

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI XALQ TA'LIMI VAZIRLIGI
NAVOIY DAVLAT PEDOGOGIKA INSTITUTI



BIOKIMYO

fanidan laboratoriya ishlarining to'plami

(uslubiy qo'llanma)

Navoiy – 2010 yil

Mazkur laboratoriya ishlarining to'plami DTS talablari va BIOKIMYO fani dasturi asosida tuzildi. Uslubiy qo'llanma pedagogika oliygohlarining biologiya hamda kimyo ta'lim yo'nalishi talabalari uchun mo'ljallangan.

Tuzuvchilar:

XO'JJIYEV S.O.

BAXODIROVA U.B.

**NDPI Tabiatshunoslik fakulteti “Umumiy biologiya” kafedrası
o’qituvchisi S.O.Xujjiyev tomonidan “Biokimyo” fani bo’yicha
tayyorlangan laboratoriya ishlarining to’plamiga
TAQRIZ**

O’qituvchi S.O.Xujjiyev tomonidan tayyorlangan “Biokimyo” fanidan laboratoriya ishlarining to’plami pedagogika oily o’quv yurtlarining biologiya va kimyo ta’lim yo’nalishida ta’lim olayotgan talabalar uchun mo’ljallangan.

Biologik ximiya, ya’ni bioximiya biologiya fanining eng muxim soxalaridan u tirik organizmlar qanday ximiyaviy moddalardan tashkil topganligini va ular hayotiy prosesslarda qanday o’zgarishini tekshiradi? Bioximiya, biologiya bilan ximiyani bir-biriga bog’lovchi oraliq fan xisoblanadi.

Laboratoriya ishlarining to’plamining kirish qismida fanning rivojlanish tarixi hamda eng muhim fan shaxobchalari haqida ma’lumotlar keltirilgan.

Mazkur fanni o’qitish jarayonida ta’limning zamonaviy metodlari, pedagogik va axborot-kommunikatsiya texnologiyalari qo’llanilishi nazarda tutilgan.

Navoiy davlat pedagogika instituti Tabiatshunoslik fakulteti “Umumiy biologiya” kafedrası o’qituvchisi S.O.Xujjiyevning “Biokimyo” fanidan tayyorlagan uslubiy qo’llanmasi ta’lim texnologiyalari majmuasi Davlat Ta’lim Standartlari talablariga har tomonlama javob beradi.

**Navoiy viloyat PKQT va MO
instituti ma’naviy-ma’rifiy
va ilmiy ishlar bo’yicha prorektor:**

S.X.Quvondiqov

KIRISH

Har bir tirik organizm murakkab biopolimerlardan tashkil topgan bo'lib, o'zining hayotiy jarayonlaridagi murakkab kimyoviy faoliyati bilan xarakterlanadi. Tashqi muhitdagi moddalar to'xtovsiz hujayra ichiga kiradi, shu bilan bir vaqtda boshqa moddalar undan tashqi muhitga chiqariladi. Hujayraning bir joyida murakkab moddalar parchalansa, boshqa qismida oddiy moddalardan yuqori molekulyar birikmalar sintezlanadi.

Biologik ximiya, ya'ni bioximiya biologiya fanining eng muxim soxalaridan u tirik organizmlar qanday ximiyaviy moddalardan tashkil topganligini va ular hayotiy prosesslarda qanday o'zgarishini tekshiradi? Bioximiya, biologiya bilan ximiyani bir-biriga bog'lovchi oraliq fan xisoblanadi. Ma'lumki biologiya xayot bo'lishi rivojlanish qonuniyatlarini o'rganadi, ximiya esa moddalarning tarkibi hamda o'zgarishini tekshiradi. Demak, bioximiya xayot ximoyasi, barcha yirik mayda-tirik organizmlar ximoyasi demakdir.

Fiziologiya, bioximiya, sitologiya bo'yicha yuz yildan ortiq vaqt davomida olib borilgan tajribalar shuni tasdiqlaydiki, hujayraning hayotda orttirilgan ximiyaviy faoliyati ortiqcha yoki kam ahamiyatli emas, aksincha, u hayotning asosini tashkil etadi, hujayra va organizmning o'sishi, rivojlanishi, funksiya bajarishining asosiy shartidir.

Shunday ekan biologiya fanlari orasida biokimyo fani muhim o'rin tutadi. Biokimyo fanini o'qitish jarayonida uning amaliy jihati yuqori ahamiyatga ega.

Mazkur qo'llanma talabalarga biokimyodan laboratoriya mashg'ulotlarini bajarishda uslubiy vosita sifatida xizmat qiladi.

OQSILLARGA XOS RANGLI REAKSIYALAR.

Biologik obyektlar yoki turli eritmalarida oqsil mavjudligini rangli reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Bu reaksiyalar oqsil tarkibidagi turli xil aminokislotalar, spetsifik funksional gruppalar yoki peptid bog`larning xossalriga asoslangan.

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

Rangli reaksiyalar tabiatiga ko`ra ikki xil: universal va o`ziga xos rangli reaksiyalarga bo`linadi. Birinchi turdagi reaksiyalar hamma oqsillar uchun (biuret va ningidrin) xos bo`lib, ikkinchi xili esa oqsil molekulasida u yoki bu xil aminokislota qoldiqlari borligini aniqlashga (ksantopotein, Millon, Fol, Adamkevich reaksiyalari va boshqalar) qaratilgan. Aminokislotalarni biologik suyuqliklar va to`qima ekstraktlarida shu o`ziga xos reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Rangli reaksiyalarni tuxum oqsili, jelatina eritmaları, bir necha marta suyultirilgan qon zardobi, turli hayvon va o`simlik to`qimalari ekstraktlari bilan amalga oshirish mumkin.

1-ISH. OQSILLARGA XOS RANGLI REAKSIYALAR.

Maqsadi: Oqsillarga xos rangli reaksiyalar haqida ma`lumotga ega bo`lish laboratoriya tajribalari asosida egallangan bilimlarni mustahkamlash, ko`nikmalarni hosil qilish.

Kerakli asbob va reaksiyalar: shtativ, spirt lampa yoki gaz grelka, pipetkalar, tuxum oqsilining 1% li eritmasi, 5 marta suyultirilgan qon zardobi, bug`doy oqsilining 1 % li eritmasi, natriy gidroksidning 10%li eritmasi mis (II)-sulfatning 1 % li eritmasi, alanin eritmasi, ningidrinning 0,5 % li eritmasi, tirozining 0,1 % li eritmasi, konsentrlangan nitrat kislota, fenolning 0,1 % li eritmasi, Millon rekativi, natriy gidroksidning 30 % li eritmasi, qo`rg`oshin asetatning 5 % li eritmasi, argininning 0,05 %li eritmasi, naftolning spirtidagi 0,1 % li eritmasi natriy gipobromitning 2 % li eritmasi, triptofanning 0,05 % li eritmasi, muz – sirka kislota, konsentrlangan sulfat kislota.

Ishning natijalari jadval ko`rinishida ifodalanadi. (1-jadval).

1-jadval

№	Reaksiyaning nomi	Tekshirilay otgan manba	Qo`llanilay otgan reaktivlar	Kuzatilgan rang	Reaksiya nimaga bog`liq

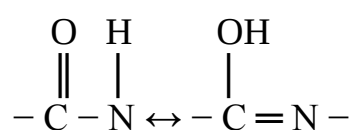
Xulosa:

1-tajriba. Biuret reaksiyasi

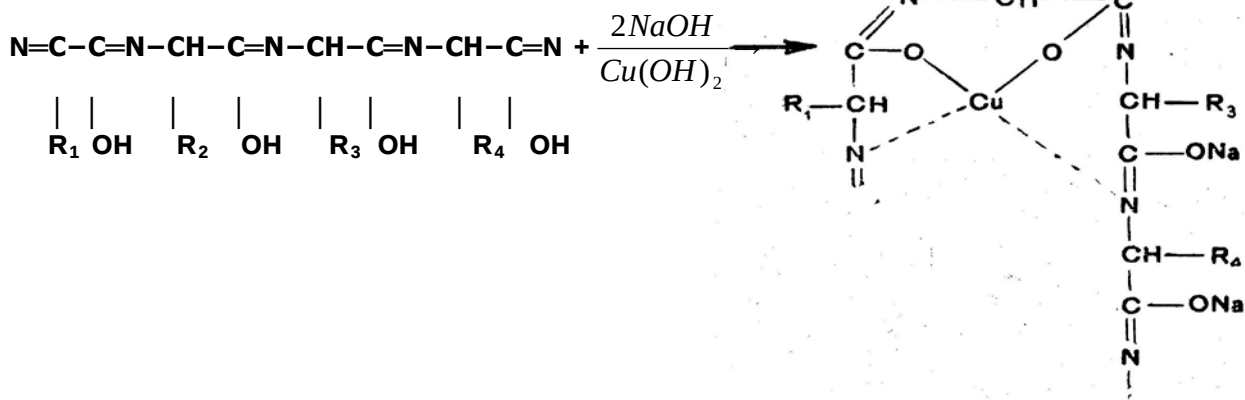
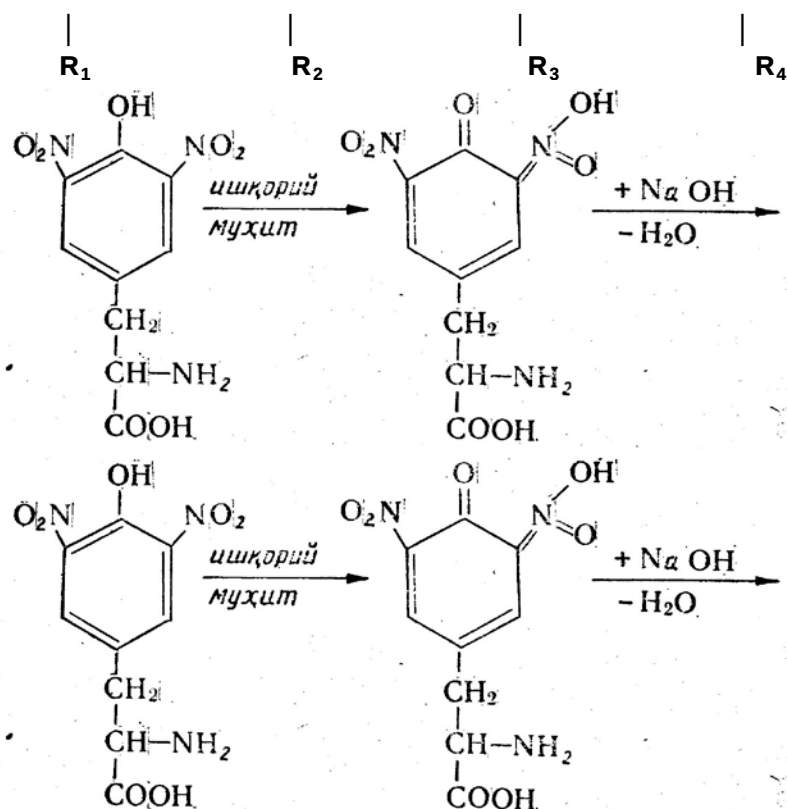
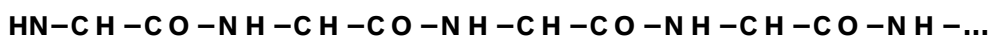
Biuret reaksiyasi yordamida oqsil va polipeptidlar tarkibidagi peptid bog`lari - C – N – aniqlanadi. Biuret reaksiyasini eng kamida 3 ta aminokislota qoldig`i, ya`ni ikkita peptid bog`i bor moddalar berishi mumkin.

Kuchli ishqoriy sharoitda biuret ($\text{NH}_2 - \text{CO} - \text{NH} - \text{CO} - \text{NH}_2$), oksamid ($\text{NH}_2 - \text{CO} - \text{CO} - \text{NH}_2$), polipeptid va oqsil eritmalariga mis tuzlari qo`shilsa, ko`k binafsha, qizil – binafsha rang hosil bo`ladi.

Peptid bog`ni hosil qiluvchi grupp (-CO-NH-) ishqoriy muhitda tautomer enol formasida bo`ladi:



Kuchli ishqoriy muhitda hosil bo`lgan gidroksogruppa dissosiyalanadi, natijada manfiy zaryad hosil bo`ladi, bu esa mis ioni bilan tuzsimon bog` hosil qilishiga imkon beradi, bundan tashqari, peptid bog`ni hosil qilishda ishtirok etayotgan azot atomlari bilan ham qoordinatsion bog` hosil qiladi. Bu misli kompleks barqaror birikma bo`lib, paydo bo`lgan rang ancha uzoq saqlanadi. Polipeptidlarning misli kompleksini sxematik ravishda quyidagicha ifodalash mumkin:



Biuret kompleksi rangining ravshanlik darajasi oqsil Konsentrasiyasiga, eritmadagi mis tuzining konsentrasiyasiga bog`liq.

Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi tuxum oqsilining 1 % li eritmasi, ikkinchisiga 5 tomchi 5 marta suyultirilgan qon zardobi, uchinchisiga ham shuncha miqdorda bug`doy oqsilining 1 % li eritmasi solinib, hamma pirobirkaga 10 tomchidan 10 % li o`yuvchi natriy eritmasi va 1 tomchidan mis sulfat eritmasidan quyiladi. Uchala probirkada ham qizil binafsha yoki ko`kish – binafsha rang hosil bo`ladi.

2-tajriba. Ningidrin reaksiyasi.

Ningidrin reaksiyasi erkin a-aminogruppa uchun xos reaksiya hisoblanadi. A-aminogruppalar, petidlar va oqsillarning molekulalarida erkin a-aminogruppa bo`ladi. Shuning uchun yuqoridagi moddalarning eritmalariga ningidrin qo`shib qizdirilganda ko`k yoki ko`kish –binafsha rang paydo bo`ladi. Ningidrin ta'sirida erkin a-aminogruppasi bor aminokislota, peptid yoki oqsillar oksidlanish yo`li bilan dezaminlanadi, dekarboksillanadi, natijada aldegid hosil bo`ladi. Bu vaqtda ningidrin qaytariladi va ajralib chiqqan  $\text{NH}_3$  yordamida ikkinchi-qaytarilmagan ningidrin molekulasi bilan bog`lanib ko`k binafsha, prolin bilan esa sariq rangli kompleks hosil qiladi. Ningidrin reaksiyasining ximiyaviy mohiyatini quyidagicha ifodalash mumkin.

Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi bug`doy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi alanin eritmasidan tomozilib, ustiga 5 tomchidan 0,5 % li ningidrin eritmasidan quyib, 1-2 minut qaynatiladi. Probirkalardagi aralashmalar avval pushti-binafsha yoki ko`kish – binafsha rangga bo`yaladi. Vaqt o`tishi bilan eritma ko`karadi.

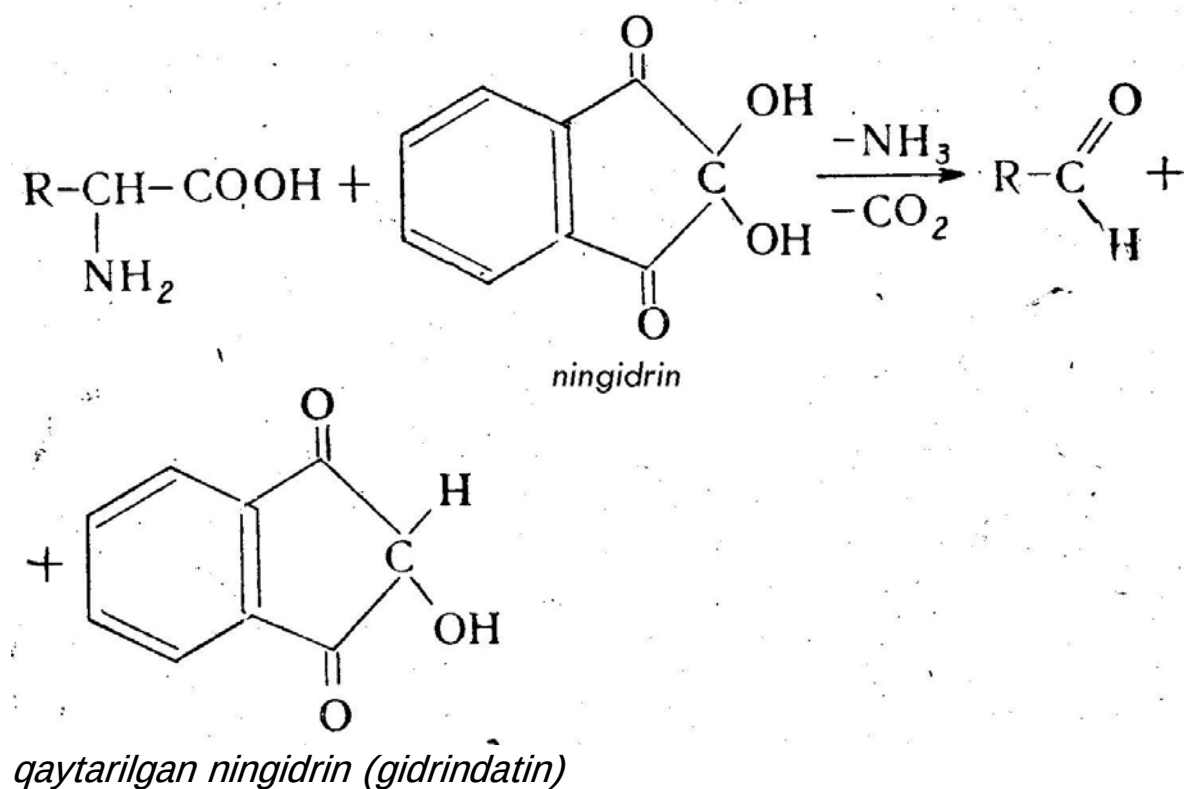
3-tajriba. Ksantoprotein reaksiyasi.

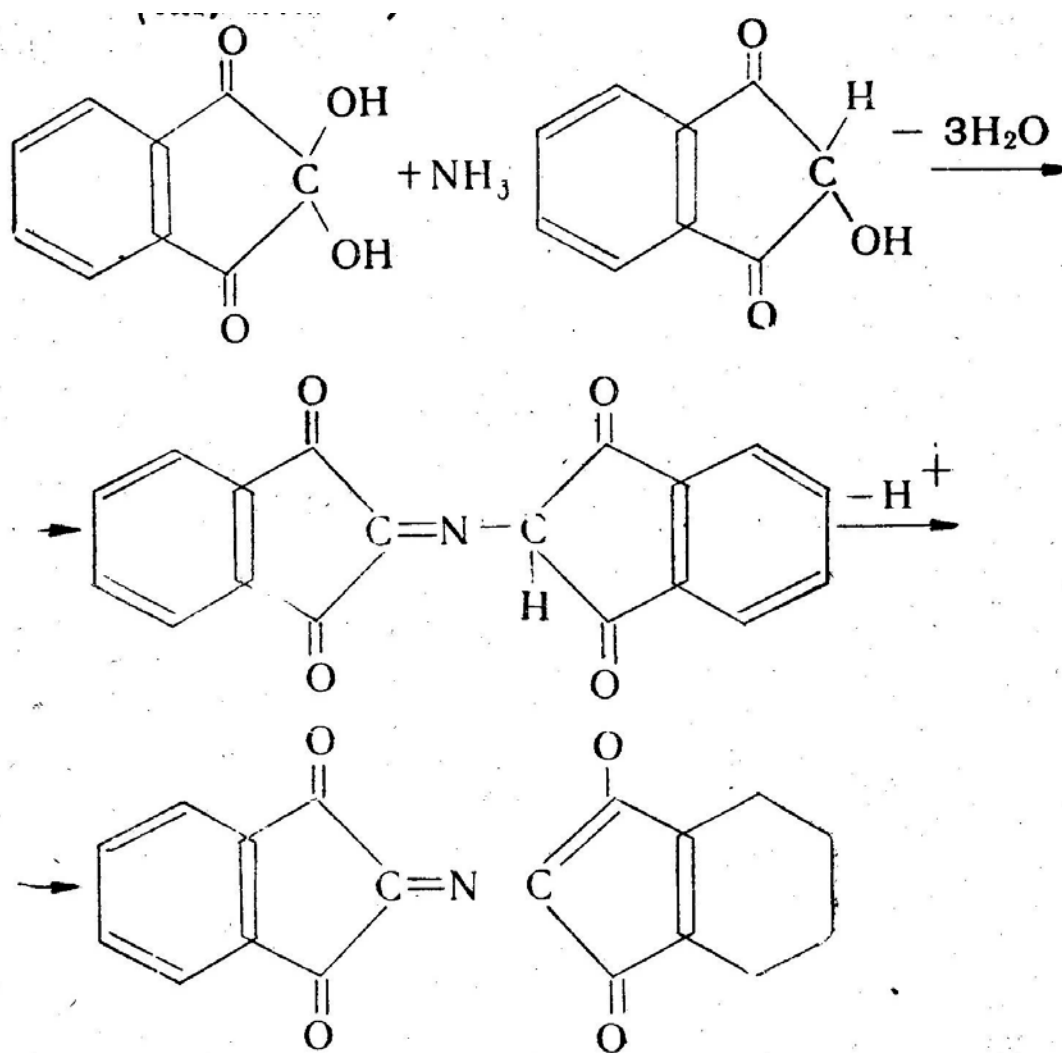
Ksantoprotein reaksiyasi oqsillar molekulosidagi tarkibida benzol yadrosi bor siklik aminokislotalarga xos reaksiyadir. Ko`pchilik oqsillar konsentrlangan nitrat kislota qo`shib qizdirilganda sariq rangga kiradi, ishqoriy muhit hosil qilinsa, qizg`ish to`q sariq rangga o`tadi. Bu reaksiya aromatik aminokislotalardagi bezol yadrosining Konsentrlangan nitrat kislota ta'sirida nitrolanishiga asoslangan. Hosil bo`lgan nitrobirikma ishqoriy muhitda xinoid ko`rinishiga o`tib, nitron kislotalari va ularning tuzlarini hosil qiladi.

Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi bug`doy yoki chigit oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 0,1 %li tirozin eritmasidan quyiladi. Hamma probirkaga 3-4 tomchidan Konsentrlangan nitrat kislota qo`shib qizdiriladi. Uchala probirkadagi suyuqlik sariq rangga kiradi. Aralashma sovutilgach, ammiak yoki natriy gidroksid yordamida ishqoriy muhit hosil qilinadi va qizg`ish – sariq rang paydo bo`lishi kuzatiladi.

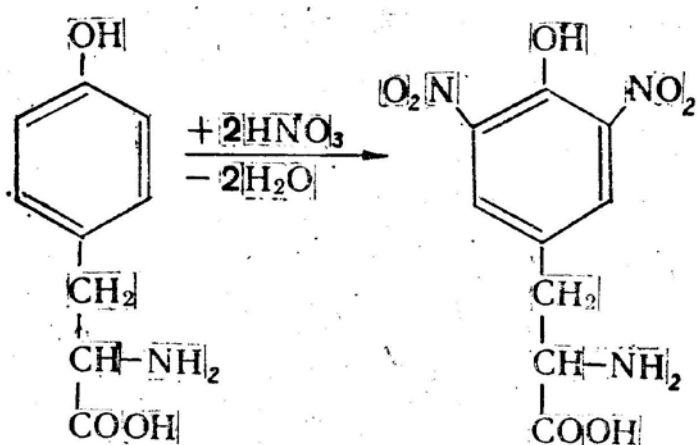
4-tajriba. Millon reaksiyasi.

Millon reaksiyasi oqsil molekulosidagi tirozinga xosdir. Tarkibida tirozin aminokislotalari bor oqsillar bir valentli simobning nitrat va nitrat kislotadagi eritmasi ta'sirida oq cho'kma hosil qilib, qizdirilganda qizaradi. Bu o'ziga xos qizil rang fenol, salitsilat kislotasi, pirokatexinlar bilan ham hosil bo'ladi. Ammo tarkibida tirozin bo'lmagan oqsillar – jelatina, klupein, salmin va boshqalar Millon reaksiyasini bermaydi.



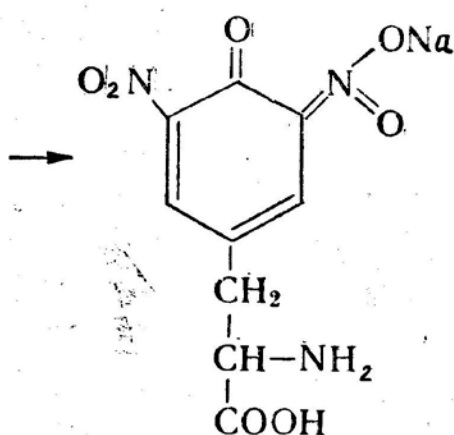
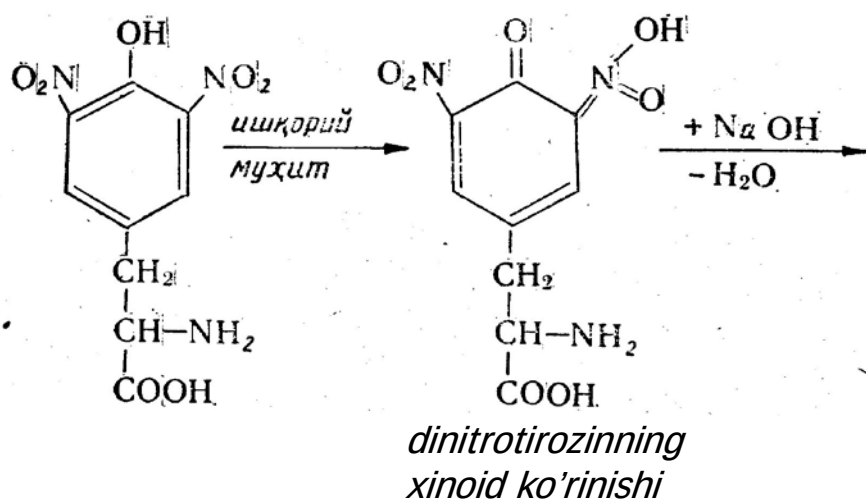


ko'kish binafsha rangli kompleks



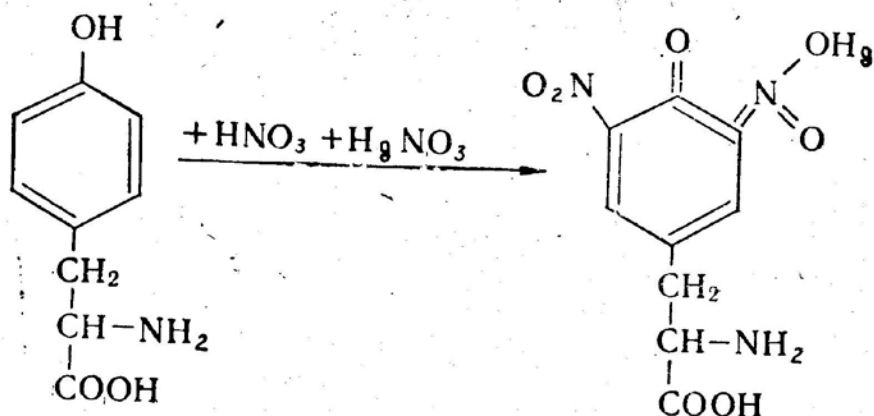
tirozin

dinitrotirozin (sariq rangli)



xinoid ko'rinishdagi dinitrotirozinning natriyli tuzi

Millon reaksiyasining ximiyaviy mohiyati ksantoprotein reaksiyasini eslatadi:



tirozin

dinitrotirozinning simobli tuzi

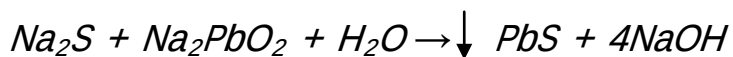
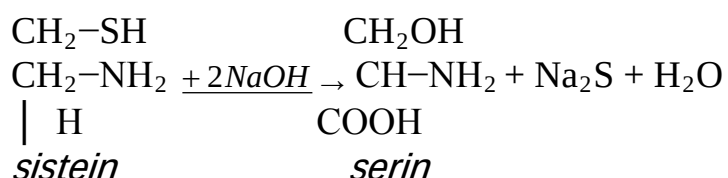
Reaksiya uchun ortiqcha miqdorda Millon reaktivi qo'shishdan ehtiyot bo'lish kerak. Chunki bu reaktiv tarkibida nitrat kislota bo'lganligi sababli oqsil bilan sariq rang hosil qilib, Millon reaksiyasiga halaqit berishi mumkin.

Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml 1 %li tuxum oqsili, ikkinchisiga 1 ml 0,1 % li tirozin, uchinchisiga 0,1 % li 1 ml fenol eritmasidan solib, 5 tomchisidan Millon reaktividan tomizib, ohista qizdiriladi. Oqsilli probirkada avval cho`kma hosil bo`ladi. Uchala probirkadagi aralashma sekin –asta qizil rangga kiradi.

5-tajriba. Fol reaksiyasi.

Fol reaksiyasi yordamida oqsillar molekulosi tarkibida kuchsiz bog`langan oltingugurt bo`lgan aminokislotalar sistein va sistinni aniqlashga imkon beradi. Metionin oltingugurt bilan kuchli bog`langanligi uchun bu reaksiyani bermaydi.

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



Qora rangning ravshanlik darajasi eritmadagi oqsilning QONsentratsiyasiga hamda oqsil molekulosidagi sistein va sistinning miqdoriga bog`liq.

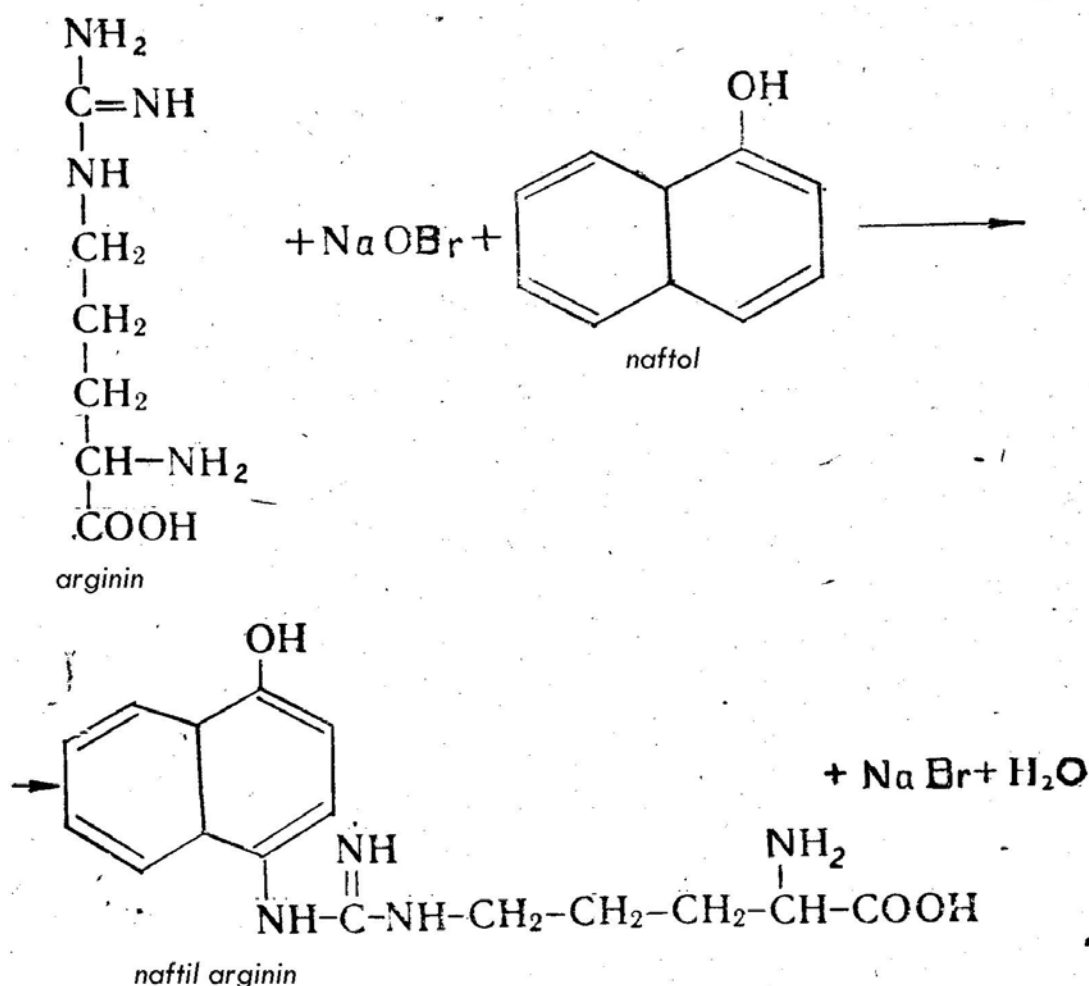
Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1 % li bug`doy yoki soya oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 1 % li jelatina eritmasidan quyib, ularning ularning ustiga 5 tomchi 30 % li nitriy gidroksid va 1-tomchi 5 % li qo`rg`oshin asetati qo`shib, yaxshilab qaynatiladi. Birinchi ikkita probirkadagi aralashma qorayadi va qora rangli PbS cho`kmasi hosil bo`ladi. Uchinchisining rangi o`zgarmaydi, chunki jelatina tarkibida oltingugurt bor aminokislotalarga ega emas.

6-tajriba. Sakaguchi reaksiyasi.

Sakaguchi reaksiyasi guanidin NH – C(NH) – NH₂ gruppaga xos reaksiya bo`lib, bunda turli oqsillar yoki polipeptidlar ishqoriy sharoitda gipobromid va a-naftol bilan

reaksiyaga kirishib, qizil rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiyaning unumi oqsillar tarkibidagi arginin aminokislotasiga bog'liq.

Arginin gipobromid ta'sirida α -naftol bilan kondensasiyalanadi. Reaksiya vaqtida brom α -naf-ol molekulosidagi naftalin yadrosining β -hol-tiga o'tadi:

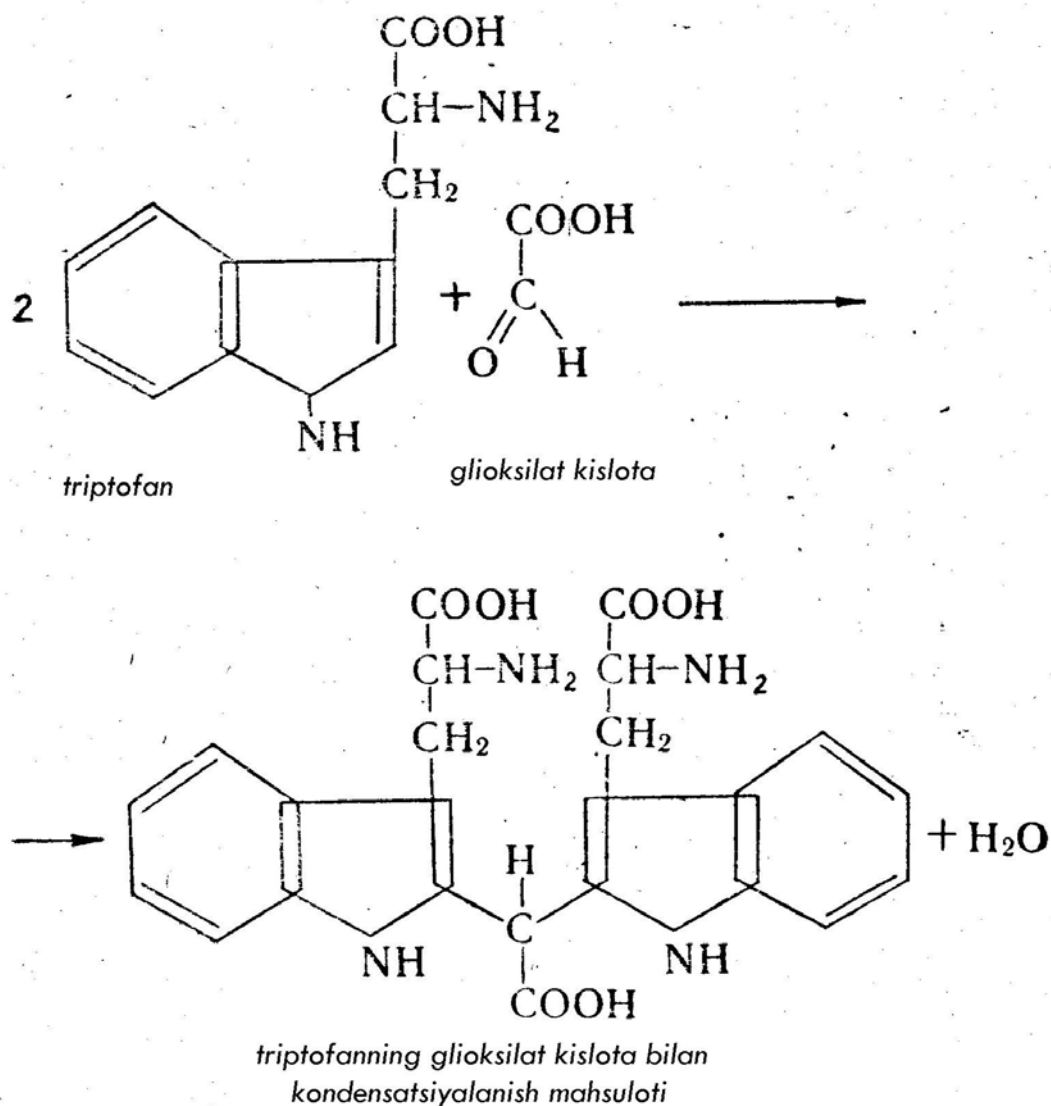


Reaksiya faqat argininga xos bo'lmasdan, balki tarkibida guanin gruppasi bor boshqa moddalar ham Sakaguchi reaksiyasini berishi mumkin. Lekin bu birikmalar oqsil tarkibida uchramaydi, shuning uchun reaksiyaga halaqit bermaydi.

Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 %li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1% li bug'doy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 0,05 % li arginin eritmasidan quyib, hamma probirkalarga 5 tomchidan 10 % li o'yuvchi natriy, 3 tomchi α -naftolning 0,1 % li spirtidagi eritmasi va (1 dan 5 tomchigacha) 2 % li gipobromid eritmasidan tomiziladi. Probirkalardagi suyuqlik qizil rangga kiradi. Ortiqcha miqdordagi gipobromid reaksiyaga halaqit beradi.

7-tajriba. Adamkevich reaksiyasi.

Adamkevich reaksiyasi indol halqasi uchun xos bo'lib, oqsillar va polipeptidlar Konsentrlangan sulfat kislota ishtirokida glioksil kislota bilan qizg'ish – binafsha rang beradi. Bu reaksiya oqsillar tarkibidagi triptofanga bog'liq bo'lib, kislotali muhitda glioksil kislotaning aldegid gruppasi bilan reaksiyaga kirishib, rangli moddalar kondensati hosil bo'ladi. Reaksiya mexanizmini quyidagicha ifodalash mumkin:



Glioksilat kislota doimo oz miqdorda muz-sirka kislota tarkibida bo'ladi, shuning uchun bu kislota glioksilat kislota olinadigan manba sifatida ishlatiladi. Hosil bo'lgan rangning ravshanlik darajasi oqsil tarkibidagi triptofaning miqdoriga bog'liq.

Ishning bajarilishi. 4 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1 % li bug'oy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi jelatina, to'rtinchisiga 5 tomchi 0,05 % li triptofan eritmasidan quyib, ularning har

biriga 5 tomchidan muz-sirka kislota quyiladi. Probirkalardagi suyuqlik sekin-asta qizdiriladi, so`ngra sovutilgach, ohistalik bilan probirka devor bo`ylab 10 tomchidan Konsentrlangan sulfat kislota tomiziladi. Bir oz turgandan keyin 1; 2- va 4 – probirlarda 2 qavat suyuqlik hegarasida qizg`in – binafsha rang paydo bo`ladi. Agar probirkalar qaynab turgan suv hammomiga quyilsa, rangning rivojlanishi tezlashadi. Jelatina molekulosida triptofan bo`lmaganligi uchun uchinchi probirkada rang paydo bo`lmaydi.

