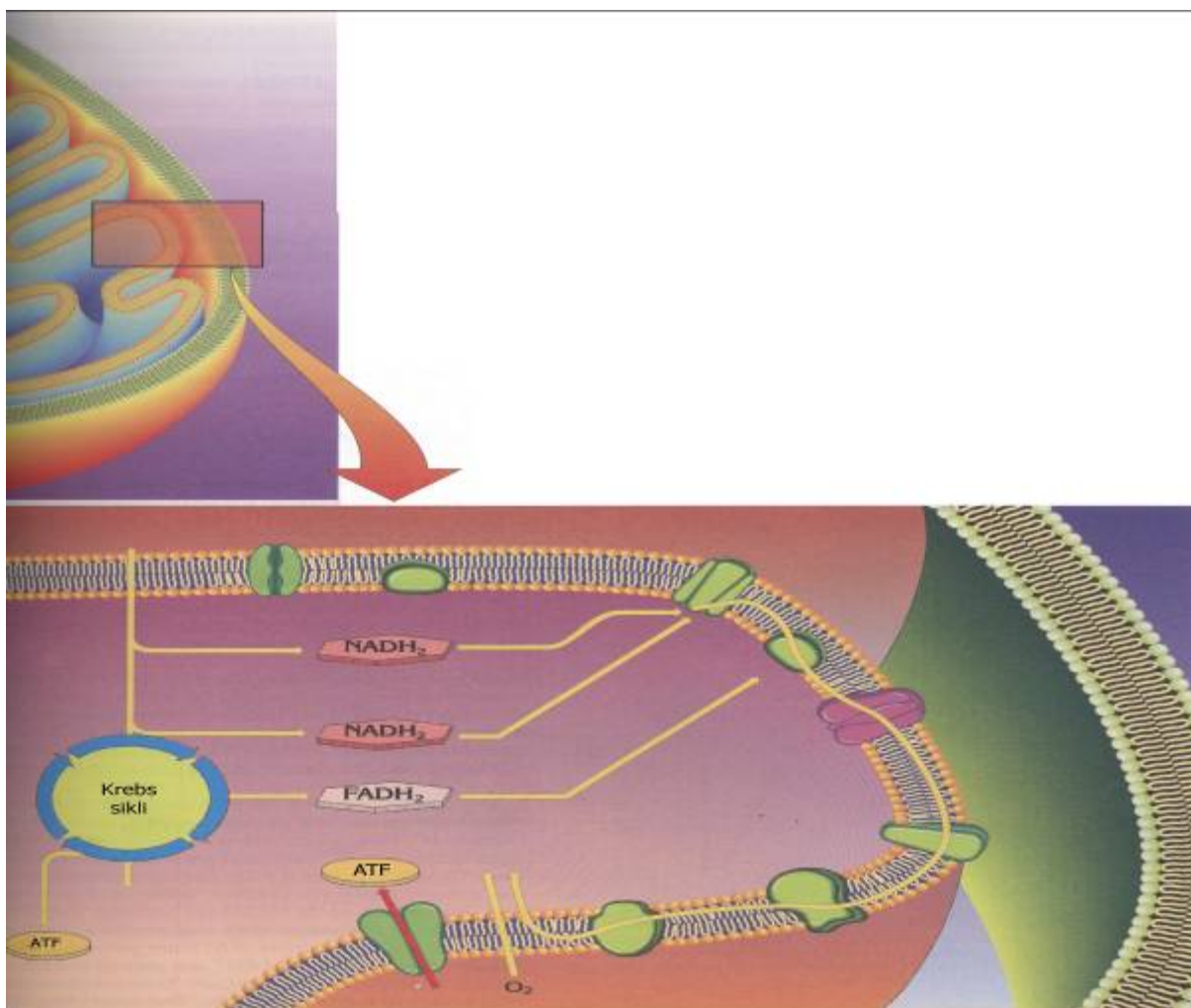


**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI XALQ TA'LIMI VAZIRLIGI
NAVOIY DAVLAT PEDOGOGIKA INSTITUTI**

BIOKIMYO

fanidan laboratoriya ishlarining to'plami
(uslubiy qo'llanma)



Navoiy – 2013yil

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

Tuzuvchilar:

B.f.n: XO'JJIYEV S.O.

O'qituvchi: BAXODIROVA U.B.

KIRISH

Biokimyo tirik organizmlarning organ hamda to'qimalar tarkibiga kiradigan moddalarning kimyoviy tarkibini, tabiatini, sifat o'zgarishlari va miqdoriy nisbatlarini, ularda amalga oshadigan hayotiy jarayonlarning asosini tashkil qiluvchi kimyoviy jarayonlarni o'rganadi. Ma'lumki biologiya hayotning paydo bo'lishi rivojlanish qonuniyatlarini o'rganadi, ximiya esa moddalarning tarkibi hamda o'zgarishini tekshiradi

Biokimyo biologiya bilan kimyoning chegara sohasida paydo bo'lib taxminan 100 yil ilgari mustaqil fan bo'lib shakillandi. Shu qisqa davr ichida, ayniqsa so'nggi 25–30 yil ichida tez rivojlandi. XVIII asr oxirlarida biokimyo tarixi ba'zi bir moddalar masalan: – siydikchil (mochevina), limon kislota, olma kislota va hokazolar organizmda sof holda ajratib olingan paytdan boshlangan. 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.

Fiziologiya, biokimiyo, 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, funktsiya bajarishining asosiy shartidir.

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

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

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №1

LABORATORIYADA ISHLASH QOIDALARI VA TEXNIKA XAVFSIZLIGI

Bu mashg'ulotning maqsadi laboratoriyada ishlashning umumiy qoidalarini va texnika xavfsizligi bilan tanishishdir. Buning uchun texnika xavfsizligi bo'yicha plakatlar, maxsus kiyim-boshlar komplekti xalat, ro'mollar yoki qalpoqchalar, fartuk, rezina qo'lqoplar va himoya ko'zoynaklari kerak bo'ladi.

Mashg'ulot mohiyati: bu mashg'ulotlar laboratoriyada o'tkaziladi. U yerda o't o'chirgich (ognetushitel), qum to'ldirilgan yashik va o't o'chirgich asbob uskunalarini bo'lishi kerak.

Laboratoriyada ishlashda quyidagi shartlarga rioya etilishi shart:

1. Apparat yoki mashinani ishga tushirishdan oldin, bu haqda atrofdagilar ogohlantiriladi.
2. Ish joyini bajariladigan ishga taaluqli bo'lmagan buyumlar bilan band qilmaslik.
3. Idishlar, priborlar, reaktiv aralashmalardan foydalangan holda kimyoviy reaksiyalar o'tkazishda instruksiya ko'rsatmalariga rioya etish.
4. Kimyoviy idishlarda suv ichish, ruxsatsiz noma'lum moddalar xidini va ta'mini tatib ko'rish qat'iyan man etiladi.
5. Gazli va spirtli yonib turgan asboblardan kamida 3 metr masofada, idishdan probirkalarga benzin, efir, spirt qo'shish mumkin emas. Ichida reaktiv bo'lgan barcha shisha va kolba (sklyanka) idishlarida, reaktiv nomi va tayyorlangan vaqti ko'rsatilgan yorliq bo'lishi kerak.
6. Laboratoriya tadqiqotlari o'tkazishga mo'ljallangan reaktivlar faqat maxsus joylarda saqlanishi kerak. Reaktivlar qo'yilgan idish probkalari boshqa idishlarga va stolga qo'yilmasligi kerak.
7. Oltingugurt kislotasi aralashmasini tayyorlash faqat laboratoriyada amalga oshiriladi. Bu kislota bilan ishlash joylarida har ehtimolga qarshi uni zararsizlantiruvchi soda va kiyim boshqa yoki badanga sachirasa yuvish uchun toza suv zaxirasi bo'lishi kerak.
8. Kislotani tashish va idishga quyishda rezina qo'lqop, rezinali fartuk qiyilishi va ximoya ko'zoynagi taqiladi.
9. Kislotali shisha idishlarni futlyarsiz yoki savatlarsiz tashish mumkin emas.
10. Kislota va ishqorlarni idishlarga quyishda varonkadan, eng yaxshisi maxsus qurilmadan foydalangan maqsadga muvofiq.
11. Aralashtiriladigan kislota va suv miqdori oldindan tayyorlab qo'yiladi. Kislotani suvga birdan emas, balki oz-ozdan, sekinlik bilan qo'shiladi. Bunda shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtirib, sovitib boriladi. Kislota aralashmasi tayyorlanayotgan stakan va kolbalar (yupqa bo'lsa), suvli idishga solib qo'shiladi.
12. Yog' o'lchagichga rezina probka qo'yiladi, uning keng qismidan ushlash kerak. Aks holda korpus bilan trubka biriktirilgan joydan sinib ketishi va kislota ish bajaruvchiga to'kilishi mumkin. Shuning uchun yog' o'lchagich sochiq bilan o'rab ushlanadi.

13. Ko`p sonli analiz o`tkazilayotganda yog` o`lchagich shtativlariga saqlagich futlyar kiydiriladi. Sentrifuga qapqoqdan tashqari, yog` o`lchagichni sinib ketishi natijasida ishlovchilarga kislota sachirab ketishi extimolini oldini olish uchun bilimga ham ega bo`lishi kerak.
14. Laboratoriyada ko`pi bilan 3 kunlik extiyojga yarasha kislota bo`lishi kerak. Kislota zaxiralar omborida saqlanadi.
15. Yog` o`lchagichdagi ishlatilgan kislota, voronkadan foydalangan holda yog`och futlyarga o`rnatilgan chinni idish yoki butilkaga quyiladi.
16. Qo`lga, yuzga yoki kiyimga tekkan kislota quruq soda bilan zararsizlantiriladi va suv bilan yuvib tashlanadi. Atrofdagi buyumlarga (stol, devor,pol) tekkan kuchli kislota ham yuqoridagi usul yordamida zararsizlantiriladi.
17. Xromli aralashma (pipetkalarini yuvish uchun) ham tashlanmaydi. Ishlatilgan aralashma ham kislota kabi maxsus idishlarga olib qo`yiladi.
18. Ish tugagandan keyin, ish joyi tartibga keltirib qo`yiladi.

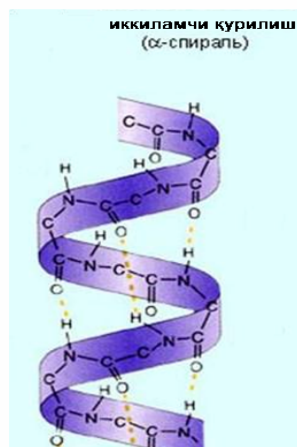
OQSILLAR

Tirik organizm tarkibiga kiruvchi organik moddalardan biologik jihatdan eng muhimi va struktura jihatdan eng murakkabi oqsillardir. Oqsillar termini birinchi marta hayvon va o'simlik to'qimalarida o'zining ayrim xossalari bilan tuxum oqsiliga (isitilganda ular iviydi) o'xshash moddalar topilishi natijasida paydo bo'ldi. 1838 yilda bu moddalarni N.Mulder proteinlar (grekcha protos – birinchi darajali) deb atadi. Barcha tirik organizmning hujayralarini tarkibiy qismini tashkil etadigan birikmalaridan eng muhimi va asosiysi oqsillar hisoblanadilar.

Oqsillar to'rt xil qurilish darajasiga ega. Birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi va to'rtlamchi. Ko'rib chiqilishi lozim bo'lgan to'rt xil qurilishning har biri o'ziga xos xususiyatga ega.

Peptid va polipeptidlarning nomenklaturasi

IKKILAMCHI QURILISH



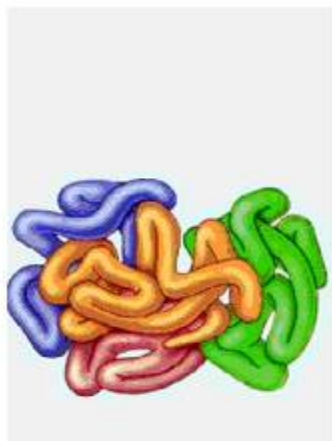
- *spiral ko'rinishga ega*
- *vodorod bog'lari bilan bog'langan*

OQSILLARNING UCHLAMCHI QURILISHI



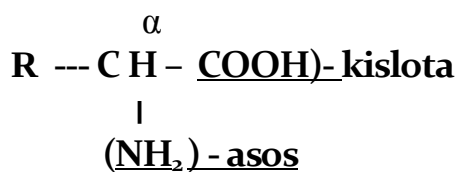
- **Polipeptid zanjirining fazoda uch marotaba spiral joylanishi**
- **Bog'lar: ion, gidrofob, disulfid, vodorod**

OQSILLARNING TO'RTLAMCHI QURILISHI



- Barcha oqsillar uchun harakterli emas
- Bog'lar: barchasini o'z ichiga olgan

Oqsillar amfoter yarim elektrolit bo'lib, uning kimyoviy tarkibi o'rganilganda molekulasida erkin amin (NH_2) va karboksil (SOOH) guruhlar borligi aniqlangan edi. Ular eritmalarda dissotsiyalanganda (NH_3^+) va (SOO^-) holatda bo'ladi. Oqsillar xuddi aminokislotalarga xos kislota, asos, xossaga ega. Aminokislotalardagi (SOOH) va (NH_2) guruhlar o'zaro birikib $\text{SO}-\text{NH}$ peptid bog'larni hosil qiladi. Shu guruhlar aminokislotalar uchun amfoter.



Oqsillarning osmotik xossasi

Oqsillarning molekulyar massalari yuqori bo'lganligi sababli, ular yarim o'tkazgich membranalaridan o'ta olmaydi ya'ni diffuziylanmaydi, past molekulali moddalar esa bunday membranalaridan oson o'tadi. Oqsillarning bu xossalaridan tajribalarda, ularning past molekulali aralashmalaridan tozalash maqsadida foydalaniladi. Bunday jarayonga **dializ** deyiladi.

Oqsillarning kolloid xossasi

Eritma holidagi oqsillar o'zining yuqori molekulyar massasi tufayli kolloid xossasiga ega. Barcha eritmalar erigan zarrachalarining kattaligiga qarab chin va kolloid eritmalarga bo'linadi

Oqsillarning denaturatsiyasi

Denaturatsiya – turli moddalarning ta'siri ostida yuqori qurilishga ega bo'lgan oqsil molekulasining buzilishi. Oqsillarga turli fizik-kimyoviy agentlar ta'sir ettirilganda

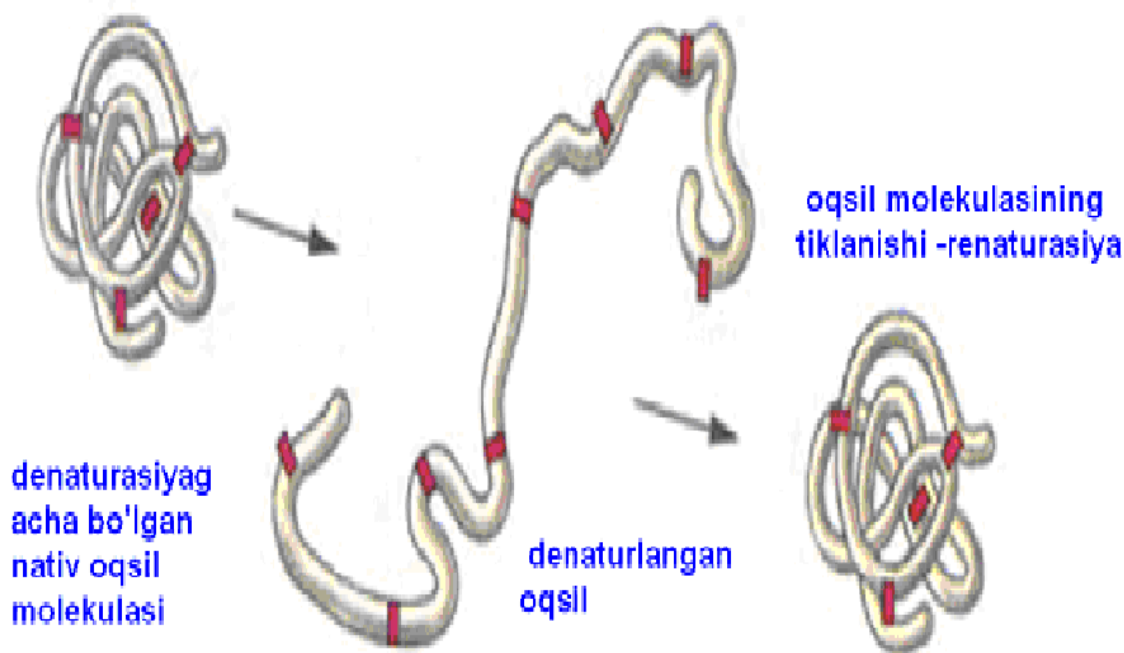
oqsil molekulasining fazoviy strukturasi mustahkamlovchi bog'larning tabiiy xususiyatlari yo'qoladi. Denaturatsiya yo'nalishiga ko'ra ikki xil bo'lishi mumkin:

1. Qaytar denaturatsiya; 2. Qaytmas denaturatsiya;

Qaytar denaturatsiyada oqsillarning ikkilamchi, uchlamchi, to'rtlamchi qurilish darajalari o'zgarishi, ular orasidagi bog'larning uzilishi amalga oshadi. Omillar ta'siri to'xtatilgandan so'ng oqsil o'z nativ qurilishini tiklay oladi.

Qaytmas denaturatsiyada oqsillarning birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi, to'rtlamchi qurilish darajalari o'zgarishi, ular orasidagi bog'larning uzilishi amalga oshadi. Omillar ta'siridan so'ng oqsil o'z nativ qurilishini tiklay olmaydi.

Oqsillarning denaturatsiyasi klinikalarda, masalan og'ir metallardan zaharlanganda foydalaniladi. Ularning qonga so'rilmaligi uchun, oshqozon – ichak shilliq pardasining oqsillarga ta'sir etmasligi uchun bemorga **peros** sut yoki xom tuxum beriladi, bunda metallar tuxum yoki sut oqsillarini denaturatsiyalaydi va ularning yuzasida adsorbsiyalanadi.



Hozirgi vaqtda denaturatsiyalovchi agentning qisqa muddatli ta'sirida denaturatsiyalangan oqsillar qaytadan nativ holatga o'tishiga – **renaturatsiya** yoki **renativatsiya** deyiladi. Nativ (tabiiy) holdagi oqsil qizdirilganda zanjirning ichidagi kuchsiz bog'lar uziladi va sovutilganda zanjir ichidagi bog'lar qayta hosil bo'ladi.

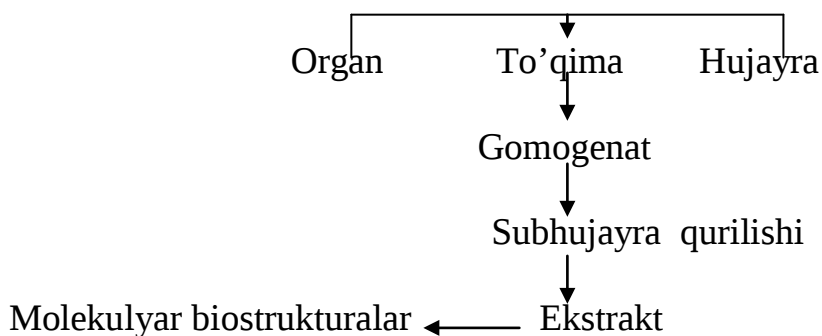
Biologik obyektlar yoki turli eritmalarda oqsil mavjudligini rangli reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Bu reaksiyalar oqsil tarkibidagi turli xil aminokislotalar, spesifik funksional gruppalar yoki peptid bog'larning xossalriga asoslangan. Bir qancha ximiyaviy moddalar oqsilga ta'sir etganda reaksiya 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 (ksantoprotein, 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 eritmalari, bir necha marta suyultirilgan qon zardobi, turli hayvon va o'simlik to'qimalari ekstraktlari bilan amalga oshirish mumkin.

Biokimyoviy tekshirishlarni amalga oshirish uchun misol tariqasida oqsilning qurilish darajasini va tarkibini o'rganishda faqat tekshirishning gidroliz, xromatografiya, elektrofarez, nishonlangan atomlardan foydalanish, rentgenostruktur analiz usullari ishlab chiqilganidan keyingina mumkin bo'ladi.

Biokimyoviy tekshiruv etaplarining ketma ketligi quyidagicha
Tekshiruv etapi tekshiruv obekti

1. Gomogenlash
2. Ultratsentrifugalash
3. Ekstraksiyalash
4. Analiz



LABORATORIYA MASHG'ULOTI №2

MAVZU: OQSILLARGA XOS RANGLI REAKSIYALAR

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

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, spirt lampa yoki gaz gorelka, 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 reaktiv, 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.

