (аденине, гуанин), пиримидин асослари (ситозин, тимин), дезоксирибоза, аорганик фосфат (ХЗПО4 кабилар ҳосил бўлади. Оддий оксиллардан эса полипептидлар, пептидлар ва аминокислоталар каби парчаланиш маҳсулотлари ҳосил бўлиши мумкин.

Пробиркага ДНК чўкмасидан озроқ солиб, унинг уцига ўювчи натрийнинг 0.4% ли эритмасидан 1-2 мл ва шунча дифениламин эритмаси қуйилади. Аралашма 10-12 минут давомида қайнаб турган сув ҳаммомида сақланади. Кўк ранг ҳосил бўлади. ДНК таркибидаги дезоксирибоза дифениламин билан шундай ранг беради (рибоза бундай шароитда яшил ранг ҳосил қилади).

Дифениламин эритмаси 70% ли спиртда икки бора қайта крицаллаб тозаланган 1 г моддани 2.75 мл конс. сульфат кислота ва 100 мл муз сирка кислотада эритиб тайёрланади.

3-иш. Турушлардан нуклеопротеин ажратиб олиш

Туруш (хамиртуруш) ва пиво ачитқиси рибонуклеопротеин олиш учун қулай манбалардир. Тажриба учун қуритилган (езилган) ва янги тайёрланган ушбу турушларнинг тенг миқдордаги аралашмасидан фойдаланиш мумкин.

Ҳавончада 3-5 г туруш, 1 мл сув ва озроқ қумни аралаштириб яхшилаб эзилади. Сўнгра ўювчи натрийнинг 0.4% ли эритмасидан 25-30 мл қўшилади ва яна эзилади. Чўкмани филтраб ёки тсентрифугалаб ажратилади. Тсентрифугат ёки филтратни цаканга қуйиб, унинг уцига сирка кислотанинг 10% ли эритмасидан кучсиз кислотали муҳит ҳосил бўлгунча (лакмус билан синанг) оз-оздан қўшиб борилади. Нуклеопротеин чўкмаси ҳосил бўлади. У тсен трифугалаб ажратиб олинад ва ундан кейинги тажрибаларда фойдаланилади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №8

НУКЛЕОПРОТЕИНЛАРНИНГ ГИДРОЛИЗИ

1-иш. Нуклеопротеинларнинг гидролизи

Кислоталар иштирокида қайнатилганда рибонуклеопротеинлар оксил ва РНК га ажратилади. Улар ўз навбатида яна гидролизланади. Оксиллардан полипептидлар ва аминокислоталар, РНК дан эса пурин ва пиримидин нуклеотидлари ҳосил бўлади. Гидролизнинг бу вариантыда пиримидин

нуклеотидлари ўзгаришсиз қолади, пурин нуклеотидлари эса аденин, гуанин, рибоза ва фосфат кислотагача парчаланadi.

Каттарoқ пробиркага олдинги тажрибада ҳосил қилинган рибонуклеопротеин чўкмасидан солинади ва уцига сульфат кислотанинг 10% ли эритмасидан 6-10 мл қуйилади. Пробирканинг oғзи тескари ҳаво совитгичи сифатида ишлайдиган ва узунлиги 25-30 см бўлган шиша най ўтказилган пробка билан беркитилади.

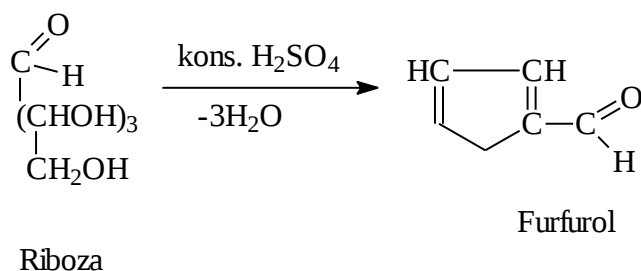
Пробиркани штативга ўрнатиб кучсиз алангада 45-50 минут мобайнида қайнатилади. Гидролизат филтрланади ва тиниқ эритма кейинги тажриба учун қолдирилади.

2-иш. Нуклеопротеинларнинг гидролизланиш маҳсулотларини аниқлаш

Олдинги тажрибада ҳосил қилинган РНК гидролизатидан oқсиллар, пентоза (рибоза), пурин асослари ва фосфат кислота аниқланади:

а) Oқсилларни аниқлаш учун гидролизатдан 1-2 мл олинади ва биурет ёки Миллон реакциялари қилиб кўрилади (Лаборатория №2 га қаранг). Ушбу синовларнинг ижобийнатижасигидролизат таркибида oқсиллар борлигини кўрсатади.

б) Пентозалар (масалан, рибоза) учун сифат реакция. 1 мл гидролизатга тимолнинг спиртдаги 1% ли эритмасидан 2-3 томчи томизилади ва 1 мл конс. сульфат кислота пробирка девоир бойлаб қуйилади. +изил ранг пайдо бўлади. Бу рибозанинг дегидратланишидан ҳосил бўлган фурфурол ҳисобига рўй беради:



Фурфурол тимол билан та'сирлашиб қизил рангли комплекс ҳосил қилади.

в) Пурин асосларини аниқлаш. Гидролизатдан 2 мл олиб, унга ишқорий муҳит ҳосил бўлгунча (лакмус билан синаганда) аммиакнинг конс. эритмасидан томизилади. Сўнгра кумуш оксиднинг аммиакли эритмасидан озроқ қўшилади. Бир оздан сўнг пурин асосларининг кумушли тузлари паға-паға чўкади.

г) Фосфат кислотани аниқлаш. Гидролизатнинг қолган қисмидан фосфат кислота молибденли реактив ёрдамида аниқланади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №9

ФЕРМЕНТЛАР

Тирик организмларда содир бўладиган барча химиявий реакциялар махсус катализаторлар ёрдамида боради. Оксил табиатига эга бўлган бундай катализаторлар *ферментлар* деб аталади. Ферментларнинг оксилларга мансуб эканлигини исботловчи далиллардан бири, протеолитик ферментлар таъсирида улар активлигининг камайишидир.

Оддий оксиллардан, яъни фақат аминокислоталардан ташкил топган ферментлар *бир компонентли ферментлар* дейилади. Масалан, рибонуклеаза, трепсин, папаин ва бошқалар. Агар ферментлар мураккаб оксиллардан ташкил топган бўлса, яъни уларнинг таркибида аминокислоталардан ташқари бошқа бирикмалар ҳам учраса, улар *икки компонентли ферментлар* деб аталади. Оксидланиш қайтарилиш реакцияларида иштирок этувчи ферментлар *икки компонентли ферментлардир*.

Ферментлар бир қатор ўзига хос хусусиятларга эга. Буларга ферментларнинг термолабиллиги, спецификлиги, муҳит рНининг ўзгаришига нисбатан сезувчанлиги, активатор ва ингибиторларнинг таъсирига мойиллиги киради. Ферментларнинг таъсири ва уларнинг активлиги реакцияда иштирок этаётган модданинг камайишига (бу модда субстрат деб аталади) ёки ҳосил бўлаётган модданинг ортиб боришига қараб белгиланади. Одатда ферментатив препарат сифатида ўсимлик тўқималарининг шираларидан фойдаланилади. Бундай шираларда ферментлар эриган ҳолда бўлади. Ҳозирга қадар маълум бўлган ферментлар 6 синфга бўлинади.

I-синф-оксидоредуктазалар. Бу синфга хужайрадаги оксидланиш-қайтарилиш реакцияларини катализлайдиган ферментлар киради. Масалан, лактатдегидрогенеза ферменти сут кислотанинг оксидланишини таъминлайди, глюкоза-6-фосфатни-фосфоглюконотгача оксидлайди, ксантиноксидаза сийдик кислотасини ҳосил бўлишида иштирок этади.

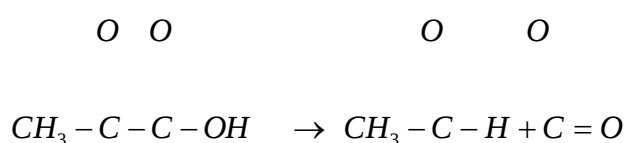
II-синф-трансферазалар. Бу синфга кирувчи айрим функционал гуруҳларни молекулалар ўртасида кўчиришни таъминлайди. Масалан,

аминотрансферазалар-амин гуруҳларини (NH_2), метилтрансферазалар метил гуруҳларини ($-CH_3$) кўчиради; креатинкиназа креатинфосфат ҳосил бўлишини катализлайди, гексокиназа гексоза молекуласига фосфат гуруҳини кўчирувчи вазифасини бажаради ва ҳоказо.

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

Бу синф ферментларига меъда-ичак йўлининг ферментлари-амилаза, пепсин, липаза, фосфотаза, нуклеотидаза ва бошқалари киради.

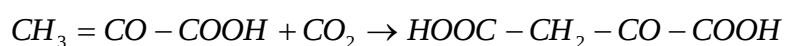
IV-синф-лиазалар. Лиазалар қандай бўлмасин бирор гуруҳни субтратдан гидролитик бўлмаган йўл билан ажратиб оладиган ферментлар жумласига масалан, пируватдекарбоксилаза, яъни пирувум кислотасидаги $-C-C-$ боғининг узиб, газсимон CO_2 ажратиб чиқарадиган ферментлар киради:



Лиазалар моддлар алмашинуви жараёнларида жуда муҳим ролб ўйнайди. Масалан, тўқима нафас олишида, карбонат ангидрид ҳосил бўлишида лиазалар иштирок этади.