2-ISH. OQSILLARNI MIQDORIY JIHATDAN ANIQLASH

Turli biologik obyektlarda, to`qima ekstraktlarida oqsilni miqdoriy jihatdan aniqlash uchun fizik, ximik, biologik usullar qo`llaniladi.

Fizik usullardan eng oddiysi toza oqsilning massasini tortib aniqlash hisoblanadi. Biroq oqsil gigroskopik modda bo`lganligi sababli uning tarkibidagi suvni batamom chiqarib yuborish qiyin. Bundan tashqari, turli biologik preparatlardan oqsilni butunlay ajratib olish ham qiyin. Shu sababli bu usul kam qo`llaniladi.

Oqsillarni miqdoriy jihatdan aniqlashda quyidagi: refraktometrik (oqsil eritmalarini nur sindirish ko`rsatkichiga qarab), spektrofotometrik (quyosh nuri spektrinning ultrabinafsha sohasidagi nurni yutishiga qarab) va polyarografik (tarkibida oqsil bor sistemaning toq kuchi bilan kuchlanish orasidagi bog`liqlikni ko`rsatuvchi egri chiziqqa qarab aniqlash) usullardan keng foydalaniladi.

Oqsil miqdorini aniqlashda eng keng tarqalgan – kolorimetrik usul bo`lib, oqsillar u yoki bu xil reagentlar bilan reaksiyaga kirishganda hosil bo`ladigan mahsulotlar rangining ravshanlik darajasini o`lchashga asoslangan. Bunday hollarda oqsil konsentrasiyasini hisoblash uchun kolibrlovchi egri chiziq chizish kerak.

BIURET REAKSIYASI YORDAMIDA OQSIL MIQDORINI ANIQLASH

Maqsad: Biuret reaksiyasi yordamida oqsil miqdorini aniqlash bo`yicha ko`nikma va malakalarni hosil qilish.

Kerakli asbob va reaktivlar: fotoelektrokolorimetr, probirkalar, 1,2 va 10 ml li darajalangan pipetkalar. Natriy gidroksidning 10 % li eritmasi, 1 % li natriy xlorid eritmasi, Biuret reaktivi, qon, gemolimfa yoki tekshiriluvchi suyuqlik. Biuret reaksiyasi asosida oqsillarni miqdoriy jihatdan aniqlash oddiy tajriba bo`lib, topilishi qiyin bo`lgan va qimmat turadigan reaktivlar talab qilmaydi. Bu usul biologik suyuqliklarda va to`qima ekstraktlarida oqsilni aniqlash uchun qo`llanishi mumkin.

1-tajriba. Kalibrlash egri chizig`ini chizish.

Ishning bajarilishi. Buning uchun 1 ml eritmada 1-10 mg gacha oqsil bo`ladigan uch seriya standart eritmalar (2.4.6.8.10 mg/ml) tayyorlanadi. Bu maqsad uchun kristall oqsil o`rniga, avvalo oqsil miqdori refraktometrik usulda aniqlab olingan qon zardobi yoki gemolimfadan ham foydalanish mumkin. Oqsil eritmalarini kerakli Konsentrasiyasigacha suyultirish uchun 1 % li natriy xlorid eritmasida foydalaniladi.

Birinchi seriya uchun bitta probirka olib, unga oqsilning har bir standart eritmasidan 1 mldan quyib, ustiga 8 ml dan biuret reaktividan qo`shiladi. Uy temperaturasida 30 minut davomida qoldirib quyilgandan keyin fotoelektrkolorimetrda 1 sm sig`imli kyuvetalarda 540 nm uzunligida rangning ravshanlik darajasi o`lchanadi. kontrol uchun oqsil o`rniga 1 ml distillangan suv quyib, qolgan operasiyalar bir xilda olib boriladi. Har safar yangi standart oqsil eritmolari olinib, aniqlash uch marta takrorlanadi. Olingan qiymatlariga qarab qalibrlash egri chizig`i chiziladi.

2-tajriba. Oqsil miqdorini aniqlash.

Ishning bajarilishi. 1 ml qon zardobi yoki 1 ml gemolimfa 1 % li natriy xlorid eritmasi bilan 10 marta suyultiriladi. Probirkaga 1 ml suyultirilgan eritmada olib, unga 8 ml biuret reaktivi qo`shilib, yaxshilab aralashtiriladi va 30 minutcha tinch qoldiriladi. So`ngra 1 ml li kyuvetda 540 nm da kontrolga qarshi fotometrlanadi. Tekshirilayotgan manbadagi oqsil miqdori kalibrlash grafigidan foydalanib, suyultirish darajasini etiborga olgan holda topiladi.

3-ISH. OQSILLARNING CHO`KTIRISH REAKSIYALARI.

Maqsad: oqsillarga hos cho`ktirish reaksiyalarini laboratoriya tajribalari asosida o`rganish, tajribalarni bajarish orqali cho`ktirish reaksiyalarini haqida to`liq ma'lumot berish.

Kerakli asbob va reaktivlar: probirkalar, gaz gorelka yoki spirt lampasi, 1- 2 ml li pipetkalar, natriy gidroksidning 10 % li eritmasi, sirka kislotaning 1 % li eritmasi, sirka kislotaning 10 % li eritmasi, natriy xloridning to`yingan eritmasi, 5 % li temir (III)- xlorid eritmasi, 5 % li qo`rg`oshin asetat eritmasi, 7 % li mis (II)-sulfat eritmasi, konsentrlangan nitrat kislota, konsentrlangan sulfat kislota, trixlorisirka kislotaning 10 % li eritmasi, sulfosalisil kislotaning 10 % li eritmasi, pikrin kislotaning 10 % li eritmasi, taninning to`yingan eritmasi, kaliy ferrosianidning 5 % li eritmasi, spirtning 96 % li eritmasi yoki atseton.

1- t a j r i b a . Oqsilni qaynatish yo`li bilan cho`ktirish.

Oqsillarning eritmaları 70⁰ - 80⁰ C gacha qizdirilganda oqsil denaturasiyaga uchrab cho`kmaga tushadi. Kuchli kislotali va ishqorli eritmalarda oqsil cho`kmaga tushmaydi, chunki bunday sharoitda oqsil musbat yoki manfiy zaryadlanib qoladi. Bundan tashqari qisman gidroliz ham ketishi mumkin.

Ishning bajarilishi. 5 ta probirka olib 10 tomchidan 1 % li tuxum oqsilidan tomizib, birinchisiga 1 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 1 tomchi 1 %li sirka kislota, uchinchisiga 1 tomchi 10 % li sirka kislota, to`rtinchisiga 1 tomchi 10 % li sirka kislota eritmasi va 1 tomchi natriy xloridning to`yingan eritmasi, beshinchisiga 1 tomchi 10 % li NaOH eritmasi tomizib qaynatiladi.

Birinchi, ikkinchi va to`rtinchi probirkalarda neytral kuchsiz kislotali va elektrolitli muhit bo`lganligi uchun cho`kma hosil bo`ladi. Uchinchi va ularning birida oqsil molekulosi musbat, ikkinchisida manfiy zaryadlanib turadi.

Ishning natijalari jadval ko`rinishida ifodalanadi:

Neytral muhit	Kuchsiz kislotali muhit	Kislotali muhit	Elektrolit	Ishqoriy muhit
Xulosa				

Oqsillarni cho`ktirish reaksiyalari

Oqsillarni moddalar nomi	cho`qtiruvchi gruppalarining	Foydalanilgan reaktivlar	Cho`kmaning tabiati va nomi	Cho`ktirish reaksiyasining prinsipi va xususiyati

Oqsillarning tuzilish usuli bilan cho`ktirish

Oqsil fraksiyasining nomi	Foydalanilgan tuz	To`yinish darajasi	Muhit reaksiyasi
Xulosa :			
Eslatma: Birinchi grafaga albumin, globulin yoziladi.			

2-tajriba. Oqsillarni og`ir metal tuzlari ta'sirida cho`ktirish.

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

Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib hammasiga 5 tomchidan 1 % li tuxum oqsili eritmasi, birinchisiga 1 tomchi 5 % li FeCl_3 , ikkinchisiga 1 tomchi $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, uchinchisiga 1 tomchi 7 %li CuSO_4 eritmasidan tomizib, cho`kma hosil bo`lishi kuzatiladi. So`ngra uchala probirkaning har biriga 5-10 tomchidan yuqoridagi tuz eritmalaridan qo`shiladi va cho`kmalarining erib ketishi kuzatiladi.

3-tajriba. Oqsillarni organik va mineral kislotalar ta'sirida cho`ktirish.

Oqsil organik kislotalar (trixlorsirka kislota, sulfosalisil kislota) va konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida denaturasiyaga uchraydi, suvsizlanishi va zaryadsizlanishi tufayli cho`kmaga tushadi. Sulfat va xlorid kislotalar uzoq vaqtda ta'sir qilsa, oqsil qisman gidrolizga uchrab cho`kma asta – sekin erib ketadi. Nitrat kislota cho`kma sekin eriydi. Organik kislotalar ta'sirida cho`ktirish keng qo`llanilmoqda. Trixlorirka kislota miqdoriy analizlarda oqsilsiz filtrate olish uchun, sulfosalisil kislota, nitrat kislota klinik laboratoriyalarga siydik va boshqa biologik suyuqliklardagi oqsilni aniqlash uchun ishlatiladi.

Ishning bajarilishi. 1) 2 ta probirka olib, birinchisiga 10-15 tomchi konsentrlangan nitrat kislota, ikkinchisiga shuncha miqdorda konsentrlangan sulfat kislota quyiladi. Har ikkala probirkani 45° li burchak hosil qilib qiyshaytirib, 10-15 tomchi 1 % li oqsil eritmasidan ohistalik bilan tomiziladi. Har ikki qavat suyuqlik chegarasida yupqa oqsil cho`kmasining pardasi hosil bo`ladi:

2) 2 ta probirkaga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili tomizilib, birinchisiga 1-2 tomchi 10 % li sirka kislota, ikkinchisiga 1-2 tomchi 10 % li sulfosalisil kislota qo`shilib, oq cho`kma hosil bo`lishi kuzatiladi.

4 - t a j r i b a . Oqsilni alkaloid reaktivi bilan cho`ktirish.

Oqsil eritmasiga tanin, pikrat kislota, sariq qon tuzi kabi alkaloid reaktivlari qo`shilsa cho`kmaga tushadi. Bu reaksiya oqsil molekulosidagi, alkaloidlarni eslatuvchi azotli geterosiklik gruppalar (pirrol, indol, imidazol halqalari va boshqalar) bo`lishiga asoslangan sirka kislota yordamida kuchsiz kislotali sharoit yaratilsa, oqsil zarrachasiga musbat zaryad paydo bo`ladi va manfiy zaryadlangan cho`ktiruvchi ionlari bilan o`zaro ta`sirlashuvini osonlashtiradi. Kuchli mineral kislotalar organik kislotalar dissosilanishini susaytirib oqsilni alkaloid reaktivlari bilan cho`ktirishga halaqit beradi. Alkaloid reaktivlariga tannin, fosfovolfromat kislota, fosfomolibdat kislota, simob yodidning kaliy yodiddagi eritmasi, vismut yodidning kaliy yodiddagi sariq qon tuzi va boshqalar kiradi.

Ishning bajarilishi. Ucha probirka olib, birinchisiga 2-3 tomchi 10 %li pikrin kislota, ikkinchisiga 2-3 tomchi taninning to`yingan eritmasidan, uchinchisiga 2-3 tomchi 5 % li kaliy ferrosianid (sariq qon tuzi) eritmasidan tomizilib, hammasiga 1 tomchidan 10 % li sirka kislota, 5 tomchidan 1 % li tuxum oqsili eritmasidan tomiziladi. Uchala probirkada ham cho`kma hosil bo`lishi kuzatiladi.

5 - t a j r i b a . Oqsillarni organik erituvchilar ta'sirida cho`ktirish.

Oqsil eritmasiga ko`p miqdorda spirt yoki aseton qo`shilsa, oqsilning loyqa yoki pag`a – pag`a cho`kmasi tushadi

.Bu reaksiya oqsil qolloid zarrachasining suvsizlanishiga asoslangan. Oqsil neytral yoki kuchsiz kislotali eritmalarda oson cho`kadi. Agar elektrolit qo`shilsa, cho`kish tezlashadi. Organik erituvchilar past temperatura 0 – 15<sup>0</sup> da qisqa vaqt ichida ta'sir qilsa, oqsil nativ holatini saqlab qoladi, bu erituvchilar ko`proq ta'sir qilsa, oqsil denaturasiyaga uchraydi.

Ishning bajarilishi. 5 tomchi 1 %li tuxum oqsiliga 20 – 25 tomchi 96⁰ li spirt yoki aseton qo`shiladi. Eritma loyqalanadi. Uning ustiga 1 tomchi NaOH ning to`yingan eritmasidan qo`shiladi. Bir oz turgach oqsil cho`kmaga tushadi. O`tkazilgan tajribalarning natijalari jadval ko`rinishida ifodalanadi.

4-ISH. AMINOKISLOTALARNI XROMATOGRAFIK USULDA AJRATISH

Maqsad: aminokislotalarni xromatografik usulda ajratish haqida ma'lumot berish, o'tkaziladigan tajribalar orqali talabalarga aminokislotalar xromotagrammalarini ko'rsatish.

Kerakli asbob va reaktivlar: eni 1,5 sm, uzunligi 12-15 sm bo'lgan filtr qog'oz, ip, qora grafit qalam, kapillyar yoki mikropipetka, diametri 2-2,65 sm, uzunligi 18-20 sm li probirka, pipetkalar, termostat, quritgich shkaf, pulverizator, diametri 12 sm li filtr qog'oz, o'lchov birobirkasi, filtr qog'oz, qaychi, pinset, lineyka, Petri kosachasi, glyutamin kislota, alanin, leysin, to'yingan fenol yoki butanol eritmasi, o'simlik yoki hayvon to'qimasidan ajratib olingan ekstrakt.

Hozigi vaqtda oqsillar, aminokislotalar, nuklein kislotalar, uglevodlar, lipidlar va boshqa metabolitlarni (moddalar almashinuvining oraliq mahsulotlarini) bir-birini ajratish uchun xromatografik usuldan foydalaniladi.

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

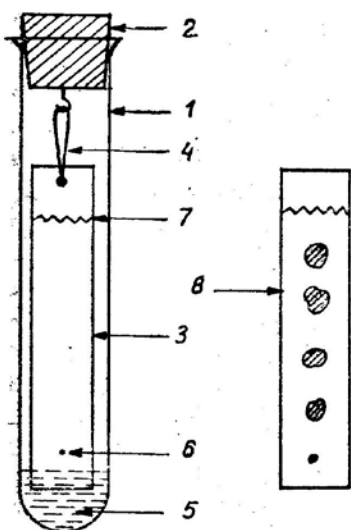
Hozirgi zamon xromatografik usullari oz miqdordagi murakkab aralashmalardan alohida komponentlarni juda tez ajratib olishga imkon beradi.

Aminokislotalarni ajratish uchun eng qulay va nisbatan anig'i qog'ozda taqsimlovchi va yupqa qavatli xromatografiya hisoblanadi. Buning uchun yaxshi sifatli oddiy filtr qog'ozidan foydalanish mumkin. Bu usul turli xildagi aminokislotalarning qisman aralashadigan ikki xil suyuqliklarda, masalan, biri suvda, ikkinchisi suv bilan to'yintirilgan organik erituvchi (fenol, butun spirtning sirka kislota bilan aralashmasi va boshqalar)da har xil eruvchanligiga asoslangan. Suv fazasi harakatsiz bo'lib, u inert material – selliyulozaga xromatografiya kamerasidagi nam bilan to'yingan atmosferadagi suv bug'lari ko'rinishida shimilgan bo'lib, qog'oz tashqi ko'rinishidagi quruq bo'ladi. Organik eruvchi esa harakatdagi faza hisoblanadi. Aminokislota eruvchanligi suvda qancha yuqori bo'lsa, organik erituvchida shuncha kam yoki aksincha bo'lishi mumkin.

Bu usulning mohiyati shundaki, xromatografik qog'ozning bir nuqtasiga yoki bitta chiziq bo'ylab tekshirilayotgan aminokislotalar aralashmasi yoki oqsil gidrolizati tomizilib quritiladi, so'ng qog'ozning shu chekkasi erituvchilar aralashmasiga tushiriladi. Erituvchi kapillyar kuchlar yordamida qog'oz bo'ylab harakatlanadi va o'z yo'lida uchragan moddalarni, xususan aminokislotalarni eritib harakatlanadi. Aminokislotalarning qog'oz bo'ylab harakati – eruvchanligi ularning ximiyaviy tuzilishi va xossalriga bog'liq. Erituvchi qog'ozning ikkinchi chekkasiga yaqinlashganda prosess to'xtatiladi, xromatografik qog'oz erituvchi to'la bug'lanib ketguncha quritiladi. Shundan keyin xromatogrammaga aminokislota bilan rang beruvchi reagent – ningidrin eritmasi purkaladi. Natijada qog'ozning har xil zonalarida rangli dog' - aminokislota dog'lari paydo bo'ladi, bu esa aminokislotalarning bir – biridan ajragandan darak beradi.

Alohida aminokislotalarning siljish tezligi taqsimlanish koeffisienti (R_f) bilan ifodalanishi mumkin. Taqsimlanish koeffisienti deb aminokislota tomizilgan joydan aminokislota dog'ining markazigacha bo'lgan masofa (millimetrlarda) (a) ning start nuqtadan erituvchi frontigacha bo'lgan masofaga nisbatiga aytiladi.

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



1- rasm. Yuqoriga ko'tariluvchi xromatografiya:

- 1 – keng diametrli probirka; 2 – tiqin (probka);
- 3 – xromatografiya qog'ozi; 4 – xromatografiya qog'ozini ilib qo'yish uchun ip;
- 5 – erituvchi sistema;
- 6 – start nuqta; 7 – erituvchi fronti;
- 8 - xromatogramma

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

Xromatogrammada aminokislotalarning taqsimlanish joyini aniqlash uchun “guvoh” moddalardan foydalanish qulaydir, ya’ni shu xromatogrammaning o’ziga aniq, toza individual aminokislotalar – “guvoh” moddalar tomizilib ko’riladi.

Xromatografiya jips yopiladigan kameralarda olib borishi kerak, chunki bu erituvchini bug’lanib ketishdan saqlaydi, kameraning erituvchi bug’lari bilan to’yinishi ta’minlaydi. Bu maqsadlarda maxsus xromatografik kameralar yoki oddiy probirka, Petri kosasidan foydalanish mumkin.

Biz quyida xromatografiyaning ikkita oddiy usuliga: a) yuqoriga qo’tariluvchi xromatografiya, b) radial xromatografiyaga to’xtalib o’tamiz.

1-usul. Yuqoriga ko’tariluvchi xromatografiya.

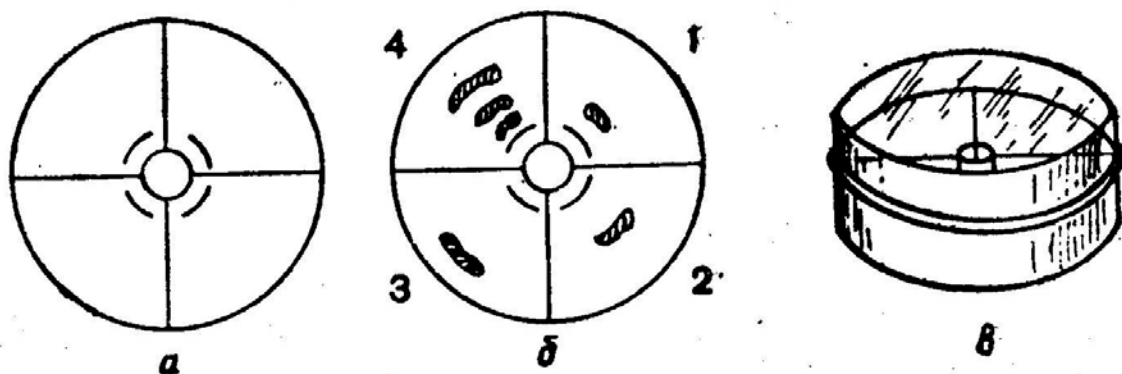
Ishning bajarilishi. Eni 1, sm, uzunligi 12-15 sm keladigan filtr qog’oz kesib olinib, yuqori qismiga 15-20 sm uzunlikda ip o’tkazib bog’lab qo’yiladi. Qog’oz lentaning pastki chekkasidan 1 sm yuqoriga 3-4 mm diametda qora grafit qalamda doira chizib qo’yiladi. Doiraning o’rtasiga kapillyar yoki mikropipetka yordamida aminokislota aralashmasi (masalan, glyutamat kislota, alanin va leysin aralashmasi) tomiziladi va quritiladi.