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

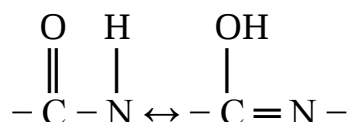
Xulosa:

1-tajriba. Biuret reaksiyasi

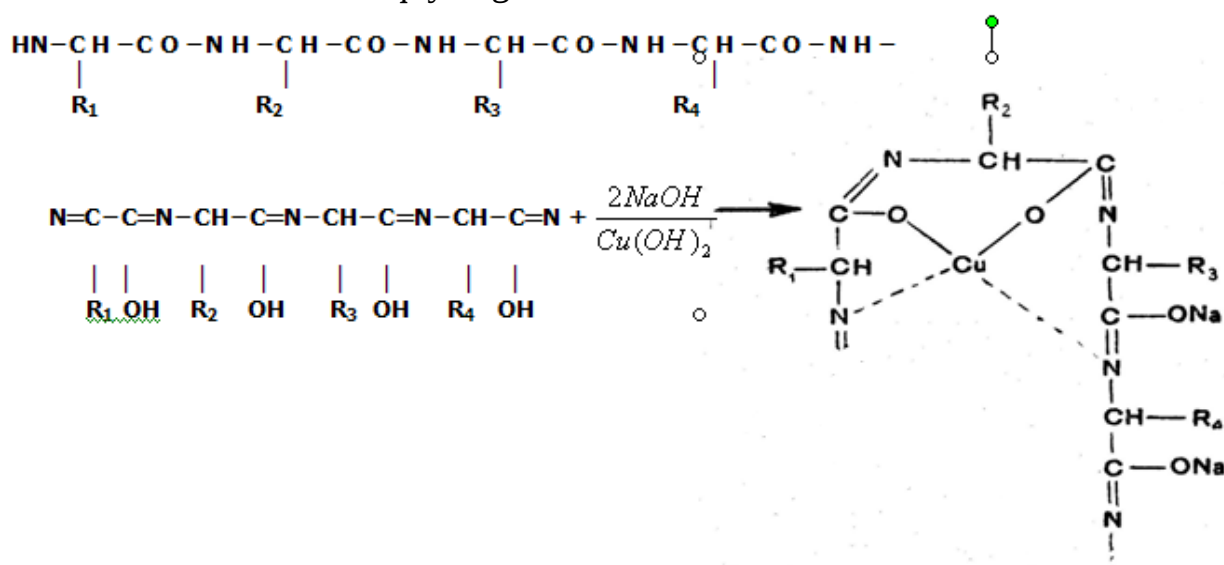
Biuret reaksiyasi yordamida oqsil va polipeptidlar tarkibidagi peptid bog`lari - C - N - aniqlanadi. Biuret reaksiyasini eng kamida 3 ta aminokislota qoldig`i, ya`ni ikkita peptid bog`i bor moddalar berishi mumkin.

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 tautomerlenol 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 koordinatsion 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 konsentratsiyasiga, eritmadagi mis tuzining konsentratsiyasiga 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 α -aminogruppa uchun xos reaksiya hisoblanadi. α -aminogruppalar, petidlar va oqsillarning molekulalarida erkin α -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 α -aminogruppasi bor aminokislota, peptid yoki oqsillar oksidlanish yo`li bilan dezaminlanadi, dekarboksillanadi, natijada aldegid hosil bo`ladi. Bu vaqtda ningidrin qaytariladi va ajralib chiqqan 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 tomizilib, 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.

LABORATORIYA MASHG`ULOTI №3

MAVZU: KSANTOPROTEIN, MILLON REAKSIYALARI.

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

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, spirt lampa yoki gaz gorelka, 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 reaktiv, 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.

1-tajriba. Ksantoprotein reaksiyasi.

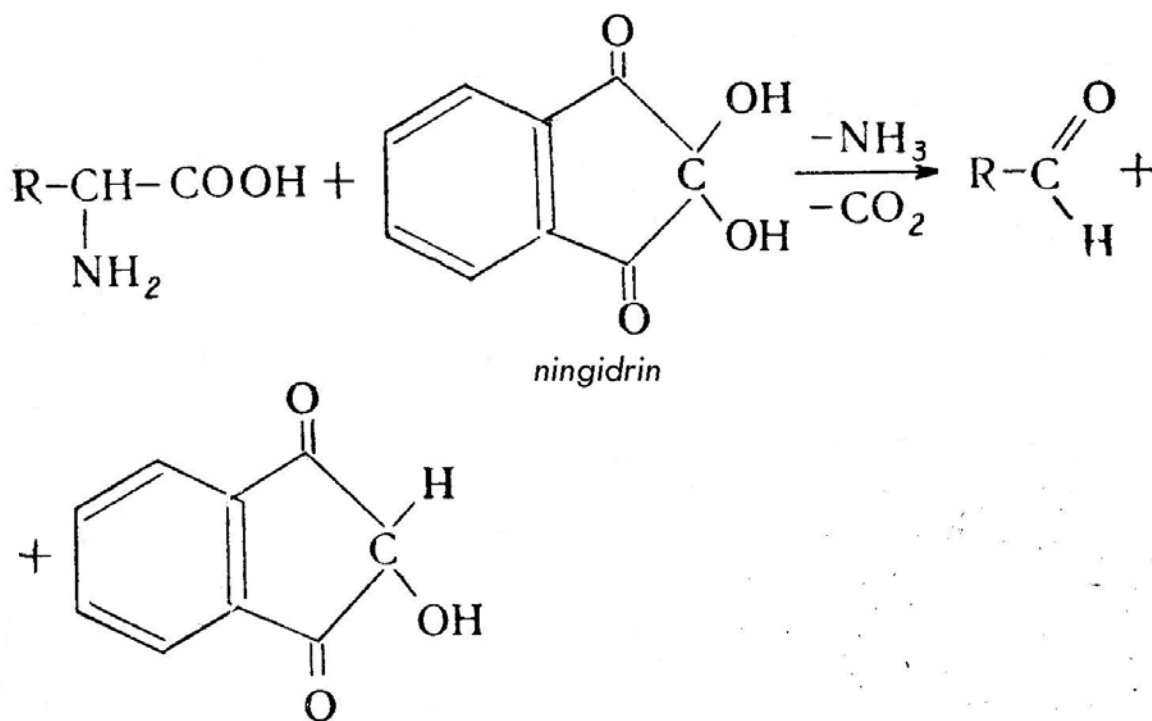
Ksantoprotein reaksiyasi oqsillar molekulosisidagi tarkibida benzol yadrosi bor siklik aminokislotalarga xos reaksiyadir. Ko`pchilik oqsillar konsentrlangan nitrat kislota qo`shib qizdirilganda sariq rangga kiradi, ishqoriy muhit hosil qilinsa, qizg`ish

to`q sariq rangga o`tadi. Bu reaksiya aromatik aminokislotalardagi bezol yadrosining konsentrlangan nitrat kislota ta`sirida nitrollanishiga asoslangan. Hosil bo`lgan nitrobirikma ishqoriy muhitda xinoid ko`rinishiga o`tib, nitron kislotalari va ularning tuzlarini hosil qiladi.

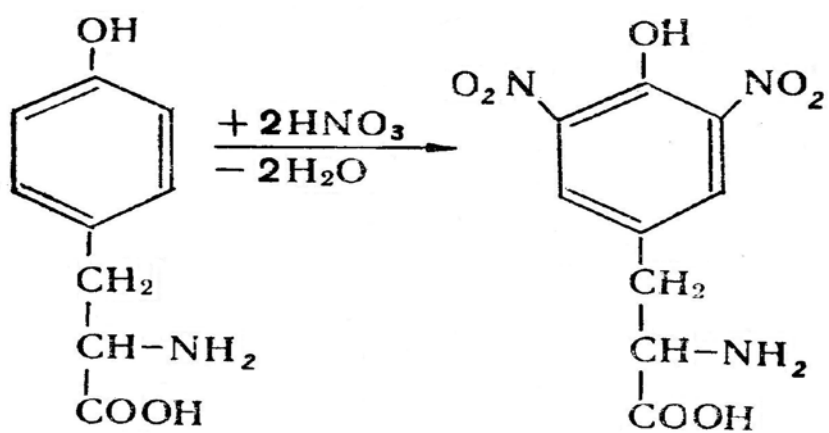
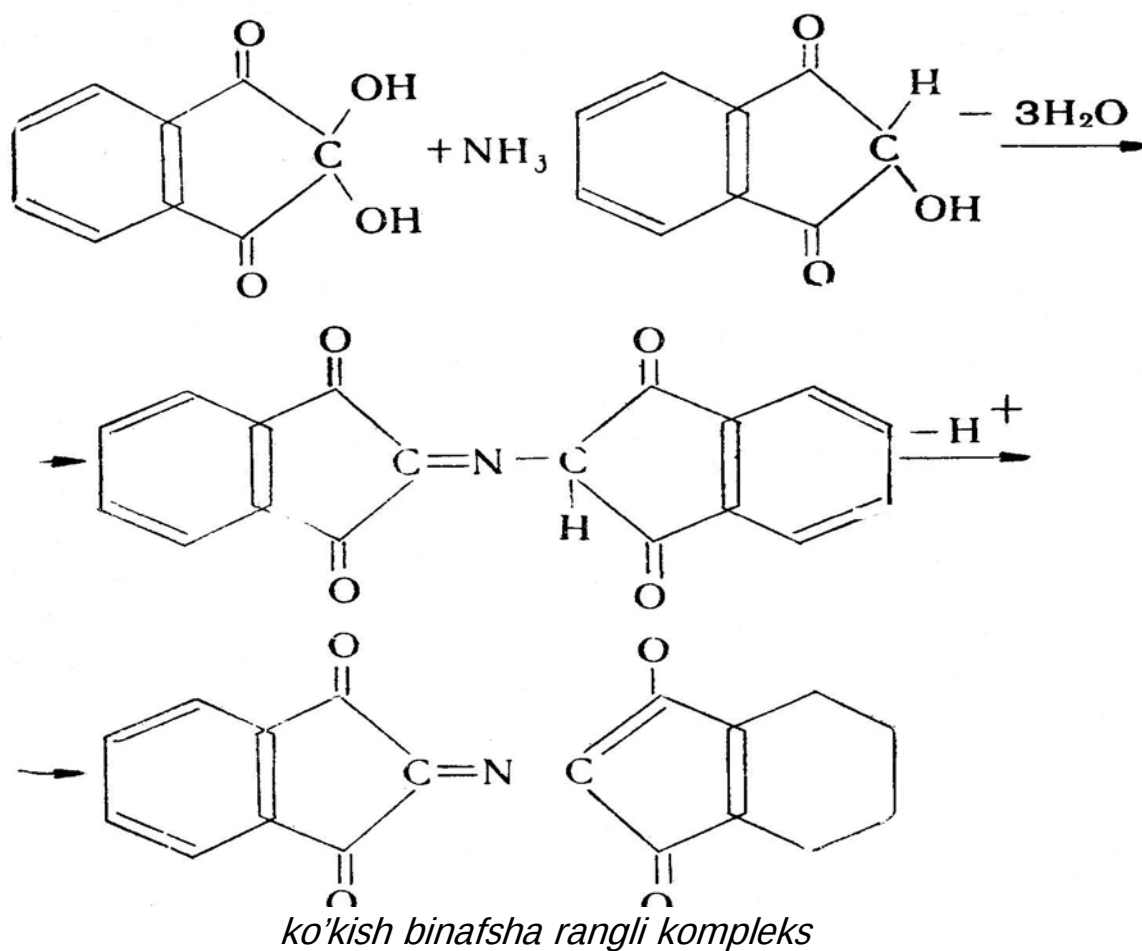
Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi bug`doy yoki chigit oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 0,1 %li tirozin eritmasidan quyiladi. Hamma probirkaga 3-4 tomchidan konsentrlangan nitrat kislota qo`shib qizdiriladi. Uchala probirkadagi suyuqlik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

2-tajriba. Millon reaksiyasi.

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

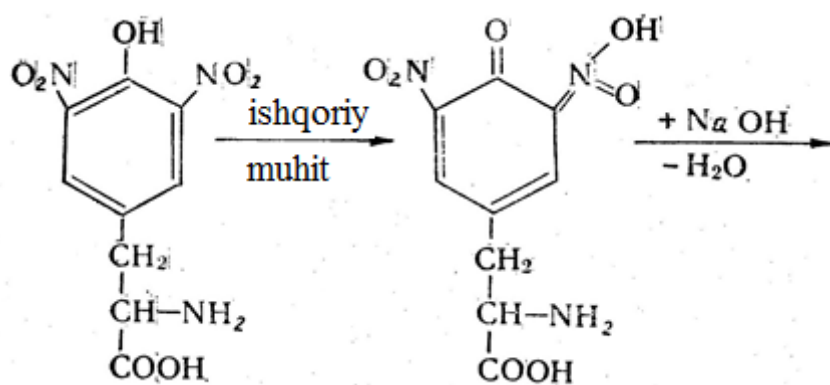


qaytarilgan ningidrin (gidrindatin)

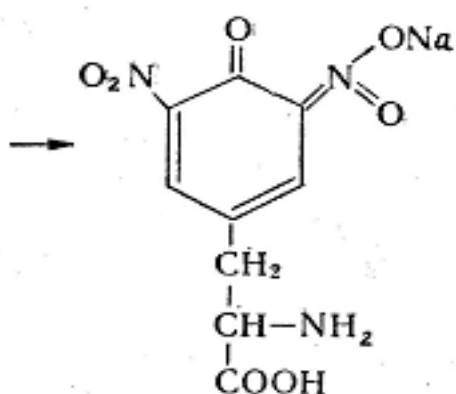


tirozin

dinitrotirozin (sariq rangli)

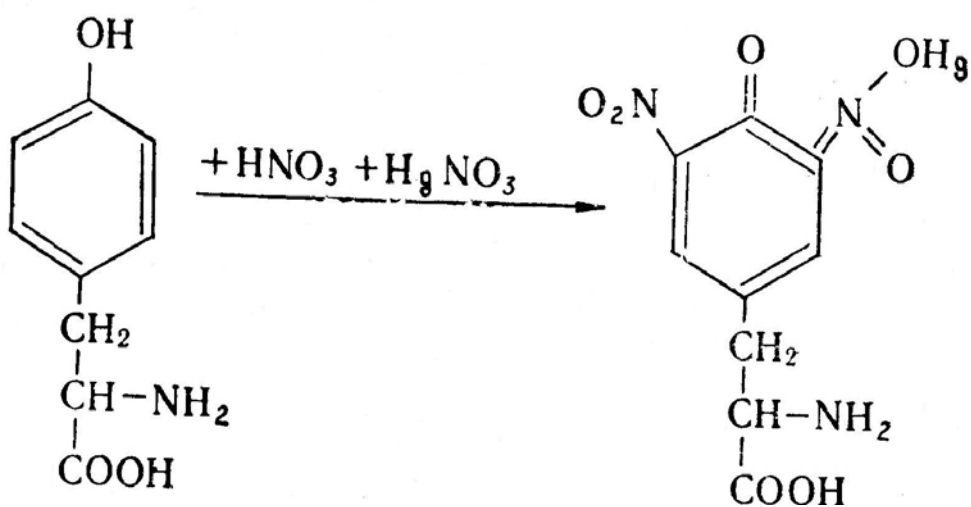


*dinitrotirozinning
xinoid ko'rinishi*



xinoid ko'rinishdagi dinitrotirozinning natriyli tuzi

Millon reaksiyasining ximiyaviy mohiyati ksantoprotein reaksiyasini eslatadi:



tirozin

*dinitrotirozinning simobli tuzi
qizil rangli*

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 tomchidan Millon reaktividan tomizib, ohista qizdiriladi. Oqsilli probirkada avval cho`kma hosil bo`ladi. Uchala probirkadagi aralashma sekin –asta qizil rangga kiradi.

LABORATORIYA MASHG`ULOTI №4

MAVZU: FOL , SAKAGUCHI , ADAMKEVICH REAKSIYALARI.

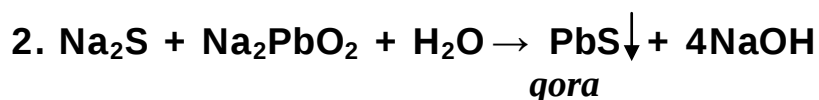
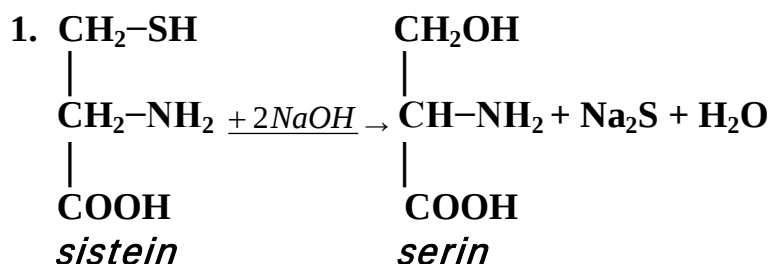
Darsning maqsadi: Oqsillarga xos rangli reaksiyalar haqida ma`lumotga ega bo`lish laboratoriya tajribalari asosida Foli , Sakaguchi , Adamkevich reaksiyalari haqida egallangan bilimlarni mustahkamlash, ko`nikmalarni hosil qilish.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, spirt lampa yoki gaz gorelka, 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 reaktivi, 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.

1-tajriba. Fol reaksiyasi.

Foli 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. Metioninni nitroprussid reaksiyasi yordamida aniqlash mumkin.

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



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

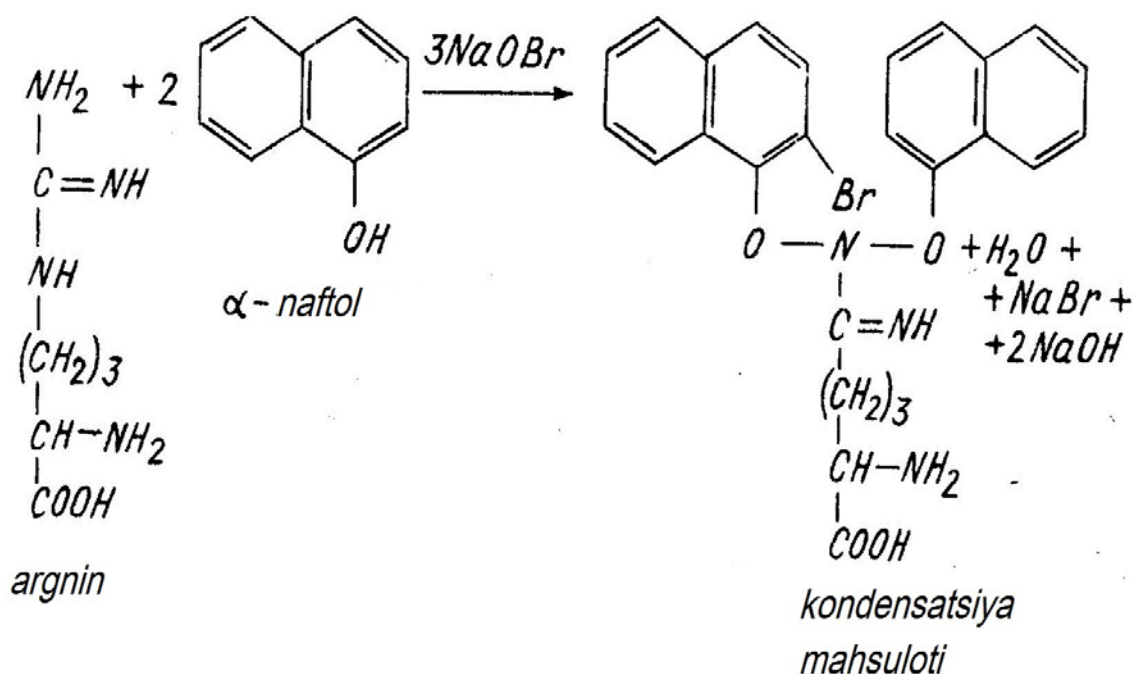
Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li m oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1 % li bug`doy yoki soya oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 1% li jelatina eritmasidan quyib, ularning ularning ustiga 5 tomchi 30 % li y gidroksid va 1-tomchi 5 % li qo`rg`oshin asetati qo`shib, yaxshilab qaynatiladi 2 daqiqa qoldiriladi.

Birinci ikkita probirkadagi aralashma qorayadi va qora rangli PbS cho`kmasi
 l bo`ladi. Uchinchisining rangi o`zgarmaydi, chunki jelatina tarkibida oltingugurt
 aminokislotalarga ega emas.

2-tajriba. Sakaguchi reaksiyasi.

Sakaguchi reaksiyasi guanidin $\text{NH} - \text{C}(\text{NH}) - \text{NH}_2$ gruppaga xos reaksiya bo`lib, da turli oqsillar yoki polipeptidlar ishqoriy sharoitda gipobromid va  $\alpha$  -naftol n reaksiyaga kirishib, qizil rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiyaning unumi llar tarkibidagi arginin aminokislotasiga bog`liq.