V-синф-изомеразалар. Ҳар қандай изомер ўзгаришларига сабаб бўладиган ферментлар изомеразалар деб аталади. Бу ферментларга мисол қилиб фосфогексоизомераза, триозафосфатизомеразани олиш мумкин.

VI-синф-лигазалар ёки сентетазалар. Аденозинтрифосфат (АТФ) ва анологларининг парчаланиш энергияси ҳисобига синтез реакцияларини лигаза ферментлари катализлайди. Бу синфга мисол қилиб ацил- K_0A -синтетаза, пируваткарбоксилаза ва бошқаларни олиш мумкин. Пируваткарбоксилаза иштирокида пирувум кислотага АТФ қатнушуви билан CO_2 бирикиб, оксалоацетат кислота ҳосил бўлади.



Ферментларнинг активлигини аниқлашда химиявий усуллар билан бир қаторда спектрофотометрик, монометрик, хроматографик,

полярографик ва бошқа усуллардан кенг фойдаланилмоқда. Ферментлар тирик организмларнинг ҳамма хужайралари ва тўқималарининг таркибига кириб, биологик катализаторлик вазифасини бажарадиган специфик оксиллардир. Тирик организмларнинг фаолияти ферментларга боғлиқдир. Организм жараёнида ферментларнинг ғоят катта аҳамияти бор. Одам ва ҳайвонларнинг ҳазм йўлидаги гидролитик жараёнлар 37°C га яқин тана ҳароратида ўта кислотали (ошқозонда) ёки сулфид ишқорий реакциялар (ичакда) етарлича содир бўлади. Ҳазм шираларининг таркибида махсус ферментлар (пепсин, трипсин, липаза ва бошқалар) бор. Озиқ моддаларнинг хужайраларда истеъмол қилиниши, юқори молекулали моддлардан кимёвий энергия ажралиши, тўқималарнинг кислород қабул қилиши, CO_2 ҳосил бўлиши ҳамда тўқима ва хужайралардаги бошқа процесслар ҳам ферментлар иштирокида боради.

Ферментлар бир қатор умумий хусусиятларга эга. Шулардан бири ферментлар оксил хоссасига эга бўлиб, жуда беқарордир (лабиль), ташқи муҳит ўзгаришига жуда ҳам сезгирдир. Ферментларнинг ҳам оксилларга хос юқори молекулали оғирлиги, амфотерлик ва маълум изоэлектрик нуқтага эга, турли таъсурот натижасида денатурацияга учрайди. Ҳар бир ферментатив реакция оптимал ҳарорат ва водород ионлари концентрацияси мавжуд бўлганда боради, бу хусусиятларнинг оксил табиатига боғлиқ. Бундан ташқари, ферментлар аорганик катализаторларнинг аксинча, юқори даражада спецификлиги ва уларнинг оксил хусусиятига боғлиқ.

Барча ферментлар оксил табиатига эга бўлиб, бир компонентли ферментлар, яъни оксилнинг ўзидан иборат ва икки компонентли ферментлар, яъни оксил қисмидан ташқари протетик гуруҳи бўлган гуруҳларга бўлинади. Икки компонентли ферментларнинг оксил қисми апофермент, оксил бўлган қисми кофермент деб аталади. Коферментларга турли металл ионлари, нуклеотидлар, витаминлар, геминлар гуруҳи ва бошқа бирикмалар киради. Масалан, хужайра нафас олишининг асосий ферментлари-цитохромлар, каталаза, проксидазаларнинг протетик гуруҳи-металлопорфиндан иборат.

1-иш. Ферментларнинг спецификлиги

Ферментлар аорганик катализаторлардан фарқ қилиб, специфик таъсир қилиш хусусиятига эга. Уларнинг бундай спецификлиги тирик организмларга хос бўлган муҳим хусусиятлардан бири ҳисобланади. Айрим ферментлар спецификлик даражасига қараб бир-биридан фарқ

килади. Масалан, амилаза фақат крахмални парчалайди, мальтоза ва сахарозага эса таъсир қилмайди.

Р е а к т и в л а р: амилаза ферментининг шираси, сахараза ферментининг шираси, крахмалнинг 0,5 % ли эритмаси, сахарозанинг 0,5% ли эритмаси, натрий гидроксидининг 20% ли эритмаси, мис сульфатнинг 5% ли эритмаси.

Иш тартиби. Амилазанинг специфик таъсири. Иккита пробиркага 1 мл дан амилаза ферменти солинади, биринчи пробиркага 1 мл 0,5 % ли крахмал эритмасидан, иккинчисига 1 мл 0,5 % ли сахароза эритмасидан солиб, 15 минут 40°C сув ҳаммомига қўйилади. Кўрсатилган вақт тугагач ҳар иккала пробиркага тенг ҳажмда 20%ли натрий гидроксиди ва 5 — 6 томчи 5% ли мис сульфат эритмасидан солинади ва қайнагунча қиздирилади. Натижада фақат крахмал парчаланиб сахароза ўзгармай қолгани аниқланади.

Сахаразанинг специфик таъсири. Иккита пробиркага 1 мл дан сахараза ферменти ширасидан солинади.

Биринчи пробиркага 1 мл 0,5 % ли сахароза эритмасидан, иккинчисига 1мл 0,5 % ли крахмал эритмасидан қўйилади ва 15 минут 40°C инкубацияга қўйилади. Вақт ўтгач ҳар иккала пробиркага тенг ҳажмда 20 % ли натрий гидроксид ва 5 — 6 томчи 5 % ли мис сульфат эритмасидан солинади. Кейин аралашма қайнагунча қиздирилади. Натижада фақат сахароза парчаланиб, крахмал ўзгармай қоладп. Тажрпба натижалари жадвалга ёзилади.

1-жаовал

Фермент	Субстрат	
	крахмая	сахароза
Амилзза		
Сахароза		
Хулоса		

2-иш. Ферментларнинг активлигига муҳит рН ининг таъсири

Ферментларга хос бўлган хусусиятлардан бири муҳит рНи ўзгаришининг сезувчанлигидир, яъни ҳар бир фермент муҳит рН ининг маълум қийматида максимал активликка эга бўлади. Одатда, бу қиймат *рН оптимуми* деб аталади. Ферментларнинг активлигига рН нинг таъсирини ўрганиш учун бир қатор рН қиймати ҳар хил бўлган эритмалар тайёрланади. Бу эритмаларда фермент активлиги аниқланади.

Р е а к т и в л а р: Na_2HPO_4 , 0,2М эритма, цитрат кислотанинг 0,1М эритмаси, крахмалнинг 0,5 %ли эритмаси, фермент шираси.

Иш тартиби. 10 та пробирка олиб, ҳар бирига жадвалда кўрсатилганидек 2,5 мл дан буфер эритма солинади. Буфер эритма — Na_2HPO_4 ва цитрат (лимон) кпслота ёрдамида тайёрланади.

2 - ж а д в а л

Пробиркалар номери	Буфер эритма, мт ҳисобнда		Буфер эритма рНи
	Na_2HPO_4 0,2 М эритма	цитрат кислота 0,1 М эритма	
1	0,27	2,23	2,6
2	1,10	1,40	4,4
3	1,29	1,21	5,0
4	1,39	1,11	5,4
5	1,51	0,99	5,8
6	1,65	0,85	6,2
7	1,82	0,68	6,6
8	2,06	0,44	7,0
9	2,27	0,23	7,4
10	2,43	0,07	8,0

Кейин ҳар бир пробиркага 1,5 мл дан крахмалнинг 0,5%ли эритмаси ва 1,9 мл дан фермент шираси қўшилади. Пробиркалардаги суюқлик яхшилаб аралаштирилиб 15 минут 37°C да инкубацияга қўйилади. Кўрсатилган вақт тамом бўлгач, барча пробиркаларга 3—4 томчидан йоднинг 1%ли эритмасидан қўшилади ва қайси пробиркада крахмал яхши парчалангани аниқланади. Шунинг асосида ферментнинг оптимал рНи топилади.

3 - и ш . Амилаза фаоллигига активатор ва ингибиторларнинг таъсири

Активатор ва ингибиторларни амилаза активлигига таъсири крахмалнинг парчаланиши ва йод биан ҳосил қилган рангидан аниқланади.

Текширилувчи материал: сўлак амилазаси.

Реактивлар: натрий хлориднинг 1% ли эритмаси, мис (II) сульфатнинг 1% ли эритмаси, крахмалнинг 1% ли эритмаси, калий йодда тайёрланган йоднинг 1% ли эритмаси, дистилланган сув.

Керакли анжомлар: пробиркалар, пипеткалар ва 10 мл ли ўлчов цилиндрлари, сув ҳаммоми ёки термостат.

Иш тартиби. 1. Пробиркаларнинг биринчисига 10 томчи дистилланган сув, иккинчисига 8 томчи сув ва 2 томчи натрий

хлориднинг 1% ли эритмаси, учинчисига 8 томчи сув ва 2 томчи мис(II) сульфатнинг 1 % ли эритмаси солинади.

2. Ҳар қайси пробиркага (1:10) суюлтирилган сўлак амилазасидан 20 томчи ва крахмалнинг 1% ли эритмасидан 5 томчи солиб аралаштириладида 5 дақиқага хона хароратида қолдирилади.