Diametri 2-2,5 sm, uzunligi 18-20 tomchi suvga to’yingan fenol quyiladi. Tayyorlangan qog’oz lentani bog’langan ipdan ushlab 2-3 mm chuqurlikka – erituvchiga botguncha tushirib, qog’ozni probirka devoriga tekkizmay va aniq vertikal holatini saqlab, probirka bilan bekitib qo’yiladi. Probirka 35-40⁰ li termostatda 90-120 minut davomida qoldiriladi. Shu vaqt ichida erituvchi fronti 10-12 sm ga ko’tariladi. Ko’rsatilgan vaqt o’tganadan keyin xromatogramma olinib, 10-15 minut davomida – to fenol yoki boshqa erituvchi batamom uchib ketguncha 50-100⁰ li quritgich shkafga osib qo’yiladi.

Erituvchi uchib ketgach, qog’oz lentani olib shtativga ilib qo’yiladi va unga 0,1-0,5 % li ningidrin eritmasidan pulverizator yordamida purkaladi yoki kyuvetaga ningidrin eritmasi quyib, unga xromatografik qog’oz botiriladi. Yana 100-110⁰ li quritgich shkafga 5-6 minut ilib quyiladi. Natijada qog’ozning aminokislota to’xtagan joyi ko’k, ko’kish-binafsha rangga bo’yaladi. Keyin lineyka yordamida har bir aminokislota uchun PF-aniqlaniladi.

2-usul. Radial xromatografiya.

Ishning bajarilishi. Radial xromatografiya uchun 12 sm diametrli (Petri kosachasi diametridan kattaroq) qog'oz diskni qalam bilan 4 teng qismga bo'lib, o'rtasiadan diametri 1 sm li teshik ochiladi va har bir sektorning boshlanishida start nuqta uchun qalam bilan doira chiziladi.



2-rasm. Radial xromatografiya.

a - xromatografiya qog'ozi, b - xromatogramma; v – Petri kosachasi:

1- alanin; 2 – glutamin kislota; 3 – leysin; 4 - aminokislotalar aralashmasi.

Filtr qog'ozdan balandligi 2 sm bo'lgan naycha shaklidagi oyoqcha tayyorlab xromatografik disk o'rtasiadagi teshikka o'rnatiladi. So'ngra Petri kosachasining qopqog'iga qo'yib, xromatografik qog'ozning har bir qismidagi start doiraga kapillyar yordamida quyidagi aminokislota tomiziladi: 1) alanin, 2) glutamin kislota, 3) leysin, 4) aminokislotalar aralashmasi. Petri kosachasining tag qismiga 10 ml suvga to'yintirilgan fenol quyib, ohistalik bilan qog'oz pilik erituvchiga tegib turadigan qilib joylashtiriladi va 1 soat davomida xona temperaturasida qoldiriladi. Petri kosachasini shunday tanlash ma'qulki, ostki va ustkki (qopqoq) qismining diametri teng bo'lsin. Natijada jips berkitilgan kamera hosil bo'ladi. Ko'rsatilgan vaqt ichida erituvchi xromatografik qog'oz chekkasiga borgan bo'lsa, qopqoq ochilib pinset yordamida xromatografik diskni chekkasidan ushlab 10 minut davomida 100-120⁰ li qurituvchi shkafga yoki termostatga qo'yiladi. Bu vaqt ichida erituvchi batamom uchib qetadi va aminokislotalar ham fiksatsiyalanadi. So'ngra xromatogrammani gorizontol holatga qo'yib, pulverizator bilan ningidrin eritmasidan purkaladi va 5-10 minut davomida

100-120⁰ li termostatga qo'yiladi. Xromatogramma daftarga yopishtirib qo'yiladi yoki rasmi chizib olinadi. Lineyka yordamida masofalar o'lchanib, har bir aminokislota uchun Rf aniqlaniladi.

5-ISH. LOURI USULI BO`YICHA OQSILNI MIQDOR JIHATDAN ANIQLASH

Maqsad: Louri usuli bo'yicha oqsilni miqdor jihatdan aniqlash metodlari mohiyatini talabalarga tushuntirish.

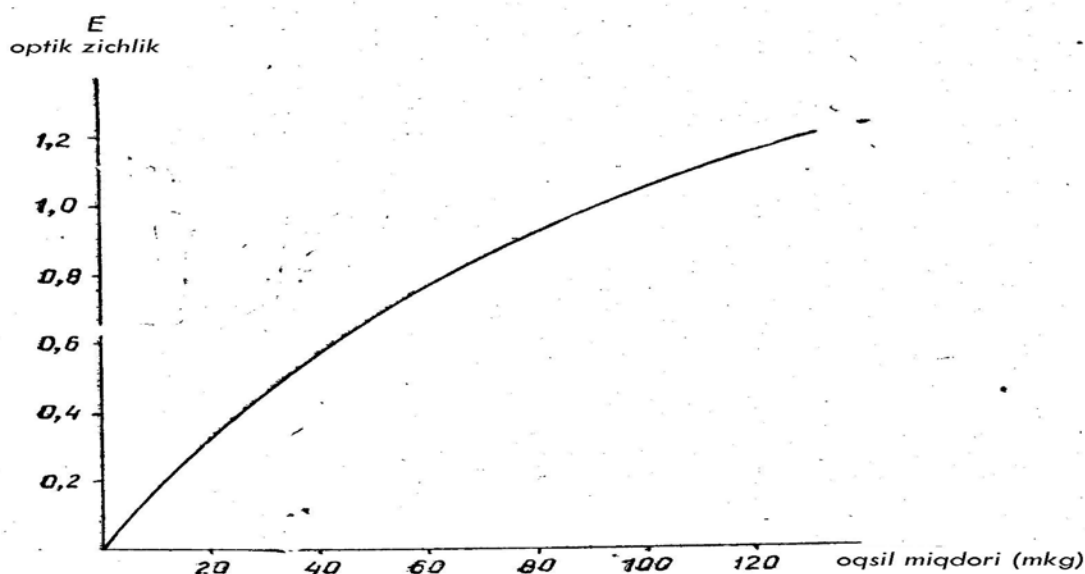
Kerakli asbob va reaktivlar: fotoelektrokolorimetr, 50 va 100 ml li o'lchov silindrlari, 2 va 10 ml li darajalangan pipetkalar, a) reaktiv, b) Foling reaktivi, kristall holidagi albumin.

Oqsilni miqdor jihatdan aniqlash usullari ichida eng keng tarqalgan va yuqori sezgirlikka ega bo'lgani Louri usulidir. Louri usuli bir vaqtning o'zida ikki xil, ya'ni biuret reaksiyasi hamda tirozin va sisteinlarga xos Foling reaktivi bilan beradigan rangli reaksiyaga asoslangan. Fosfovolframat va fosfomolibden kislotalari aralashmasi qaytarilganda yuqoridagi aminokislotalarning radiakallari bilan birikib, ko'k rangli kompleks hosil qiladi. Bu qaytarish reaksiyasida mis sulfatning ishqordagi eritmasi oqsil bilan hosil qilgan misli kompleksi ishtirok etsa kerak. Louri usuli suyultirilgan eritmalarida, ion alamashinuv xromatografiyasi va molekulyar elaklarda oqsillarni fraksiyalashda oqsil miqdorini aniqlash imkonini beradi.

1-tajriba. Kalibrlash egri chizig'ini chizish

Ishning bajarilishi. Ishni boshlashdan oldin 49 ml A eritmaga 1 ml B eritma aralashtiriladi. 1 ml eritmada 20 dan 400 ml gacha oqsil (kristall holatidagi tuxum yoki qon zardobi albumini, qazein yoki boshqa) bo'lgan standart eritmalar seriyasi tayyorlanadi. Agar kristall holatidagi oqsil bo'lmasa, qon zardobi yoki hashoratlar gemolimfasidan (avval oqsil miqdori refraktometrik usulda aniqlab olinadi) foydalanish mumkin. 5 ta seriydagi standart eritmalar tayyorlangach, har biridan 1 ml dan olib, A va B eritmalar aralashmasidan 4 ml dan quyiladi. Suyuqliklar yaxshilab aralashtirilgach, 10 minutga xona temperaturasida qoldiriladi. So'ngra aralashmaga tezlikda pipetka yordamida 0,4 ml Foling reaktividan qo'shib, bir soatcha (30-90

minutgacha) rang rivojlanishi uchun qoldiriladi. Shundan keyin fotoelektrikolorimetr yoki spektr fotometrda 750 nm da optik zichlik aniqlaniladi. 5 seriya standart oqsil eritmalari bilan Louri reaksiyasi bajarilgandan so'ng grafik tuziladi. Ordinats o'qiga optik zichlik, abssissa o'qiga oqsil miqdori qo'yilib, FEK ko'rsatkichi bo'yicha nuqtalar belgilanadi. Etalon sifatida 4 marta qayta kristallangan tuxum albumini olingan (A. E. Gurvich bo'yicha) (3-rasm).



3-rasm. Louri usulida oqsil miqdorini aniqlash uchun kalibrlovchi egri chiziq

6-ISH. OQSILLARNING IZOELEKTRIK NUQTASINI ANIQLASH

Maqsad: talabalarga oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash haqida ma'lumot berish va oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash ko'nikmalarni hosil qilish.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, shisha tayoqchalar, pipetkalar, natriy gidrofosfatning 0,2 m eritmasi, jelatina yoki tuxum sarig'ining 1 % li eritmasi, etil spirt yoki taninning 0,1 % li eritmasi, sirka kislotaning 0.1 n eritmasi, distillangan suv, natriy asetatning 0,2 M eritmasi, kazeinning 0,4 % li eritmasi, limon kislotaning 0,1 m eritmasi, sirka kislotaning 0,2 m eritmasi. Oqsillar suvda eriganda ma'lum zaryadga (musbat yoki manfiy) ega bo'ladi. Zaryadning kattaligi oqsillarning aminokislota tarkibiga, undagi ionogen gruppalar miqdori va nisbatiga bog'liq. Shu sababli oqsillar turli darajadagi *pH* muhitlarida izoelektrik holatga o'tadi, ya'ni

dissosilangan musbat va manfiy zaryadli funksional gruppalarining soni tenglashib, kolloid zarrachasining umumiy zaryadi nolga teng bo`lib qoladi.

Bunday vaqtda oqsil eritmada noturg`un bo`lib qoladi, ozgina miqdorda suv tortib oluvchi modda yoki boshqa cho`ktiruvchi qo`shilsa, oqsil tezda suv qobig`i yo`qotib eritmada batamom cho`kadi.

1-tajriba. Tuxum albumini yoki jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Ishning bajarilishi. 6 ta probirkaga jadvalda ko`rsatilgan miqdorda 0.2 M natriy asetat  $\text{CH}_3\text{COONa}$  va 0,2 m asetat kislotasi eritmalaridan quyiladi. Hamma probirkada 1 ml dan bufer aralashma tayyor bo`ladi, uning ustiga 0,5 ml dan 1 % li jelatina yoki tuxum albumini qo`shiladi. So`ngra yaxshilab aralashtirilgach 2 ml da etil spirt yoki 1 ml dan 0,1 % li tannin qo`shiladi. 5 minutdan keyin qaysi probirkada ko`proq loyqalanish paydo bo`lgani belgilanadi.

Agar loyqa bo`lmasa minus (-), aralashma loyqalansa, loyqaning quyuqligiga qarab 1,2 yoki 3 ta plyus (+) qo`yiladi. Qaysi probirkadagi loyqalanish eng yuqori bo`lsa, jadvalga qarab shu probirkadagi suyuqlikning pH darajasi, shunga qarab tekshirilayotgan oqsilning izoelektrik nuqtasi aniqlanadi.

2-tajriba. Kazenning izoelektrik nuqtasini aniqlash

7 ta probirkaga 0,02 m CH_2COOH va distillangan suv (- jadvalda ko`rsatilgan miqdorda) quyiladi. Hamma probirkaga 0,2 ml dan natriy asetatning 0,2 m eritmasida eritilgan 0,4 %li qazeindan quyiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Bu vaqtda hamma probirkalarda cho`kma hosil bo`ladi.

Qaysi probirkaning pH ko`rsatqichi kazeinning izoelektrik nuqtasiga to`g`ri kelsa, shu probirkada loyqa ko`p bo`ladi.

Jelatinaning izoelektrik	0,2 m natriy asetatning miqdori	0,2 m sirka kislotalarining miqdori (ml da)	Aralashmaning qiymati	Qo`shilgan jelatina albuminining miqdori (ml da)	Qo`shilgan taninining miqdori (ml da)	Loyqalanish darajasi
1	0,1	0,9	3,8	0,5	1	
2	0,2	0,8	4,15	0,5	1	
3	0,5	0,5	4,75	0,5	1	
4	0,8	0,2	5,35	0,5	1	
5	0,9	0,1	5,7	0,5	1	

Kazeinning izoelektrik nuqtasini aniqlash

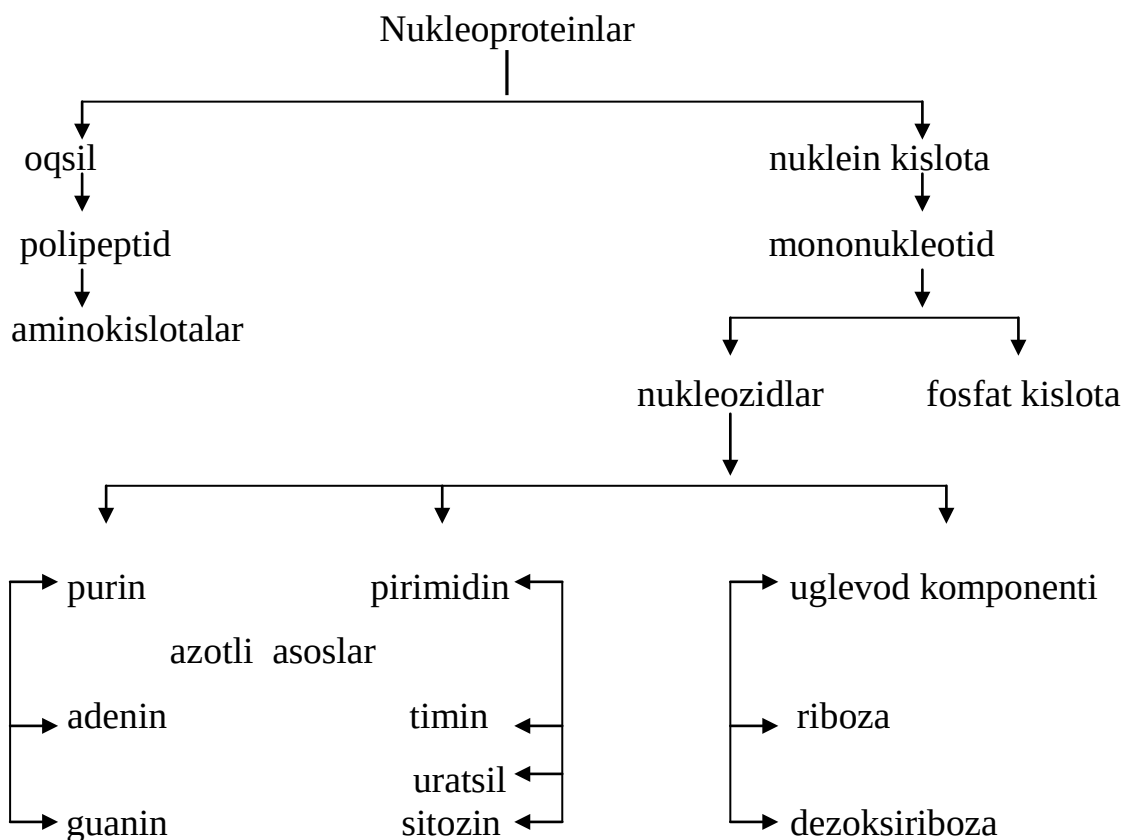
Probirka №	0,2 m sirka kislotalarining miqdori (ml da)	Suv miqdori (ml da)	0,2 m natriy asetatning 0,4 % li kazein miqdori	Aralashmaning pH darajasi	Loyqalanish darajasi
1	1,6	0,4	0,2	3,8	
2	0,8	1,2	0,2	4,1	
3	0,4	1,6	0,2	4,4	
4	0,2	1,8	0,2	4,7	
5	0,1	1,9	0,2	5,0	
6	0,06	1,94	0,2	5,3	
7	0,03	1,97	0,2	5,6	

7-ISH. ACHITQIDAN NUKLEOPROTEIDLARNI AJRATIB OLISH VA GIDROLIZLASH

Maqsad: Achitqidan nukleoproteidlarni ajratib olish va gidrolizlash usullarini o`rgatish laboratoriya tajribalari asosida ko`nikmalarini shakllantirish.

Kerali asbob va reaktivlar: chinni hovoncha, pipetka, laboratoriya sentrifugasi, sentrifuga tarozisi, shisha nay yoki qaytar sovitgich, gaz gorelka yoki spirt lampa, sentrifuga probirkalari, oddiy ximiyaviy probirkalar, efir (dietil efir), 5 % li sirka kislota, H_2SO_4 ning 10 % li eritmasi, NaOH ning 0,4; 10; 30 % li eritmalari, $CuSO_4$ ning 1; 7 % li eritmasi, konsentrlangan ammiak eritmasi, molibden reaktivi, toza qum, quritilgan achitqi.

Nukleoproteinlarning ximiyaviy tarkibidan o`rganish uchun qulay obyekt achitqi xujayralari hisoblanadi. Quruq achitqi massasi yoki undan ajratib olingan nukleopeptidlarga, purin va pirimidin asoslariga uglevod komponentiga va fosfat kislotaga parchalanadi. Hidroliz mahsulotlarini spesifik sifat raksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Nukleoproteidlar quyidagicha parchalanadi:



Polipeptidlar biuret reaksiyasi yordamida aniqlanadi. Purin asoslarini kumush oksidining ammiakli eritmasi, uglerodlarni Trommer va Felning reaktivlari, fosfat kislotani esa ammoniy molibdat yordamida aniqlash mumkin.

Ishning bajarilishi.1.bosqich.

1. Achitqidan nukleoproteidlarni ajratib olish.

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

2-bosqich. Nukleoproteinlarni gidrolizlash

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

a) ***polipeptidlarga xos Biuret reaksiya.*** Probirkaga 5 tomchi gidrolizat olib, unga 10 % li o`yuvchi natriy eritmasidan 10 tomchi va 1 % li mis (II) sulfat eritmasidan 1 tomchi qo`shib, chayqatiladi. Suyuqlik pushti-binafsha rangga bo`yaladi.

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

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

g) fosfat kislotağa xos molibden bilan qilinadigan reaksiya. 20 tomchi molibden reaktiviga 2-3 tomchi gidrolizat qo`shib, bir necha minut qizdiriladi. Agar gidrolizatga fosfat kislota bo`lsa, suyuqlik limon sarig`i rangiga kiradi. Sovitilganda sariq kristall cho`kma paydo bo`ladi.

8-ish. DNK NI HAYVON TO`QIMASIDAN AJRATIB OLISH VA TOZALASH

Maqsad: DNK ni hayvon to`qimasidan ajratib olish va tozalashni laboratoriya tajribalari asosida o`rganish.