Arginin gipobromid ta'sirida α -naftol bilan kondensatsiyalanadi. Reaksiya
ida brom α - naftol molekulasidagi naftalin yadrosining β - holatiga o'tadi:

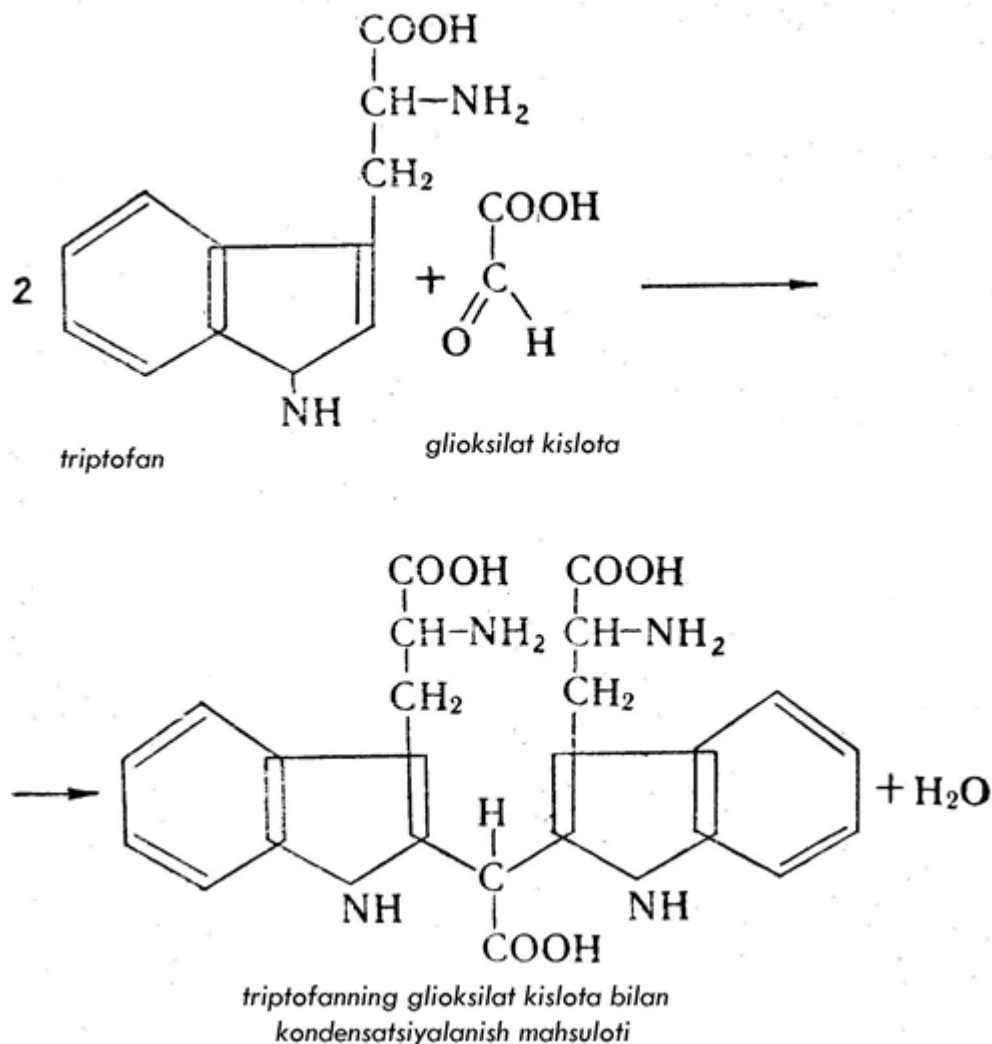


Reaksiya faqat argininga xos bo`lmasdan, balki tarkibida guanin gruppasi bor bo`lgan moddalar ham Sakaguchi reaksiyasini berishi mumkin. Lekin bu birikmalar tarkibida uchramaydi, shuning uchun reaksiyaga halaqit bermaydi.

Ishning bajarilishi. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 %li m 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 y, 3 tomchi α -naftolning 0,1 % li spirdagi eritmasi va (1 dan 5 tomchigacha) 2 %li gipobromid eritmasidan tomiziladi. Probirkalardagi suyuqlik qizil rangga kiradi. 5 tomchigacha miqdordagi gipobromid reaksiyaga halaqit beradi.

3-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 kislota aldegid gruppasi bilan reaksiyaga kirishib, rangli moddalar qondensati 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 sovitilgach, ohistalik bilan probirka devor bo'ylab 10 tomchidan konsentrlangan sulfat kislota tomiziladi. Bir oz turgandan keyin 1; 2- va 4 – probirlarda 2 qavat suyuqlik chegarasida qizg'ish – binafsha rang paydo bo'ladi. Agar probirkalar qaynab turgan suv hammomiga quyilsa, rangning rivojlanishi tezlashadi. Jelatina molekulosida triptofan bo'lmaganligi uchinchi probirkada rang paydo bo'lmaydi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №5

MAVZU: OQSILLARNI DIALIZ QILISH.

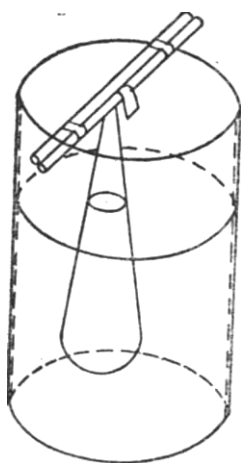
Maqsad: Talabalarga dializ haqida malumot berish.

Kerakli asbob va reaktivlar: Uzunligi 4-5 sm, diametri 2,5-3 sm li probirka, sellofan, shisha tayoqcha, rezina xalqa, ximiyaviy stakan, kollodiyning spirtli eritmasi, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ aralashgan tuxum oqsili eritmasi, bariy xloridning 1% li eritmasi, qonning 10% li eritmasi, CuSO_4 ning 1% li eritmasi.

Yuqori molekulyar birikmalarning kolloid eritmalarini past molekulyar moddalardan tozalash **dializ** deb ataladi. Kolloid zarrachalar yarim o'tkazgich parda (hayvon va o'simlik membranalari, kollodiy, sellofan) orqali o'tmaydi. Tuzlar, qand va boshqa quyi molekulyar birikmalar esa membrana orqali osongina o'ta oladi. Shunga asosan yuqori molekulyar moddalar, xususan oqsil eritmaları kollodiy yoki sellofan xaltachaga quyilib distillangan suvli idishga solinsa yoki vodoprovod suvi oqimiga joylashtirilsa, eritma tarkibidagi tuz va boshqa kichik molekulyar moddalar yuvilib chiqib ketadi, oqsil esa xaltacha ichida qoladi.

1-tajriba. Kollodiy xaltacha tayyorlash.

Ishning bajarilishi. Toza quruq probirka (diametri 2,5-3 sm, uzunligi 4-5 sm) og'zigacha kollodiy eritmasi quyib, qaytadan idishga ag'darib olinadi. Agar kollodiy ozroq bo'lsa, probirkani $1/3$ qismiga eritma qo'yib, probirkani asta-sekin aylantirib devorining hamma tomonini kollodiy xaltacha eritmasi bilan batamom xo'llanadi. Probirka devorida qolgan eritma kollodiy xaltacha tayyorlash uchun yetarli bo'ladi. Probirka og'zi kaft bilan berkitilib, asta-sekin aylantiriladi, bunda kollodiyning devor bo'ylab bir xilda tarqalishi ta'minlanadi. Probirka qo'lda isib, spirt bug'lana boshlaydi, kollodiy quriydi. 5-10 minutdan keyin probirkaga to'ldrib suv quyiladi.



Kollodiy xaltacha devoridan ajralgandan keyin, pinset bilan asta-sekin probirka chekkasidan ajratib olinadi. Kollodiy xaltachaning butunligini tekshirish uchun distillangan suv quyiladi.

2-tajriba. Oqsilning tuzli eritmasini dializlash.

Kollodiy yoki sellofan xaltacha (dializator) ning $1/3$ hajmiga qadar tuxum oqsilining $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ bilan aralashgan eritmasidan suyiladi. Xaltacha yuqori qismidan ikkita shisha tayoqchadan rezina xalqa yordamida tayyorlangan qisqichga mahkamlanib, distillangan suvli stakanga 1-2 soat davomida solib qo'yiladi (8-rasm). 1-2 soatdan keyin dializat (tashqaridagi suyuqlik) va dializlanayotgan suyuqlikdan olib oqsil va sulfatlarga xos reaksiyalar qilib ko'riladi, tuz tashqadriga chiqqani va oqsil xaltachaning ichida qolganiga ishonch hosil qilinadi.

3-t a j r i b a. Dializatda oqsil borligini aniqlash.

10 tomchi dializat olinib, uning ustiga 5 tomchi 10% li NaOH, 1 tomchi 1% li CuSO₄ eritmalari qo'shilib chayqatiladi. Aralashma ko'k rangga kirishi dializatda oqsil yo'qligidan darak beradi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №6

MAVZU: ODDIY OQSILLARNI GIDROLIZ QILISH

Darsning maqsadi: : Oddiy oqsilni gidroliz qilish reaksiyalari haqida ma'lumotga ega bo'lish laboratoriya tajribalari asosida bilimlarni mustahkamlash, ko'nikmalarni hosil qilish.

Kerakli asbob va reaktivlar:

100 ml li yumaloq tubli kolba, menzurka, shisha nay o'rnatilgan probirka yoki qaytar sovutgich, shtativ (qisqichlari bilan), gaz gorelka yoki spirt lampa, pipetkalar, 1% li tuxum oqsili eritmasi, konsentrlangan xlorid kislota, ishqorning 10% li eritmasi, mis (II)-sulfatning 1%li eritmasi.

Murakkab polimer moddalarning suv biriktirib olish yo'li bilan parchalanishi gidroliz deb ataladi. Qo'llaniladigan katalizatorga qarab gidroliz kislotali, ishqoriy va fermentativ bo'lishi mumkin. Oddiy oqsillar gidrolizlanganda faqat aminokislotalar hosil bo'ladi.

Laboratoriya sharoitida ko'pincha oqsillarni kislotali gidroliz qilish usuli keng qo'llaniladi. Lekin bu vaqtda triptofan to'la, serin, treonin, sistein, tirozin va fenilalanin qisman parchalanadi. Shunga qaramasdan, parchalangan aminokislotalarning protsent miqdori kam bo'lganligi uchun asosan kislotali gidroliz usulidan foydalaniladi. Ishqoriy gidroliz vaqtida ko'pchilik aminokislotalar parchalanadiyu, faqat triptofan deyarli o'zgarishsiz qoladi. Shuning uchun ishqoriy gidroliz oqsil molekulasiidagi triptofan miqdorini aniqlash uchun qo'llaniladi.

Kislotali gidroliz vaqtida oqsillar avvalo yuqori molekulyar peptidlarga, so'ngra kichik molekulali peptidlarga va nihoyat, erkin aminokislotalargacha parchalanadi.

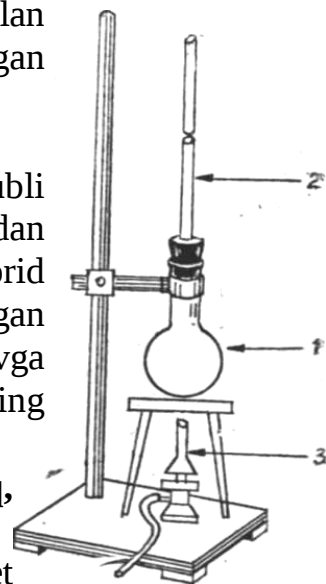
Oqsilni to'la gidroliz qilish uchun avvalo sovutgich bilan jixozlangan kolbachada yoki og'zi zich berkitilgan ampulalarda xlorid, sulfat kislota ishtirokida olib boriladi.

1-tajriba. Oddiy oqsilni kislota ta'sirida gidrolizlash.

Ishning bajarilishi: Gidroliz uchun 2 ta yumaloq tubli kolbaga 20 ml dan 1 % li tuxum oqsili va 5 ml dan konsentrlangan, zichligi 1,18 g/sm³ ga teng bo'lgan xlorid kislota quyiladi. Kolba og'zi uzun shisha nay o'tkazilgan probka bilan berkitiladi va uni asbestli, sim turli shtativga o'rnatiladi, mo'rili shkaf ichida 45-90 minut (o'qituvchining ko'rsatmasiga binoan) davomida qaynatiladi (b- rasm).

2-tajriba. Gidrolizatdagi oqsil parchalanishining oraliq, maxsulotlarini aniqlash.

Gidroliz protsessi davomida bir necha marta biuret



reaksiyasi qilib ko`riladi. Buning uchun har safar oz miqdorda (5-10 tomchi) gidrolizat olinib, neytrallanadi va biuret reaksiyasi o`tkaziladi. Biuret reaksiyasi vaqtida oqsil parchalanishining oraliq maxsulotlari peptonlar pushti yoki qizil, oqsillar esa ko`kish binafsha rang beradi. Gidroliz tugagandan keyin gidrolizat keyingi ish uchun olib quyiladi.

α - aminoazotni miqdoriy jihatdan aniqlash

Oqsil, aminokislota va peptidlarning har bir molekulasida bittadan erkin α - aminogruppa mavjud bo`ladi. Bu holdan faqat tsiklopeptidlar mustasno. Agar oqsilning molekulyar massasi aniq, bo`lsa, α -aminogruppani miqdoriy jihatdan aniqlash yo`li bilan ma`lum darajada polipeptid zanjirlari sonini ham aniqlash mumkin. Polipeptid yoki oqsillar gidrolizlansa, protsess ketishini ham α - aminogruppani miqdoriy jihatdan aniqlash yo`li bilan kuzatib turish mumkin. Xozirgi vaqtda α - aminogruppani aniqlashning bir necha usullari mavjud.

LABORATORIYA MASHG`ULOTI №7

MAVZU: OQSILLARNI MIQDORIY JIHATDAN ANIQLASH

Maqsad: Talabalarda har-hil tajribalar orqali 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. 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 spektrining 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.

1-t a j r i b a. Dializlanayotgan suyuqlik bilan Biuret reaksiyasi o`tkazish.

Dializ xaltachasidagi suyuqlikdan 10 tomchi olib, ustiga 5 tomchi 10% li ishqor va 1 tomchi 1% li CuSO_4 eritmalarini qo`shiladi. Aralashma qizg`ish-binafsha rangga kirishi oqsil dializ xaltachasi ichida qolganidan darak beradi.

2-t a j r i b a. 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 konsentratsiyasigacha suyultirish uchun 1 % li natriy xlorid eritmasida foydalaniladi.

Birinci 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 fotoelektrikolorimetrdan 1 sm sig`imli kyuvetalarda 540 nm uzunligida rangning ravshanlik darajasi o`lchanadi. Kontrol uchun oqsil o`rniga 1 ml distillangan suv quyib, qolgan ishlar bir xilda olib boriladi. Har safar yangi standart oqsil eritmalarini olinib, aniqlash uch marta takrorlanadi. Olingan qiymatlariga qarab qalibrlash egri chizig`i chiziladi.

3-t a j r i b a. 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 eritmadan olib, unga 8 ml biuret reaktivi qo`shilib, yaxshilab aralashtiriladi va 30 minutchagina 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.

LABORATORIYA MASHG`ULOTI №8

MAVZU: OQSILLARNI CHO`KTIRISH REAKSIYALARI.

Maqsad: Oqsillarni cho`ktirish reaksiyalarini laboratoriya tajribalari asosida o`rganish, tajribalarni bajarish orqali cho`ktirish reaksiyalari 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-tajriba. Oqsilni qaynatish yo`li bilan cho`ktirish.

Oqsillarning eritmalari 70° - 80° 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`ktiruvchi gruppalarining	Foydalanilgan reaktivlar	Cho`kmaning tabiati va nomi	Cho`ktirish reaksiyasining prinsipi va xususiyati

Oqsillarning tuzlanish 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 (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Ag^+ va boshqalar) ta'sirida kompleks birikmalar hosil qilib cho'kadi. Bu vaqtda og'ir metal ionlari oqsil makromolekulosiga adsorbirlanib 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.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №9

MAVZU: OQSILLARNI ORGANIK VA MINERAL KISLOTALAR TA'SIRIDA HAMDA ALKALOID REAKTIVI BILAN CHO'KTIRISH

Maqsad: Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalarini laboratoriya tajribalari asosida o'rganish, tajribalarni bajarish orqali cho'ktirish reaksiyalari 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-tajriba. Oqsillarni organik va mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish.

Oqsil organik kislotalar (trixlorisirka 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 kislotada cho'kma sekin eriydi. Organik kislotalar ta'sirida cho'ktirish keng qo'llanilmoqda. Trixlorisirka kislota miqdoriy analizlarda oqsilsiz filtrat 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.

2 - 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. Uchta 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.

3 - t a j r i b a . Oqsillarni organik erituvchilar ta`sirida cho`ktirish.

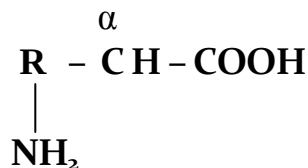
Oqsil eritmasiga ko`p miqdorda spirt yoki aseton qo`shilsa, oqsilning loyqa cho`kmasi tushadi

Bu reaksiya oqsil kolloid 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.

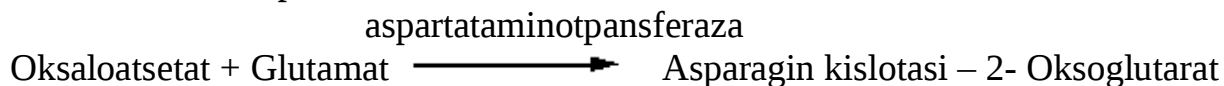
AMINOKISLOTALAR

Aminokislotalar – organik kislotalar bo'lib, ulardagi α – uglerod atomidagi vodorod amino guruh (NH_2) ga almashgan, bular aminokislotalardir. Barcha aminokislotalarning tarkibida karboksil guruh ($-\text{COOH}$) bilan bir qatorda amino guruh ($-\text{NH}_2$) lar mavjuddir. Aminokislotalarning umumiy formulasi quyidagicha:

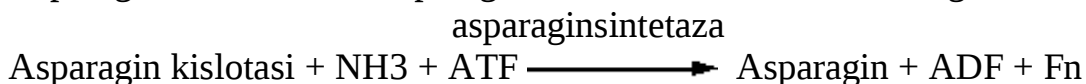


Aminokislotalarning sarflanish yo'llari

1. Oqsil va peptidlar sintezi – asosiy ishlatilish yo'li.
2. Azot saqlovchi oqsil bo'lmagan moddalar sintezi (purinlar, pirimidinlar, xolin, kreatin, melanin, ba'zi vitaminlar, kofermentlar (HAD, folat kislota, KoA), to'qima regulyatorlari (gistamin, serotonin), mediatorlar (adrenalin, noradrenalin, atsetilxolin)).
3. Uglevodlarni sintezi – (glyukoneogenez) – aminokislotalarni uglerodli asosidan foydalanish hisobiga.
4. Lipidlar sintezi – atsetil qoldiqlaridan foydalanish hisobiga.
5. Modda almashinuvida so'ngi mahsulotlarga okidlanishi – energiyani ajratib olish uchun. Bu yo'l aminokislotalarni parchalanishida energiya ajralishi uchun muhim. Organizmda faqat almashinadigan aminokislotalar biosintezi bo'lishi mumkin. Bunday aminokislotalarni biosintezida boshlang'ich moddalar sifatida
 - a) Uglevodlarni parchalanishida hosil bo'lgan oraliq mahsulotlar;
 - b) Krebs sikli metabolitlari
 - c) Almashinmaydigan aminokislotalardan foydalaniladi.
- 2) Krebs sikli metabolitlaridan almashinadigan aminokislotalar sintezi. Aminokislotalar sintezi manbai bo'lib oksaloatsetat va 2-oksoglutarat xizmat qiladi. Oksaloatsetatdan asparagin kislota va asparagin hosil bo'ladi. Asparagin kislotani transaminlanishi aspartataminotransferazalar ishtirokida boradi.

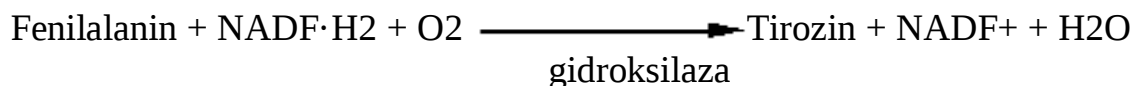


Asparaginni aminlanishi asparaginsintetazalar ishtirokida amalga oshadi.



2-oksoglutaratdan glutamin kislota, glutamin, prolin, gidroksiprolin hosil bo'ladi.

3) Almashmaydigan aminokislotalardan almashadigan aminokislotalarning sintezlanishi. Almashmaydigan aminokislota fenilalaninidan tirozin hosil bo'ladi. Tirozin almashinadigan aminokislotalar qatoriga kiradi. Kataliz fenilalanin gidroksilaza ta'sirida amalga oshadi.



Metionin sisteinga o'tishi mumkin. S- oltingugurt manbai bo'lib metioninni o'zi xizmat qiladi, molekulaning qolgan qismi serin hisobiga shakillanadi.

Metionin → S-

adenozilmetionin → Sadenozilgomotsistein → gomotsistein + adenzin + suv

↓
Sistotionin

↓
2-oksobutirat + NH₃ + sistein

Sistotionin sistotionaza ta'sirida parchalanib, erkin sisteinga ajraladi.