3. 1 мл сув солинган учта пробирка тайёрланади. Пробиркадаги сув йод эритмаси билан бўялади. Шу пробиркаларга юқоридаги тажриба пробиркалардаги суюқликдан 2—3 томчи солиб крахмални амилаза таъсирида парчаланишидан ҳосил бўлган бўёқ кузатилади. Биринчи пробирка бинафша ёки қорамтир қизил рангга, иккинчи пробирка (натрий хлорид солинган) сариқ рангга ва учинчи пробирка (мис (II) сульфат солинган) эса кўк рангга бўялганлиги кузатилади. Агар айтилган ранг кузатилмаса тажриба 10—15 дақиқадан сўнг қайтарилади.

Олинган натижаларни расмийлаштириш. Натижалар жадвалга ёзилади, натрий хлорид ва мис (II) сульфатнинг таъсири аниқланади.

Фермент	Субстрат	Фермент таъсир қилган вақт	Йод билан ҳосил бўлган ранг		
			Тажриба пробиркалари		
			1	2	3
			H ₂ O	NaCl	CuSO ₄
Амилаза	Крахмал	5			
		10			
		15			

Амилаза учун активатор аниқланади ва тегишли хулоса чиқарилади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №10

УГЛЕВОДЛАР

Углеводлар ўсимликлар ҳаётида муҳим аҳамиятга эга бўлган органик бирикмалардир. Улар ўсимликлар таркибий қисмининг 80—90%ни ташкил қилади. Углеводлар фотосинтез процессининг асосий маҳсулидир. Улар ўсимликлар нафас олиш процессида парчаланиб, кўп энергия ажратади.

Углеводлар ҳаётий процессларда муҳим роль ўйнайдиган бирикмалар — оксил, нуклеини кислота ва ёғлар ҳосил бўлишида алоҳида аҳамиятга эга. Углеводларнинг кўпчилиги ўсимликларда запас модда сифатида тўпланади. Масалан, пахта толасини, каноп пўстлоғини асосан целлюлозани ташкил қилади. Улар илдизмеваларда ҳам захира модда сифатида илдизда тўп тўпланади.

Углеводлар тузрилиши ва хусусиятига қараб иккита катта гурппага: оддий углеводлар—моносахаридлар ва мураккаб углеводлар—полисахаридларга бўлинади. Полисахаридлар иккита кичик гурппани ташкил қилади. Булар молекуляр оғирлиги унча катта бўлмаган олигосахаридлар ва ҳақиқий полисахаридлардир. Усимликлардаги углеводларнинг таркиби ва миқдорини аниқлашда қўлланиладиган жуда кўп усуллар мавжуд.

1-иш. Моносахаридларнинг қайтарувчанлик хусусиятлари

Шакарларнинг таркибидаги эркин альдегид ёки кетон гурппалар ишқорий шароитда ва қиздирилганда оксидланиб оғир металллар (Cu, Bi, Ag) ни қайтариш хусусиятига эга. Масалан мис (II)-оксидининг тузи мис (I)-оксидигача, кумуш (I) тузи металл кумушга қайтарилади. Бу реакциялар қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлган шакарларни сифат ва миқдор жиҳатдан аниқлашга имкон беради.

Р е а к т и в л а р: глюкозанинг 1 %ли эритмаси, натрий гидроксиднинг 10% ли эритмаси, мис сульфатнинг 2 %ли эритмаси, Феленг суюқлиги иккита эритмадан иборат. (1 — 346 г сегнет тузи K, Na, $C_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$, 103,2 г NaOH 1 л сувда эритилади. 2— $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ нинг 69,28—1 л сувда эритилади. Ишлатишдан олдин баравар ҳажмда 1 : 1 аралаштирилади).

1.Троммер реакцияси. Пробиркага 1—2 мл глюкоза ёки ўсимлик ширасидан олиб, унинг устига тенг ҳажмда 10 % ли натрий гидроксид қўшилади. Сўнгра мис сульфатнинг 2 % ли эритмасидан 4 — 5 томчи томизиб, қайнагунча қиздирилади. Сарик ёки қизил чўкма ҳосил бўлади. Мис сульфатдан кўп солинса CuO ҳосил бўлиб, қора чўкма беради.



2.Феленг реакцияси. Пробиркага 2 мл глюкоза ёки текшириладиган ўсимлик ширасидан солиб, устига 1 мл феленг суюқлигидан қўшилади. Яхшилаб аралаштириб қиздирилса мис (I)-оксидининг қизил чўкмаси ҳосил бўлади. Феленг суюқлигини афзаллиги шундаки агар мис сульфат миқдори ортиб кетса ҳам у мис (II)-оксиди сифатида чўкма ҳосил қилмайди ва қора ранг бермайди.

Моносахаридларни аниқлашда қулланиладиган рангли реакциялар

2 - иш. Гексозаларга доир реакциялар

Подобедов — Молиш реакцияси.

Шакарлар *a* — нафтол ва тимол билан реакцияга киришиб рангли бирикмалар ҳосил қилади.

Иш тартиби. 2 пробирка олиб, уларнинг ҳар бирига 2 мл глюкозанинг 1%ли эритмасидан солинади. 1-пробиркага 5 томчи 0,2 %ли α -нафтол эритмасидан, 2-пробиркага 5 томчи 1%ли тимол эритмасидан қўшилади. Иккала пробиркага эҳтиёткорлик билан пробирка девори бўйлаб, 2 мл концентрланган сульфат кислота қўшилади. Сульфат кислота ва шакар эритмаси ўртасида биринчи пробиркада бинафша ранг, иккинчи пробиркада қизил ранг ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р: глюкозанинг 1 %ли эритмаси, α -нафтолнинг 0,2 % ли спиртдаги эритмаси, (0,5 г α -нафтол 50 мл этил спиртида эритилади. Ишлатишдан олдин 5 марта суюлтирилади). Тимолнинг 1%ли спиртли эритмаси, концентрланган сульфат кислота.

Селеванов реакцияси. Кетогексозалар, жумладае фруктоза хлорид кислота ва резорцин билан қиздирилганда тўққизил ранг беради. Бу ранг реакция маҳсулоти бўлган оксиметилфурфуролга хосдир.

Иш тартиби. 2 та пробирка олиб 2 мл Селеванов реактивидан солинади. Биринчи пробиркага 2 томчи фруктоза эритмасидан, иккинчи пробиркага 2 томчи глюкоза эритмасидан қўшилади. Иккала пробиркани қайнаб турган сув ҳаммомига 1 — 2 минут қолдирилади. Фруктоза бор пробиркада қизил ранг ҳосил бўлади, глюкоза солинган пробиркада эса ранг ҳосил бўлмайди.

Р е а к т и в л а р: Селеванов реактиви (100 мл 20 % лв хлорид кислотада 0,05 г резорцин эритилади), глюкозанинг 1 %ли эритмаси, фруктозанинг 1 % ли эритмаси.

Дифениламин реакцияси. Кетозалар, жумладан фруктоза ҳам кислотали муҳитда дифениламин билан кўк ранг беради. Бу реакция фруктозани миқдорий жиҳатдан аниқлашда (Колорометрик усул) ҳам қўлланилади.

Иш тартиби. Пробиркага 1 мл фруктозанинг 1 %ли эритмасидан олиб унга 0,5 мл дифениламин ва 1 мл хлорид кислота қўшилади. Аралашма қайнаб турган сув ҳаммомида 5 минут давомида ушланади. Реакция натижасида кўк ранг ҳосил бўлади.

Р е а к т и в л а р: дифениламиннинг 20 % ли эритмаси, (96%ли спиртда тайёрланади).

Хлорид кислотанинг 20%ли эритмаси, фруктозанинг 1 % ли эритмаси.

3- иш. Пентозаларга реакциялар

Пентозалар ўсимликлар дунёсида кенг тарқалгандир. Улар ачитки замбуруғлари томонидан оксидланмайди. Пентозалардан рибулоза, рибоза, дезоксирибозалар кўп учрайди. Ксилоза ва арабиноза эркин ҳолда бўлмай, кўпинча пентозанларни парчаланиши натижа-сида ҳосил бўлади.

Реактивлар: флорглюциннинг 0,2%ли эритмаси, 30 % ли хлорид кислота.

1г орцин 500 мл 30%ли хлорид кислотада тайёрланиб, унга 4 — 5 мл. 10 %ли темир хлорид қўшилади, эритма рангли идишда сақланади, пентозанинг 1%ли эритмаси.

Флорглюцин реакцияси. Пробиркага 2 мл 0,2 % ли флорглюцин эритмасидан олинади, қайнагунча қиздириб, 6 томчи пентоза қўшилади. Пушти ранг ҳосил бўлиб, кейин қизил рангга айланади.

Орцин реакцияси. Пробиркага 2 мл Орцин қуйилади ва қайнагунча қиздирилади. Сўйгра 6 томчи пентоза эритмасидан қуйилади. Пушти ранг ҳосил бўлиб кейинчалик яшил рангга айланади.

4- иш. Фруктозани аниқлаш

Фруктоза кўпчилик меваларнинг таркибида учрайди. Фруктоза нордон шароитда резорцин билан реакцияга киришиб рангли бирикма ҳосил қилади.