Kerakli asbob va reaktivlar: gomogenizator, 37⁰ C li termostat, texnik tarozi, 50 va 500 ml li o`lchov silindrlari, laboratoriya sentrifugasi, 20 va 50 ml li shprits, 50; 200; 500 ml li stakanlar, shisha tayoqcha, tuzli eritma (tarkibi: 0,15 m natriy sitrat, 0,01 m EDTA), xloroform, izoamil spirt, etil spirt, perxlorat kislotaning 57% li eritmasi, etil efir, NaOH ning 0,5 n eritmasi, qonning 1 n va 5 n eritmalari, dodesilsulfatning 20 % li eritmasi, NaCl ning 5 m eritmasi, muskul yoki jigar.

Dezoksiribonuklein kislota (DNK) o`simlik, hayvon va mikroorganizmlar xujayralarida asosan yadroda, juda oz miqdorda, sitoplazmada oqsil bilan bog`langan holatda bo`ladi. DNK ni ajratib olish uchun, uni oqsildan ajratish, turli biologik membranalaridan tozalash zarur. DNKni xujayradan ajratib olishda (u RNK bilan aralash holatda bo`ladi), avval uni RNK dan tozalab, so`ngra quritiladi.

Ishning bajarilishi. 20 g hayvon to`qimasi (jigar, bo`qoq bezi) 100 ml tuz eritmasi bilan shisha gomogenizatorida maydalanadi. Olingan gomogenatga oxirgi konsentratsiyasi 2 % bo`lguncha 20 % li desilsufat (10-12 ml) qo`shiladi va 37⁰ C li termostatga yarim soat qo`yiladi. Hosil bo`lgan yopishqoq eritmaga nukleoprotidlarni dissosilash uchun oxirgi qonsetratsiyasi 1 m bo`lguncha 5 m NaCl eritmasidan (25-26 ml) qo`shiladi. Gomogenat shliflangan qopqoqli kolbaga o`tqazilib, ustiga 24:1 nisbatdagi xloroform izoamil spirt aralashmasidan 400 ml qo`shib, 10-15 minut yaxshilab, chayqatiladi. Aralashma 50 ml li sentrifuga probirkalariga quyilib, 30 minut 2500 ayl/min tezlikda sentrifugalanadi. Bu vaqtda sentrifugat 3 ta fraksiyaga bo`linadi: yuqori qavatda nuklein kislotalar, o`rta qavatda oqsillar, eng pastki qavatda – xloroformli fraksiyada lipidlar va organik erituvchida eriydigan boshqa komponentlar

qoladi. Shpirts yordamida yuqorigi fraksiya so`rib olinadi va uni eritma tiniqlashguncha xloroform-izoamil spirt bilan ishlash 2-3 marta takrorlanadi. Tarkibida nuklein kislota bor suvli qavatlar birlashtirilib, ikki baravar ko`p miqdorda 96 % li etil spirt quyilgan stakanga doimo aylanashiga aralashtirib turgan holatda, asta – sekin quyiladi. Natijada nuklein kislotalarning oq spiralsimon cho`kmasi hosil bo`ladi. So`ngra spiralsimon DNK shisha tayoqcha yordamida oz miqdorda 70 % li etanol quyilgan stakanga o`tqaziladi. bu operatsiya 2-3 marta takrorlanadi. So`ngra nuklein kislotalar cho`kmasi spirt – efir (1:1) aralashmasi va efir bilan yuvilgach, xona temperaturasida quritish uchun qoldiriladi. DNK va RNK ni ajratish uchun 10-15 mg quruq nuklein kislota preparati 5 ml 0,5 n NaOH da eritilib, 37 °C li termostatga 18 soat qo`yiladi. Eritma sovitiladi va 57 % li perxlorat kislota (HClO<sub>4</sub>) yordamida neytrallanadi, so`ngra HClO₄ konsentratsiyasi 2 % ga yetguncha kislota qo`shish davom ettiriladi. Hosil bo`lgan DNK cho`kmasi sovitgichli sentrifugada 10 minut 3000 ayl/min (3000g) tezlikda sentrifugalash yo`li bilan ajratib olinadi. Olingan DNK cho`kmasi ikki marta 2 % li HClO<sub>4</sub> 2 marta 7 % li spirt, spirt – efir (1:1) aralashmasi va nihoyat, efir bilan yuviladi. Har safar DNK cho`kmasi sentrifugalash yo`li bilan ajratib olinadi, so`ngra DNK cho`kmasi havoda quritiladi.

9- ish. MONOSAXARIDLARNING QAYTARUVCHANLIK XOSSALARI

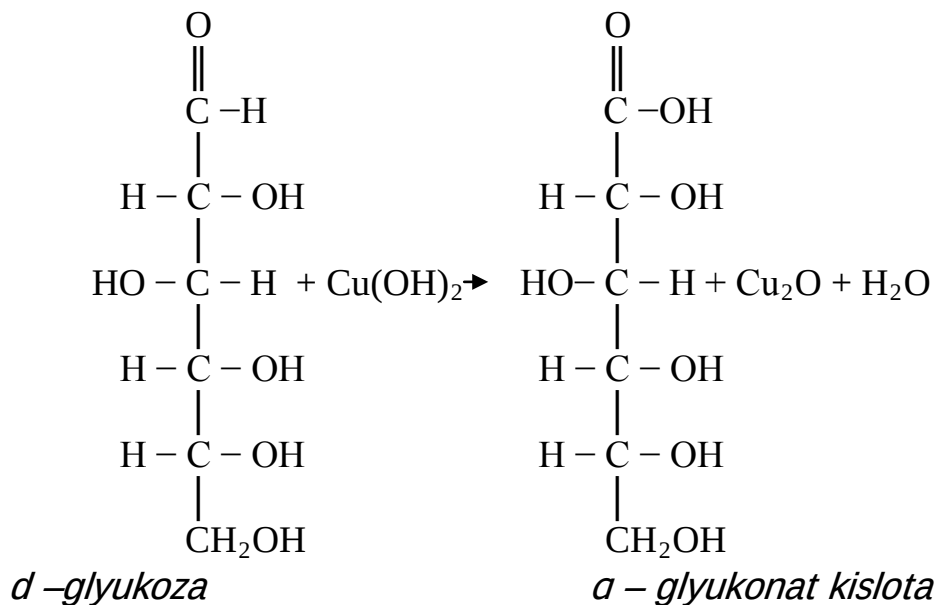
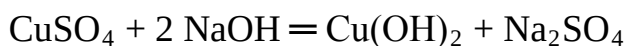
Maqsad: Monosaxaridlarning kimyoviy hossalari haqida ma`lumot berish. Monosaxaridlarning qaytaruvchanlik xossalarini laboratoriya tajribalari asosida o`rganish.

Kerakli asbob va reaktivlar: 1; 2; 5 ml li pipetkalar, suv hammomi, 50 ml li byuretk, probirka, gaz gorelkasi yoki spirt lampa, 1% li laktoza eritmasi, 1% li maltoza eritmasi, Nilander reaktivi, Feling suyuqligi, Barfed reaktivi.

Monosaxaridlar ishqoriy muhitda og`ir metal gidroksidlarini, masalan, mis (II)-gidroksidni mis (I)- oksidga, vismut oksidini metal holatgacha, kumush gidroksidni erkin kumushgacha qaytarish xossasiga ega. Bu reaksiyalar monosaxaridlarni sifat va miqdoriy jihatdan aniqlashda qo`llaniladi. Tarkibida erkin aldegid gruppaga bo`ladigan disaxaridlar – maltoza, laktoza va sellobiozalar ham qaytaruvchi xossaga ega. Bu

shakarlarning oksidlanishi ishqoriy muhitga oson, neytral sharoitda qiyinroq, kislotali sharoitda esa juda qiyin boradi.

1 - tajriba. Trommer reaksiyasi. Monosaxaridlar ishqoriy muhitda mis (II)-gidroksidni mis (I)-oksidgacha qaytaradi, bu reaksiya natijasida reaksiya uchun olingan al'dozalarga to'g'ri kelgan kislotalar hosil bo'ladi.

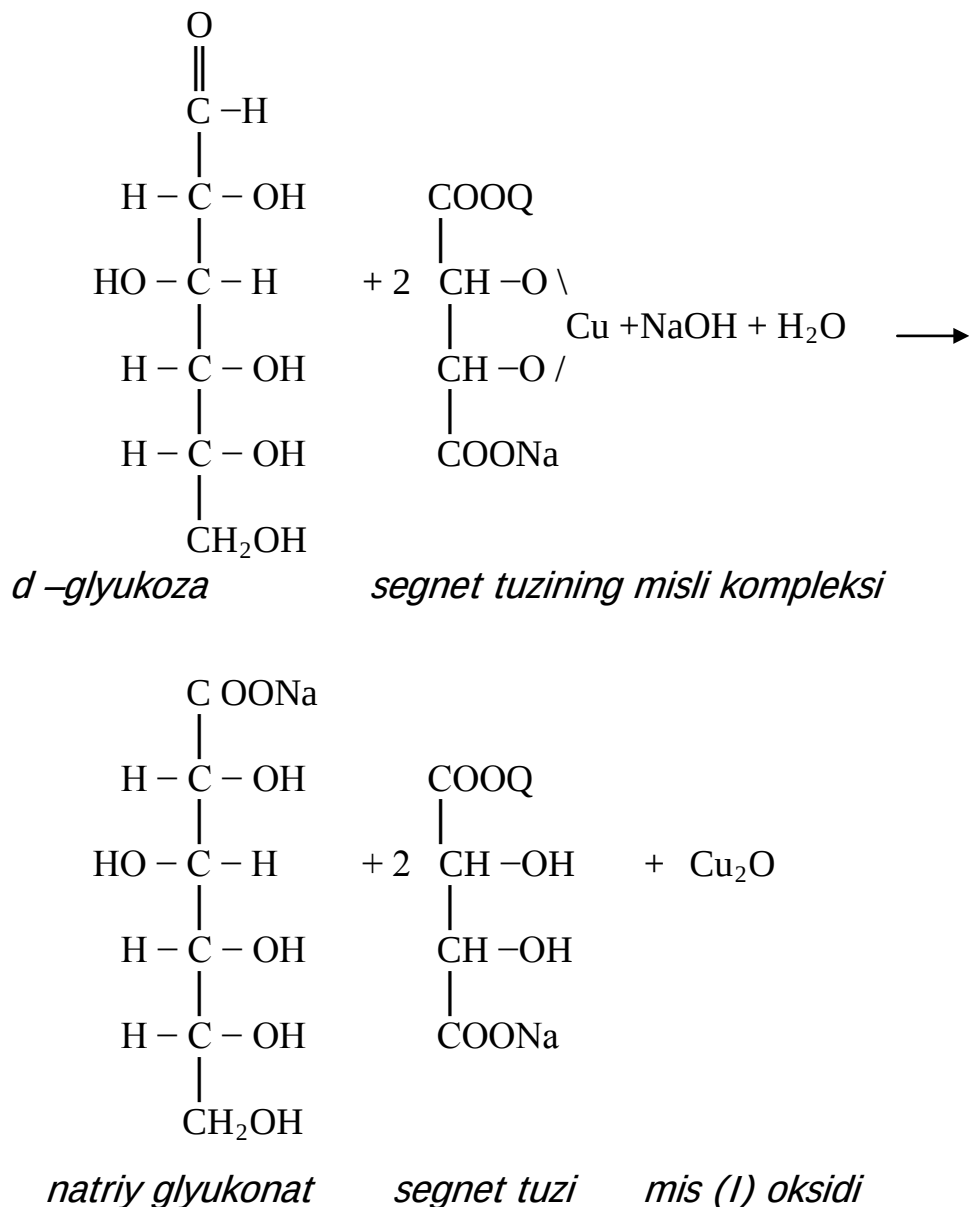


Reaksiya mahsuloti sifatida qizil rangli mis (I)-oksid hosil bo'ladi. Bu reaksiyaning kamchiligi shundaki, agar tekshirilayotgan eritmada shakar juda oz bo'lsa, ortiqcha miqdorda hosil bo'lgan mis (II)-gidroksid qizdirilganda parchalanib, qora rangli mis (II)-oksidga aylanadi. Natijada juda oz miqdorda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

Ishning bajarilishi. Probirkaga 1 % li glyukoza eritmasidan 1-2 ml quyib, uning ustiga teng hajmda 10 % li NaOH eritmasi qo'shiladi. Aralashmaga chayqatib turilgan holatda tomchilatib 5 % li mis sulfat eritmasidan 1 ml qo'shiladi. So'ngra ohistalik bilan probirkadagi suyuqlik qizdiriladi. Avval sariq rangli loyqa paydo bo'lib, vaqt o'tishi bilan qizil rangli mis (I)- oksidga aylanishi kuzatiladi.

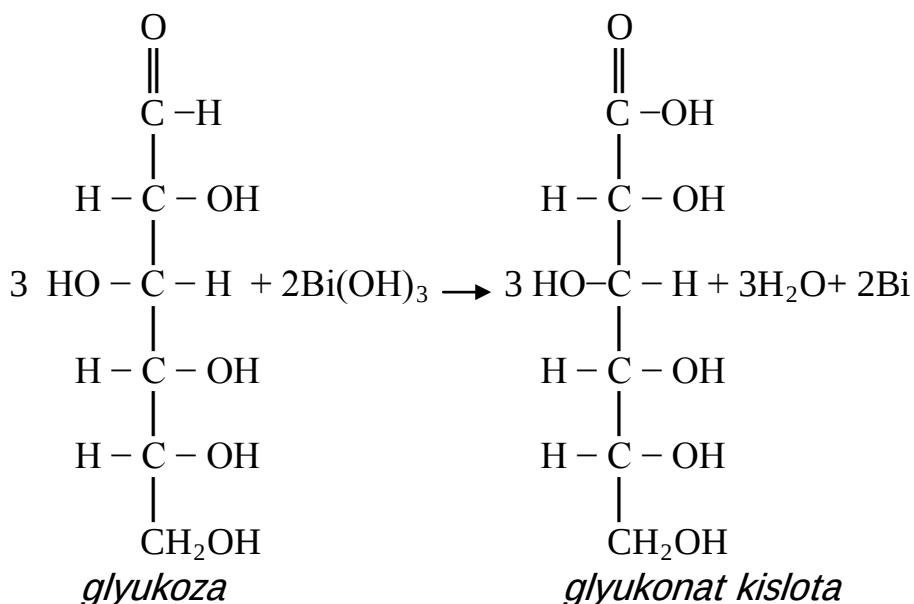
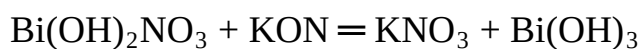
2 - tajriba. Feling reaksiyasi. Uglerodlarning qaytaruvchanlik xossasini aniqlash uchun ko'p hollarda Feling reaktividan foydalaniladi. Bu reaktiv tarkibidagi ikki valentli mis ioni segnet tuzi (vino kislotaning natriy – kaliyli tuz) molekulosida

bogʻlangan holatda boʻlib, oksidlanish – qaytarilish reaksiyasiga erkin kirisha oladi. Reaksiya mexanizmi Trommer reaksiyasi bilan bir xil boʻlib, faqat aniqlashga halaqit berishi mumkin boʻlgan mis (II)-oksid hosil boʻlmaydi. Bu reaksiya asosida glyukozani miqdoriy jihatdan aniqlash usuli ham ishlab chiqilgan:



Ishning bajarilishi. Probirkaga 1 % li glyukoza eritmasidan 1-2 ml quyib, unga teng hajmda Felning reaktividan qoʻshiladi va aralashma ohistalik bilan qaynaguncha qizdiriladi. Reaksiya natijasida qizil rangli mis (I)-oksid choʻkmasi hosil boʻlishi kuzatiladi. Bu reaksiyani boshqa uglevodlar – malʼtoza, laktozalar ham hosil qiladi, saxaroza va kraxmal bilan esa qizil choʻkma hosil boʻlmaydi, chunki ular qaytaruvchanlik hossasiga ega emas.

3-tajriba. Nilander reaksiyasi. Turli biologik suyuqliklardagi shakarni aniqlashda ko`pincha vismut tuzlaridan foydalaniladi, chunki bu tuz mis tuzlaridan farqli o`laoq boshqa qaytaruvchi moddalar, masalan, urat kislota ta'sirida qaytariladi.



Ishning bajarilishi. 1-2 ml glyukoza eritmasiga 0,5-1 ml Nilander reaktividan qo`shib, 2 minut davomida ohista qaynatiladi. Avval jigarrang, keyin qora vismut cho`kma hosil bo`lishi kuzatiladi.

4-tajriba. Barfed reaksiyasi. Monosaxaridlar mis asetatning nordon eritmasi ta'sirida ham oksidlanadi, bunday sharoitda disaxaridlar amalda oksidlanmaydi. Bu reaksiyani Barfed topganligi uchun shu olim nomi bilan yuritiladi va biologik obyektlardagi bu ikki grupp shakarlarni bir-biridan farq qilishda qo`llaniladi.

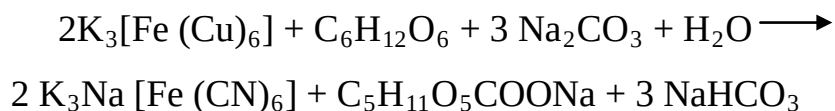
Ishning bajarilishi. 2 ta probirkaga 5 ml dan Barfed reaktividan quyib, biriga 1 % li glyukoza eritmasidan 1 ml, ikkinchisiga maltoza yoki laktoza eritmasidan 1 ml qo`shiladi va suv hammomida 10 minut davomida qizdiriladi. Bu vaqtda birinchi probirkada qizil rangli mis (I)-oksid cho`kmasi hosil bo`ladi.,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

10- ISH. QONDAGI GLYUKOZA MIQDORINI XAGEDORI-IENSEN USULI BO`YICHA ANIQLASH

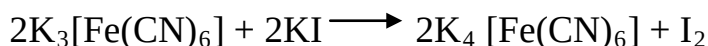
Maqsad: Qonning kimyoviy tarkibi haqida ma`lumot berish, qondagi glyukoza miqdorini Xagedori-Iensen usuli bo`yicha aniqlash

Kerakli asbob va reaktivlar: probirkalar, 0,1 ml li mikropipetka , 3-4 sm diametrli voronka, 50 ml li konussimon kolba, suv hammomi, 1;2;3 va 5 ml li pipetkalar, 2 ml li mikrobyuretk, paxta, nina, rux sulfatning 0,45 %li eritmasi, o`yuvchi natriyning 0,1 n eritmasi, qizil qon tuzining 0,005 n eritmasi, A- reaktivi 10g rux sulfat va 50 gr NaCl 200 ml suvda eritiladi. B-reaktivi (foydalanishdan avval 40 ml A-reaktiviga 1 g kaliy yodid qo`shiladi), sirka kislotaning 3 % li eritmasi, kraxmalning 1 % li eritmasi, natiy tiosulfatning 0,005n eritmasi, etil spirt, efir, 5 % li yod eritmasi.

Bu usulda qondagi glyukoza miqdori aniqlanadi Xagedori – Iensen usuli glyukozaning qaytauvchilik xususiyatiga asoslangan. qonda glyukozadan boshqa qaytaruvchi moddalar juda kam bo`lganligi uchun amalda bu usuldagi glyukozani miqdoriy jihatdan aniqlash usuli sifatida foyalanish mumkin.Bu usul glyukoza va boshqa uglevodlarning kuchsiz ishqoriy muhitda qizil qon tuzi (kaliy ferrisianid $K_2[Fe(CN)_6]$) ta'sirida oksidlanishiga asoslangan:



Reaksiya natijasiada glyukoza glyukonat kislotagacha, kaliy ferrisianid ferrosianidgacha qaytariladi. reaksiya uchun ortiqcha miqdorda qizil qon tuzi olinadi, sarflanmay qolgan kaliy ferrosiand miqdorini kislotali muhitda yodometrik titrlash usuli yordamida aniqlash mumkin:



Bu reaksiya qaytar bo`lganligi sababli, hosil bo`lgan kaliy ferrosianid rux sulfat ta'sirida suvda erimaydigan tuz $K_2Zn_3[Fe(CN)_6]_6$ ko`rinishiga o`tkazilib sistemadan chiqariladi.

Ishning bajarilishi. Tekshirish uchun olingan suyuqlik (qon yoki biologik suyuqlik) dagi glyukoza miqdori 0,385 mg dan oshmasligi kerak, chunki

aniqlashga sarflanadigan 2 ml 0,005 n kaliy ferrisianid 0,385 mg glyukozani oksidlashga yetadi.