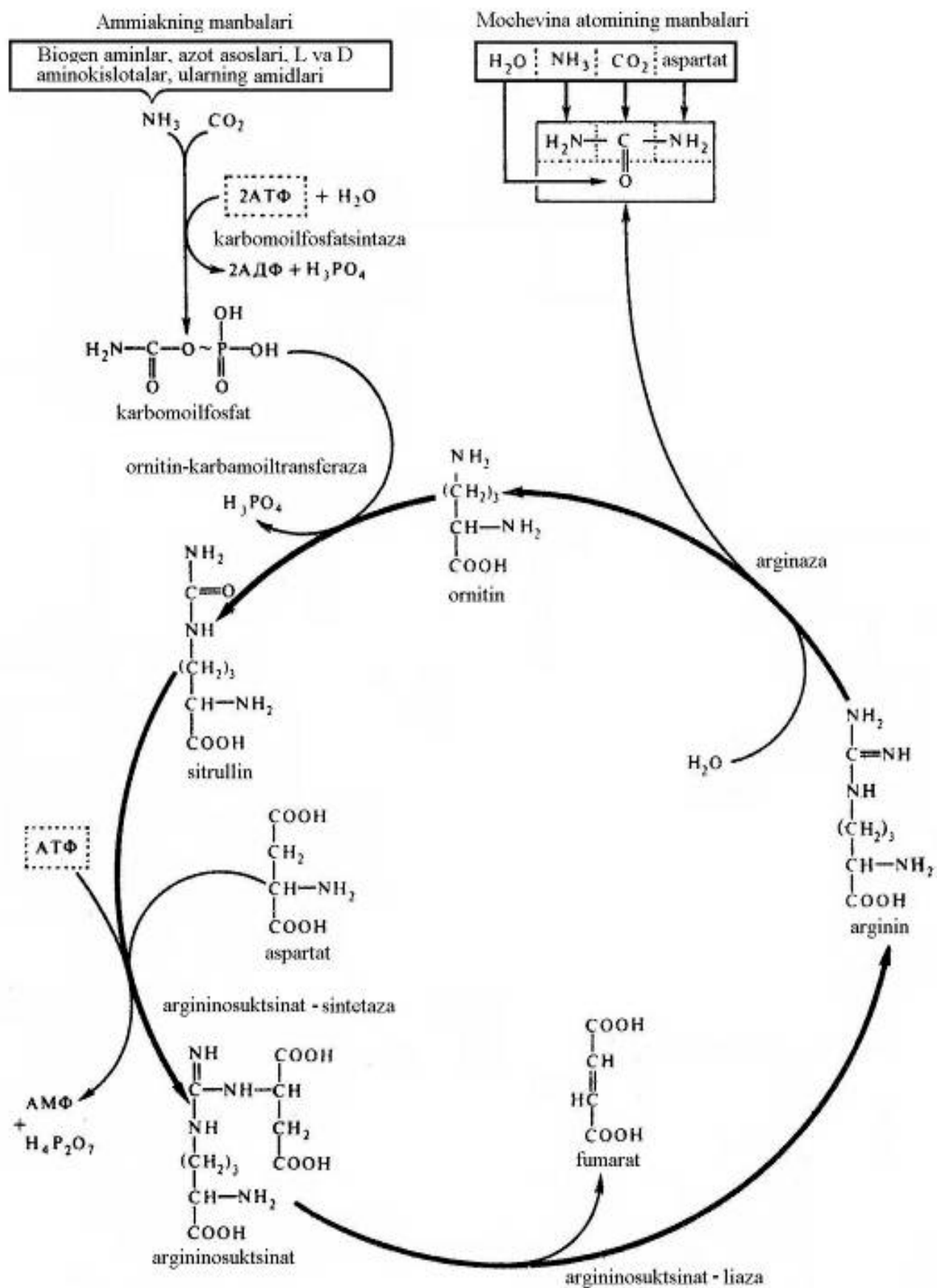
Aminokislotalar dori preparatlar sifatida

Tibbiyotda oqsillarning gidrolizatlari va ayrim aminokislotalar preparatlaridan foydalaniladi. Oqsil gidrolizatlari – parenteral qo'llashga aminokislotalar aralashmasi oqsillarni fermentativ gidrolizidan olingan. Ularga gidrolizin, kazein gidrolizati, serebrolizin, aminopeptidlar, fibrinosol kiradi. Bu preparatlar organizmda oqsil tanqisligini ta'minlab, azot balansini muvozanatga olib keladi. Oshqozon-ichak trakti kasalliklarida, operatsiya bo'lganda musbat (+) azot balansini muvozanatga soladi. Termik jarohatlarda aminokislotalarni so'rilishini ta'minlaydi. Ayrim aminokislotalarning preparatlari – metionin va uni ko'p saqllovchi gidrolizatlar lipotrop faktorlar sifatida xronik kasalliklarda, oqsil yetishmovchiligida qo'llaniladi. Metionin organizmda sisteinga aylanib, oltingugurt saqllovchi oqsillar almashinuvini buzilishida og'ir metallarning tuzlari bilan zaharlanganda aminokislotalar bilan bog'lanadi. Bunday oltingugurt tutuvchilarni ahamiyati shundaki, ular sulfat kislota manbai bo'lib xizmat qiladi. Uning faol formasi turli zaharli moddalarning jigarda zararsizlantirilishini ta'minlaydi.

Aminokislotalar almashinuvida to'qima proteinazalarining roli

Mochevina hosil bo'lishi. Aminokislota, azotli asoslar, biogen aminlar parchalanishi natijasida ajralib chiqqan ammiak va karbonat angidrid 2 molekula ATF va suv ishtirokida karbomoilfosfatga o'tib, u mochevina sintezi sikliga kirib yana 1 molekula ATF sarflab organizm uchun zarari yo'q mochevina sintezlanadi va u organizmdan siydik orqali chiqib ketadi. Mochevina organizm uchun zararsiz modda. Mochevina sintezi jigarda amalga oshiriladi, sababi barcha fermentlar shu erda mavjud. Bosh miyada mochevina sintezi uchun barcha fermentlar mavjud. Agarda ma'lum bir sabablarga ko'ra jigarni funktsiyasi o'zgarsa mochevina hosil bo'lishi kamayadi, mochevina siydikda hosil bo'lishi va chiqarilishi ham kamayadi. Mochevina hosil bo'lish sikli – Ornitin sikli deyiladi.

Mochevinaning hosil bo'lish sikli



LABORATORIYA MASHG'ULOTI №10

MAVZU: AMINOKISLOTALARNI XROMOTOGRAFIK USULDA AJRATISH.

Maqsad: Aminokislotalarni xromatografik usulda ajratish reaksiyalarini laboratoriya tajribalari asosida o'rganish, tajribalarni bajarish orqali xromatografik reaksiyalari haqida to'liq ma'lumot berish.

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.

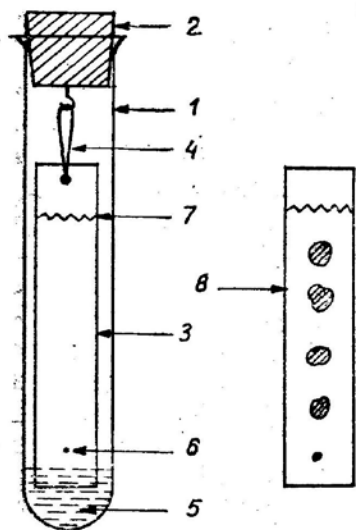
Hozirgi zamon xromatografik usullari oz miqdordagi murakkab aralashmalardan alohida komponentlarni juda tez ajratib olishga imkon beradi.

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. Aminokislotalarning 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 koefitsienti (R_f) bilan ifodalanishi mumkin. Taqsimlanish koefitsienti 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 koefitsienti 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 borilishi 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 ko'tariluvchi xromatografiya, b) radial xromatografiyaga to'xtalib o'tamiz.

1-tajriba. 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, glutamat kislota, alanin va leysin aralashmasi) tomiziladi va quritiladi.

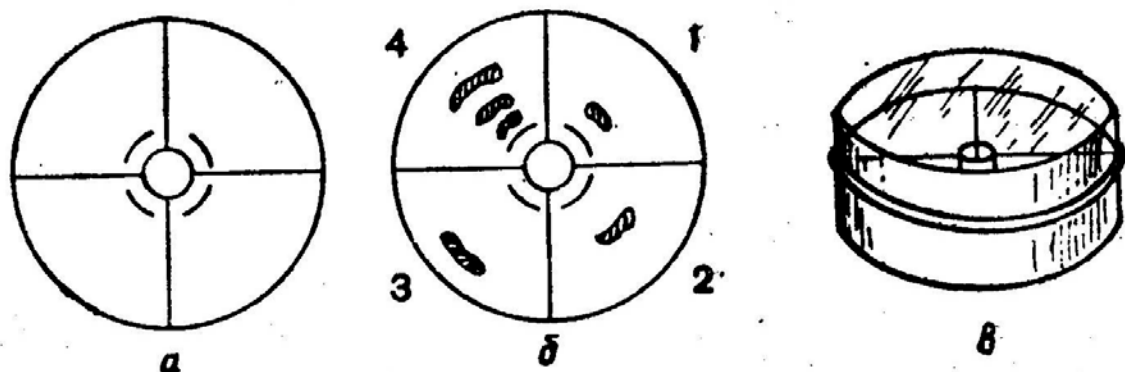
Diametri 2-2,5 sm, uzunligi 18-20 tomchi suvga to'yingan fenol quyiladi. Tayyorlangan qog'oz lentani bog'langan ipdan ushlab 2-3 mm chuqurlikka – erituvchiga botguncha tushirib, qog'ozni probirka devoriga tekkizmay va aniq vertikal holatini saqlab, probka bilan bekitib qo'yiladi. Probirka 35-40° li termostatda 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 50-100° 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 100-110S⁰ 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 Rf-aniqlaniladi.

2-tajriba. 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 100-120S⁰ li termostatga qo'yiladi. Xromatogramma daftarga yopishtirib qo'yiladi yoki rasmi chizib olinadi. Lineyka yordamida masofalar o'lchanib, har bir aminokislota uchun Rf aniqlaniladi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №11

MAVZU: LOURI USULI BO'YICHA OQSILNI MIQDOR JIHATDAN ANIQLASH.

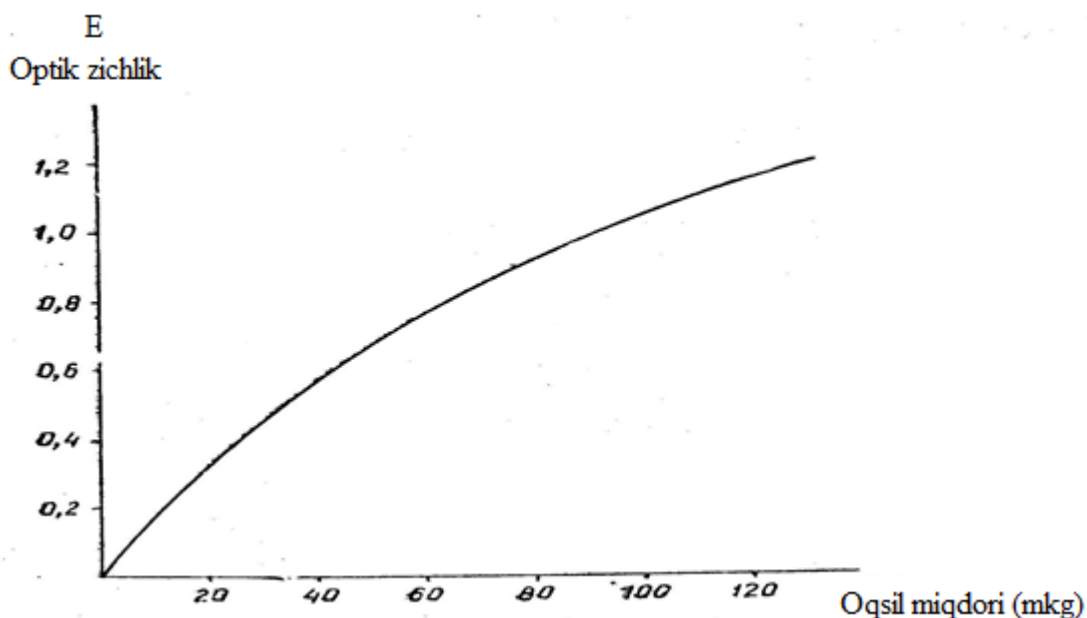
Maqsad: Louri usuli bo'yicha oqsilni miqdor jihatdan aniqlash usullari mohiyatini talabalarga tushuntirish.

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 eritmalarda, 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 fotoelektrokolorimetr yoki spektr fotometrda 750 nm da optik zichlik aniqlaniladi. 5 seriya standart oqsil eritmaları bilan Louri reaksiyasi bajarilgandan so'ng grafik tuziladi. Kordinat 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

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №12

MAVZU: OQSILLARNING IZOELEKTRIK NUQTASINI ANIQLASH.

Maqsad: talabalarga oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash haqida ma'lumot berish va oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash va 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 M 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 CH_3COONa 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 pirobirkadagi suyuqlikning pH darajasi, shunga qarab tekshirilayotgan oqsilning izoelektrik nuqtasi aniqlanadi.

2 - t a j r i b a . 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 kazeindan quyiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Bu vaqtda hamma probirkalarda cho`kma hosil bo`ladi.

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

Jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Probirka №	0,2 M natriy asetatning miqdori	0,2 M sirka kislotaning miqdori (ml da)	Aralashmaning qiymati	Qo`shilgan yoki jelatina tuxum albuminining miqdori (ml da)	Qo`shilgan tanin 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 kislotaning 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	

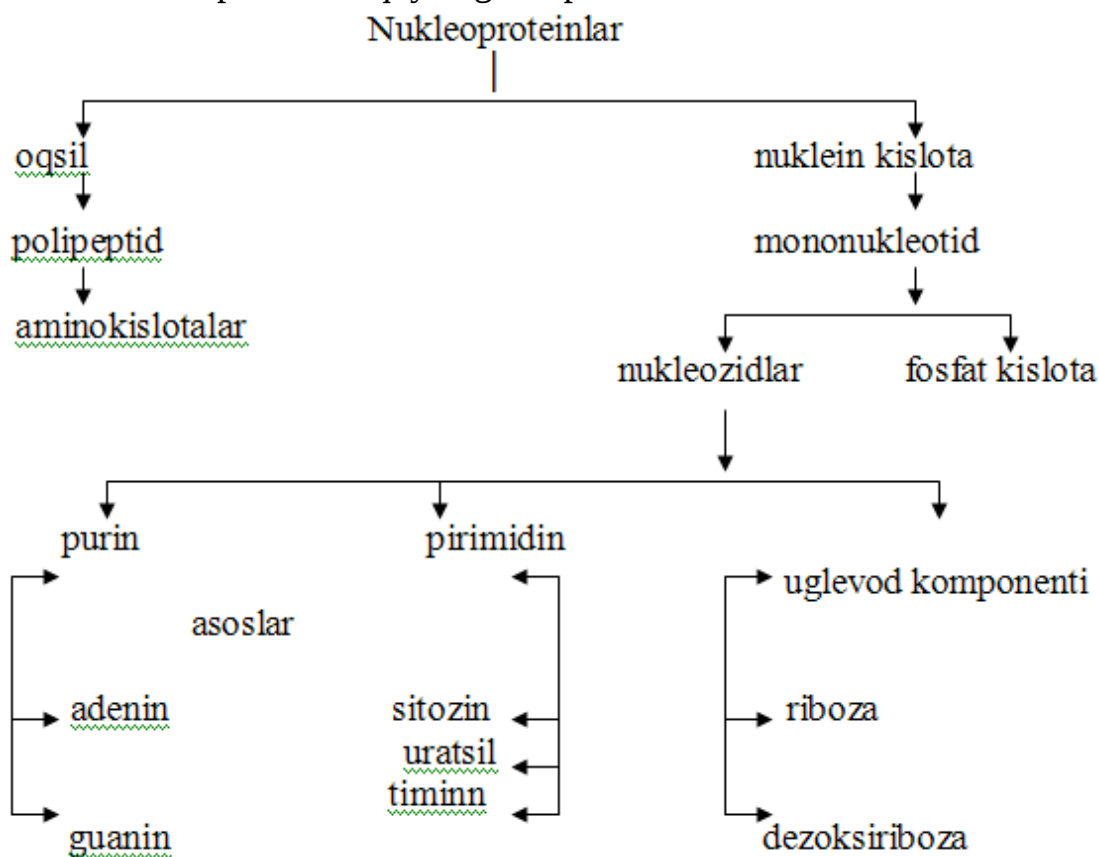
LABORATORIYA MASHG'ULOTI №13

MAVZU: ACHITQIDAN NUKLEOPROTEINLARNI AJRATIB OLISH VA GIDROLIZLASH.

Maqsad: Achitqidan nukleoproteinlarni ajratib olish va gidrolizlash usullarini tajribalar asosida talabalarga 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. Gidroliz mahsulotlarini spesifik sifat raksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Nukleoproteinlar 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 nukleoproteinlarni 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 nukleoprotein 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 kislotaga xos molibden bilan qilinadigan reaksiya.** 20 tomchi molibden reaktivga 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.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №14

MAVZU: 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 S 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.

Ishning bajarilishi. 20 g hayvon to`qimasi (jigar, bo`qoq bezi) 100 ml tuz eritmasi bilan shisha gomogenizatorida maydalanadi. Olingan gomogenatga oxirgi konsentrasiyasi 2 % bo`lguncha 20 % li desilsulfat (10-12 ml) qo`shiladi va 37⁰ C li termostatga yarim soat qo`yiladi. Hosil bo`lgan yopishqoq eritmaga nukleoprotinlarni dissosiyalash uchun oxirgi konsentratsiyasi 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. Shprits 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, 37⁰ C li termostatga 18 soat qo`yiladi. Eritma sovitiladi va 57 % li perxlorat kislota (HClO<sub>4</sub>) yordamida neytrallanadi, so`ngra HClO₄ konsentrasiyasi 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.

UGLEVODLAR.

Uglevodlar odam organizmida asosan energetik funktsiyani bajaradi. Asosan, jismoniy ish bajarganda ular birinchi bo'lib parchalanadi va hujayra to'qimalarni, ayniqsa muskullarni ish faoliyati uchun zarur bo'lgan energiya bilan ta'minlaydi. Ma'lumki asosiy energiya manbaii **glyukoza** va **glikogen** hisoblanadi. Bundan tashqari uglevodlardan lipidlar, ba'zi bir aminokislotalar, pentozalar sintezlanishi mumkin. Uglevodlar o'simlik va hayvon organizmining muhim tarkibiy qismlaridan biri hisoblanadi. Odam va hayvonlar organizmidagi uglevodlar miqdori 2% bo'lib, ular juda ko'p funksiyalarni bajaradi.

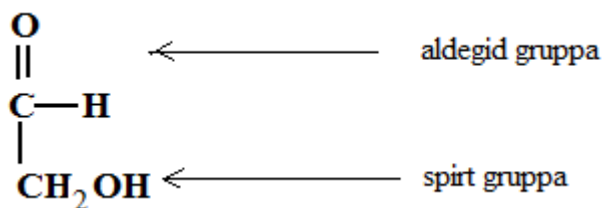
1. Uglevodlar organizm uchun asosiy energiyadir. 1 g uglevodning parchalanishidan 4,1 kkal energiya ajralib chiqadi.

2. Uglevodlar plastik funktsiyani bajaradi. Ular hujayralar membranasi, uning struktura komponentlari va nukleoproteinlar, glikoproteinlar, glikolipidlar bir qator vitaminlar hamda kofermentlar tarkibiga kiradi. Uglevodlar o'simliklarda asosan tayanch vazifasini o'taydi.

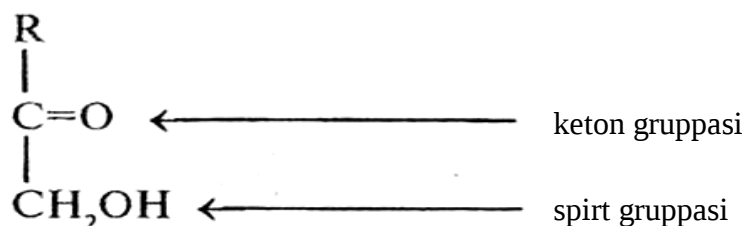
3. Uglevodlar zapas oziq moddalar sifatida katta ahamiyatga ega. O'simliklar kraxmal, hayvonlarda glikogen uglevodlarning zapas shakli hisoblanadi, zarur bo'lganda sarf qilib turiladi. Jigar va muskullar asosan glikogen deposidir.

4. Himoya funksiyasi, bu funktsiyani mukopolisaxaridlarning asosiy vakillari gialuronat kislota, geparin bajaradi. Gialuronat kislota to'qimasi va hujayralararo biriktiruvchi to'qima tarkibi-ga kirib, ularni yopishtirib turadi. U to'qimalarga turli xil shikast yetkazuvchi moddalarning kirishiga to'sqinlik qiladi. Geparin hayvon to'qimalarida (jigar, taloq va boshqalar) qon ivishining kuchli ingibitoridir.