Реактивлар: резорциининг спиртли эритмаси (1 г резорцин 1 л 25% ли этил спиртида эритилади). Хлорид кислотанинг 30%ли эритмаси. Фруктозанинг стандарт эритмаси. 100 мг фруктоза 100 мл бензоат кислотанинг сувда тўйинган эритмасида эритилади ва совитгичда сақланади. Шу эритмадан 10 мл олиб 100 мл сувда суюлтирилади.

Иш тартиби. 5 — 20 г ўсимлик материалидан олиб, чинни ховончада бир хил масса ҳосил бўлгунча шиша кукунлари ёрдамида 10 — 20 мл сув билан эзилади. Сўнгра ҳажми 200 мл ли колбага қуйилади. Колбани температураси 80—90°C бўлган сув ҳаммомига туширилади ва 1 соат давомида экстракция қилинади. Сўнгра колбани совитиб, кўрғошин ацетатнинг 10%ли эритма-сидан 5 — 6 мл қўшилади. Бунда фруктозани аниқлашга ҳалақит берадиган бошқа моддалар чўкмага тушади. Колбадаги суюқликни яхшилаб аралаштириб сув билан чизикча тўлдирилади ва филтрланади.

Филтратдан 50 мл ли колбага 5 мл олиб, устига 5 мл резорциннинг спиртли эритмасидан ва 15 мл хлорид кислотанинг 30%ли эритмасидан қўшилади. Колбадаги суюқликни яхшилаб аралаштириб, 80°C температурали сув ҳаммомига 20 минутга қўйилади. Сўнгра колбани совитиб ранг интенсивлигини ФЭК да кўрилади. Бунда яшил ёруғлик филтратдан (540 НМ) фойдаланилади. Фруктоза миқдорини аниқлаш учун стандарт эритмалар ёрдамида калибровка чизиғи график сифатида

чизилади. Стандарт эритмадан ҳажми 50 мл ли колбаларга 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; мл дан қуйилади. Уларнинг устига тегишли равишда 4,5; 4,0; 3,0; 2,0; 1,0; 0,0; мл дистилланган сув қуйилади. Сўнгра барча колбаларга 5 мл резорцин эритмаси ва 15 мл хлорид кислотанинг 30%ли эритмасидан қўшиб, температураси 80°C бўлган сув ҳаммомида 20 мин. давомида сақланади. Вақт тугагач колбалар совитилиб ҳосил бўлган ранг интенсивлиги ФЭК да ўлчанади.

5-иш. Лактоза ва галактозани очиш.

Ишнинг бориши. 1 мл сийдикка 0,5 мл концентрланган аммиак ва 3 томчи 10% ли натрий гидроксид қўшилади. Қайнагунча қиздирилади. Сийдикда галактоза борлигидан далолат берувчи очик сарик ранг пайдо бўлади.

6-иш. Мукополисахаридларни очиш.

Ишнинг бориши. Фильтр қоғозига 15 томчи сийдик томизилади ва куригилади. Кейин толуидин кўки эритмага туширилади, шундан сўнгра қоғозни 10% ли сирка кислота эритмаси билан ювилади. Қип-қизил ранг сийдикда мукополисахаридлар борлигидан далолат беради.

7-иш. Дисахаридларнинг қайтарувчанлик хусусиятлари

Таркибида эркин гидроксил группаси бўлган дисахаридлар, масалан мальтоза, лактоза, целлобиозалар металлларни қайтариш хусусиятига эга. Бироқ сахароза бундай хусусиятга эга эмас. Чунки сахарозани ташкил қилувчи глюкоза ва фруктозанинг реакцияга кириш хусусиятига эга бўлган альдегид ва кетон группалари ўзаро бириккан бўлади. Агар сахароза кислота ёки ферментатив йўл билан гидролиз қилинса реакцияга кириш хусусиятига эга бўлган группалар очилади ва улар қайтарувчанлик хусусиятини тиклайди.

Р е а к т и в л а р: мальтозанинг 1 % ли эритмаси, лактозанинг 1 % ли эритмаси, сахарозанинг 1 % ли эритмаси, натрий гидроксиднинг 30 %ли эритмаси, мис сульфатнинг 5 %ли эритмаси, сульфат кислотанинг концентрланган эритмаси.

Иш тартиби. 3 та пробирка олиб, биринчисига мальтоза, иккинчисига лактоза ва учинчисига сахарозанинг 1%ли эритмасидан 1 мл дан солинади. Ҳар қайси пробиркага 1 мл натрий гидроксиднинг 30 %ли эритмасидан ва 3 — 4 томчи мис сульфатнинг 5 %ли эритмасидан қўшилади. Пробиркаларни қайнагунча қиздирилади. Мальтоза ва лактоза ижобий реакция беради, яъни мис қайтарилиб сарик ёки қизил ранг ҳосил қилади. Сахароза эса салбий реакция беради, яъни пробиркадаги ранг ўзгармай қолади.

Бошқа бир пробиркага 1 мл сахарозанинг 1 % ли эритмасидан олнб, унинг устига 3—4 томчи концентрланган сульфат кислотасидан кўшилади. Пробиркани қайнаб турган сув ҳаммомнда 10 — 15 минут ушланади, сўнгра унинг устига 1 мл 30 % ли натрий гидроксид эритмасидан ва 3—4 томчи 5%ли мис сульфат эритмасидан кўшиб қиздирилади. Пробиркада сариқ ёки қизил ранг ҳосил бўлади. Чунки гидролиз натижасида ҳосил бўлган моносахаридлар қайтарувчанлик хусусиятига эга бўлади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №11

Липидларга хос рангли реакциялар

1-иш. Ёғларни очиш.

Акролеин синови. Бу реакция ёрдамида ёғда глицерин топилади. Тажрибанинг асосида глицеринни қиздирганда сувни йўқотиши ва ўткир, специфик хидли тўйинмаган альдегид-акролеинга айланиш хусусияти ётади. Глицерин бўлмаган липидлар акролеин синамасини бермайди.

Ишнинг бориши. Қуруқ пробиркага 1-2 томчи ўсмилик мойи ва шпателнинг учида қуруқ калий бисульфат босилади. Акролеиннинг оқ буғлари ҳосил бўлгунча қиздирилади.

Шу реакциянинг ўрни мум бўлакчаси билан қилинади. Акролеиннинг ҳосил бўлиши рўй бермайди.

2-иш. Товуқ тухумининг сариғида лецитинни топиш.

Лецитинлар фосфолипидлар группасига киради ва хужайра пардасининг таркибига кириб, мия тўқимасининг асосий массасини ташкил қилади, организмни тўйинмаган ёғ кислоталар билан таъминлашда иштирок этиб, организмда жуда катта роль ўйнайди. Лецитинлар сувда эримайди, аммо спирт, хлороформ, эфирда яхши эрийди.

Ишнинг бориши. 1. Қуруқ пробиркага 10 томчи ацетон қуйилади ва лецитиннинг (тайёрлаш хусусида 1-иловага қаранг) спиртли эритмасини томчилатиб кўшилади. Оқ чўкма тушади.

2. Қуруқ пробиркага 20 томчи лецитиннинг спиртли эритмаси ва лецитиннинг сувдаги турғун эмульсияси ҳосил бўлгунга қадар томчилатиб дистилланган сув қўйилади.

3-иш. Холестеринни очиш.

Холестерин организм учун жуда муҳим аҳамиятга эга, чунки у кўпгина орган ва тўқималарнинг мембраналари таркибига киради, ўт кислоталар, витамин Д, жинсий гормонлар ва буйрак усти безлари пўстлоғи гормонларининг олд моддасидир.

Холестерин ўзининг кимёвий табиати бўйича бир атомли циклик тўйинмаган иккиламчи спирт ҳисобланади ва у юқори ёғ кислоталари билан эфирлар ҳосил қилади.

Холестеринни очиш реакцияси асосини унинг сувни бериш ва рангли бирикмаларга конденсацияланиш хусусиятини ташкил қилади.

4-иш. Сальский реакцияси.

Ишнинг бориши. Қуруқ пробиркага 10 томчи 1% холестериннинг хлороформли эритмаси қуйилади ва эҳтиётлик билан пробирканинг девори бўйлаб 0,5 мл концентрланган сульфат кислота қатлам қилиб қуйилади. Устки хлороформ қаватнинг қизил-тўқсариқ рангга ўтиши кузатилади.

5-иш. Либерманн-Бурхардт реакцияси.

Ишнинг бориши. Қуруқ пробиркага 10 томчи 1% холестериннинг хлороформли эритмаси, 6 томчи сирка ангидрид ва 2 томчи концентрланган сульфат кислота қуйилади ва эҳтиётлик билан силкитилади. Кўк рангга, сўнгра яшилга ўтувчи қизил бинафша ранг пайдо бўлиши кузатилади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №12

1- и ш, Ўт кислоталарга сифат реакция

Реактивлар: олтингугурт кукуни, сульфат кислотанинг концентрланган эритмаси, янги тайёрланган сахарозанинг 10% ли эритмаси дистилланган сув.

Керакли айжомлар: пробиркалар, пипеткалар, штативлар.