Aniqlash quyidagi bosqichlarda amalga oshiriladi:

a) qon yoki boshqa biologik suyuqlikni olish va undagi oqsilni cho`ktirish.

Buning uchun 4 ta nomerlangan probirka olib, ularning har biriga 5 ml dan 0,45 % li rux sulfat va 1 mldan 0,1 n o`yuvchi natriy eritmasidan quyiladi. Barmoqdan yoki tajriba uchun olingan hayvondan mikropipetka yordamida 0,1 ml qon olinadi. Buning uchun barmoq spirt yordamida tozalangandan so`ng sterillangan nina sanchiladi. Yoki tekshiruvchi hayvon kamroq jarohatlanadigan joyidan qon tomiri ochiladi. Birinchi tomchi qon yoki biologik suyuqlik oqizib yuboriladi, so`ngra mikropipetka yordamida ohistalik bilan 0,1 ml dan qon olib, birinchi va ikkinchi probirkalarga quyiladi. Pipetka probirkadagi suyuqlik bilan 3-4 marta chayqaladi. Uchinchi va to`rtinchi probirkalar reaktivlar tozaligi va aniqlash texnikasi uchun Kontrol vazifasini o`taydi. To`rtala probirkadagi suyuqlik ohistalik bilan aralashtirib, qaynab turgan suv hammomiga 3-4 minut qo`yiladi. Ko`rsatilgan vaqt o`tgandan keyin aralashma 50 ml li konussimon kolbaga avval distillangan issiq suv bilan yuvilgan nam holdagi paxta orqali filtrlanadi. Glyukozani batamom yuvish uchun distillangan suv bilan filtrli voronkadagi cho`kma 3 marta yuviladi.

b) glyukozani (oqsilsiz filtratdagi qaytaruvchi moddalarni) kaliy ferrosianid yordamida oksidlash va ortib qolgan qizil qon tuzini aniqlash.

Buning uchun to`rtala kolbachalarga 0,005 n qizil qon tuzidan 2 ml dan quyiladi va qaynab turgan suv hammomiga 15 minut quyiladi. Shundan keyin sovuq suvli hammomda sovutiladi va har biriga B reaktividan 3 ml dan, 3 % li sirka kislotadan va 1 % li kraxmal eritmasidan 5-6 tomchi qo`shiladi. Bu vaqtda kolbadagi aralashma ajralib chiqqan erkin yod hisobiga qoramtir ko`k rangga kiradi, undan keyin mikrobyuretk yordamida suyuqlik rangsizlanguncha 0,05 n natriy tiosulfat eritmasi bilan titrlanadi.

Hisoblash. Titrlash ma'lumotlari asosida qondagi shakar miqdorini hisoblashda Xagedori tuzgan jadvaldan foydalaniladi. Jadvalning birinchi vertikal ustinida sarflangan giposulfit eritmasining butun son va butun sonning bir ulushi qiymatidagi miqdori keltirilgan. Yuqoridan gorizontal qatorda esa giposulfit hajmining yuzdan bir

ulushi keltirilgan. Titrlashga ketgan giposulfitning miqdori o'trib qolgan qizil qon tuzi miqdoriga to'g'ri, tekshirilayotgan hajmdagi biologik suyuqlikdagi shakar miqdoriga esa teskari proporsionaldir.

Agar tajriba uchun olingan kolbadagi aralashmani filtrlash uchun o'rtacha 1,24 ml, kontrol kolbaga 1,83 ml tiosulfat eritmasi sarf qilingan bo'lsa, jadvaldan quyidagi natijani olish mumkin:

Tajriba 1,24 ml 0,134 mg

Kontrol 1,83 ml 0,029 mg shakarga to'g'ri keladi.

$T-K = 0,134 - 0,029 = 0,105$ mg.

Analiz uchun 0,1 ml qon yoki biologik suyuqlik olinganligi uchun bu miqdor 100 ml hajm uchun hisoblab chiqiladi:

$$\frac{-0,105 \times 100}{0,1} = 105 \text{ mg}$$

ya'ni tekshirilayotgan biologik suyuqlikda shakarning miqdori 105 mg (%) ga teng ekanligini topamiz.

11-ISH. LIPIDLARNING FIZIK-XIMIYAVIY XOSSALARI

Lipidlarga turli-tuman ximiyaviy tuzilishga ega bo'lgan sonli tabiiy birikmalar kiradi, ular tarkibiga ko'ra turli xildagi spirtlarning yuqori molekulyar yog' kislotalari yoki fosfat kislota bilan hosil qilgan murakkab efirlaridir. Ularda tarkibiy qismlarning bog'lanish tipi bo'yicha umumiylik bo'lsada, tuzilishi va ximiyaviy tabiati jihatidan bir-biridan farq qiladi. Barcha lipidlar suvda amalda erimaydi-yu, ko'pgina organik erituvchilarda oson eriydi, shu jihatdan ular uglevodlar va oqsillardan keskin farq qiladi. Lipidlarning o'ziga xos eruvchanligi muhit amaliy ahamiyatga ega bo'lib, to'qima va organlar tarkibida bo'lgan boshqa moddalardan ularni ajratib olishga imkon beradi. Lipidlarni tarkibi va ximiyaviy tabiatiga ko'ra 2 ta katta gruppaga bo'lish mumkin: neytral yog'lar (yoki triliserdlar) va lipoidlar (yog'simon moddalar).

Yog'larga xos sifat reaksiyasi.

Maqsad: Yog'larning kimyoviy tarkibi va xossalari haqida tushuncha berish hamda yog'larga xos sifat reaksiyalarini tajribalar asosida o'rganish.

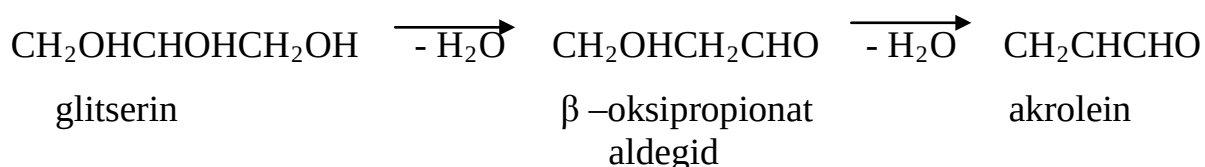
Kerakli asbob va reaktivlar: probirkalar, shtativ, spirt lampa yoki gaz gorelkasi, filtr qogʻoz, etil spirt, aseton, efir, petroley efiri, dixloretan, xloroform, benzol, benzin, uglerod (IV)-sulfid, kaliy gidrosulfat kristali, kumush gidrosulfidining ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qogʻoz, paxta, kungaboqar moyi, margarin, qoʻy va mol yogʻi.

1- t a j r i b a . Yogʻlarning eruvchanligini aniqlash

Ishning bajarilishi. 20 ta probirka olib, ularni 2 gruppaga boʻlib, nomerlanadi. Har ikkala gruppadagi probirkalarga navbati bilan 2 ml dan suv, spirt, aseton, efir, petroley efiri, dixloretan, xloroform, benzol, benzin va uglerodsulfid quyiladi. Birinchi gruppadagi probirkalarning hammasiga bir necha tomchi paxta yoki boshqa oʻsimlik moyi, ikkinchi gruppadagi probirkalarga noʻxat kattaligida mol yogʻi solib, normal temperaturada eruvchanligi kuzatiladi, soʻng suv hammomida qizdirib qoʻriladi. Kuzatish natijalari yozib qoʻyiladi.

2- t a j r i b a . Yogʻlardagi glitseringa xos reaksiya

Tabiiy yogʻlar tarkibida maʼlum miqdorda erkin glitserin boʻladi, uni aniqlash uchun maʼlum miqdorda yogʻ yoki moy olib, suv tortib oluvchi modda – kaliy bisulfat ishtirokida qizdirilsa, oʻtkir hidli akril aldegid – akrolein ajraladi:



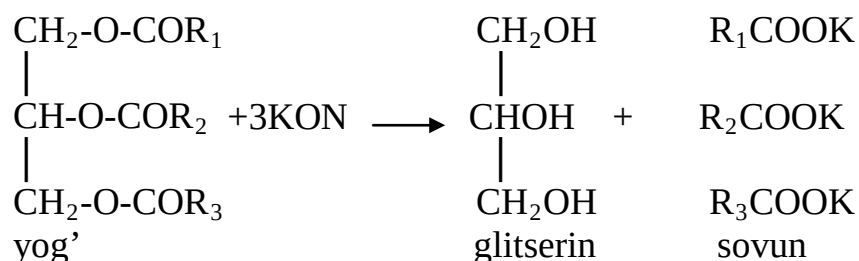
Akrolein ajralganligini aldegidga xos reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin.

Lipidlar tarkibida erkin glitserin boʻlmaydi, shu sababli ular akrolein reaksiyasini bermaydi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 0,5-1 ml paxta moyi quyiladi, ustiga 2-3 g kaliy bisulfat kristallaridan qoʻshib moʻrili shkafda qizdiriladi. Oʻtkir hidli oq akrolein bugʻlari ajraladi. Bugʻlarga kumush oksidning ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qogʻoz tutilsa, u qora rangga kiradi, fuksinsulfat kislota eritmasi bilan namlangan filtr qogʻoz tutilsa, pushti dogʻ paydo boʻlishi kuzatiladi. Bu har ikkala reaksiya aldegidlarga xos reaksiya boʻlib, akrolein ajralayotganini bildiradi.

Yog'larning sovunlanishi va yog' kislotalar olish

Neytral yog'lar ishqoriy sharoitda gidrolizlanganda glitserin va yog' kislotalar hosil bo'lsa, bunday reaksiya yog'larning sovunlanishi deb ataladi:



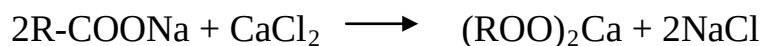
Agar yog'lar kislota ta'sirida gidrolizlansa, sovun o'rniga erkin yog' kislotalar hosil bo'ladi. Yog' to'la gidrolizga uchratilgandan keyin, gidrolizatga konsentrlangan xlorid kislota qo'shilsa, erkin yog' kislotalar ajraladi.

Ishning bajarilishi. 50 ml li kolbaga 1 g mol yog'i yoki paxta moyi olib, uning ustiga 10 % li qon ning spirtli eritmasidan 10 ml quyiladi. Kolba og'zi qaytar sovitgich sifatida uzunligi 60-70 sm bo'lgan shisha nay o'rnatilgan probka bilan berkitiladi. Shundan keyin kolbadagi aralashma qaynayotgan suv hammomida 30-45 minut davomida qizdiriladi. Gidroliz tamom bo'lganligiga ishonch hosil qilish uchun, kolbadagi aralashmadan shisha tayoqcha yordamida 1 tomchi olib 2-3 tomchi suvda aralashtiriladi va filtr qog'ozga tomizilib quritiladi. Agar filtr qog'ozda dog' qolsa, qizdirish davom ettiriladi, dog' qolmasligi esa gidroliz tamom bo'lganligini bildiradi.

Gidroliz oxiriga yetgach gidrolizatni chinni kosachaga olib, ustiga 10 ml suv quyiladi va suv hammomida spirt to'la uchib ketguncha qizdiriladi. Shundan keyin gidrolizatdan 3-4 ml olib, unga 3-4 tomchi Konsentrlangan xlorid kislota qo'shilsa, ajralib chiqqan erkin yog' kislotalar cho'kadi. Cho'kma filtrlanadi va distillangan suv bilan yuviladi, filtr esa tashlab yuboriladi. Cho'kmani yuvish voronkadan o'tayotgan suvning kislotaliligi lakmusga nisbatan neytral bo'lguncha davom ettiriladi.

Olingan toza yog' kislotalar cho'kmasi 2 ml efirda eritiladi. Probirkaga 2 ml spirt quyib, uning ustiga 10 % li soda eritmasidan 1 tomchi va fenolftalein eritmasidan 2 tomchi qo'shiladi, suyuqlik pushti-qizil rangga bo'yaladi. Shu qizil rangli suyuqlik ustiga yog' kislotalarning efirli eritmasi qo'shiladi, natijada aralashmadagi soda bilan yog' kislotalari reaksiyaga kirishib, muhit neytrallanadi va eritma rangsizlanadi.

Chinni kosachada qolgan gidrolizatdan 3 ta probirkaga 1 ml dan quyiladi. Birinchisiga teng hajmda suv qo`shib chayqaladi. Hosil bo`lgan sovun suvning spirt tarangligini pasaytiradi, natijada ko`pik hosil bo`ladi. Ikkinchi probirkadagi gidrolizat ustiga kalsiy xloridning 5 % li eritmasidan bir necha tomchi tomiziladi, bunda yog` kislotalarining kalsiyli tuzi hosil bo`ladi, bu tuz suvda erimasligi sababli cho`kmaga tushadi:



Uchinchi probirkaga qo`rg`oshin asetatning 10 % li eritmasidan 3-4 tomchi qo`shiladi, bunda yog` kislotalarning suvda erimaydigan qo`rg`oshinli tuzi hosil bo`ladi.

Yog`larning to`yinganlik darajasini aniqlash.

Tabiiy yog`lar tarkibida to`yinmagan yog` kislotalar bo`lishi bular bir-biridan farq qiladi. To`yinmagan birikmalar o`z molekulosidagi qoshbog` hisobiga galogenlarni biriktirib olish reaksiyasiga oson kirishadi. Odatda, yog`larning to`yinmaganlik darajasi yod soni bilan belgilanadi. 100 g yog` biriktirib olgan yod miqdori yod soni deb yuritiladi. Yog`larning yod soni ularning eng muhim ximiyaviy xarakteristikasi bo`lib, u yog`larning turli o`zgarishlarga moyilligini aniqlashga yordam beradi.

1 -tajriba. Turli yog`larning to`yinmaganlik darajasini taqqoslash. Turli xil yog`lar (mol, qo`y yog`i, margarin, paxta moyi yoki boshqa o`simlik moyi) dan 0,5 g dan tortib olinadi va ularning har biriga 3 ml xloroformda eritiladi va mikrobyuretkada yodning 0,001 n eritmasi bilan titrlanadi. Yod eritmasi asosida qancha sarflanganligiga qarab olingan yog`larning to`yinmaganlik darajasi taqqoslanadi.

2 -tajriba. Yod sonini aniqlash. Ikkita 50 ml li quruq kolba olib, birinchisiga 0,1-0,2 g tekshiriladigan yog` solinadi. Ikkinchisiga 0,1-0,2 ml suv quyiladi. Yog`ni eritish uchun har ikkala kolbaga 10 ml dan absolyut spirt quyiladi, yog` yaxshi erimasa uni suv hammomida bir oz isitiladi. Ikkala kolbaga 10 ml dan yodning spirtidagi 0,1 n eritmasidan quyib, ustiga 10,1 ml dan distillangan suv qo`shiladi va kolba probkasi berkitib yaxshilab chayqaladi. 5 minut o`tgach, kolbadagi

suyuqlik 0,1 n tiosulfat eritmasi bilan och sariq rangga kirguncha, so`ngra 1 ml kraxmal eritmasidan qo`shib, ko`k rang yo`qolguncha titrlanadi.

Nazorat va tajriba uchun sarflangan 0,1 n tiosulfat eritmalari hajmlarining farqi olingan moyning yod soniga to`g`ri keladi. Yod soni quyidagi formula bo`yicha hisoblab topiladi.

$$\text{Yod soni} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,0127 \cdot 100}{a}$$

Bu yerda: V_1 - nazorat titrlash uchun sarflangan 0,1 n tiosulfat eritmasining *ml* miqdori; V_2 -tajriba uchun ketgan 0,1 n tiosulfatning *ml* miqdori; 0,127-tiosulfatning yod bo`yicha titri; a-olingan yog`ning miqdori (g).

Yog`ning kislota sonini aniqlash

Boshqa fizik-ximiyaviy ko`rsatkichlar qatori yog`larning kislota sonini aniqlash ham katta ahamiyatga ega. Agar yog` yaxshi pishib yetilgan urug`lardan olingan bo`lsa, erkin yog` kislotalar oz, pishmagan urug`lardan olingan bo`lsa, ko`p bo`ladi. Yog` uzoq saqlangan bo`lsa, trigliseridlar qisman gidrolizlanib erkin yog` kislotalar to`planishiga olib keladi. Yog`lardagi erkin kislotalar miqdorini ifolovchi ko`rsatkich kislota soni deb ataladi. 1 g yog`dagi erkin yog` kislotalarini neytrallash uchun sarf bo`lgan kaliy gidroksidning mg miqdori yog`larning kislota sonini belgilaydi. Yog`ning kislota soni qancha yuqori bo`lsa, sifati shuncha past bo`ladi.

Yog`larning kislota sonini aniqlash yog`lardagi erkin yog` kislotalarini 0,1 n qon bilan titrlashga asoslangan. Titrlash uchun albatta kaliy gidroksidda foydalanish kerak, chunki hosil bo`ladigan kaliyli sovun tajriba sharoitida suvda yaxshi eriydi.

Ishning bajarilishi. Yod sonini aniqlashdagi singari, 1 g yog`ni aniq tortib olib, 50 ml sig`imli Erlenmeyer kolbasiga solinadi va 10 ml neytral spirt – efir aralashmasida (1:1) eritiladi. Yog` erigandan keyin 2 tomchi fenolftalein eritmasidan tomizilib, aralashma och pushti rangga kirguncha o`yuvchi kaliyning spirtdagi 0,1 n eritmasi bilan yo`qotiladigan rang hosil bo`lguncha davom ettiriladi.

Yog`ning kislota soni quyidagi formula bo`yicha hisoblab topiladi:

$$K=V T$$

Bu yerda: **K** – kislota soni; **V** – sarflangan 0,1 n o'yuvchi kaliyning ml miqdori;
T – 0,1 n qon ning titri. Uning titri 5,6 ga teng

Yog'larning sovunlanish sonini aniqlash.

1 g yog'dagi erkin va bog'langan yog` kislotalarni neytrallash uchun sarflangan o'yuvchi kaliyning mg miqdori sovunlanish soni deb ataladi. Sovunlanish soni bilan kislota soni o'rtasiadagi farq efir soni hisoblanadi.

Ishning bajarilishi. 50 ml sig'imli ikkita kolba olib, biriga analitik tarozida tortilgan 0,5 g yog` solinadi va ikkinchisiga 0,5 ml distillangan suv quyiladi. Har ikkala kolbaga byuretkadan 15 ml dan 0,5 n qon ning spirtli eritmasiadan quyiladi. Kolbalar og`zini qaytar sovitkich o'rnatilgan tiqin bilan berkitib, qaynayotgan suv hammomiga qo'yiladi, vaqt-vaqti bilan chayqatib turiladi. Kolbadagi suyuqlik sekin qaynab turishi va shisha nayning uchki qismi qizib ketmasligi zarur. Sovunlanish oxiriga yetgach, kolbalarga 15-20 ml dan suv quyiladi va 3-4 tomchi fenolftalein tomizib, 0,5 n xlorid kislota bilan pushti rang yo`qolguncha titrlanadi. Sovunlanish soni quyidagi formula bo'yicha hisoblab topiladi:

$$\text{Sovunlanish soni} = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 28}{a}$$

Bu yerda: **V₁**- control kolbadagi suyuqlikni titrlash uchun sarflangan 0,5 n KOH miqdori (ml); **V₂**- tajriba uchun ketgan 0,5 n qon miqdori (ml); 28-0,5 n qon ning titri; a-aniqlash uchun olingan yog`ning miqdori (g).

12-ISH. BIOLOGIK OBYEKTlardagi UMUMIY LIPIDLARNI ANIQLASH

Maqsad: Biologik obyektlardagi umumiy lipidlarni aniqlash bo'yicha bilimlarni rivojlantirib, ko'nikmalar hosil qilish.

Kerakli asbob va reaktivlar: 105⁰S li termostat, suv hammomi, analitik tarozi, shpatel, 250 ml li konussimon kolba, hovoncha, 100 ml li o'lchov silindri,

kristalizator, byuks, eksikator, qalin filtr qog`oz, metanol, xloroform, kungaboqar, yeryong`oq, chigit yoki boshqa xil urug`lar.