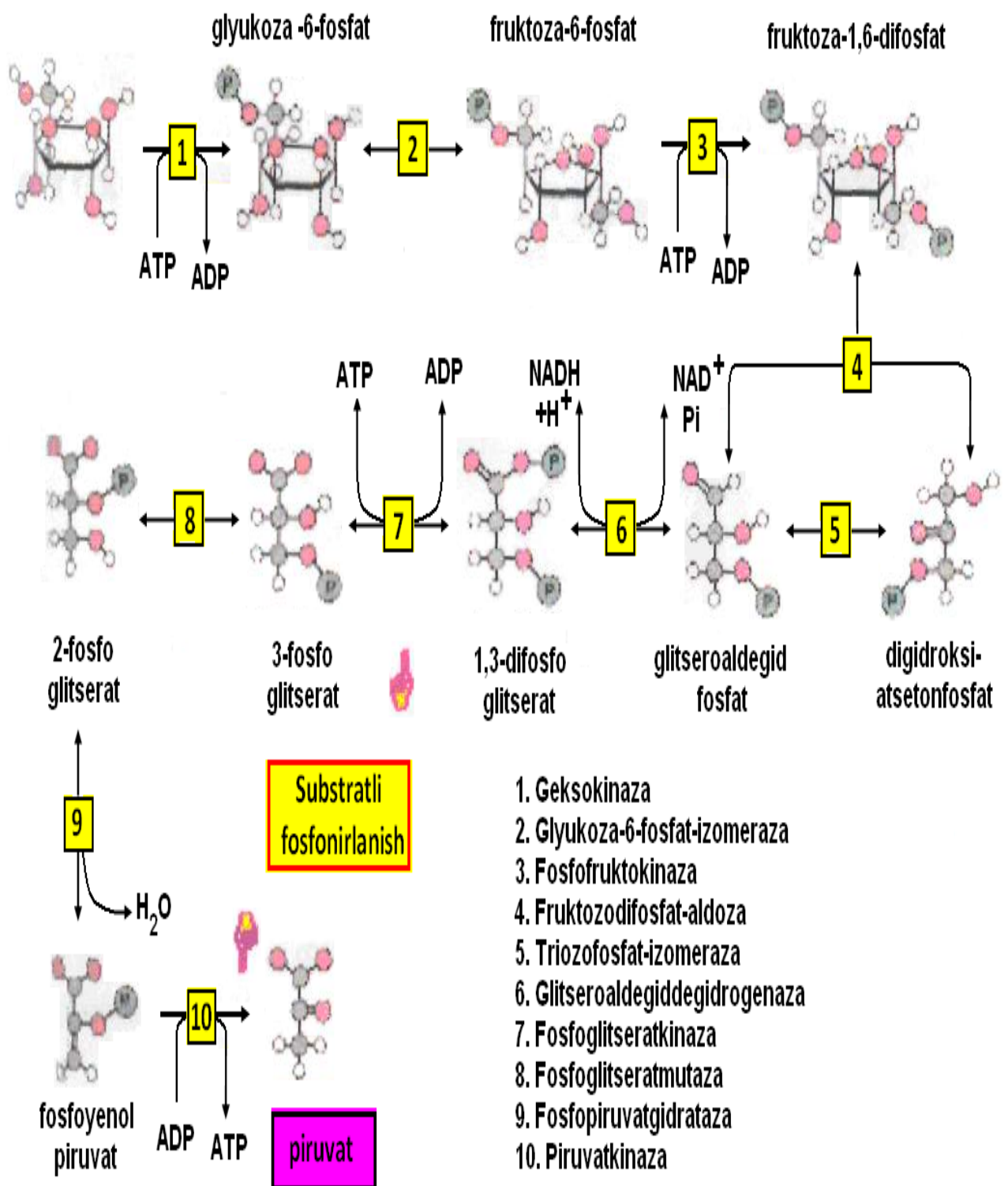
Uglevodlar ximiyaviy tuzilishiga ko'ra ko'p atomli spirtlarning aldegid yoki ketoni hisoblanadi.



Ketonospirt tuzilishida keton va spirt gruppasi bo'ladi



UGLEVODLAR



Uglevodlar tuzilishiga va xususiyatlariga ko'ra uchta gruppaga - monosaxaridlar, oligosaxaridlar va polisaxaridlarga bo'linadi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №15

MONOSAXARIDLARNING QAYTARUVCHANLIK XOSSALARI

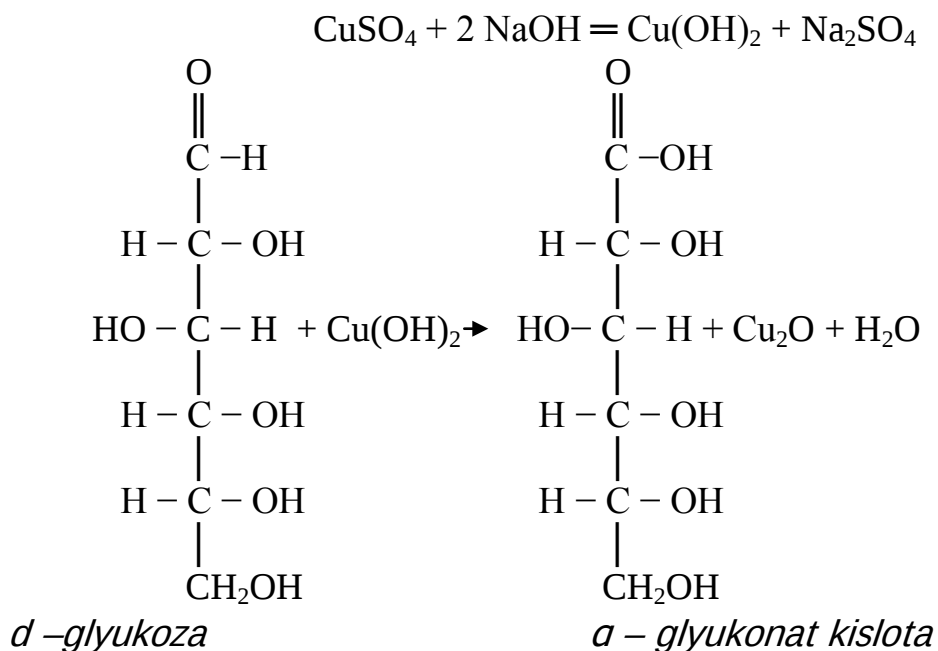
Monosaxaridlar eng oddiy uglevodlar bo'lib, tuzilishi va xossalari jihatdan aralash funksiyali birikmalardir. Ular molekulosida bir vaqtning o'zida gidroksogruppa va aldegid yoki keton gruppalari bo'ladi. Shu sababli ular ichki poluatsetallar hosil qilib, ochiq zanjirli va tsiklik ko'rinishlarda uchraydi. Monosaxaridlar tarkibidagi uglerod atomi soniga qarab, trioza, tetroza, pentoza, geksoza, geptoza va boshqalarga bo'linadi. Bularning umumiy formulasi $C_nH_{2n}O_n$. Monosaxaridlar qaytaruvchanlik xususiyatini namoyon qiladi, chunki ularning tarkibida karboksil gruppasi bor.

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.

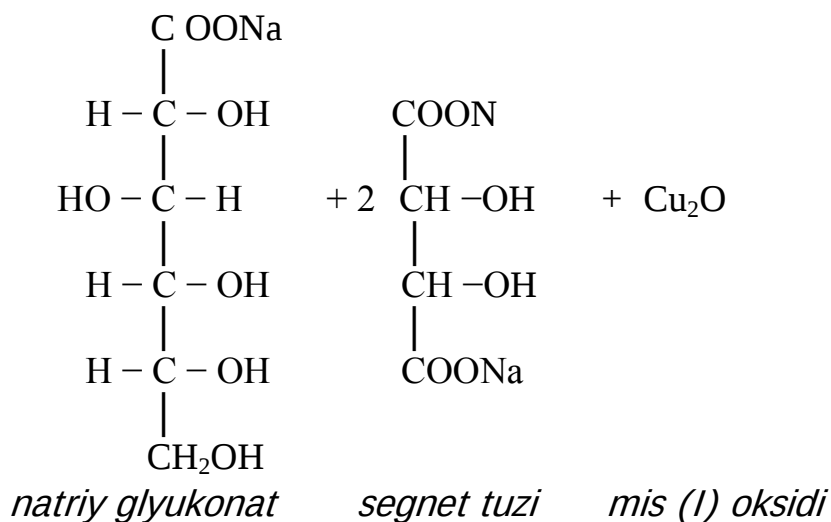
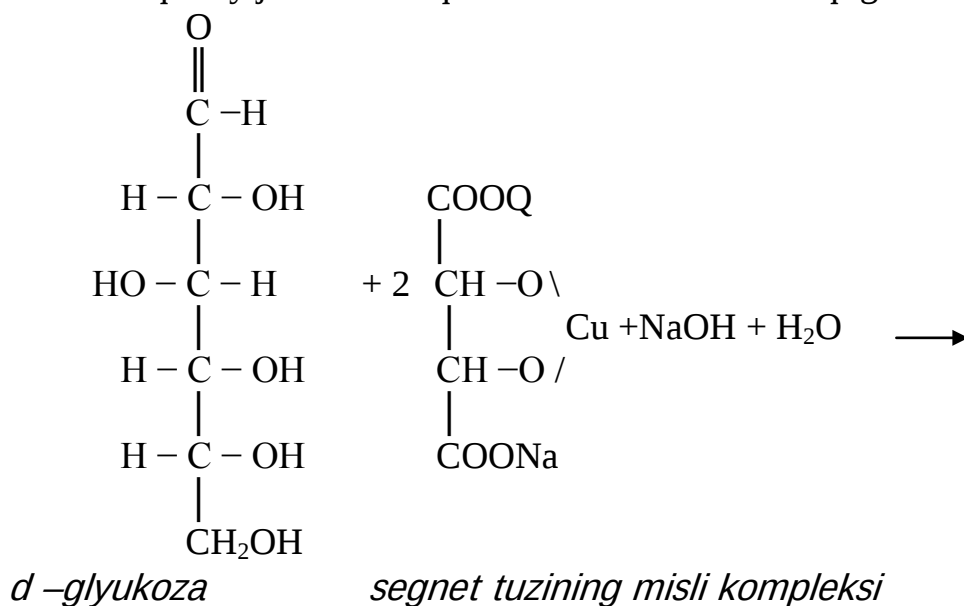
1 -tajriba. Trommer reaksiyasi. Monosaxaridlar ishqoriy muhitda mis (II)-gidroksidni mis (I)-oksidgacha qaytaradi, bu reaksiya natijasida reaksiya uchun olingan al'dozalarga to'g'ri kelgan kislotalar hosil bo'ladi.



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)-oksidiga 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 bog`langan holatda bo`lib, oksidlanish – qaytarilish reaksiyasiga erkin kirisha oladi. Reaksiya mexanizmi Trommer reaksiyasi bilan bir xil bo`lib, faqat aniqlashga halaqit berishi mumkin bo`lgan mis (II)-oksid hosil bo`lmaydi. 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 qo`shiladi va aralashma ohistalik bilan qaynaguncha qizdiriladi. Reaksiya natijasida qizil rangli mis (I)-oksid cho`kmasi hosil bo`lishi kuzatiladi. Bu reaksiyani boshqa uglevodlar – mal'toza, laktozalar ham hosil qiladi, saxaroza va kraxmal bilan esa qizil cho`kma hosil bo`lmaydi, chunki ular qaytaruvchanlik hossasiga ega emas.

LABORATORIYA MASHG`ULOTI №16

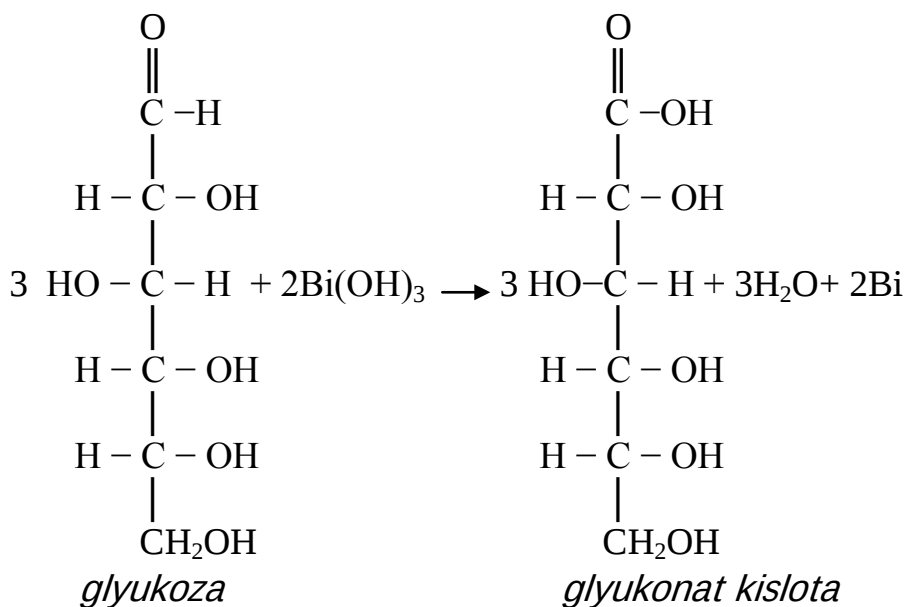
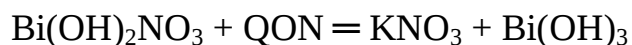
MAVZU : NILANDER VA BARFED REAKSIYALARI.

Maqsad: Nilander va Barfed reaksiyalarini tajribalar asosida ko`rib bilim va ko`nikmalarni shakillantirish.

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



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

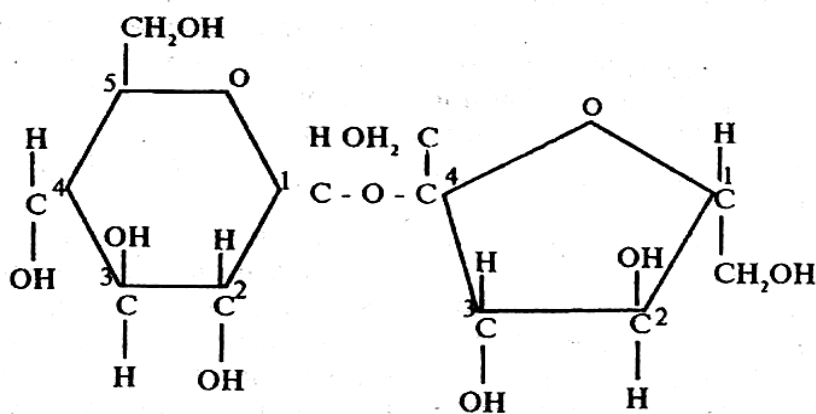
2-tajriba. Barfed reaksiyasi. Monosaxaridlar mis asetatning nordon eritmasi ta'sirida ham oksidlanadi, bunday sharoitda disaxaridlar amalda oksidlanamaydi. Bu reaksiyani Barfed topganligi uchun shu olim nomi bilan yuritiladi va biologik obyektlardagi bu ikki grupp shakarlarni bir-biridan farq qilishda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

DISAXARIDLAR

Disaxaridlar ikkita monosaxarid molekulasidan bir molekula suv ajralib chiqishi natijasida hosil bo`ladi. Disaxaridlarning umumiy formulasi - $S_2N_{22}O_{11}$. Disaxaridlarga: saxaroza, laktoza, maltoza, sellobioza kiradi.

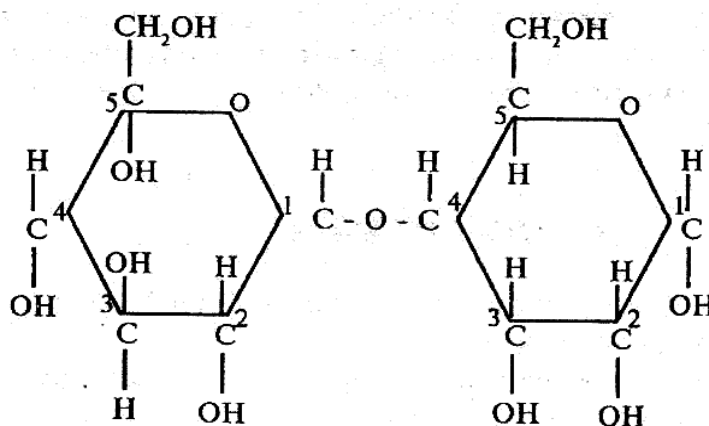
Saxaroza. Saxaroza molekulasining tashkil qilgan monosaxaridlar o`zaro 1,2 bog` orqali birikkan. Unda erkin glyukozid gidroksil grupp yo`q. Shuning uchun u Trommer reaksiyasini hosil qilmaydi. Feling suyuqligini qaytarmaydi. Saxaroza kislota bilan qizdirilsa yoki unga saxaraza fermenti ta'sir ettirilsa, glyukoza va fruktozagacha parchalanadi.



Saxaroza

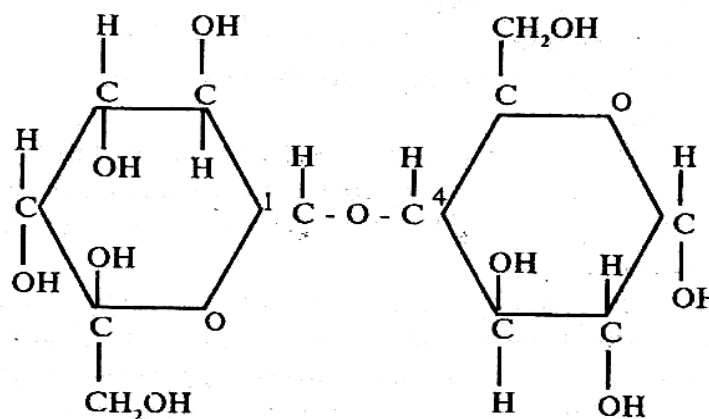
Maltoza. Parchalanganda ikki molekula α -D-glyukopiranoza hosil bo`ladi. Ular 1:4 bog` bilan birikkan bitta glyukoza qoldig`ida gidroksil saqlangan bo`lgani uchun, maltoza qaytarish xususiyatiga ega. Maltoza tabiatda erkin holda bo`lmaydi, u kraxmal va glikogen tuzilishidagi asosiy element bo`lib, ularning gidrolitik parchalanishi oshqozon-ichak yo`lida hosil bo`ladi.

Maltoza ferment ishtirokida gidrolizlanib, ikki molekula glyukoza hosil qiladi. Glyukozaning gidroksil gruppasi ochiq bo'lganligi sababli maltoza qaytaruvchanlik xususiyatiga ega.



Maltoza

Laktoza, sut shakari, disaxarid bir molekula D-glyukoza va bir molekula D-galaktozadan tuzilgan bo'lib, galaktozaning birinchi uglerod atomi bilan glyukozaning to'rtinchi uglerod atomi orqali birikkan. Laktoza tarkibidagi erkin glyukozid gidroksil bo'lganligidan qaytaruvchanlik xususiyatiga ega.



Laktoza

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №17

MAVZU: DISAXARIDLARNING QAYTARUVCHANLIK XUSUSIYATINI TEKSHIRISH.

Maqsad: Disaxaridlarning qaytaruvchanlik xususiyatlarini talabalarga ko'rsatish.

Kerakli asbob va reaktivlar : Probirkalar, pipetkalar(1ml li, sig'imi 5ml li) shtativ, gaz gorelkasi yoki spirt lampa, 5%li saxaroza eritmasi, 10%li sulfat kislota eritmasi, 10%li NaOH eritmasi, Selivanov reaktivi, Feling reaktivi, barfed reaktivi, Maltozaning 2% li eritmasi. Laktozaning 2% li eritmasi, saxarozaning 2% li eritmasi, Natriy ishqorining 20% li eritmasi, Mis sulfatning 5% li eritmasi.

Disaxaridlarning qaytaruvchanlik xususiyatini tekshirish:

Ishning borishi: Uchta probirka olib, 3-4 ml maltoza, laktoza, saxaroza eritmasidan solinadi va Trommer reaksiyasi bajariladi. Maltoza va laktoza qaytaruvchanlik xususiyatini namoyon qiladi, bu probirkalarda qizil cho'kma hosil bo'ladi. Saxaroza yuqorida aytib o'tilgandek, bu xususiyatni namoyon qila olmaydi, shuning uchun Trommer reaksiyasini hosil qilmaydi.

Saxarozaning gidrolizi: Saxarozaning solishtirma burish burchagi +66.05 gradusga teng. Gidrolizga uchratilgandan keyin esa gidrolizatning qutblangan numi burish yo'nalishi va burchagi o'zgarib qoladi. Bu hodisa inversiya deyiladi, hosil bo'lgan shakar esa invertirlangan shakar deyiladi.

Ishning bajarilishi: 5%li saxaroza eritmasidan 4 ta probirkaga 1ml dan quyib, birinchisida α -naftol bilan, ikkinchisida rezortsinning 0,05%li eritmasi bilan (Selivanov reaktivi) uchinchisida Feling, to'rtinchisida Barfed reaktivlari bilan tajribalar o'tkaziladi. Shundan keyin alohida probirkaga 55li saxaroza eritmasidan 5-10ml quyib, ustiga bir necha tomchi 10%li sulfat kislota qo'shib qaynatiladi. Gidrolizat sovutilgach ohistalik bilan neytrallanadi va yuqoridagi reaksiyalar takrorlanadi.

POLISAXARIDLAR

Polisaxaridlar tirik organizmda uchraydigan uglevodlarning asosiy qismini tashkil etadi, ular monosaxaridlar va ularning hosilalari asosida hosil bo'lgan biologik polimerlardir. Kraxmal, glikogen, insulin, tsellilyoza, dekstrin, xitin, gialuronat va xondroitinsulfat kislotalar, geparin va boshqalar tabiarda eng ko'p tarqalgan polisaxaridlar hisoblanadi. Ular organizmda turli tuman vazifalarni bajaradi.

Polisaxaridlar bir-biridan molekulosining o'lchami, bog'lanish usuli va tipi, tarkibiy qismlari, xossa hamda bajaradigan vazifalari jihatidan farq qiladi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №18

MAVZU: POLISAXARIDLARGA XOS RANGLI REAKSIYALAR.

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°C li termostat, qizdirishga chidamli kolba, 1% li kraxmal eritmasi, 10% li H₂SO₄ eritmasi, lyugol ertimasi, Felning reaktivi, distillangan suv, 5 marta suyultirilgan so'lak.