Иш тартиби. 1. Сувнинг сирт таранглигига ўтнинг таъсири. 1—2 мл сув солинган пробиркага бир чимдим олтингугурт кукуни солинади. Кукун сув билан аралашмай, сув юзасида қолади. Иккинчи пробиркадаги 1—2 мл сувга 5—10 томчи ўт суюқлиги томизилади, аралаштирилади ва бир чимдим олтингугурт кукуни солинса, у чўқади. Бу ўт суюқлиги таркибидаги ўт кислота тузларининг сув таранглиги сусайганлигини кўрсатади. Демак, ўт кислоталари ёғ-сув орасидаги сирт таранглигини камайтиради ва ёғларнинг сувда эришини

осонлаштиради. Ўт суюқлигига ҳўлланган фильтр коғоздан ёғ яхши ўтади, ўт кислоталарига ҳўлланмаган коғоздан эса ёғ ўта олмайди.

2-иш. Ўт кислоталарига Петен — Кофер реакцияси

Пробиркага солинган 10—20 томчи концентрланган сульфат кислотага ўт суюқлиги (бир томчи янги тайёрланган шакар эритмаси билан ўт аралаштириб олинади) солинади. Эритмалар оралиғида (бўлиниш чегарасида) кизил бинафша ҳалқа ҳосил бўлади (бу ўт кислота чўкмасидир).

Иккала суюқлик астасекин (эритмалар ўз-ўзидан қизийди, унинг 70°C дан ортиқ қизишига йўл қўймаслик керак) аралаштирилганида олча-кизил рангга киради. Кузатилган ранг сахарозанинг сульфат кислота билан таъсирланиб оксиметилфурфуролга айланиши ва ҳолат кислота билан ўзаро таъсирланиши натижасидир.

Э с л а т м а. 70°C дан ортиқ қиздирилганда кўмирланиш ҳодисаси рўй беради ва эритманинг ранги қораяди.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №13

1-иш. Тухум сариғидан лецитин ва кефалинни ажратиб олиш ва уларнинг таркибий қисмларига сифат реакциялари утказиш

Фосфатидилхолин ва фосфатидилэтаноламинлар тухум сариғидан спирт ёрдамида эритиб олинади. Сўнг улар гидролизланади. Гидролизат таркибидаги муҳсулотлар сифат реакция ёрдамида аниқланади.

Реактивлар: курук тухум сариғи (кукуни), этил спирти, ацетоннинг 10% ли эритмаси, калий йод эритмасида эритилган йод, сирка кислотанинг концентрланган эритмаси, темир (II) сульфат тузи, водород пероксиднинг 15% ли эритмаси, нитрат кислотада тайёрланган аммоний молибдат эритмаси.

Керакли анжомлар. Қайтар совитгич ўрнатилган пробиркалар, пипеткалар, буюм ва қоплагич ойначалар, чинни идишчалар, тарози ва микроскоп.

Иш тартиби. 1. Лецитин ва кефалинларни тухум сариғидан ажратиш. Ҳавода қурилган 1 г тухум сариғи қайтар совитгич ўрнатилган пробиркага солинади. Унинг устига 5 мл этил спирти қуйиб 70—75°C гача иситилган сув ҳаммомига жойлаштирилади. Пробиркадаги суюқлик қайнагандан бошлаб, вақтивакти билан 10 дақиқа давомида чайқатиб турилади. Бу жараёнда тухум сариғи лецитинлари, кефалинлари ва қисман пигментлари эриган ҳолатга ўтади. Спиртли эритма сариқ рангга бўялади, тухум сариғи эса рангсизланади (спиртнинг буғланган қисми тўлдириб турилади. Яъни ҳажм бир меъёردа сақланади. Пробиркадаги эритма букланган коғоз

филътри орқали тоза пробиркага ўтказилади, Филътрат тиниқ бўлиши керак.

2. Лецитин ва кефалинларни парчалаш (гидролизлаш) ҳамда уларнинг таркибий қисмларига сифат реакциялари ўтказиш 1—2 мл спиртли экстрактга шунча миқдорда сульфат кислота эритмаси қуйиб, 10—15 дақиқа қайнаб турган сув ҳаммомида қиздирилади. Лецитин таркибий қисмларга парчаланеди. Бунда эркин холин, ёғ кислота, фосфат кислота ва глицерин ҳосил бўлади. Вакт ўтгач пробирка сув ҳаммомидан олиниб, совитилади. Унинг юзасида ёғ томчилари қалқиб юради. Булар ёғ кислоталардир.

а) гидролизат таркибидаги холинни аниқлаш учун шиша ойначага, кичик гидролизат томчиси олинади ва устига калий йод эритмасида эритилган йоддан кичик томчи томизилади. Томчилар қоплагич ойнача билан қопланади. Микроскоп стида қўнғир рангли холин кристаллари ҳосил бўлади.

б) қолган экстракт чинни косачага солиниб, сув ҳаммомида буғлатилади. Қолган қуруқ қисми концентрланган сирка кислотанинг бўйр неча томчисида эритилади. Унинг устига темир. (II) сульфат кристаллари қўшилади. Эритмага 1 мл водород пероксид солиб, озгина қиздирилади. Бунда фосфат кислота ажралади. Экстракт филътрланади. Фосфат кислотани аниқлаш учун бир томчи филътратга 1 мл концентрланган нитрат кислота ва ортиқча миқдордаги (5—6 мл) аммоний молибдатнинг нитрат кислотада тайёрланга эритмасидан солиб қиздирилади. Бунда аммоний фосфомолибдатнинг сариқ рангли чўкмаси ҳосил бўлади.

Натижаларни расмийлаштириш.

Дафтарингизга ўт кислотанинг номини, бажарадиган вазифасини ҳамда реакция натижасини ёзинг.

Лецитинни ажратиш усули ва таркибий қисмларга сифат реакциялар жадвалга мувофиқ расмийлаштирилади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №14

ВИТАМИНЛАР

Тирик организмларнинг ҳаёт фаолияти учун зарур бўлган ва одатда ўсимликлар таркибида учрайдиган кичик молекулали бир группа органик бирикмалар витаминлар деб аталади. Улар турли хил химиявий тузилишга эга. Витаминлар озик-овқат маҳсулотларининг таркибий қисми ҳисобланади. Озқ моддалар таркибида витаминлар бўлмаслиги моддалар алмашинуви процессининг бузилишига сабаб бўлади, натижада организмни оғир касалликларга дучор қелади.

К. Е. Овчаровнинг аниқлашича, витаминлар ўсимликлар ҳаётида иккинчи даражали маҳсулотлар эмас, балки уларнинг ўсиши ва ривожланишида актив иштирок этадиган муҳим биологик моддалардир.

Баъзи бир ўсимликлар ва уларнинг айрим органларида бир ёки бир неча хил витаминлар тўпланиши мумкин. Масалан, сабзавот ва мева ўсимликлари аскорбат, фолат кислоталари ва каротинни кўп миқдорда тўплаши мумкин. Умуман витаминларнинг ўсимликлардаги миқдори жуда кам бўлиб, уларни аниқлашда махсус ва ўта аниқ усулларни қўллашга тўғри келади. Барча витаминлар эрувчанлигига қараб икки гурпуага: сувда эрийдиган ва ёғда эрийдиган витаминларга бўлинади.

Сувда эрийдиган витаминлар

Бу гурпуа витаминларга В гурпуа витаминлари, аскорбат кислота ва рутин киради.

1-иш. Тиамин (витамин В₁) га сифат реакцияси.

Реакция асосида витаминнинг ишқорий мухитда diazo-реактив билан рангли комплекс бирикма ҳосил қилиш хусусияти ётади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 5 томчидан 1% ли сульфиналат кислота эритмаси ва 5% ли натрий нитрат эритмаси (diazo-реактив) қуйилади. Шунинг ўзига пичоқ учидан оз миқдорда тиамин порошоги солинади ва эҳтиётлик билан пробирка деворидан 5-7 томчи 10% ли натрий бикарбонат эритмаси қўшилади. Икки суяқлик чегарасида тўқ сариқ рангда халқа пайдо бўлади.

2-иш. Рибофлавин (витамин В₂) ни очиш.

Реакция витаминнинг осон қайтарилиш хусусиятига асосланган, бу эритма рангининг ўзгариши билан ўтади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 10 томчи 0,025% ли рибофлавин эритмаси, 5 томчи концентранган водород хлорид кислота қуйиб рух металининг доначаси қўшилади. Ажралиб чиқадиган водород витамин билан реакцияга киришади ва эритма рангини ўзгартиради (сарикфдан қизил ва пушти рангга), сўнгра рангсизланади.

3-иш. Никотинат кислота (витамин РР) ни очиш.

Никотинат кислота мис ацетат билан қиздирилганда ёмон эрувчи мис тузининг кўк чўкмасини ҳосил қилади.

Ишнинг бориши. Пробиркага 0,01 г никотинат кислота ва 20 томчи 10% ли сирка кислота эритмаси қўшилади. Қайнагунча қиздирилади ва тенг хажмда 5% ли мис ацетат эритмаси қўшилади. Эритма аста-секин совитилса, никотинат кислота ва мисли комплекс тузнинг кўк чўкмаси тушади.

4-иш. Цианкоболамин (витамин В₁₂) ни очиш.

Мазкур реакция витамин таркибига кирувчи кобальтнинг тиомочевина билан ўзаро реакцияга кириши, қиздирилганда яшил рангда кобальт роданидни ҳосил қилиш хусусиятига асосланган.