To`qimalarda lipidlarning umumiy miqdorini aniqlashning eng oddiy usuli tekshiriluvchi biologik materialni xloroform – metanol aralashmasida uzoq vaqt davomida yuvishdir. Olingan materialning dastlabki massasi bilan reaksiyadan keyingi massasi o`rtasidagi farqqa qarab lipidlarning protsent miqdori hisoblab topiladi.

1-tajriba. Lipidlar miqdorini aniqlash.

Ishning bajarilishi. Quritilgan 1,0 – 1,5 g biologik material olib, hovonchada maydalanadi, so`ngra quruq qalin filtr qog`ozdan tayyorlangan va analitik tarozida tortilgan xaltachaga solinadi. Tekshirilayotgan materialning xaltacha bilan birgalikda massasidan quruq xaltacha massasi ayirmasidan analizga olingan materialning aniq massasi topiladi. Agar tekshirilayotgan materialda yog` 50 % dan ko`p bo`lsa 1.0-1.5 g, 30-50 % gacha bo`lsa 2-2,5 g, agar 30 % dan kam bo`lsa, 3,0-3,5 g to`qima yoki organ olinadi. Tayyorlangan xaltacha filtr qog`ozdan tayyorlangan bir oz kaltaroq paketga solinib, konussimon kolbaga tushirilgach, ustiga 35-40 ml metanol va 35-40 ml xloroform quyiladi. Kolbaning og`zini po`kak probka bilan berkitib, yaxshilab chayqatiladi va bir hafta qorong`i joda qoldiriladi.

Keyingi mashg`ulotda yog`sizlantirilgan ana shu material paket kolbadan olinib, 2-3 marta xloroformda yuviladi va kristalizatorga qoyib, erituvchini uchirib yuborish uchun mo`rili shkafda bir oz qoldiriladi. Shundan keyin 2-5 soat davomida termostatda  $100-105^{\circ}\text{C}$  da quritiladi. So`ngra paket byuksga solinib, eksikatorga 45 minut qo`yiladi. Quritilgandan keyin paketlarda sariq yoki jigarrang chiziqlar paydo bo`lishi. Ekstraksiya oxirigacha ketmaganligini bildiradi. Bunday holda erituvchining hajmini ko`paytirib va ekstraksiyani uzoqroq davom ettirib tajriba yana takrorlanadi.

2-tajriba. Quritilgan oddiy biologik materialdagi suv miqdorini aniqlash. Ikkita quruq doimiy bir xil og`irlikka keltirilgan byuksga 0.0002 g aniqlikda tortilgan 1 g dan material olinadi. Byukslar tekshiriladigan material bilan birgalikda tortilgandan so`ng qopqog`i bilan birgaliqda  $100-105^{\circ}\text{C}$  li termostatga 4-6 soat qo`yiladi. So`ngra byukslarning qopqog`ini berkitib sovitish uchun eksikatorga 45 minut qo`yiladi. So`vitilgandan keyin avvalgi tarozida yana tortiladi. Shundan keyin doimiy massaga

kelguncha 2 soatdan termostatda qizdirib, sovitib tortiladi. Birin-ketin tortish orasidagi farq 0,0002 g gacha bo'lsa, bu operatsiya to'xtatiladi. Tekshirilayotgan obyektidagi suvning miqdori quyidagi formula bo'yicha hisoblab topiladi:

$$C = \frac{100(a - a_1)}{a}$$

Bu yerda: C-suvning foiz miqdori; a-materialning quritishgacha bo'lgan massasi; a_1 – materialning kiritilgandan keyingi massasi.

Lipidning foiz miqdori olingan material massasi bilan eksraksiyadan keyingi massasi orasidagi farq asosida hisoblab chiqiladi. Ikkita parallel aniqlash orasidagi tafovut 1-1,5 % dan oshmasligi kerak. Olingan ma'lumotlar quyidagi jadval qo'rinishida yoziladi:

Analiz uchun olingan biologik materialning massasi, g da	Suvning miqdori % da	Absolyut quruq materialning massasi g da	Analizga olingan materialdagi lipidning miqdori G da	Tekshirilayotgan obyektning lipid miqdori	
				Quruq massaga nisbatan	Absolyut quruq massaga nisbat

13-ISH. POLISAXARIDLAR

Maqsad: Polisaxaridlarning kimyoviy xossalari haqida tushuncha berish va kraxmal gidrolizini tajribalar asosida o'rganish.

Kerakli asbob va reaktivlar. Probirkalar, shtativlar, 10 ml li, 1 ml li pipetkalar, 25 ml li o`lchov shilindri, 25 ml li qaytar sovitkich, gaz gorelkasi yoki spirt lampa, 40<sup>0</sup>C li termostat, qizdirishga chidamli kolba, 1% li kraxmal eritmasi, 10% li H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eritmasi, lyugol eritmasi, Felning reaktivi, distillangan suv, 5 marta suyultirilgan so`lak.

Kraxmal yuqori molekulyar polimer birikma, u gidrolizlanganda gidrolitik prosessning qanday darajada borishiga qarab, molekulosining katta – kichikligi bilan farqlanadigan, dekstrinlar deb ataluvchi polisaxaridlar va eng oxirida maltoza bilan glyukoza hosil bo`ladi. Dekstrinlar to`rt gruppaga bo`linadi.

1. Amilodekstrinlar Lyugol eritmasi bilan ko`k rang hosil qiladi, spirt ta'sirida cho`kadi, tuzilishi xossasi kuchsiz (maltozadagiga nisbatan 100 baravar kuchsiz) namoyon bo`ladi.

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

3. Axrodekstrinlar yod bilan rang hosil qilmaydi, 70⁰ li spirtida eriydi. Qaytaruvchanlik xossasi maltozanikiga nisbatan 10 baravar kuchsiz.

4. Maltodekstrinlar yod bilan rang bermaydi, spirt cho`kmaydi, qaytaruvchanlik xossasi maltozaga nisbatan ancha kichik.

Ishning bajarilishi. 20 ta toza probirka olib, har biriga 10 ml dan distillangan suv va 2-3 tomchidan Lyugol eritmasidan tomiziladi va 10 tadan 2 ta gruppaga bo`lib nomerlab qo`yiladi. 2 ta 100 ml li kolba olib, 1 % li kraxmal eritmasidan 20 ml qo`yib, birinchi kolbaga 5 ml 10% li sulfat kislota, ikkinchisiga esa 5 ml 5 marta suyultirilgan so`lak quyiladi. Birinchi kolba og`ziga qaytar sovitgich o`rnatib, suyuqlik qaynatiladi, ikkinchisi 40⁰ li termostatga quyiladi. Har 2-3 minutda ikkala kolbadagi suyuqlikdan 0,5 ml dan olib avval tayyorlab quyilgan probirkalardagi yod eritmasi ustiga quyiladi. Probirkalardagi suyuqlikning rangi birin-ketin o`zgarishi kuzatiladi. Fermentativ gidroliz qilinganda ham shunday ish qilinadi, so`ngra har ikkala gidrolizat bilan Felning reaksiyasi qilib ko`riladi. Buning uchun kislotali gidrolizat avval neytrallab olinadi.

14-ISH. VALGEMUT USULI BO`YICHA BIOLOGIK

OBJEKTlardagi AMILAZANING AKTIVLIGINI ANIQLASH

Maqsad: Valgemut usuli yordamida uglevodlarning fermentativ gidrolizi va amilazaning aktivligini aniqlash.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, pipetkalar, shisha tayoqcha, termostat, natriy xloridning 0,85 % li eritmasi, so`lak, kraxmalning 1 % li eritmasi, sulfat kislotaning 10 % li eritmasi, yodning kaliy yodiddagi eritmasi.

Amilaza α -1,4 – glyukan -4- glyukongidrolaza – KF – 3.2.1.1 fermenti gidrolitik fermentlarni glyukozid bog`larini suv yordamida parchalovchi fermentlar gruppasiga kirib, kraxmalni maltozagacha parchalaydi. Amilaza fermenti tabiatda ancha keng tarqalgan bo`lib, so`lakda oshqozon osti bezining shirasi, qon tarkibida, mog`or zamburug`larida va boshqa joylarda ko`p uchraydi. Amilaza aktivligini aniqlash tekshiriladigan suyuqlikni suyultirish yo`li bilan ma`lum miqdordagi kraxmal eritmasini parchalay oladigan fermentning minimal miqdorini topishga asoslangan.

Valgemut usuli soddaligi, ishlatiladigan reaktivlarining oddiyligi, qimmatli apparatura talaba qilmasligi sababli, turli biologik obyektlarni amilolitik aktivligini aniqlashda keng qo`llanilmoqda.

Ishning bajarilishi. Shtativga 10 ta nomerlangan probirka qo`yib, hammasiga 1 ml dan 0,85 % li Na Cl eritmasidan quyiladi. Birinchi probirkaga 1 ml so`lak quyib, yaxshilab aralashtiriladi va aralashmadan 1 ml olib ikkinchi probirkaga quyiladi, eritma aralashtirilgach, ikkinchi probirkadagi aralashmadan 1 ml olib uchinchi probirkaga quyiladi va shunday ishni o`ninchi probirkagacha davom ettiriladi, o`ninchi probirkadagi aralashmadan 1 ml olib to`kib tashlanadi.

Probirkalar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Suyultirish darajasi	2	4	8	16	32	64	128	256	516	1024
Eritmaning rangi										

Shunday qilib quyidagicha suyultirilgan so`lak hosil bo`ladi.

Hamma probirkaga 2 ml dan 1 % li kraxmal eritmasidan quyib, 30 minutcha 37⁰ C li termostatga qo'yiladi. Ko'rsatilgan vaqt o'tgandan keyin 1 ml dan 10 % li sulfat kislota (ferment ta'sirini to'xtatish uchun) quyiladi, 12 tomchidan yodning kaliy yodididagi eritmasidan tomiziladi. Kuzatish natijalari ko'k, qizil, sariq so'zlarini ifodalovchi "K", "K", "S" harflari bilan belgilab jadvalga qayd qilinadi.

Ferment aktivligini hisoblash uchun, qaysi probirkada kraxmal to'la gidrolizga uchragani topiladi. Masalan, yettinchi probirkadagi suyuqlik sariq, sakkizinchi probirkadagisi qizg'ish – binafsha rangga kirgan, bu probirkadagi kraxmal to'la gidrolizlanmagan. To'qqizinchi probirkadagi suyuqlik esa ko'k rangli bo'lishi mumkin, demak, bu probirkada umuman gidrolizlanmagan kraxmal ham mavjud. Yettinchi probirkadagi so'lakning suyultirish darajasi 128 ga teng. Bu sonni quyilgan kraxmalning ml miqdoriga ko'paytirilsa, shu eritma, ya'ni so'lakning amilaza soni kelib chiqadi: $128 \cdot 2 = 256$. demak, tekshirilayotgan so'lakning 1 millilitri 1 % li 256 ml kraxmalni parchalay olishi mumkin ekan.

15-ISH. FERMENT AKTIVLIGIGA MUHITDAGI VODOROD IONLARI KONSENTRASIYASINING TA'SIRI

Maqsad: Muhit pH ko'rsatkichining fermentlar aktivligiga ta'sirini laboratoriya tajribalari asosida o'rganish.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, natriy gidrofosfatning 0,2 m eritmasi, limon kislotaning 0,1 m eritmasi, 100 marta suyultirilgan so'lak, 0,5 % li kraxmalning 1 % li natriy xloriddagi eritmasi, 0,1 % li yod eritmasi.

Ferment aktivligiga ta'sir etuvchi muhim omillardan biri vodorod ionlari konsentrasiyasi hisoblanadi. Ko'pchilik fermentlar ma'lum pH intervalida yuqori aktivlikka ega bo'ladi. Mana shu muhitning pH qiymati fermentning pH optimumi deb ataladi. Ferment aktivligining pH ga bog'liqligi birinchidan, ferment aktiv markazidagi substrat bilan bog'lanishda ishtirok etadigan, ionlanadigan gruppalarining, ikkinchidan, substrat molekulosisining ferment bilan bog'lanishiga aloqador funksional

gruppalarining, uchinchidan, ferment molekulosining katalitik ta'siriga bog'liq bo'lgan funksional gruppalarining dissosialanish qonstantalari va nihoyat ferment molekulosining o'ziga xos va katalitik aktivligiga ta'sir qiluvchi boshqa ferment gruppalarining ionlanish darajasi muhitidan vodorod ionlari konsentratsiyasiga aloqadorligidan kelib chiqadi.

Ishning bajarilishi. 7 ta probirkaga 14-jadvalda ko'rsatilgan miqdorda 0,2 m ikkilamchi natriy fosfat Na_2HPO_4 va 0,1 m limon kislota eritmasidan quyiladi. Natijada pH 5,6 dan 8,0 gacha bo'lgan buffer eritmalar tayyor bo'ladi. Har bir probirkaga 100 marta suyultirilgan so'lakdan 10 tomchidan, 0,5 % li kraxmal eritmasidan 10 tomchidan quyiladi.

Probirkadagi suyuqlik yaxshilab aralashtirilgach, xona temperaturasida 5 minut qoldiriladi. Shu vaqt o'tgandan so'ng 4-probirkadagi (bu probirkadagi buffer aralashmaning pH qiymati amilazaning pH optimumiga to'g'ri keladi) suyuqlikdan 1 tomchi olib, yod bilan reaksiya qilib ko'riladi. Agar ko'k rang paydo bo'lsa, yana 5 minut qoldiriladi. Olingan aralashma boshqa, ya'ni qizil yoki sariq rangga bo'yalsa, hamma probirkaga 0,1 % li yod eritmasidan 1-2 tomchidan tomiziladi. Qaysi probirkada kraxmal to'la gidrolizlangan bo'lsa, shu probirkaning pH optimumiga to'g'ri keladi.

16-ISH. FERMENT AKIVLIGIGA AKTIVATOR VA PARALIZATORLARNING TA'SIRI

Maqsad: Fermentlar aktivligiga aktivator va paralizatorlarning ta'sir mexanizmini o'rganish. Laboratoriya tajribalari orqali olingan xulosalar natijasida ko'nikmalar hosil qilish.

Kerali asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, kraxmalning 0,5 % li eritmasi, distillangan suv, natriy xloridning 1 % li eritmasi, mis (II)-sulfatning 1 % li eritmasi, 5 marta suyultirilgan so'lak, 0,1 % li eritmasi.

Ferment aktivligini kushaytiruvchi yoki to'xtatuvchi moddalar aktivator va paralizatorlar deb ataladi. Aktivator va paralizatorlarning ta'sir mexanizmi to'liq o'rganilgan emas. Ko'pchilik fermentlar aktivatorlari reaksiya muhitda bo'lmasa,

ta'siri umuman ko`rilmaydi. Masalan, amilaza dializ qilinsa, aktivligi yo`qoladi, NaCl eritmasi qo`shilsa tiklanadi. Kinazalar gruppasidagi fermentlarning aktivligi uchun  $Mg^{++}$  ioni bo`lishi shart. Paralizatorlar yoki ingibitorlarning ta'sir mexanizmi yoki xarakteri xilma-xildir. Ba'zi hollarda ular ferment aktivatori bo`lgan metal ionlarini biriktirib olsa, ba'zan fermentni denaturasiyalaydi yoki ferment bilan "yolg'on" ferment – substrat kompleksini hosil qilib, ioaktiv holatga o`tkazib qo`yadi.

Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, ularga 5 tomchidan 0,5 % li kraxmal eritmasidan tomiziladi, birinchi probirkaga 10 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 8 tomchi suv bilan 2 tomchi 1 % li NaCl eritmasi, uchinchisiga 8 tomchi suv bilan 2 tomchi 1 % li $CuSO_4$ eritmasi quyiladi, hammasiga 5 marta suyultirilgan so`lakdan 10 tomchidan qo`shib, yaxshilab aralashtirib, xona temperaturasida qoldiriladi. 5 minutdan keyin 3 ta probirkaga 10 tomchidan distillangan suv, 1-2 tomchidan 0,1 % li yod eritmasidan aralashtiriladi, ularning ustiga tajribadagi uchala probirkadagi aralashmaning har biridan 2-3 tomchidan alohida probirkalarga tomiziladi. Yod bilan qilinadigan reaksiya 10-15 minutda yana takrorlanadi. Birinchi probirkadagi suyuqlik binafsha yoki qizil rangga, ikkinchisi qizil yoki sariq, uchinchisi esa ko`k rangga kiradi. Demak, 2-probirkada kraxmal yaxshiroq gidrolizlangan, uchinchisida esa umuman gidroliz ketmagan. Ish natijasi jadvalda qayd qilinadi.

Tajriba	0,2 m Na_2HPO_4 miqdori (ml hisobida)	0,1 m limon kislotasi miqdori (ml hisobida)	Aralashmaning pH qiymati	0,5 % li kraxmalning 1 % li NaCl dagi eritmasining miqdori	100 marta suyultirilgan so`lak miqdori	Yod bilan reaksiya natijasida hosil bo`lgan rang
1	0,58	0,42	5,6	10 tomchi	10 tomchi	
2	0,63	0,37	6,0	10 tomchi	10 tomchi	
3	0,69	0,31	6,4	10 tomchi	10 tomchi	
4	0,77	0,23	6,8	10 tomchi	10 tomchi	
5	0,87	0,13	7,2	10 tomchi	10 tomchi	
6	0,94	0,06	7,6	10 tomchi	10 tomchi	
7	0,97	0,08	8,0	10 tomchi	10 tomchi	

Amilaza aktivligiga aktivator va paralizator ta'siri

Tajriba №	Ferment	Substrat	Fermentning ta'sir vaqti	Reaksiya aralashmaning yod bilan bergan rangi (tajriba variantlari)		
				H ₂ O	NaCl bilan	CuSO ₄ bilan
1	So`lak amilazasi	kraxmal	5			
2	— «—	kraxmal	10			
3	— «—	kraxmal	15			

17-ISH. QALQONSIMON BEZ GORMONI – TIROKSINGA XOS REAKSIYA

Maqsad: Qalqonsimon bez, gormoni haqidagi bilimlarini mustahkamlash va tiroksinga xos reaksiyalar asosida uning kimyoviy xossalarini o`rganish.

Kerakli asbob va reaktivlar: hovoncha, 50 ml li kolba, gaz gorelka yoki spirt lampa, probirka, 1-2 ml li pipetkalar, 10 % li natriy bikorbonat eritmasi, lakmus qog`oz, sulfat kislotaning 10 % li eritmasi, kaliy yodatning 2 % li eritmasi, kraxmalning 1 % li eritmasi, tireoid preparati yoki qalqonsimon bez ekstrakti.

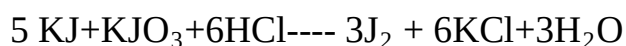
Qalqonsimon bez to`qimasidan tarkibida 0,2-0,9 % yod bo`laigan, tireoglobulin deb ataluvchi oqsil ajratib olingan. Bu glikoprotein xarakterli oqsilning molekulyar massasi taxminan 660000 ga teng. U qalqonsimon bezning asosiy mahsuloti hisoblanadi. Lekin qonda bu oqsil topilmagan. Ma`lum bo`lishicha, u bez to`qimasidagi proteolitik fermentlar ta`sirida parchalanib, molekulosida 60 % gacha yod bo`ladigan gormonlar – tiroksin, triyodtironin, diyodtironin ajratadi.

Qalqonsimon bezning asosiy gormoni- tiroksin tireoglobulin molekulosidagi tirozin aminokislotalarining yodlanishi natijasida avval yodtirozinlar qoldig`i, so`ngra ularning 2 molekulosining o`zaro qondensatlanishi natijasida tiroksin sintezlanadi.

Tireoid gormonlarning asosiy biologik roli genlar ekspressiyasiga ta'siridir. Tireoid gormonlar transkripsiyani stimullashi mumkin. Bu gormonlarning retseptorlari

yadroda, mitoxondriyada va tsitozolda topilgan. Tiroksin kalorigen ta'sirida ega bo'lib, 10^{-4} , 10^{-3} m konsentrasiyada mitoxondriyalarga ta'sir etilganda oksidlanishli fosforlanish ajralishi kuzatiladi tireoid gormonlar organizm, organ va to'qima xujayralarining reaksiya qobiliyatini oshiradi.