1-tajriba: Kraxmalning gidrolizlanishi:

Kraxmal yuqori molekulyar polimer birikma, u gidrolizlanganda gidrolitik prosessning qanday darajada borishiga qarab, molekulosisining 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, 70° S 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 40° 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.

2-tajriba: Kraxmalning yod bilan reaksiyasi.

Kerakli asbob va reaktivlar: Probirkalar, shtativlar,(1,5ml li) va tomchilatuvchi pipetka, pipetkalar, shtativ, gaz gorelkasi yoki spirt lampa,0,1% li kraxmal eritmasi,0,1% li glikogen eritmasi,lyugol ertimasi,10%li NaOH eritmasi,etil spirt.

Kraxmal yod bilan ko'k rang beradi. Bu reaksiya o'ziga hos reaksiya bo'lib kraxmal tarkibidagi amilazaning poliglyukozid zanjiri spiralsimon strukturoga ega bo'ladi, yod esa spiral o'rtasidagi bo'shliqqa kirib olib, koordinatsion kompleks hosil qilsa kerak. Shuning uchun kraxmal gidrolizga uchratilsa yoki spirt quyilsa ko'k rang yo'qoladi, lekin eritma sovitilganda ko'k rang yana hosil bo'ladi.

Ishning bajarilishi: Probirkaga 0.1%li kraxmal eritmasidan 3ml quyib, ustiga 2-3 tomchi lyugol ertimasidan tomiziladi. Hosil boʻlgan koʻk rangli eritmani uch qisimga boʻlib, biriga teng hajmda 10%li NaOH eritmasi, ikkinchisiga shuncha miqdorda etil spirt qoʻshiladi, uchinchisini esa qaynatiladi. Bu vaqtda uchala probirkadagi suyuqlik rangsizlanadi. Lekin oxirgi probirkadagi suyuqlik sovutilgandan soʻng rangi tiklanadi. Alohida probirkaga 2-3 ml glikogen eritmasi quyib, unga 2-3 tomchi lyugol ertimasidan tomiziladi. Probirkadagi suyuqlik qizil-qoʻngʻr rangga kirishi kuzatiladi.

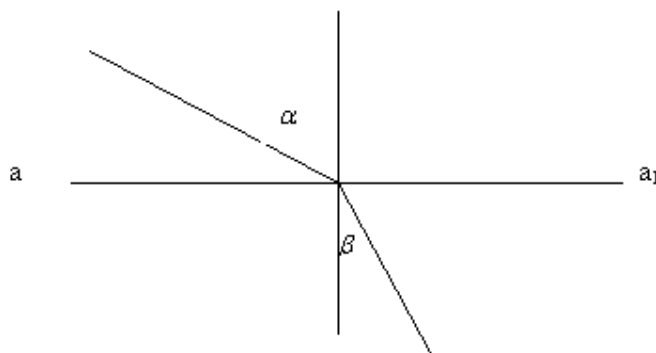
LABORATORIYA MASHGʻULOTI №19

MAVZU: QON ZARDOBIDAGI OQSIL KONSENTRATSIYASINI REFRAKTOMETRIK VA QON ZARDOBIDAGI GLYUKOZOFOFOSFAT - IZOMERAZA FERMENTINING AKTIVLIGINI ANIQLASH

Maqsad: Qon zardobidagi oqsil konsentratsiyasini refraktometrik va qon zardobidagi glyukozofosfat - izomeraza fermentining aktivligini aniqlash boʻyicha tajribalar asosida talabalarda bilim va koʻnikmalar hosil qilish.

1-tajriba: Qon zardobidagi oqsil konsentratsiyasini refraktometrik aniqlash

Kerakli asbob va reaktivlar: refraktometr, qon zardobi yoki tekshiriluvchi biologik suyuqlik, distillangan suv. Retrigo - lotincha soʻz boʻlib, «sindiraman» degan maʼnoni bildiradi.

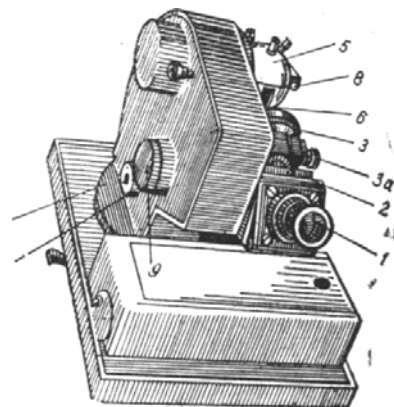


1- rasm. Yorugʻlik nurining bir muhitdan ikkinchi muhitga oʻtganda sinishi:

aa1 - ikki muhit orasidagi chegara: a-tushish burchagi: v-sinish burchagi Refraktometr asbobi refraksiya (sindirish) koeffitsiyentini aniqlab beradi. Refraksiya koeffitsiyenti (yoki sindirish koʻrsatkichi) deb yorugʻlik nurining tushishi burchak sinushining, uning sinish burchagi sinusiga nisbatiga aytiladi. Refraksiya koeffitsiyenti n xarfi bilan ifodalanadi:

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

Sindirish koʻrsatkichi bilan eritmadagi modda konsentratsiyasi orasida turli proporsionallik mavjud. Maxsus tayyorlangan jadvaldan foydalanib, sindirish koeffitsiyenti asosida oqsil konsentratsiyasini topish mumkin. Bu usul ayniqsa biologik suyuqliklarda odam va hayvonlarning qon zardobida, hasharotlar



gemolimfasida va boshqalarda oqsil miqdorini aniqlash uchun qulay.

Analiz uchun bir necha tomchi oqsil sarf bo`ladi. Analizda RLU, RPL, URL, IRF-22 tipdagi refraktometrlardan foydalanish mumkin. Laboratoriyada ko`pincha IRF-22 tipdagi (2- rasm) refraktometrdan foydalaniladi.

2-rasm. Refraktometrning tuzilishi:

1-okulyar-(ko`rish trubkasi); 2- xisoblash kamerasi; 3- axrometr; 3<sup>a</sup> -axrometr rukoyatkasi 4-kamera holatini o`zgartuvchi vint; 5-refraktometr kamerasi; 6-refraktometr kamerasiga nur yo`naltiruvchi oyna; 7-refraktometr korpusi; 8-kamerani termostatga ulash uchun nay; 9-xisoblash kamerasini yorituvchi darcha.

Bu asbobning ishlash prinsipi quyidagicha: analizni boshlashdan oldin asbobning nol nuqtasi aniqlanadi. Buning uchun optik bo`sh sistema sifatida distillangan suvdan foydalaniladi. Dastlab refraktometr kamerasi (5) ochilib, avval suv bilan, sungra spirt-efir (1:1) aralashmasi bilan namlangan doka yoki paxta bilan yaxshilab tozalanadi, so`ngra kameraning pastki prizmasiga 1-2 tomchi distillangan suv tomizilgach, kamera yopiladi. Refraktometr oynasi (6) yordamida yorug`lik nuri kameraga yo`naltiriladi. Undan keyin asbobning okulyariga (1)qarab fokus oralig`i to`g`irlanadi. Okulyar orqali qaralganda ko`ruv zonasining yarmi korong`i, yarmi yorug` bo`lishi kerak, agar yorug` va qorong`i zonalar chegarasi nur dispresiyasi hisobiga bo`yalgan, noaniq bo`lsa, axrometr rukoyatkasi (3,3a) yordamida rangsizlantirilib, chegara aniqlashtiriladi. Refraktometr kamerasi yoki okulyarning ho-latini (4) vint yordamida o`zgartirilib, yorug`lik bilan qorong`ilik chegarasini ko`ruv zonasidagi o`zaro perpendikulyar chiziqlarning kesishgan nuqtasiga keltiriladi va shkalasiga saraladi. Agar nol nuqtasi normal bo`lsa, asbob shkalasi 1,3330 ni ko`rsatishi kerak. Refraktometr distillangan suv bilan boshqa qiymat ko`rsatsa, shartli nol nuqta sifatida yozib qo`yiladi. Asbobning nol nuqtasini aniqlash va keyingi ishlash protsessi 20°S da olib borilishi kerak. Agar laboratoriya temperaturasi farq qilsa, asbob kamerasi orqali 20°S li suv o`tkaziladi. Nol nuqta aniqlangandan keyin kamera ochilib, toza doka yoki paxta bilan ko`ringuncha artiladi.

Ishning bajarilishi: Refraktometr nol nuqtasi aniqlangandan keyin asbobning kamerasi ochilib, ostki prizмага 1-2 tomchi qon zardobi tomizilgach, darxol yopiladi. So`ngra okulyardan qaralsa, qorongi bilan yorug`lik chegarasi siljigani kuzatiladi, maxsus vint (4) yordamida yana ikkita o`zaro perpendikulyar chiziqning kesishgan joyiga keltirgach, shkalaga qarab tekshirilayotgan qon zardobining nur sindirish ko`rsatkichi aniqlanadi. Shundan keyin refraktometr kamerasi distillangan suv bilan yaxshilab yuvib, toza doka yoki filtr qog`oz bilan, so`ngra spirt-efir aralashmasi bilan artib ko`riladi. Agar asbob uzoq, vaqt ishlatilmasa, kameraga yupqa gigroskopik paxta qo`yib ko`riladi.

Hisoblash. Agar laboratoriyada doimiy 20°S li temperatura hosil qilish imkoniyati bo`lmasa, xar bir gradusga 0,0001 o`zgartish kiritiladi. Temperatura 20°S dan past bo`lsa ayiriladi, yuqori bo`lsa, qo`shiladi. Tekshirilayotgan qon zardobini sindirish ko`rsatkichi 3 marta aniqlanib, uning o`rtacha qiymati olinadi. Olingan o`rtacha sindirish ko`rsatkichi asosida 3- jadvaldan foydalanib, oqsil konsentratsiyasi topiladi.

3- j a d v a l

Sindirish ko`rsatkichiga asoslanib oqsilning protsenti miqdorini hisoblash.

Sindirish ko`rsatkichi	Oqsil protsenti	Sindirish ko`rsatkichi	Oqsil protsenti
1,33705	0,63	1 ,34575	5,68
1,33743	0,86	0,346	5,90
1,33781	1,08	1,34650	6,12
1,33820	1,30	1,34687	6,34
1,33858	1,52	1,34724	6,55
1,33896	1 ,74	1,34761	6,77
1,33934	1,96	1,34798	6,98
1,33972	2,18	1,34836	7,20
1,34000	2,40	2,34873	7,42
1,34048	2,62	1,34910	7,63
1,34086	2,84	1,34947	7,85
1 ,34124	3,06	1,34984	8,06

1,34162	3,28	1,35021	8,28
1,34199	3,50	1,35058	8,49
1,34237	3,72	1,35095	8,71
1,34275	3,94	1,35132	8,92
1,34313	4,16	1,35169	9,14
1,34350	4,38	1,35205	9,35
1,34388	4,60	1,35242	9,57
1,34426	4,81	1,35279	9,78
1,34463	5,03	1,35316	9,99
1,34500	5,25	1,35352	10,20
1,34537	5,47	1,35388	10,41

2-tajriba: Qon zardobidagi glyukozofosfat - izomeraza fermentining aktivligini aniqlash.

Kerakli asbob va reaktivlar: 40°S li termostat, FEK-N-57, shlifli, qopqoqli kolba, darajalangan (1; 2; 5; 10 ml li) pipetkalar. Medinal - atsetatli bufer (pH = 7,4) (9,714 g natriy atsetat va 14,714 g medinal 500 ml suvda eritiladi), substrat- bufer aralashmasi (8,33 ml glyukoza-6-fosfatning natriyli tuzi 25 ml medinal atsetat buferi bilan aralashtiriladi (pH=7,4), uni ustiga 25 ml 0,1 n HC1 eritmasi qo`shib, hajmi 100 ml ga yetkaziladi (uni sovuq, joyda saqlash kerak); trixlor sirka kislotaning 10% li eritmasi.

Glyukoza-6-fosfat izomeraza (D-glyukozo 6-fosfat ketol - izomeraza – KF-5.3.1.9) fermenti izomerazalar sinfiga mansub bo`lib, glyukozo-6-fosfatni fruktoza-6-fosfatga aylanishini tezlashtiradi:

Bu ferment quyon muskulidan kristall xolatda ajratib olingan. Molekulyar massasi 130 000 ga, pH optimumi 9,0 ga teng.

Glyukozofosfat izomeraza yuqori darajada spetsifik bo'lib, ta'siri qaytar xarakterga ega bo'lganligi tufayli, faqat glyukoza-6-fosfat va fruktozo-6-fosfatga ta'sir qiladi. Tabiatda keng tarqalgan.

Ishning bajarilishi: Ikkita probirkaga 0,5 ml dan qon zardobi quyib, ularning biriga 1 ml substrat bufer aralashmasi quyiladi. Ikkinchisi esa kontrol vazifasini o'taganligi sababli substrat quyilmaydi. Har ikkala probirkani 30 minut davomida 37°S li termostatga quyiladi. Ko'rsatilgan inkubatsion vaqt o'tgandan keyin kontrol probirkaga 1 ml substrat bufer aralashmasi quyiladi va darhol ikkala probirkaga 10% li trixlor sirka kislota eritmasidan 1,5 ml dan quyib, reaksiya to'xtatiladi. Probirkalardagi suyuqlik aralashtirilgandan so'ng sentrifugalanadi. Har bir probirkadan 1 ml dan suyuqlik olib silliqlangan probkali probirkaga o'tkaziladi, uning ustiga 0,1% li rezortsin eritmasidan 1 ml dan, 10 n xlorid kislota eritmasidan 3 ml quyiladi. Aralashma yaxshilab chayqatilgach, xona temperaturasida 5 minut qoldiriladi. Natijada xosil bo'lgan pushti rang fruktozo-6-fosfat miqdoriga proporsional bo'ladi. Aralashmaning ortiq zichligi fotoelektrokolorimetrda 413nm da (suvga nisbatan) aniqlanadi. Ferment aktivligi tajriba va kontrol probirkalar ekstinsiyalari orasidagi farqga asoslanib shartli birlikda ifodalanadi:

$$A = (ET-EK).100$$

Bu yerda: ET -tajriba o'tkaziladigan probirkaning ekstindiyasi, EK-kontrol probirkaning ekstinsiyasi.

Fermentning absolyut aktivligi vaqt birligida xosil bo'lgan fruktozo-6-fosfatning mikromol miqdori bilan ifodalanishi ham mumkin. Buning uchun fruktoza asosida kalibrlash egri chizigi chiziladi.

Kalibrlash egri chizigini toza fruktoza miqdori asosida chizish mumkin. Buning uchun 45 mg fruktoza 100 ml suvda eritilib, bu asosiy eritma quyidagi jadval asosida suyultiriladi (jadval). Bu jadval asosida suyultirilgan fruktozaning standart eritmalari bilan yuqoridagi operatsiyalar bajarilgach, xosil bo'lgan rangli aralashmalarning optik zichligini ordinata o'qiga, eritmadagi fruktoza konsentratsiyalarini abtsissa o'qiga qo'yib, grafik chiziladi. Bu grafik kalibrlash egri chizig'i hisoblanadi.

j a d v a l

Probirkalar nomeri va fruktoza miqdori MkM										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fruktozaning asosiy eritmasi, ml	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
Distillangan suv, ml	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,0
Qo'shiladigan (0,1% li) rezorsin	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
10 n li HCI eritmasi	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Kalibrlash egri chizigi asosida glyukozofosfatizomeraza ta'sirida xosil bo'lgan fruktozo-6-fosfat miqdorini aniqlash uchun tajribada topilgan ekstinskiyani 1,65 ga ko'paytiriladi, chunki fruktozo-6-fosfat bilan xosil bo'lgan rang ravshanligi erkin fruktoza xosil qilgan rang optik zichligining 60,5% ga to'g'ri keladi: $100:60,5=1,65$, shundan keyin olingan optik zichlik asosida reaksiyon aralashmada xosil bo'lgan fruktozo-6-fosfatning mikromol miqdori hisoblab topiladi:

$$E = \frac{a}{n} \cdot 2$$

Bu yerda: E—ferment aktivligi (mkm/ml-soat), a—reaksion aralashmada xosil boʻlgan fruktozo- 6 - fosfatning mikromol miqdori, n—tajriba uchun olingan qon zardobi yoki boshqa biologik suyuqlikning ml miqdori, 2—inkubatsiyaga yarim soat sarflanganligi uchun koʻpaytuvchi.

LABORATORIYA MASHGʻULOTI №20

MAVZU: QONDAGI GLYUKOZA MIQDORINI XAGEDORI-IENSEN USULI BOʻYICHA ANIQLASH.

Maqsad: Qonning kimyoviy tarkibi haqida maʼlumot berish, qondagi glyukoza miqdorini Xagedori-Iensen usuli boʻyicha 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, oʻyuvchi 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-reaktivga 1 g kaliy yodid qoʻshiladi), 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 boʻlganligi 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 $K_2[Fe(CN)_6]$) taʼsirida oksidlanishiga asoslangan:



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



Bu reaksiya qaytar boʻlganligi sababli, hosil boʻlgan kaliy ferrosianid rux sulfat taʼsirida suvda erimaydigan tuz $K_2Zn_3[Fe(CN)_6]_6$ koʻrinishiga oʻtkazilib 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 choʻktirish.

Buning uchun 4 ta nomerlangan probirka olib, ularning har biriga 5 ml dan 0,45 % li rux sulfat va 1 mldan 0,1 n oʻyuvchi natriy eritmasidan quyiladi. Barmoqdan yoki tajriba uchun olingan hayvondan mikropipetka yordamida 0,1 ml qon olinadi. Buning uchun barmoq spirt yordamida tozalangandan soʻng sterillangan nina sanchiladi. Yoki tekshiruvchi hayvon kamroq jarohatlanadigan joyidan qon tomiri ochiladi. Birinchi tomchi qon yoki biologik suyuqlik oqizib yuboriladi, soʻngra 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 toʻrtinchi probirkalar reaktivlar tozaligi va aniqlash texnikasi uchun kontrol vazifasini oʻtaydi. Toʻrtala probirkadagi suyuqlik ohistalik bilan aralashtirib, qaynab turgan suv hammomiga 3-4 minut qoʻyiladi. Koʻrsatilgan vaqt oʻtgandan keyin aralashma 50 ml li konussimon kolbaga avval distillangan issiq suv bilan yuvilgan nam holidagi paxta orqali filtrlanadi. Glyukozani batamom yuvish uchun distillangan suv bilan filtrli voronkadagi choʻkma 3 marta yuviladi.

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

Buning uchun toʻrtala 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 qoʻshiladi. Bu vaqtda kolbadagi aralashma ajralib chiqqan erkin yod hisobiga qoramtir koʻk rangga kiradi, undan keyin mikrobyuretka yordamida suyuqlik rangsizlanguncha 0,05 n natriy tiosulfat eritmasi bilan titrlanadi.

Hisoblash. Titrlash maʼlumotlari asosida qondagi shakar miqdorini hisoblashda Xagedori tuzgan jadvaldan foydalaniladi. Jadvalning birinchi vertikal ustida 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 oʻtrib qolgan qizil qon tuzi miqdoriga toʻgʻri, tekshirilayotgan hajmdagi biologik suyuqlikdagi shakar miqdoriga esa teskari proportsionaldir.

Agar tajriba uchun olingan kolbadagi aralashmani filtrlash uchun oʻrtacha 1,24 ml, kontrol kolbaga 1,83 ml tiosulfat eritmasi sarf qilingan boʻlsa, jadvaldan quyidagi natijani olish mumkin:

Tajriba 1,24 ml 0,134 mg

Kontrol 1,83 ml 0,029 mg shakarga toʻgʻri 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:

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

yaʼni tekshirilayotgan biologik suyuqlikda shakarning miqdori 105 mg (%) ga teng ekanligini topamiz.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №21

MAVZU: PIYOZ EKSTRAKTIDAGI GLYUKOZA VA BOSHQA QAYTARUVCHI SHAKARLARNI HAMDA O`SIMLIKLARNING YASHIL BARGLARIDAGI KRAXMALNI ANIQLASH.

Maqsad: Talabalarda tajribalar orqali bilimlarni mustahkamlash.

Kerakli asbob va reaktivlar: qirg'ich yoki pichoq, gaz gorelkasi, probirka, felin suyuqligi, piyoz.

1- tajriba:

Bosh piyozning suvli ekstrakti Felin reaktivi bilan qizdirilganda avval sariq rangli mis(I)-oksidi hosil bo'ladi. Bu reaksiya ekstraktda glyukoza va boshqa qaytaruvchilik xususiyatiga ega moddalar borligiga asoslangan.

Ishning bajarilishi: Bosh piyoz qirg'ichda yoki boshqa usulda yaxshilab maydalanadi. Tayyorlangan massadan probirkaga 0,5g olib, uning ustiga 2ml distillangan suv quyiladi va 3-4 minut qaynatiladi. So'ngra filtr qog'oz orqali filtrlanadi. Filtratdan 10 tomchi olib Felin reaksiyasi yordamida qaytaruvchi shakarlar borligi aniqlanadi. Piyoz o'rniga sabzidan ham foydalanish mumkin.

Har ikkala ish natijasi quyidagi jadvalga yoziladi.