Ишнинг бориши. Кулсиз фильтрга 2-3 томчи 10% ли тиомочевина эритмаси томизилади ва газ горелкасининг сеткаси устида қуритилади. Сўгра фильтрга 1-2 томчи витамин минерализатидан қўшилади (тайёрлаш хусусида 1-иловага қаранг) ва қайтадан қуритилади. Фильтрда (кўпинча доғ чеккаларида) яшил ранг ҳосил бўлади.

5-иш. Пиродоксин (витамин В₆) ни очиш.

Витаминнинг темир хлорид билан реакцияга киришиши натижасида темир фенолят типдаги комплекс туз пайдо бўлиши ҳисобига қизил рангли бирикма ҳосил бўлади.

Ишнинг бориши. Пробиркада 5 томчи 5% ли пиродоксин ва 1 томчи 5% ли темир хлорид эритмаси аралаштирилиб, чайқатилади. Аралашма қизил рангга киради.

6-иш. Сийдикдаги аскорбат кислота миқдорини аниқлаш.

Сийдикдаги аскорбат кислота миқдори организмнинг витамин С билан таъминланганлигини характерлайди. Бироқ витамин С гиповитаминозида унинг миқдори сийдикда ҳар доим ҳам камаявермайди.

Усул асосида витаминни бузилишдан сақловчи кислотали муҳитда аскорбат кислотанинг 2,6-дихлорфенолиндофенол эритмаси қайтариш йўли билан рангсизлантириш хусусияти ётади.

Ишнинг бориши. Конуссимон колбага 10 мл сийдик ва тенг миқдорда дистилланган сув ўлчанади, аралаштирилади, 1 мл концентранган сирка кислота билан нордонлаштирилади ва 0,001 н 2,6-дихлорфенолиндофенол эритмаси билан пушти ранггача титрланади. Сийдикдаги витамин С қуйидаги формула билан ҳисобланади.

$$X = \frac{0,088 \cdot A \cdot 1500}{10}$$

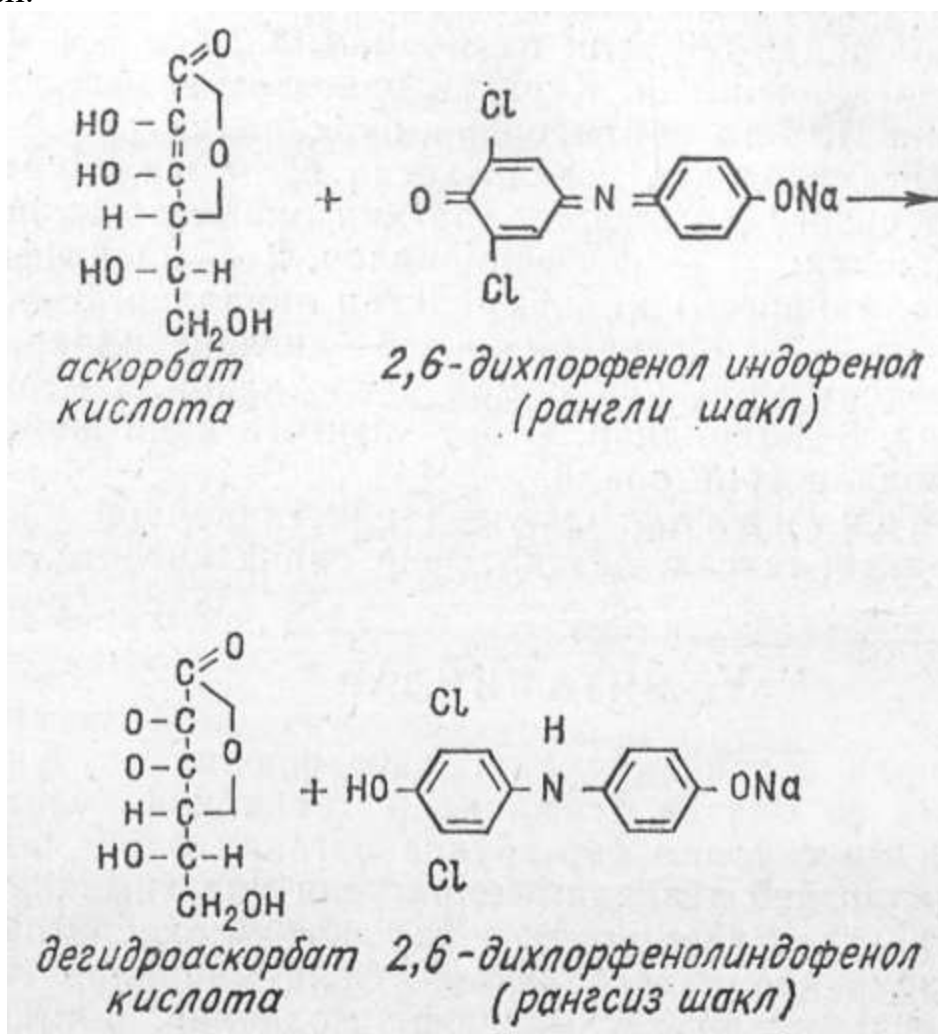
Бу ерда: х-витамин миқдори (мг/сут); 0,088-1 мл 0,001 н 2,6-дихлорфенолиндофенол эритмаси эквивалент бўлган витамин С нинг миллиграмм миқдори, А-титрлаш учун сарф бўлган 0,001 н 2,6-

дихлорфенолиндофенол миқдори (мл), 1-олинган сийдикнинг мл миқдори, 1500-суткалик сийдикнинг тахминий миқдори.

Соғлом одам сийдигида 0,02-0,06 г/л (2-6 мг%) витамин С бўлади, суткасига эса 24-75 мг (0,024-0,075 г)

7-иш. Аскорбат кислотани аниқлаш (С витамин)

Аскорбат кислота ўсимликлар таркибида кўп миқдорда учрайди. Айниқса ҳўл меваларда (смородина, апельсин, лимон, наъматак) ва сабзавотларда (булғор қалампири, гулқарам, укроп) кўп бўлади. Аскорбат кислотани аниқлаш унинг қайтарувчанлик хусусиятига асосланган.



Иш тартиби. 1. Наъматак ёки картошка ширасидан олиб, 1 мл ли пробиркага солинади. Унинг устига 2 томчи калий гидроксид ва 2 томчи калий гексоцианоферрат эритмасидан қўшилади ва пробирка чайқатилди. Сўнгра пробиркага 6—8 томчи хлорид кислотанинг 10% ли эритмасидан ва 1—2 томчи темир хлорид эритмасидан солинади. Пробиркада зангори кўк ёки кўк рангли чўкма ҳосил бўлади. Реакция

натижасида аскорбат кислота оксидланиб, Fe^{+++} ионлари Fe^{++} ионларигача қайтарилади.

2. Пробиркага наъматак ёки картошка ширасидан 1 мл олиб устига 1 мл 2,6 — дихлорфенолиндофенолнинг 0,02 %ли эритмасидан солинади. Эритма индикаторнинг рангсиз бўлиши ҳисобига оқаради. Индикаторни қўшиш давом эттирилса пушти ранг ҳосил бўлади, сабаби аскорбат кислота оксидланиб бўлган ва кейинги қўшилган индикатор қайтарилмайди.

Р е а к т и в л а р : наъматак, картошка, калий гексацианоферратнинг 5%ли эритмаси, калий гидроксиднинг 5%ли эритмаси, хлорид кислотанинг 10%ли эритмаси, 2,6 — дихлорфенолиндофенолнинг 0,02% ли эритмаси.

8-иш. Аскорбат кислота миқдорини аниқлаш

Бу усул аскорбат кислотанинг нордон шароитда 2,6 — дихлорфенолиндофенолни қайтариш хусусиятига асосланган. Реакция қуйидагича боради. Бунда индикаторнинг тўқ кўк ранги (оксидланган шакл) аскорбат кислота қўшилганда рангсиз ҳолатга (қайтарилган шакл) ўтади.

Р е а к т и в л а р : ўсимлик материали, хлорид кислотанинг, 1%ли эритмаси, оксалат кислотанинг 1%ли эритмаси, 2,6 — дихлорфенолиндофенолнинг 0,001 Н эритмаси.

Иш тартиби. Усимлик материалдан 1—5 г олиб, чинни ҳовончада, шиша кукунларн ёрдамида яхшилаб эзилади ва хлорид кислотанинг 1%ли эритмасидан 5 мл қўшиб эзишни яна давом эттирилади. Кейин яна 15 мл хлорид кислота эритмасидан қўшилади ва аралашмани 100 мл ли ўлчов колбага қўйилади. Чинни ҳовонча оксалат кислота ёрдамида ювилади ва у ҳам колбага қуйилади. Кейин оксалат кислота ёрдамида колбадаги суюқлик чекланган ҳажмгача тўлдирилади. Колбадаги аралашма чайқатилиб, филтрдан ўтказилади. Филтрдан ўтказилган суюқликда аскорбат кислота миқдори аниқланади. 2 та колба олиб биринчисига 5— 10 мл филтрат, иккинчисига 5—10 мл хлорид ва оксалат кислота (1:5) аралашмасидан солинади ва 0,001 Н 2,6 — дихлорфенол индофенол эритмаси билан титрланади. Аскорбат кислота миқдори қуйидагича аниқланади.

$$X = \frac{(a - b) \cdot 7 \cdot 0.088 \cdot 100}{c}$$

X — Усимлик материалидаги аскорбат кислота миқдори, мг %ҳисобида, a — тажриба учун сарфланган индикатор миқдори, b — контрол учун сарфланган индикатор миқдори, T — тузатма, 0,008 — 1

мл 0,001 Н индикатор эритмасига тенг бўлган аскорбат кислота миқдори. С — Текширишга олинган ўсимлик миқдори, г ҳисобида.