Tiroksinga xos sifat reaksiya undagi yodni aniqlashdir. Tiroksin oksidlanish yo'li bilan parchalanganda erkin yod ajralib chiqadi. Hosil bo'lgan elementlar yodni uning kraxmal bilan beradigan reaksiyasi yordamida aniqlash mumkin:



1-tajriba. Tireoidinni ishqoriy muhitda gidrolizlash.

Ishning bajarishi. Hovonchaga 5 ta tireoidni tabletkasini solib, yaxshilab mayadalanadi. Maydalangan kukun kolbaga solinadi, ustiga 10 % li natriy bikarbonat eritmasidan 5 ml va distillangan suvdan 5 ml quyiladi. Kolbadagi suyuqlik 10-15 minut davomida qaynatiladi.

2-tajriba. Gidrolizatdagi yodni aniqlash. 1- 1,5 ml sovitilgan gidrolizatdan olib, lakmusga nisbatan kislotali muhit paydo bo'lguncha 10 % li sulfat kislota tomchilatib qo'shiladi. Hosil bo'lgan gidrolizatga 3 tomchi 1 % li kraxmal eritmasi va 0,5 ml 2 % li kaliy yodat eritmasi qo'shib, chayqatiladi. Ajralgan yod hisobiga probirkadagi suyuqlik ko'k rangga kiradi.

ILOVA

LABORATORIYA ISHLARIDA ENG KO'P ISHLATILADIGAN REAKTIVLARNI TAYYORLASH USULLARI

Ortsin reaktivini tayyorlash uchun 0,2 g Ortsin 100 ml 30 % li xlorid kislota eritilib, uning ustiga 0,1 g temir (III)-xlorid kristali qo'shiladn. Eritma rangli sklyankada saqlanishq kerak.

Selivanov reaktivini tayyorlash uchun 0,05 g rezortstin ikki marta suyultirilgan 100 ml xlorid kislota eritiladi.

Difenilamin eritmasini tayyorlash uchun 70° li spirtida ikki marta qayta kristallangan 1 g difenilamin, 2,75 ml kontsentrlangan sulfat kislota va 100 ml muz-sirka kislota eritiladi.

Nilander reaktivini tayyorlash uchun 2 g vismut nitratning asosli tuzi va 4 g segnet tuzi 100 ml 10% li NaOH eritmasida, qaynayotgan suv hammomida qizdirish yo'li bilan eritiladi. So'ngra sovitib filtrlanadi.

Feling suyuqligi ikkita eritmada tayyorlanadi. 1) 34,6 g Cu SO₄.

5H₂O 500 ml suvda eritiladi; 2) 172 g segnet tuzi va 70 g NaOH

500 ml suvda eritilib, alohida saqlanadi. Foydalanishdan avval teng hajmda aralashtiriladi.

Barfed reaktivini tayyorlash uchun 13,3 g mis atsetat 100 ml distillangan suvda eritiladi. Eritma filtrlangach, 1,9 ml muz-sirka kislota qo'ishiladi. Eritma rangli idishda saqlanadi.

Lyugol eritmasini tayyorlash uchun 500ml li kolbaga 20 g kaliy yodid va 10 g yod kristali solib, 200 ml suvda eritiladi, so'ng hajmi 500 ml ga yetkaziladi.

Kumush gidroksidining ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz tayyorlash uchun 1 % li kumush nitrat eritmasi ustiga kontsentrlangan ammiak qo'shiladi. Bunda avval loyqa hosil bo'ladi, ammiak tomizish davom ettirilsa, cho'kma erib ketadi. Hosil bo'lgan tiniq eritma bilan filtr qog'oz namlanadi.

Fuksin-sulfit kislota eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz tayyorlash uchun 1 g fuksin 200 ml distillangan suvda eritiladi. Eritma 5 minut chayqatilgach, 50° S gacha sovitiladi va filtrlanadi. Filtratga 20 ml 1 n xlorid kislota eritmasidan quyiladi. Eritma 25° S gacha sovitilgach, ustiga 1 g natriy yoki kaliy metabi-sulfit qo'shiladi. Eritma qorong'i joyda 14-24 soat qoldiriladi. So'ng ustiga 2 g aktivlangan ko'mir solib, 1 minut chayqatiladi va filtrlanadi. Tayyorlanga eritma qorong'i joyda, 0-4° S da saqlanadi. Ish bajarilishidan oldin filtr qog'oz shu eritma bilan namlanadi.

Neytrallangan 1:1 nisbatli spirt efir aralashmasini tayyorlash uchun teng hajmdagi etil spirt bilan efir aralashtiriladi va uning ustiga 3-4 tomchi fenolftalein tomiziladi, so'ngra qonning 0,1 n spirtli eritmasi och pushti rang hosil bo'lguncha tomchilatib qo'shiladi.

Molibdatli reaktiv tayyorlash uchun 18,75 g ammoniy molibdat 250 ml distillangan suvda eritilib, uning ustiga 250 il 32 % li nitrat kislota (zichligi 1,2) qo'shiladi va cho'kma erib ketguncha chayqatiladi.

Formalin-sulfat kislota aralashmasi tayyorlash uchun 1 ml formalin 50 ml kontsentrlangan sulfat kislota bilan aralashtiriladi.

Biuret reaktivi tayyorlash uchun 250 ml li kolbaga 0,375 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ va 1,5 g segnet tuzi solib, 150 ml distillangan suvda eritiladi. To'xtovsiz aralashtirib turgan holda 75 ml 10 % li natriy gidroksid qo'shiladi va hajmi 250 ml ga yetkaziladi.

Folin reaktivi tayyorlash uchun 250 ml li yumaloq tubli kolbaga 10 g natriy volframat, 2,5 g natriy molibdat solib, ustiga 70 ml distillangan suv qo'shib, yaxshilab chayqatiladi. Aralashma ustiga 5 ml 85% li fosfat kislota va 10 ml kontsentrlangan xlorid kislota qo'shib, shlifli qaytar sovitgich o'rnatib, 10 soat qaynatiladi. Shundan so'ng 15 g litiy sulfat, 5 ml distillangan suv va 1 tomchi brom qo'shiladi. Eritma sovitilgach hajmi 100 ml ga yetkaziladi va kislotaliligi 1 n ga yetguncha suyultiriladi.

Mis fosfat suspenziya tayyorlash uchun 1 hajm mis (II)-xlorid (1 litrda 27,3 g CuCl_2), ikki hajm natriy fosfat (1 litrda 68,5 g $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ yoki 64,5 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ 500 ml suvda eritilib, qaynatish yo'li bilan CO_2 yo'qotiladi) va ikki hajm borat buferi (28,6 g bura 750 ml suvda eritilib, ustiga 50 ml 1 n HCl qo'shiladi va hajmi 1 l ga yetkaziladi, pH 8,8) qo'shiladi. Suspenziya faqat ish oldidan kerakli hajmda tayyorlanadi.

«**Nadi**» eritmasi tayyorlash uchun teng miqdorda α naftolning 1 % spirtidagi eritmasi, 1% li dimetilparafenilendiamin va 1,5 % li natriy karbonat eritmasi aralashtiriladi. Reaktiv tez o'zgarganligi uchun har bir ishga yangi eritma tayyorlanadi.

Aspartattransaminazaga substrat aralashma tayyorlash uchun 1,33 g aspartat kislota, 0,073 g α -ketoglutarat kislota, 0,4 g suvsiz NaHPO_4 va 0,07 g KH_2PO_4 , 50 ml li o'lchov kolbaga solinadi, ustiga 4,4 ml 10 % li NaOH qo'yib, hajmi 50 ml ga yetkaziladi, shundan so'ng 0,2 ml xloroform qo'shiladi.

Anilinsitrat tayyorlash uchun 0,5 g limon kislota 5 ml suvda eritilib, unga 5 ml anilin aralashtiriladi. Tayyorlangan aralashma rangli shisha idishda saqlanadi.

Alaninamionotransferazaga substrat eritma tayyorlash uchun 50 ml li o'lchov kolbasiga 0,89 ml *dl*-alanin, 0,073 g α -ketoglutarat kislota, 0,4 g Na_2HPO_4 va 0,07 g KH_2PO_4 solinadi va aralashma ustiga 5-8 ml suv, 0,4 ml 10 % li NaOH eritmasidan qo'yib, hajmi 50 ml ga yetkaziladi, so'ngra 0,2 ml xloroform qo'shib, muzlatilgan holatda saqlanadi.

Fruktozo-1,6-difosfatning 0,005 M eritmasini tayyorlash uchun 250 mg fruktozodifosfatning bariyli tuzi 70 ml suvda eritilib, ustiga 410 mg gidrazinxlorid qo'shiladi va natriy gidroksid eritmasi yordamida pH 8,2 ga keltiriladi, so'ngra eritmaning hajmi 100 ml ga yetkaziladi.

Medinal-atsetatli bufer (pH-7,4) tayyorlash uchun 9,714 g natriy atsetat va 14,714 g medinal 500 ml suvda eritiladi.

Glyukozofosfat izomeraza uchun substrat bufer aralashma quyidagicha tayyorlanadi: 8,33 ml glyukozo-6-fosfatning natriyli tuzi (0,03 m) 25 ml medinal atsetat buferi (pH-7,4) bilan aralashtiriladi, aralasha ustiga 25 ml 0,1 n HCl eritmasi qo'shib, hajmi 100 ml ga yetkaziladi. Eritma sovuq joyda saqlanishi kerak.

Anilin reaktivi tayyorlash uchun 15 qism anilin 1 qism kontsentrangan HCl bilan aralashtiriladi.

Fol reaktivi tayyorlash uchun teng hajmda 5% li qo'rg'oshin atsetat bilan 30 % li natriy gidroksid aralashtiriladi.

Nitrit molibdenli reaktiv quyidagicha tayyorlanadi: 10 g natriy nitrit shuncha miqdordagi natriy molibdat bilan aralashtirilib, 100 ml distillangan suvda eritiladi.

Adrenalinni standart eritmasini tayyorlash uchun 25 ml li o'lchov kolbasiga 1 ml adrenalin eritmasidan quyib, hajmi 25 ml ga yetkaziladi. Bunday eritmaning 1 ml da 0,04 mg adrenalin bo'ladi.

Diazoreaktiv ikkita reaktiv (A, B) ni o'zaro aralashtirishdan hosil bo'ladi. 1,9 ml kontsentrangan xlorid kislotada 0,9 g sulfanil kislotasi eritilib, hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi. Bu eritmani shartli ravishda A reaktiv deb olamiz. B-reaktiv esa 5% li natriy nitrit eritmasidir. Foydalanishdan oldin har ikkala eritma muz yordamida sovutiladi, so'ng 1,5 ml sulfanil kislotaga 15 ml natriy nitrit qo'shiladi, 5 minutdan so'ng yana 60 ml natriy nitrit qo'shib, 1 minutdan so'ng hajmi 500 mg ga yetkaziladi.

Eykonogen eritmasi tayyorlash uchun - 0,25 g eykonogen, 15 g natriy gidrosulfit va 0,5 g natriy sulfat 170 ml distillangan suvda eritiladi. Agar eritmada loyqa hosil bo'lsa, 0,25 qayta kristallangan eykonogen qo'shib, hajmi 100 ml ga yetkaziladi va 90° C gacha qizdiriladi. Agar eritmada yana loyqa qolsa, eritma isitiladi va filtrlanadi. Eritma foydalanishdan oldin 5 marta suyultiriladi.

Qizil qon tuzining 0,005 n eritmasini tayyorlash uchun - 1,65 g $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ va 10,6 g suvsiz Na_2CO_3 1 l li o'lchov kolbasiga eritiladi va hajmi 1 l ga yetkaziladi.

Glyukozaning standart eritmasini tayyorlash uchun benzoy kislotaning to'yingan eritmasining har 100 ml da 5; 10; 20 g glyukoza eritiladi.

Glyukoza miqdorini enzimatik aniqlash uchun ish eritma quyidagicha tayyorlanadi: 70-80 ml 0,25 n atsetat buferiga (pH 4,8) 2 mg glyukozooksidaza preparati va 1% li quruq paroksidaza kristali qo'shiladi. Aralashmaga 1 ml 1% li o-toluidin qo'shib, hajmi atsetat buferi bilan 100 ml ga yetkaziladi. Reaktiv foydalanishdan 1-2 soat oldin tayyorlanishi kerak. Bu eritmani qoramtir rangli shisha idishda, sovuq joyda (0-4° C) 1-1,5 oy saqlash mumkin.

Antron reaktivi tayyorlash uchun 100 ml 65 % li sulfat kislotasi eritmasiga 1 g tiomoxevina va 50 mg antron qo'shib, suv hammomida 80-90° C gacha qizdiriladi. Tayyorlangan eritma sovutiladi va zich berkiladigan qoramtir shisha idishda, sovuq joyda (0-4° C) saqlanadi.

2,4-dinitrofenilgidrazinning 0,1 % li eritmasi quyidagicha tayyorlanadi: 100 mg 2,4-dinitrofenilgidrazinga asta-sekin 1:4 nisbatda suyultirilgan xlorid kislotadan 100 ml qo'shib eritiladi va eritma filtrlanadi.

Suvga to'yintirilgan toluol olish uchun teng hajmda distillangan suv bilan haydalgan toluol aralashtirilib, yaxshilab chayqatiladi. So'ng ajratkich voronkada eritmaning ustki qismi olinib, ish uchun foydalaniladi.

Dishe reaktivi tayyorlash uchun 1 gramm difenilamin 100 ml muz-sirka kislotada eritilib, uning ustiga 2,7 ml kontsentrangan H_2 qo'shiladi.

Tris-atsetat buferi (pH-7,8) tayyorlash uchun 0,12 mol tris, 0,06 mol natriy atsetat,

0,003 mol EDTA ning natriyli tuzi distillangan suvda eritiladi va muz-sirka kislota yordamida (26 ml) pH-7,8 ta, eritmaning umumiy hajmi esa 11ml ga etkaziladi.

DNK –azaning standart eritmasini tayyorlash uchun 5 mg oshqozon osti bezining DNK-aza fermenti 1 l atsetat buferida eritiladi. Tayyorlangan eritmada 1 ml olib, 50 ml gacha shu buferda suyultiriladi. Tayyor boʻlgan eritma tarkibida 100 ng/ml DNK-aza boʻladi.

Urat kislotaning standart eritmasi quyidagicha tayyorlanadi: 0,2 g yaxshi quritilgan urat kislotaga 0,2-0,5 g Na_2CO_3 , 25 ml distillangan suv qoʻshib, aralashma eriguncha 50°-60° C da qizdiriladi va hajmi 1 litrga yetkaziladi.

Allantoinning standart eritmasini tayyorlash uchun 2,5 mg allantoin 2,5 % li trixlor sirka kislotani atsetat buferida (pH-5,0) eritiladi.

Sunʼiy oshqozon shirasi ikki usulda tayyorlanadi: 1) 330 ml 0,1 n HCl bilan 156 ml, 0,2 m KH_2PO_4 eritmasi 514 ml suv bilai aralashtiriladi; 2) 21,76 g NaCl, 4,1 ml kontsentrlangan HCl, 1,2 ml kontsentrlangan sut kislota 7 g pepton 1 litr suvda eritiladi.

1% li Kazeni eritmasini tayyorlash uchun maʼlum miqdordagi kazein bir necha tomchi 0,1 % li natriy karbonatda bir oz qizdirish yoʻli bilan eritilib, suv bilan suyultiriladi va 0,1 n HCl yordamida neytrallanadi.

0,2 la tris-HCl buferi (pH 8,0) tayyorlash uchun 50 ml 0,4 m tris eritma 26,8 ml 0,4 n HCl eritmasi bilap aralashtirilib, umumiy hajmi 100 ml ga yetkaziladi.

Ningidrin reaksiyasi uchun bufer (pH-5,3-5,4) aralashma tayyorlash uchun 270 g natriy atsetat 200 ml suvda eritilib, ustiga 50 ml haydalgan sirka kislota qoʻshiladi va distillangan suv qoʻshib, hajmi 750 ml ga yetkaziladi.

Nessler reaktivi tayyorlash uchun 1 litrli oʻlchov kolbaga 30 g simob (II)-yodid va 40 ml suv qoʻshiladi. Soʻngra 80 g NaOH 400 ml suvda eritilib, yodidli kolbaga qoʻyiladi. Kolbaning oʻlchov belgisigacha distillangan suv quyib, qorongʻi joyda 3 kun qoldiriladi, shundan keyin eritma filtrlanadi.

Temirning standart eritmasi quyidagicha tayyorlanadi: temir sim ikki marta qayta haydalgan bir necha tomchi nitrat kislota qoʻshilgan xlorid kislotada eritiladi. Avval 100 ml temirli eritma tayyorlanadi, soʻng undan ish eritmalar olinadi.

Oltingugurtning standart eritmasini tayyorlash uchun 710 mg suvsiz natriy sulfat 1 litr suvda eritiladi. Tayyor boʻlgan eritmada 2,5 ml olib, 200 ml gacha suyultiriladi. Bu eritmaning 1 ml da 2 mkg oltingugurt boʻladi.

Choʻktiruvchi reaktiv tayyorlash uchun 37,65 g limon kislota 0,5 litr bidistillangan suvda eritilib, ustiga 1,136 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ va 0,6 g amidoshvarts 10 V qoʻshiladi va aralashma erib ketguncha chayqatiladi. Shundan soʻng eritmaning hajmi bidistillangan suv bilan 1 litrga yetkaziladi.

ADABIYOTLAR

1. Mirxamidova P. va boshq. Biokimyo, amaliy mashg'ulotlar. T.: Universitet 2002 yil.
2. Zikiryoiev A., Mirxamidova P. O'simliklar bioximiyasidan amaliy mashg'ulotlar. T.: «Mehnat» 2001 yil.
3. R.Abdullayev va boshqalar "O'simliklar bioximiyasidan amaliy mashg'ulotlar". 1994 yil. Toshkent.
4. А.А. Чиркин «Практикум по биохимии». «Новое знание» 2000 год
5. www.urss.ru.
6. lib-online.ru.
7. www.pereplet.ru.
8. www.5-qa.ru.
9. www.cultinfo.ru.
8. To`raqulov.Yo.X. Biokimyo T:"O`qituvchi"1998 yil
9. Николаев.А.Я. Биологик химия Т "Ибн Сино" 1991год
- 10.Qosimov.A, Qo`chqorov.Q, Teshaboyev.C. Bioximiya "O`qituvchi"Т 1988yil

MUNDARIJA

Kirish.....	3
Oqsillarga xos rangli reaksiyalar.	4
1 - i s h . Oqsillarga xos rangli reaksiyalar.....	4
2-ish. Oqsillarni miqdoriy jihatdan aniqlash	
Biuret reaksiyasi yordamida oqsil miqdorini aniqlash.....	14
3-ish. Oqsillarning cho`ktirish reaksiyalari.	16
4-ish. Aminokislotalarni xromatografik usulda ajratish.....	20
5-ish. Louri usuli bo`yicha oqsilni miqdor jihatdan aniqlash.....	24
6-ish. Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash	25
7-ish. Achitqidan nukleoproteidlarni ajratib olish va gidrolizlash.....	28
8-ish. DNK ni hayvon to`qimasidan ajratib olish va tozalash	30
9- ish. Monosaxaridlarning qaytaruvchanlik xossalari.....	31
10- ish. Qondagi glyukoza miqdorini Xagedori- Iensen usuli bo`yicha aniqlash..	35
11-ish. Lipidlarning fizik-ximiyaviy xossalari.....	36
12-ish. Biologik obyektlardagi umumiy lipidlarni aniqlash.....	43
13-ish. Polisaxaridlar.....	45
14-ish. Valgemut usuli bo`yicha biologik obyektlardagi amilazaning aktivligini aniqlash.....	46
15-ish. Ferment aktivligiga muhitdagi vodorod ionlari konsentrasiyasining ta`siri.....	47
16-ish. Ferment aktivligiga aktivator va paralizatorlarning ta`siri.....	48
17-ish. Qalqonsimon bez gormoni – tiroksinga xos reaksiya	50
Ilova.....	53