Tekshiriladigan material	Foydalanilgan reaktivlar	Kuzatilgan rang	Reaksiya nimaga bog'liq

2-tajriba: O`simliklarning yashil barglaridagi kraxmalni aniqlash.

Kerakli asbob va reaktivlar: gaz gorelkasi yoki spirt lampa, probirka, 1;2;5 ml li pipetka, etil spirt, yodning 1%li eritmasi, o`simlik bargi.

Kraxmal faqat yashil barglarda aniqlanishi mumkin, sarg'aygan barglarda xlorofill bo'lmaganligi sababli kraxmal sintezlanmaydi.

Ishning bajarilishi: 2-ta probirka olib, ularning biriga o`simlikning yashil bargi, ikkinchisiga sarg'aygan bargi solinadi. Har ikkala probirkaga 1-2ml distillangan suv quyib, 2-3 minut qaynatiladi. So'ngra issiq suv to'kib tashlanadi va uning o'rniga 1ml etil spirt quyiladi. Probirkalar qaynab turgan suv hammomiga 3-5 minut qo'yiladi va har minutda chayqatib turiladi. Yashil bargdagi xlorofill va sariq bargdagi ksantofill spirtga o'tadi, barg esa rangsizlanadi. Spirtli ekstrakt alohida idishga qo'yiladi. Rangsizlangan bargli probirkaga esa yana 1-ml dan spirt quyib, 3-5 minut suv hammomida qizdiriladi. Spirt yuqoridagi idishga to'kilib rangsiz barg bir necha marta distillangan suv bilan yuviladi. Shundan keyin har bir probirkaga 3-4 ml dan distillangan suv quyib, barg to'qimasini yumshatish uchun qaynab turgan suv hammomiga qo'yiladi. 5-10 minutdan keyin suv to'kib tashlanadi va barglar alohida nomerlangan filtr qog'ozga qo'yiladi, so'ngra 3-4 tomchi 1% li yod eritmasidan tomiziladi. Agar bargda kraxmal bo'lsa asta-sekin ko'k nuqtalar paydo bo'lib, bargning yuzasi ko'karadi.

LIPIDLAR.

Tabiatda keng tarqalgan turli qurilishga ega, lekin umumiy xossalari bilan o'xshash bo'lgan barcha ma'lum yog'lar, yog'simon moddalar uchun umumiy nom olgan moddalar – bu lipidlardir. 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 lipidlar (yog'simon moddalar). Tirik organizmning hayot faoliyatida lipidlar – suv, oqsil, uglevod, ferment, nuklein kislotalar kabi hujayraning muhim komponenti hisoblanadi.

Lipidlarning asosiy biologik vazifalari

1. Energetik – bu vazifani TGD lar va erkin yog' kislotalari bajaradi;
2. Strukturali – fosfolipidlar, xolestirin va uning efirlari biologik membranani asosini tashkil qiladi;
3. Transport – fosfolipidlar biologik membrana orqali moddalarni transport qilishda qatnashadi;
4. Elektroizolyatorlik – nervning myelin tarkibidagi sfingomielin va glikosfingolipidlar elektrizolysiya materialini tashkil qiladi;
5. Emulgirlovchi – fosfoglitseridlar, o't kislotalari kabi lipidlar ovqat hazm qilish yo'lida yog'larni emulsiya holatiga o'tkazadi va ularning parchalanishiga yordam beradi;
6. Mexanik – teri osti yog'lari. Biriktiruvchi to'qima lipidlari ichki organlarni mexanik ta'sirdan asrab turadi;
7. Issiqlik izolyatsiyasi – teri ostidagi yog' qavati organizmni doimiy haroratda saqlashga yordam beradi;
8. Erituvchi – o't kislotalari ichakda yog'da eruvchi vitaminlar ularni erituvchi vazifasini bajaradi;
9. Gormonal – steroid gormonlar va prostaglandinlar lipid tabiatiga ega;
10. Vitaminlik – yog'da eruvchi vitaminlar lipid tabiatiga ega bo'ladi.

Membranada ayrim fosfolipidlarning miqdori

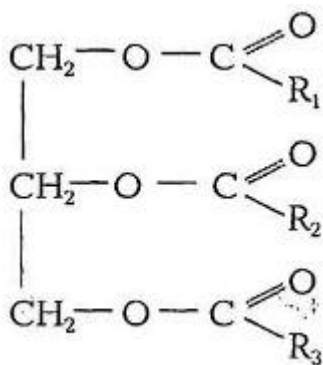
(umumiy lipidlar miqdoridan % larda)

Fosfolipid	Kalamush jigari	Eritrositlar	E.coli
Fosfatidiletanolamin (kefalin)	11	15	80
Fosfatidilxolin (letsetin)	18	31	—
Fosfatidilinozit	10	7	—
Fosfatidilserin	9	13	—
Xolesterin	30	24	—
Sfingomiyelin	14	8,5	—

Lipidlarning tasnifi.

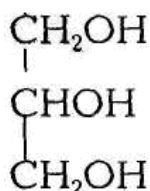
Lipidlarni bir necha xil tasnifi mavjud.

1. Struktur tasnif;
2. Fizik- kimyoviy tasnif;
3. Fiziologik tasnif;

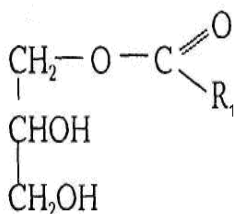


Glitserolipidlar:

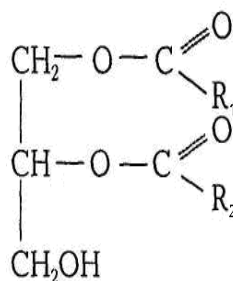
Bu sinifga kiradigan lipidlar tarkibida albatta glitserin va yog' kislotalari bo'ladi. Triglitseridlar. Agarda glitserinning hamma uchta gidroksil turkumlari yog' kislotalari bilan bog'langan bo'lsa - triglitserid (triatsilglitserin), agar ikkita bog'langan bo'lsa diglitserid (diatsilglitserin) va bittasi bog'langan bo'lsa monoglitserid (monoatsilglitserin) deb ataladi.



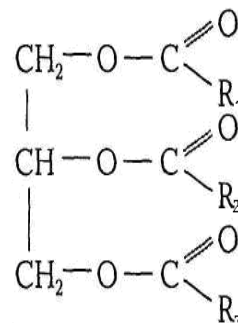
Glitserin



Monoatsilglitserin

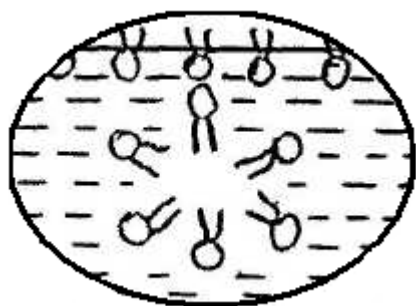


Diatsilglitserin



Triatsilglitserin

Fosfolipidlar: – tarkibida bitta gidroksil gruppasi fosfat kislotasi bilan efir hosil qilgan bo'ladi. Masalan, fosfatid kislotasi. Ko'rinib turibdiki FL lar molekulasi 2 qismda iborat qutibli " boshchasi" (+, -) zaryadlangan va qutibsiz 2 dumdan iborat.



Hujayra membranalarida fosfolipidlar bilan glikolipidlar membrananing lipidlar qo'sh qatlamini tashkil qiladi. Bunda qutibli boshchalar gidrofil bo'lganliklari sababli suvga qarab intilgan bo'ladi, qutibli bo'lmagan dumlar esa qo'sh qatlamni gidrofob mag'izini tashkil qiladi.

Fosfolipidlarni parchalovchi fermentlarni fosfolipazalar deyiladi. Fosfatid kislotasi organizmda kam miqdorda bo'ladi, ammo ular fosfolipidlarning almashinuvida muhim oraliq mahsulot hisoblanadi.

Fosfolipidlar (diol fosfatidlar) – ikki atomli spirtlarning unumlari bo'lib, bir spirt guruhi yog' kislotasi qoldig'i bilan, ikkinchisi esa fosfat yoki qandaydir spirt qoldig'i bilan eterifikasialangan bo'ladi. Organizmda fosfolipidlar hujayra membranasi bilan bog'lanib, uning funksiyasini o'zgartirishi mumkin.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №22

MAVZU: 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.

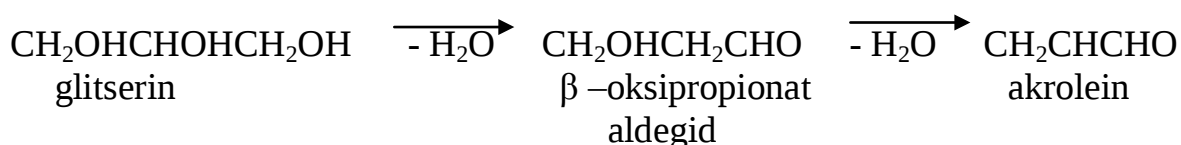
Kerakli asbob va reaktivlar: probirkalar, shtativ, spirt lampa yoki gaz gorelkasi, filtr qog'oz, etil spirt, aseton, efir, petroley efiri, dixlorethan, xloroform, benzol, benzin, uglerod (IV)-sulfid, kaliy gidrosulfat kristali, kumush gidrosulfidining ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz, paxta, kungaboqar moyi, margarin, qo'y va mol yog'i.

1-tajriba. Yog'larning eruvchanligini aniqlash

Ishning bajarilishi. 20 ta probirka olib, ularni 2 gruppaga bo'lib, nomerlanadi. Har ikkala gruppadagi probirkalarga navbati bilan 2 ml dan suv, spirt, aseton, efir, petroley efiri, dixlorethan, xloroform, benzol, benzin va uglerodsulfid quyiladi. Birinchi gruppadagi probirkalarning hammasiga bir necha tomchi paxta yoki boshqa o'simlik moyi, ikkinchi gruppadagi probirkalarga no'xat kattaligida mol yog'i solib, normal temperaturada eruvchanligi kuzatiladi, so'ng suv hammomida qizdirib ko'riladi. Kuzatish natijalari yozib qo'yiladi.

2-tajriba. Yog'lardagi glitseringa xos reaksiya

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



Akrolein ajralganligini aldegidga xos reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin.

Lipidlar tarkibida erkin glitserin bo'lmaydi, shu sababli ular akrolein reaksiyasini bermaydi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 0,5-1 ml paxta moyi quyiladi, ustiga 2-3 g kaliy bisulfat kristallaridan qo'shib mo'rili shkafda qizdiriladi. O'tkir hidli oq akrolein bug'lari ajraladi. Bug'larga kumush oksidning ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz tutilsa, u qora rangga kiradi, fuksinsulfat kislota eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz tutilsa, pushti dog' paydo bo'lishi kuzatiladi. Bu har ikkala reaksiya aldegidlarga xos reaksiya bo'lib, akrolein ajralayotganini bildiradi.

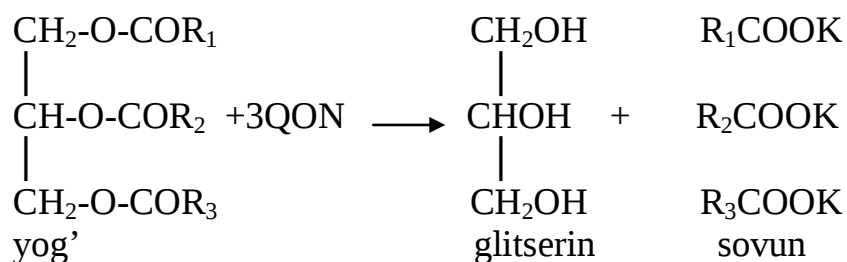
LABORATORIYA MASHG'ULOTI №23

MAVZU: YOG'LARNING SOVUNLANISHI VA YOG' KISLOTALAR OLISH.

Maqsad: Yog'larning sovunlanishi va yog' kislotalar olish maqsadida talabalar bilan tajriba o'tkazish orqali bilim va ko'nikmalarni mustahkamlash.

Kerakli asbob va reaktivlar: 50ml li qizdirishga chdamli kolba, qaytar sovitgich yoki probirka o'rnatilgan 60-70 sm uzunlikdagi shisha nay, suv hammomi, filtr qog'oz, chinni kosacha, voronka, probirkalar, pipetkalar, shisha tayoqcha, KOHning spirtidagi 10%li eritmasi, fenolftaleinning spirtidagi 0,1%li eritmasi, kalsiy xloridning 5%li eritmasi, 10%li qo'rg'oshin atsetat eritmasi, paxta moyi.

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.

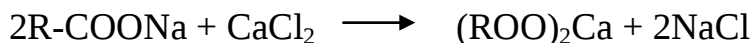
Ishning bajarilishi. 50 ml li kolbaga 1 g mol yog'i yoki paxta moyi olib, uning ustiga 10 % li qon ning spirtli eritmasidan 10 ml quyiladi. Kolba og'zi qaytar sovitgich sifatida uzunligi 60-70 sm bo'lgan shisha nay o'rnatilgan probka bilan berkitiladi. Shundan keyin kolbadagi aralashma qaynayotgan suv 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.

LABORATORIYA MASHG`ULOTI №24

MAVZU: YOG`LARNING TO`YINGANLIK DARAJASINI ANIQLASH. YOD SONINI ANIQLASH.

Yog`larning to`yinganlik darajasini aniqlash.

Maqsad: Reaksiya tajribalari asosida talabalarda lipidlarning to`yinganlik darajasini aniqlash. Yod sonini aniqlash bo`yicha bilim malakalarini rivojlantirish.

Kerakli asbob va reaktivlar: 25 yoki 50 ml li stakan yoki kolba, mikrobyuretk, 250ml li shlifli kolba analitik tarozi, penitsellin idishi, 100ml li o`lchov tsilindri, byuretk(25ml)li, 1ml li pipetka, xloroform, yodning 0,001n eritmasi, yodning 0,2n spirtli eritmasi, tiosulfatning 0,1n eritmasi, qo`y yog`i, mol yog`i, margarin, paxta yoki boshqa o`simlik moyi.

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 - t a j r i b a . 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 - t a j r i b a . 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).

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №25

MAVZU: YOG'NING KISLOTA SONINI ANIQLASH.

Maqsad: Reaksiya tajribalari asosida yog'larning kislota sonini aniqlash talabalarda bilim va ko'nikmalar hosil qilish.

Kerakli asbob va reaktivlar: Analitik tarozi, penitsillin idishi, 100ml li Erlenmeyer kolbasi, mikrobyuretk, neytrallangan 1:1 nisbatli spirt-efir aralashmasi, fenolftaleinning spirtidagi 0.1%li eritmasi, KOH ning spirtidagi 0.1n eritmasi.

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 aralashmasiada (1:1) eritiladi. Yog' erigandan keyin 2 tomchi fenolftalein eritmasidan tomizilib, aralashma och pushti rangga kirguncha o'yuvchi kaliyning spirtidagi 0,1 n eritmasi bilan yo'qotiladigan rang hosil bo'lguncha davom ettiriladi.

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

$$K = V \cdot T$$

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: V_1 - kontrol kolbadagi suyuqlikni titrlash uchun sarflangan 0,5 n KOH miqdori (ml); V_2 - tajriba uchun ketgan 0,5 n qon miqdori (ml); 28-0,5 n qon ning titri; a-aniqlash uchun olingan yog'ning miqdori (g).

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №26

MAVZU: BIOLOGIK OBEKTLARDAGI 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 joyda 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<sup>0</sup> C da quritiladi. So`ngra paket byuksga solinib, ekskatorga 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 birgalikda 100-105<sup>0</sup> C li termostatga 4-6 soat qo`yiladi. So`ngra byukslarning qopqog`ini berkitib sovitish uchun ekskatorga 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; a₁ – materialning kiritilgandan keyingi massasi.

Lipidning foiz miqdori olingan material massasi bilan ekstraksiyadan keyingi massasi orasidagi farq asosida hisoblab chiqiladi. Ikkita parallel aniqlash orasidagi tafovut 1-1,5 % dan oshmasligi kerak. Olingan ma`lumotlar quyidagi jadval ko`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

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №27

MAVZU: VALGEMUT USULI BO'YICHA BIOLOGIK OBEKTLARDAGI 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 yodidagi eritmasi.

Amilaza α -1,4 – glyukan -4- glyuqongidrolaza – 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 37° S 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 yodidagi 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 soʻlakning suyultirish darajasi 128 ga teng. Bu sonni quyilgan kraxmalning ml miqdoriga koʻpaytirilsa, shu eritma, yaʼni soʻlakning amilaza soni kelib chiqadi: $128 \cdot 2 = 256$. demak, tekshirilayotgan soʻlakning 1 millilitri 1 % li 256 ml kraxmalni parchalay olishi mumkin ekan.

FERMENTLAR.

Fermentlar oqsil tabiatli katalizatorlar boʻlib, organizmdagi barcha biokimyoviy reaksiyalarni tezlashtiruvchi biologik faol oqsildir. «Ferment» termini (lotinchadan-**fermentum–achitqi**) maʼnosiga ega. XVII asr boshida Gollandiya olimi Van Gelmont tomonidan spirtli bijgʻishga taʼsir qiluvchi moddalar taklif qilingan.

Shundan kelib chiqqan holda nafaqat bijgʻish jarayonini tezlashtiruvchi biologik katalizatorlar, balki barcha kimyoviy reaksiyalar (tezlashtiruvchi) ni amalga oshiruvchi «ferment» termini saqlangan.

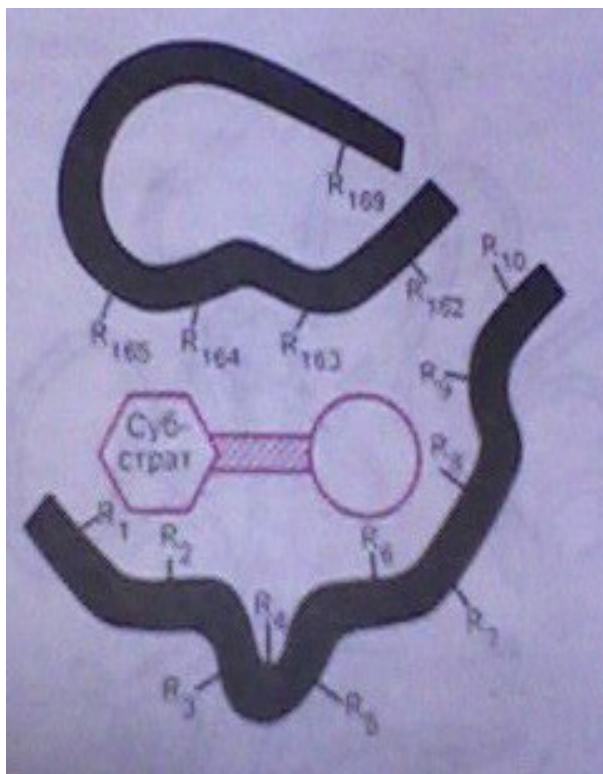
Oziqa moddalarni organizm tomonidan oʻzlashtirilishi va ularning keyinchalik ishlatilishi, yuqori molekulali birikmalardagi kimyoviy energiyaning biologik oksidlanishi jarayonida ajralishi, toʻqimalarning rivojlanishi va boʻlinishi vaqtida (struktur elementlarning sintezi va x.zlar.) fermentlar ishtirokida boʻladi. Biokimyoning zarur va rivojlanib kelayotgan etapi fermentologiya va enzimologiya hozirda mustaqil fan sifatida katta rol oʻynamoqda.

Fermentlar oqsil tabiatli biologik katalizatorlardir va shuning uchun ham ularga katalizning barcha qonunlari tegishlidir. Ammo bir qator spetsifik xususiyatlar ularni anorganik katalizatorlardan ajratib turadi.

Koʻrsatkich	Biologik katalizatorlar–Fermentlar	Anorganik katalizatorlar
Kimyoviy tabiati	Yuqori molekulyar birikmalar–Oqsillar	Past molekulyar modda–kimyoviy elementlardan tashkil topgan
Spetsifikligi	Yuqori	Past
Harorat	Past -35° - 45°C	Yuqori– 100°C va yuqori
pH optimumi	Muhit pHning fiziologik diapazoni	Kuchli kislota, ishqoriy muhit
Tezlikning oshishi	10^8 – 10^{10} marta	10^2 – 10^5 marta
Bosim	Atmosfera bosimi–normal	Yuqori–bir necha atmosfera
Reaksiya borishida katalizator qurilishining oʻzgarishi	Oʻzgaradi. Reaksiya toʻxtashi bilan avvalgi qurilishiga qaytariladi	Oʻzgarmaydi

Jadvalda ko'rsatilgan farqlardan tashqari, fermentlar faolligi organizmning fiziologik holatiga, jinsiga va yoshiga qarab o'zgaradi

Fermentlarning faol markazini tuzilishi



Fermentning faol markazida kontakt yoki biriktiruvchi qism va katalitik, substratni birikishidan keyingi o'zgarishi kechadigan qismlar borligi aniqlangan.