9-иш. Тиаминни (В₁ витамини) очиш

Тиамини моддалар алмашинуви процессида муҳим роль ўйнайди. У кўпчилик дон ўсимликларининг донларида, уларнинг кепакларида учрайди. Тиамини уни ишқорий шароитда гексоцианоферрат таъсирида оксидланишига асосланиб аниқланади.

Р е а к т и в л а р : тиаминхлорид, калий гексоцианоферратнинг 5% ли эритмаси.

Иш тартиби. Пробиркага 2—3 мг тиаминхлорид солинади унга калий гексоцианоферратнинг 5% ли эритмасидан 5—10 томчи қўшилади ва яхшилаб аралаштирилади. Пробирка қиздирилганда аралашма сариқ рангга киради. Бунда тиамин оксидланиб тиохромга айланади.

10 - иш. Ретенол (А витамин)ни аниқлаш

Ретенолни аниқлаш усули сурьма хлориднинг А— витамини билан ўзаро реакцияга киришиб сариқ ранг ҳосил қилишига асосланган.

Р е а к т и в л а р : балиқ ёғи, хлороформ, сурьма хлоридининг 30% ли эритмаси. **Иш тартиби.** Пробиркага 0,1 мл балиқ ёғидан олинади ва 5 мл хлороформ қўшилади. Сўнгра аралашма устига 0,1 мл сурьма хлоридидан солинади, натижада кўк ранг ҳосил бўладн. Рангнинг интенсивлигини фотоколорометр ёрдамида аниқлаб А—витамин миқдорини билиш мумкин.

11 - иш. Каротинни аниқлаш

Каротин кенг тарқалган бўлиб, у айниқса ўсимликларнинг яшил қисмларида, сабзида кўп бўлади. Каротин биринчи марта сабзидан ажратиб олинган. Каротинни экстрактлардан хроматография ёрдамида ажратиб олиб, колориметрик ўлчаш йўли билан аниқланади.

Р е а к т и в л а р : ўсимлик материали, ацетон, эфир.

Иш тартиби. 5 г ўсимлик материали (сабзи ёки ўсимлик барглари) майдаланиб чинни ҳовончага солинади ва ацетон ёрдамида бироз шиша кукуни билан эзилсади, аралашма цилиндрга қуйилади ва унинг ҳажми ацетон ёрдамида 50 ёки 100 мл га етказилади. Сўнг экстрактдан 1 мл олиб хроматографик қоғознинг пастки учидан 4 см қолдириб чўзинчоқ доғ сифатида шимдирилади ва қуритилади. Қоғоз юмалоқ қилиб ўралади ва юқори томонидап скрепка билан сиқиб қўйилади. Хроматографик қоғоз 2—3 см қалинликда эфир солинган цилиндр идишга туширилади. 20—30 минутдан кейин қоғоз олинади ва сариқ

доғ бор жойи қайчи билан қирқиб бюксга солинади. Каротин 1 мл эфир ёрдамида 3—4 марта (сарик ранг йўқолгунча) ювилади. Кейин эфир эритмалари қўшилиб колориметр ёрдамида аниқланади.

Каротин миқдори қуйидаги формула ёрдамида аниқланади.

$$X = \frac{0.00235 a \cdot b \cdot c \cdot B \cdot 100}{H \cdot b \cdot V} \text{ мг } 100 \text{ г}$$

B — стандарт эритмаининг колориметрдаги берган сони (одатда 10 га тенг); B_1 — текширилаётган эрит-манинг колориметрдаги сонн; a — олинган ацетон шира ҳажми; b — каротинни аниқлаш учун олинган ҳажм; c — тайёр эфирли каротиннинг ҳажми; H — олинган ўсимлик материали (г ҳисобида);

12 - иш. Цитринни (Р витамин) аниқлаш

Р — витамин активлигига эга бўлган моддаларга фенол табиатли бирикмалар киради. Буларга рутин, гесапередин, кварцетин ва бошқалар киради. Булар ўсимлик гуллари ва меваларида кўп миқдорда учрайди.

Р е а к т и в л а р: лимон меваси, этил спиртнинг 80 % ли эритмаси, темир хлориднинг 1%ли эритмаси, сульфат кислотанинг концентрланган эритмаси.

Иш тартиби. 2—5 грамм лимон пўстлоғидан олиб чинни ҳовончада шиша кукунлари ёрдамида спирт билан бир хил масса ҳосил бўлгунча эзилади. Масса Бухнер воронкаси орқали филтрланади. Масса рангсиз бўлгунга қадар спиртнинг оз-оз порцияси билан ювилади. Филтрат спирт ёрдамида 50 ёки 100 мл ҳажмга етказилади. Кейин аралашмадаги спирт Вюрц колбасида ажратилади. Колба тагидаги қолдиқ (3—5 мл) чинни косачага қўйилади ва спирт сув ҳаммомида тўлиқ ҳайдалади. Кейин косачага 3—5 мл сув қуйиб қолдиқ эритилади. Сувли эритма билан қуйидаги реакциялар қилинади.

1- Пробиркага 1 мл эритма олинади ва унга 4 - 5

тсмчи темир хлорид эритмаси томизилади яшил ранг ҳссил бўлади.

2. Пробиркага 1 мл эритма олинган. Унинг устига эҳтиёткорлик билан пробирка девори бўйлаб 1 мл концентрланган сульфат кислота қуйилади. Икки суюқлик ўртасида сарик рангли айлана ҳосил бўлади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №15

КОН БИОКИМЁСИ

Кон организмнинг асосий ички мухити ва эритмаси булиб ҳисобланади. Ташки мухитдаги моддалар, хужайра, туқиманинг алмашинув маҳсулотлари доимо конга тушиб туради. Кон кизил

рангли, ёпишкок, кучсиз ишкорий мухитга эга. Катталарда унинг рН 7,36-7,4, янги тугилган болаларда эса 7,2-7,3, солиштирма огирлиги 1,050-1,060, чакалокларда 1,060-1,080га тенг гетероген модда.

Кон моддалар алмашинуви жараёни билан чамбарчас боглик холда мухим вазифаларни бажаради.

1. Кон упкадаги кислородни тукималарга ва аксинча тукималарда хосил булган углерод(IV) оксидни упкага ташиш билан нафас олиш ва нафас чиқариш вазифаларини бажаради. Шу вазифаси билан кон тукималарда оксидланиш-кайтарилиш жараёнларини ва энергия алмашинувини бошқаради.

2. Меъда-ичак системасида овқат хазм булиши натижасида хосил булган махсулотларни турли аъзоларга етказиб бериши, глюкоза, кетон таначаларининг жигардан мускулларга, ёгларни жигардан ёг тукималарига, сут кислотани мускуллардан жигарга, ёг кислотани ёг тукималаридан турли аъзоларга утказиб бериш билан озиклантириш вазифасини бажаради.

3. Тукималарда хосил булган захарли моддалар (аммиак, билирубин), кон оркали жигарга келтирилган ва у ерда захарсизлантирилган бирикмалар буйрак оркали ташқарига чиқарилади. Шу билан кон ажратиш вазифасини бажаради.

4. Кон оркали кимёвий сигналлар-гормонлар ва бошқа организм учун зарур бирикмалар тукима хужайраларига етказилиб моддалар алмашинуви жараёнини бажаришда катнашади.

5. Кон лейкоцитлар ва антителалар ёрдамида химоя вазифасини бажаради. Сув-туз, кислота-ишкор мувозанатларини бир меъёردа саклайди, тана харорати сакланиши каби катор мухим вазифани бажаради.

Кон таркибига кон хужайралари –

эритроцитлар, лейкоцитлар, тромбоцитлардан ташқари, органик ва анорганик бирикмалар ҳам киради. Органик бирикмалардан энг мухими оксиллар, ёглар, карбонсувлар, гормонлар, ферментлар, витаминлардир.

Коннинг оксигени булмаган кисми азот тутувчи ва азотсиз моддаларга булинади.

Азотсиз моддаларга глюкоза, ёглар, ёг кислоталарининг алмашинув махсулотлари, пирозум ва сут кислоталари киради.

Азот тутувчи моддаларга эса азот колдикларининг фракциялари - оддий ва мураккаб оксиллар алмашинувининг оралик ва охириги махсулотлари, сийдикчил, сийдик

кислота, креатинин, аммиак, индикан, билирубин, полипептидлар, аминокис

слоталар киради. Ушбу моддаларнинг азоти азот колдиклари дейилади, чунки улар оксил чуқтирилгач филтратда қолади. Шунингдек, кон таркибида макро- ва микроэлементлар ҳам булади.

1-и ш. Қон зардобидаги темир микдорини аниқлаш

Усулнинг асоси: қон зардобини минерализация- лагандан сўнг органик бирикмалардан ажралган темир калий тиоциониди билан нордон муҳитда пушти-қизил рангли бирикма ҳосил қилади. Рангли эритма колориметрланади. Соғлом одам қон зардобини 80—160 мг/дл темир тутади.

Пернициоз камқонликда қон плазмасида темир микдори ортади. Гипохром камқонликда эса камаяди.

Текширилувчи материал: қон зардобини.

Реактивлар: концентрланган сульфат кислота, перхлорат кислота эритмаси, 8 % ли калий пероксодисульфатнинг тўйинган эритмаси (чўкма устидаги эритма ишлатилади), 25% ли натрий тиоционат эритмаси, амил спирти.

Керакли анжомлар: юкори ҳароратга чидамли пробиркалар, пипеткалар, ФЭК, бир см калинликдаги кювета.

Бажариладиганиш тартиби: 1. Текширув тажриба ва доимий эритма учун иккита ҳароратга чидамли пробир-ка тайёрланади. Текширишга 0,5 мл зардоб ва 0,4 мл концентрланган сульфат кислота солинади. Иккинчи пробиркага эса 0,5 мл дистилланган сув ва 0,5 мл темирнинг доимий эритмаси солинади.

2. Иккала пробирка ўртача иссиқликда қиздирилган кум ҳаммомига жойлаштирилиб, буғ чиқиши тугагунча (тахминан 10—15 дақиқа) минерал ҳолатга ўтказилади. Сўнгра пробиркаларга 0,5 мл перхлорат кислота солиниб, эритма тиниқлангунча қиздириш давом эттирилади.

3. Шундан сўнг иккала пробиркага 0,5 мл дан дистилланган сув ва 0,2 мл калий тиосульфат эритмаси солинади (бунда Fe^{2+} Fe^{3+} га айланади) ва хона ҳароратигача совитилади. Совитилган пробиркаларга бир. мл 25 % ли натрий тиосульфат эритмаси солиб яхшилаб аралаштирилади.

4. Иккала пробиркага 3 мл дан тамил спирти қуйилиб, аралаштирилади. Бўялган юкори қаватдаги эритма кўк нур филтри (490—520 нм) да ФЭК да колориметрланади. Доимий эритма бир мгк темир тутиши сабабли текширув тажрибадаги темир микдори ҳисоб-ланади.

Олинган натижаларни расмийлаштириш: Дафтарга усулнинг асоси, ҳисоби, хулоса ёзилади.

ЛАБОРАТОРИЯ ИШИ №16

Сийдик биокимёси

Сийдик хосил булиши ва ажралиши купинча марказий нерв системаси, мия пустлоги ва импульслари томонидан ёки гипофиз гормонлари оркали бошқарилади. Бир кунлик сийдик таркибида уртача 40гр органик ва тахминан 20гр ноорганик модда булади. Сийдикдаги минерал моддалар микдори истеъмол килинган озукаларга боғлиқ. Сийдик оркали 150га якин турли маҳсулотлар ажралади. Масалан, гормонларнинг парчаланишидан хосил булган жуфт сульфат ёки жуфт глюкурон кислоталар, доривор бирикмалар, витаминлар ва бошқалар.

Сийдикни анализ қилишда унинг физик-кимёвий хоссалари: нисбий зичлиги, ранги, хиди, бир кунлик микдори, кислоталилиги ҳамда органик ва аорганик таркибий қисмлари урганилади.

Сийдикнинг нисбий зичлиги унда эриган моддаларнинг микдорига ва ажралаётган сийдик микдорига узвий боғлиқ. Одатда сийдик канча куп ажралса, унинг нисбий зичлиги шунча камаяди. Соғлом одам сийдигининг 15С да улчанган нисбий зичлиги 1,010-1,025 кг/л гача булиб, одатда 1,017-1,020 кг/л ни ташкил қилади.

Сийдикнинг кислоталилик сизими истеъмол килинган озиқ-овқат маҳсулотлари турига боғлиқ. Уртача овқатланадиган одамнинг, сийдиги кислоталик ёки нейтрал муҳитга эга. Овқатланганда гушт маҳсулотларини купрок истеъмол қилиш сийдик муҳитини кислота томонга, усимлик маҳсулотларини истеъмол қилиш эса ишқорий томонга силжитади.

Бир кунлик сийдикда 12-25гр минерал модда булади. Улар анионлардан хлорид, сульфат, фосфат (дигидрофосфат, гидрофосфат) карбонат ва катионлардан калий, натрий, кальций холида булади. Кальций ва магний тузлари эриган ва эрмаган ҳолда учрайди. Сийдикдаги фосфор натрий дигидрофосфат, натрий гидрофосфат, кальций дигидрофосфат холида ажратилади.

1-и ш. Сийдик таркибидаги сийдик кислота микдорини аниқлаш

Мураккаб оқсиллар синфининг вакили — нуклеопротеидлар таркибига кирувчи пурин асослари алмашинувининг охириги маҳсулоти соғлом одамлар сийдигида 1,6—3,54 ммол/сут (270 — 600 мг/с) га тенг. Подагра, нефрит, буйрак етишмовчилиги касаллигида сийдик кислотанинг сийдик билан аралашishi камаяди. Бу гипоурикурия дейилади. Алиментар — физиологик лейкомияда, нуклеопротеидлар

парчаланишининг ортишида сийдик кислотанинг сийдикдаги миқдори ортиши кузатилади (гиперурикурия).

Қатталарникига нисбатан болалар сийдигида сийдик кислота миқдори кўпроқ бўлади. Сийдикдаги сийдик кислота миқдори истеъмол қилинган овқат таркибида нуклеин кислоталарнинг — пурин асосларининг Миқдорида ва уларнинг парчаланиш тезлигига боғлиқ бўлади.

Подагра касаллигида сийдик кислота тузлари (уратлар) тоғайларда, мушакларда ва бўғин шиллиқ халтала рида йиғилади. Қон таркибидаги сийдик кислота миқдори юқори бўлсада сийдик билан кам миқдорда ажралади.

Усулнинг асоси: ушбу усул сийдик кислота фосфор-вольфрам реактивини фосфор-вольфрам кўкча қайтариш хоссасига асосланган. Рангнинг оч-тўқлиги сийдик кислота миқдорида тўғри пропорционал. Фосфор-воль-фрам кўкининг миқдори қизил қон тузи билан титрлаш орқали аниқланади. Қизил қон тузи фосфор-вольфрам кўкини оксидлайди, натижада кўк ранг йўқолади.

Текширилувчи материал: сийдик.

Керакли реактивлар: Фолин фосфор-вольфрам реактиви, натрий карбонатнинг 20% ли эритмаси, калий ферроцианид (қизил қон тузи) нинг 0,01 н ли эритмаси, 0,5 мг 1 мл бўлган сийдик кислотанинг доимий стандарт эритмаси.

Керакли анжомлар: микробюреткалар, титрлаш учун стаканчалар.

Бажариладиган иш тартиби: 1,5 мл сийдикка 1 мл 20% ли натрий карбонат эритмаси ва 1 мл Фолиннинг фосфор- вольфрам реактивидан солиб аралаштирилади. Аралашма 0,01 н. қизил қон тузи эритмаси билан эритма рангсизлан- гунча титрланади. Сийдик кислотанинг сийдикдаги мик- дорини ҳисоблаш учун 1 мл қизил қон тузи эритмасига қанча сийдик кислота тўғри келишини билиш керак. Масалан, 0,75 мг сийдик кислота тутувчи 1,5 мл доимий эритмани титрлаш учун 0¹ мл ферроциОнид эритмаси ишлатилади. Шундан 1 мл ферроционал (х) қуйидагича топилади.

$$x = \frac{0,75}{0,81} - 0,8 \text{ мг сийдик кислотага тўғри келади.}$$

Ҳисоблаш. Бир кунлик сийдик таркибидаги (мг) сийдик кислота миқдори қуйидаги тенглама бўйича топилади:

$$x = \frac{0,8 \text{ х а х в}}{1,5} = \text{мг да ифодаланган сийдикдаги кислота}$$

миқдори

Бунда 0,8 мг сийдик кислота 1 мл қизил қон тузи эритмасига тўғри келади.

а) титрлаш учун кетган қизил қон тузи эритмасининг ҳажми, мл

б) бир кунлик сийдик миқдори, мл. СИ бирлигига ўтказиш коэффициенти (ммоль/сут) 0,0059 га тенг.

Олинган натижаларни расмийлаштириш. Усулнинг асосини, олинган натижа ва хулосангизни чиқариб, дафтарингизга ёзинг.

Фойдаланилган асосий дарсликлар ва ўқув қўлланмалар рўйхати

1. Тўракулов Е.Х. Биокимё. Т.: Ўзбекистон, 1996.
2. Ленинджер А. Основы биохимии. 3-жилд, М.: Мир, 1984.
3. Кнорре Д.Г. Мызина С.Д. Биологическая химия. М.: Высшая школа, 2000.
4. Қосимов А. ва бош. Биохимия. Т.: Ўқитувчи, 1987.
5. Хасанов М. Хайвонлар биокимёси. Т.: Ўзбекистон, 1996.
6. Имомалиев А., Зикрияев К. Ўсимликлар биохимияси. Тошкент: Ўқитувчи, 1987.
7. М.Умаров., Х.Омонов., О.Йўлдошев. “Органик ва биологик химиядан практикум” Т. Ўқитувчи. 1994 й.

Тузувчилар: Умумий кимё кафедраси ўқитувчилари

Н.Д.Амонова

Б.Ю.Рўзиева.

Ж.М.Ҳайитова

Компьютерда саҳифаловчи: Прназарова О.Х.