Odatda fermentning faol markazi 12-16 ta gacha aminokislotalar qoldig'idan tashkil topgan bo'ladi. Faol markazni shakillanishida qatnashadigan aminokislotalar odatda polipeptid zanjirning turli joylarida joylashgan bo'ladi. Ba'zi zanjirning qarama – qarshi uchlarida bo'lishi mumkin. Lekin polipeptid zanjir fazoviy joylashganda ular bir biri bilan yaqinlashadi va faol markazning tuzilishida qatnashadi. Qolgan aminokislotalar faol markazning fazoviy konfiguratsiyasini va turli funktsional gruppalarining reaksion

qobiliyatini tanlab beradi. Faol markazga yaqin turgan aminokislotalarning qoldiqlari esa faol markazning funktsional gruppalari faolligiga ta'sir etadi. Shuning uchun ular **yordamchi guruhlar** nomini olgan. Faol markazdan uzoqroq joylashgan aminokislotalar ferment molekulasining konformatsiyasiga ta'sir etadi va **ta'minlovchi guruhlar** deyiladi. Umuman ferment tarkibiga kiruvchi aminokislotalardan 50% - 70% ya'ni $\frac{1}{2}$ – $\frac{2}{3}$ faol markaz faoliyatida qatnashadi.

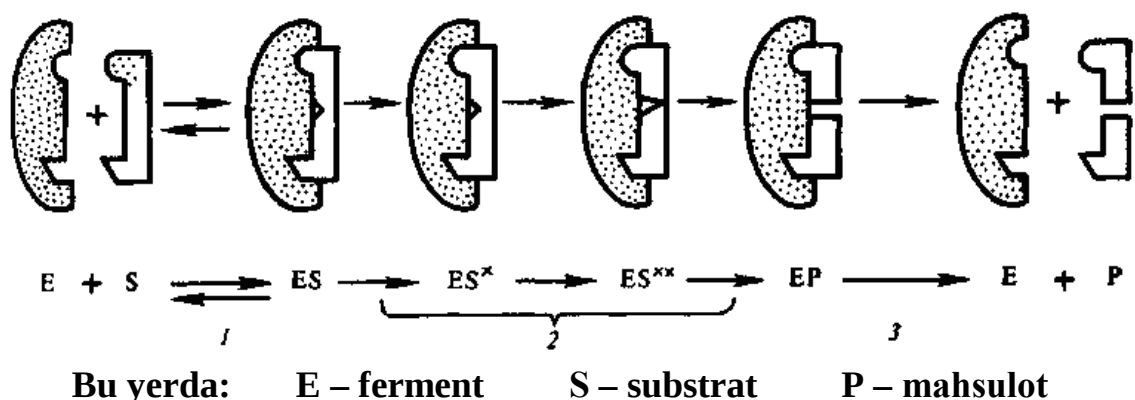
Fermentlarni ta'sir qilish mexanizmi

Fermentlarni ta'sir qilish mexanizmi to'liq o'rganib chiqilgan emas, chunki organizmda fermentativ reaksiya juda murakkab asosan oraliq moddalar asosida tushuntiriladi.

Fermentologiyada spetsifik termin va belgilar qabul qilingan. **Ferment** lotin harfi **E** bilan belgilanadi, ferment ta'sir etuvchi modda **substrat** deb ataladi va **S** harfi bilan belgilanadi. Substratdan hosil bo'luvchi reaksiya **mahsulotlari** umumiy ko'rinishda lotin alfavitining **P** harfi bilan belgilanadi.

Fermentlarni ta'sir qilish mexanizmining amalga oshishi haqida juda ko'p ilmiy ishlar qilinib kelinmoqda. Tekshirishlar shuni ko'rsatadiki substrat (S) avval fermentlarni (E) faol markazi bilan birikadi. Fermentativ katalizda ferment substrat – [ES] kompleksi hosil bo'ladi. Mexanizmda hosil bo'lgan kompleks ma'lum darajada o'zgarib $E \rightarrow P$ ga parchalanadi. Bu sohada Mixaels va Mentenlar ish olib borib, 1913-yilda fermentlar ta'sir etish mexanizmini yaratishdi. Ular fermentativ kataliz borishini quyidagi oddiy tenglama asosida tushuntirganlar.

Fermentlarni Mixaels va Menten bo'yicha ta'sir qilish mexanizmining sxematik ta'siri quyidagicha:



LABORATORIYA MASHG'ULOTI №28

MAVZU: FERMENT AKTIVLIGIGA MUHITDAGI VODOROD IONLARI KONSENTRATSIYASINING 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 qonsentratsiyasi 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 molekulosining 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.

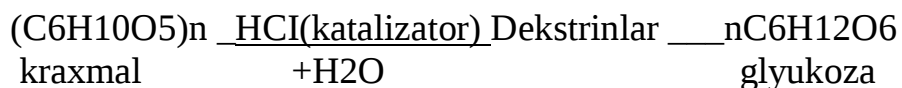
LABORATORIYA MASHG'ULOTI №29

MAVZU: ANORGANIK KATALIZATORLAR BILAN FERMENTLAR TA'SIRINI TAQQOSLASH.

Maqsad: Anorganik katalizatorlar bilan ishlashni talabalarga o'rgatish va tajribalar asosida bilim va ko'nikmalar hosil qilish.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, nay o'tkazilgan probka, gaz gorelkasi yoki spirt lampa, suv termometri, suv hammomi, kraxmalning 1 % li eritmasi, HCl ing 10%li eritmasi, Lyugol eritmasi, natriy gidroksidning 10%li eritmasi, mis (II)-sulfatning 1%li eritmasi, kraxmalning 0,3M natriy xloriddagi 1%li eritmasi, distillangan suv, 10 marta suyultirilgan so'lak.

Fermentlar anorganik katalizatorlardan bir qancha xossalari bilan farqlanadi. Fermentlar yuqori darajada o'ziga xos biologik katalizatorlardir. Ular o'rtacha temperaturada, mo'tadil sharoitda (kuchsiz kislotali, neytral yoki kuchsiz ishqoriy muhit, ion kuchi past bo'lgan eritmalarda, normal atmosfera bosimi sharoitida) yuqori aktivlikni namoyon qila oladi. Anorganik va sun'iy katalizatorlar esa yuqori temperatura (100-1000 gradus) kuchli kislotali yoki kuchli ishqoriy muhit, yuqori bosim sharoitida optimal aktivlikka ega bo'ladi. Kraxmal xlorid yoki sulfat kislota ta'sirida uzoq vaqt qaynatilganda gidrolizlanadi, avval dekstrinlarga, so'ngra glyukozaga aylanadi:



1-tajriba: Kraxmalni xlorid kislota ishtirokida gidrolizlash.

Ishning bajarilishi:

Probirkaga 2ml 1%li kraxmal olib 1ml 10%li HCl eritmasidan qo'shiladi. Probirka og'zi gaz o'tkazuvchi nay o'rnatilgan probka bilan berkitiladi va 10 minut davomida ohista qaynatiladi, so'ngra ikkita probirkaga 10 tomchidan gidrolizatdan quyib, birinchisiga 1-2 tomchi Lyugol eritmasi tomiziladi. Ikkinchisiga 10 ml 10% li o'yuvchi natriy, 5 tomchi 1 li $CuSO_4$ eritmasi qo'shib qizdiriladi. Trommer reaksiyasi natijasida probirkadagi suyuqlik ko'k rangga kirsa, kraxmal gidrolizlanmagani, har ikkala probirkadagi suyuqlik sariq yoki qizil rangga kirishi kraxmal gidrolizlanganidan darak beradi.

2-tajriba: Kraxmalning fermentlar va kislotalar ta'sirida gidrolizlanishi.

3ta probirkaga kraxmalning 0,3% li NaCl eritmasidagi 1%li eritmasidan 10 tomchidan quyib, 1 chisiga 10 marta suyultirilgan so'lakdan 5 tomchi, 2 chisiga 10%li HCl eritmasidan 5 tomchi, 3chi probirkaga 5 tomchi suv (control) quyib uchala probirka 38

gradusli suv hammomida 10 minut davomida isitiladi. Ko`rsatilgan vaqt o`tgandan keyin probirkalardagi suyuqliklarni 2ga bo`lib, bir qismi bilan kraxmalga yod ta`sir ettirish, ikkinchi qismi bilan Trommer reaksiyalari qilib ko`riladi.

LABORATORIYA MASHG`ULOTI №30

MAVZU: FERMENT AKTIVLIGIGA 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^{++} ionlari bo`lishi shart. Paralizatorlar yoki inhibitorlarning 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 ₂ HPO ₄ miqdori (ml hisobida)	0,1 m limon kislota 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 vaqi	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			

GORMONLAR

Gormonlar–moddalar almashinuvi va neyroendokrin boshqarilishida katta ahamiyatga ega. Organizm ichki muhitining doimiyligini ushlab turuvchi va moddalar almashinuvini regulyatsiya qiluvchi sistemalardan biri gormonal sistemalaridir.

Gormon o'z sekretini bevosita qon oqimiga chiqaradigan barcha **endokrin bezlar** – ichki sekretiya bezlari ishini birlashtiradi. Bunday bezlarga qalqonsimon bez, qalqonsimon bez oldi bezi, jinsiy bezlar, buyrak usti bezi, oshqozon osti bezi, gipofiz, gipotalamus va boshqalar kiradi. Endokrin bezlar chiqaradigan sekretlar **gormonlar** (yunoncha – harmaino – qo'zg'ataman, harakatga keltiraman, stimullayman ma'nosini beradi) deyiladi. Gormonlar hayot uchun zarur, organik biologik faol moddalar bo'lib, oz miqdorda ishlab chiqariladi-yu, lekin organizmga kuchli ta'sir ko'rsatadi.

Gormonlarning o'ziga xos biologik belgilari.

1. Ta'sir etishning masofaliligi – ya'ni effektor hujayralaridagi almashinuv va funktsiyalarini ma'lum bir masofada boshqaradi;
2. Biologik ta'sirning qat'iy spetsifikligi (o'ziga xosligi) – ya'ni har bir gormon o'ziga xos ta'sirga ega bo'lib, bir gormoni boshqa gormon bilan to'liq almashtirish mumkin emasligi.
3. Yuqori biologik faollikka egaligi - kam miqdorda o'z ta'sirini namoyon qila oladi. Lekin organizm hayotini saqlab qolish uchun juda kam miqdorda hatto milligrammda yetarli bo'ladi.

Endokrin bezlardan tashqari ba'zi to'qima hujayralari ham, endokrin funktsiyaga ega boladi. Ular gormonlarga o'xshash xossaga ega bo'lgan biologik faol moddalarni ishlab chiqaradi. Ammo ularning ta'siri mahalliy xarakterga ega, ya'ni ishlab chiqarilgan joylarda ta'sir etadilar. Bu moddalar gormonoidlar yoki mahalliy gormonlar deb ataladi. Gormonoidlar – oshqozon – ichak trakti hujayralaridan ajralib, hazm qilish jarayonini boshqaradi. Organizmda endokrin bez 2 ga bo'linadi. 1. Markaziy bez gormonlari. 2. Pereferik bez gormonlari.

Markaziy bez gormonlari -Ular MNS bilan anotomik bog'langan		Pereferik bez gormonlari .- Ular modda almashinuvi, organ, to'qimalarning pereferik funktsiyalariga ta'sir qiladi	
Endokrin bezlar	Ularning gormonlari	Endokrin bezlar	Ularning gormonlari
Gipotalamus	1.Neyropeptid-Liberin, Statin–gipofizning trop gormonlarini sekretiylanishini boshqaradi 2.Vazopressin va oksitotsin	Qalqonsimon bez Jinsiy bez	1.Iodtironin 2.Kaltsiytonin 1.Androgen 2.Esterogen
Gipofiz	1.Gonodotrop 2.Samatotrop 3.Kartikotrop Pereferik endokrin bezlardan gormonlarni sekretiyalaydi	Oshqozon osti bezi	1.Insulin 2. Glyukogon 3.Samatostatin 4.Pankreatik polipeptid
Epifiz	1.Melotonin 2. Adrenoglomerulotropin gipofizda gonodotropinlarni hosil bo'lishini boshqaradilar	Buyrak usti bezi	1.Kartikosteroidlar- kartikosteron, kartizol, aldosteron, estrogen, androgen. 2. Adrenalin, noradrenalin

Kimyoyiy tuzilishiga ko'ra gormonlar quyidagilarga bo'linadilar:

- 1) Oqsil-peptidli – bularga gipotalamus, gipofiz, oshqozon osti bezi, qalqonsimon old bez gormonlari kiradi.
- 2) Aminokislota unumlari – a) fenilalanin ba tirozin aminokislotalarining unumlari → adrenalin, noradrenalin; b) Tirozin aminokislotasining unumi → Iodtironinlar; v) Triptofan aminokislotasining unumi → melotonin kiradi.
- 3) Steroidlar - buyrak usti bezining po'st qismi, jinsiy bezlar gormonlari → androgenlar, estrogenlar, gestogenlar, kartikosteroidlar kiradi.

Qalqonsimon bez funktsiyasini buzilishi.

Giperfunktsiya – yodtironinlarni xaddan tashqari ko'payib ketishi kuzatiladi – **tireotoksikoz** yoki **Bazedov** kasalligi. Bunda kasallarni qonida T_3 miqdori oshgan bo'ladi.

Gipofunktsiya – chaqaloqlardagi yoki yosh bolalarni gipofunktsiyasi **kretinizm** yoki **bolalar miksidemasi** deyiladi. Bunga ko'zga yaqqol tashlanib turadigan jismoniy va aqliy zaiflik, bo'yi past bo'lishi, tana noproportsional tuzilishi xos. Moddalar almashinuvi juda pasr, tana harorati ham me'yordan past.

Qalqonsimon old bez funktsiyasini buzilishi

Gipofunktsiya, gipoparatireoz – Qonda va hujayralar aro suyuqlikda Ca^{2+} miqdori pasayib nerv muskul sistemasini o'ta qo'zg'aluvchanligiga olib keladi (sudorga). Ca^{2+} va vitamin D bilan oldini olsa bo'ladi.

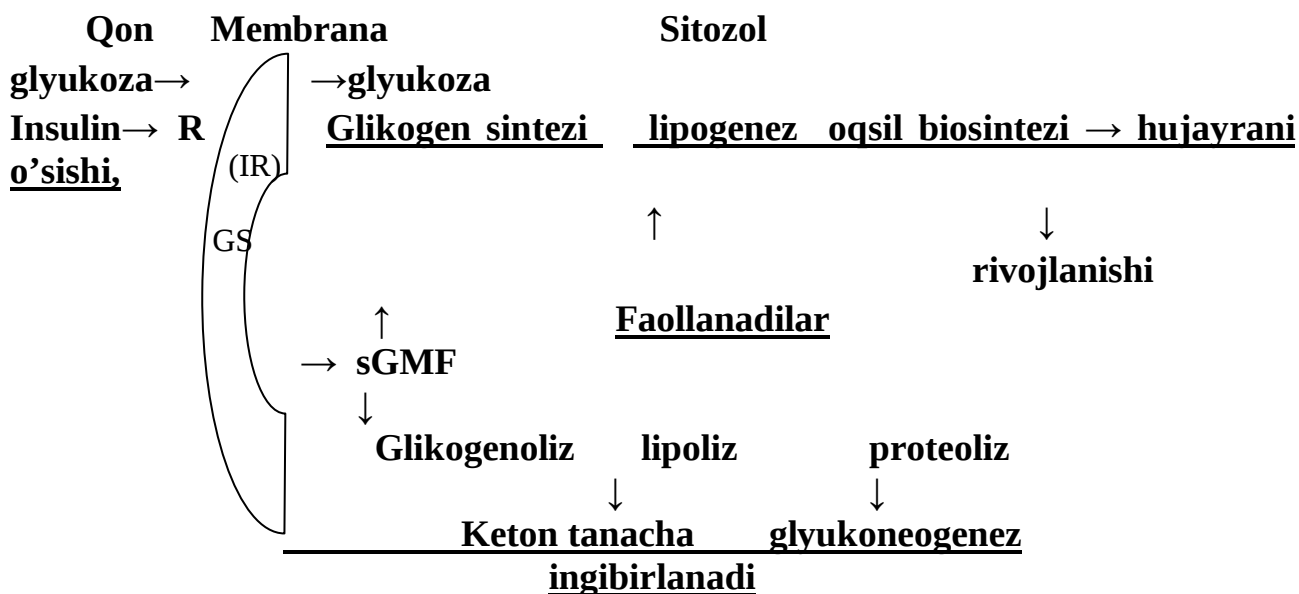
Giperfunktsiya giperparatireoz – paratirinni sekretsiyasi oshib ketganda yoki klinikada paratirinli preparatlarni noto'g'ri ishlatganda kelib chiqadi. Buni belgilari: suyaklardagi Ca^{2+} va F_n miqdori keskin oshadi. Qondagi ortiqcha Ca^{2+} endi suyaklarga bormay ichki organlarda to'plana boshlaydi va ularni kaltsifikatsiyasini keltirib chiqaradi. Ca^{2+} va F_n yo'qotgan suyaklar esa mo'rt bo'lib qoladi va mexanik ta'sirga chidamsiz bo'lganligi uchun tezda sinib ketishi mumkin.

Insulinni ta'sir etish mexanizmi

Insulin qonga o'tkanda erkin va plazma oqsili bilan bog'langan shaklida bo'ladi. Erkin holdagi Insulin shu gormonga sezgir hamma hujayralarga, bog'langan shakli esa faqat yog' to'qimasiga ta'sir etadi. Insulin membranadagi retseptor bilan bog'lanib insulin-retseptor kompleksini hosil qiladi. Bu kompleksni hosil bo'lishi membranada joylashgan ferment va Ca^{2+} , Na^+ , K^+ ionlarni, glyukozani, aminokislotalarni, transport oqsillarini konfiguratsiyasini o'zgartirib nafaol holdan faol holga o'tkazadi. Insulinni eng muhim effekti – gipoglikemik, qondagi glyukoza miqdorini glyukozani hujayra ichiga transporti hisobiga pasaytirish – insulinni membranaviy effekti. Hujayra ichidagi metabolizmga ta'sir etayotganda insulinni membranaviy – hujayra ichidagi mexanizmi namoyon bo'ladi. Membranada joylashgan retseptor insulin bilan kompleks tashkil qilib, guanilatsiklaza faolligini oshiradi. ($GTF \rightarrow sGMF + PP\ I$) hosil bo'lgan sGMF proteinkinazalarni modifikatsiyaga uchratib metabolizmga ta'sir etadi.

Shuningdek insulin hujayra ichki vositalarni hosil bo'lishiga ham ta'sir etadi. sGMF orqali guanilatsiklazini faolligini oshirib, sAMF konsenratsiyasini

kamaytiradi. Insulinni bu ta'siri natijasida qonda glyukoza, aminokislota, yog' kislotalar, glitserin va K^+ konsentratsiyasi pasayadi, hamda siydik bilan aminokislot va K^+ chiqib ketishini ham kamaytiradi. Shuning uchun insulinni metabolizmga ta'siri anabolik ta'sir deb ataladi, (+) musbat azot balansi bilan xarakterli.



LABORATORIYA MASHG'ULOTI №31

MAVZU: 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 gorelkasi 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.

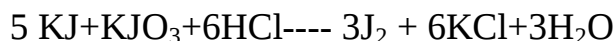
Qalqonsimon bez to'qimasidan tarkibida 0,2-0,9 % yod bo'laigan, tireoglobulin deb ataluvchi oqsil ajratib olingan. Bu glikoprotein xarakterli oqsilning molekulyar massasi taxminan 660000 ga teng. U qalqonsimon bezning asosiy mahsuloti hisoblanadi. Lekin qonda bu oqsil topilmagan. Ma'lum bo'lishicha, 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 kondensatlanishi 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 qonsentrsiyada 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.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №32

MAVZU: OSHQOZON OSTI BEZINING GORMONI- INSULINGA XOS REAKSIYALAR.

Maqsad: Insulinga xos reaksiyalar haqida ma'lumotga ega bo'lish.

Kerakli asbob va reaktivlar: probirkalar, pipetkalar, kontsentrlangan nitrat kislota, insulin eritmasi, (ampulalarda), o'yuvchi natriyning 10%li eritmasi, Cu(II) – sulfatning 1 % li eritmasi, fol reaktivi.

Oshqozon osti bezi-Langergans orolchalarining β –hujayralari ishlab chiqqan, gormonal aktivlikka ega, oqsil tabiatli modda insulin deyiladi (lotincha-insula – orol)deyiladi. Insulin o'z molekulosida 2 ta polipeptid zanjirini tashkil qiluvchi 51 ta aminokislota qoldig'i(A –zanjir 21 ta aminokislota qoldig'idan , B-zanjir 30 ta aminokislota qoldig'idan) tarkib topgan. Insulinning molekulyar massasi 5733 ga teng. Insulin uglevod almashinuviga har tomonlama ta'sir ko'rsatadi. Uning asosiy roli uglevodlar almashinuvida namoyon bo'ladi: insulin hujayralar membranasining gluykozaga nisbatan o'tkazuvchanligini oshiradi.

Insulin oqsillarga hos barcha sifat reaksiyalarini beradi.

1-tajriba:Geller reaksiyasi.

Ishning bajarilishi:

Probirkaga 0,5 -1 ml kontsentrlangan nitrat kislota quyib, uning ustiga ehtiyotkorlik bilan probirka devoiri bo`ylab teng hajmda insulin eritmasi qo`shiladi. Probirkadagi qavatlariga bo`lingan suyuqlik aralashib ketmasligi kerak. Bu vaqtda har ikkala qavat chegarasida yupqa halqa ko`rinishidagi oq amorf cho`kma hosil bo`ladi.

2- tajriba: Biuret reaksiyasi.

Probirkaga 0,5-1,0 ml insulin eritmasidan quyib ,uning ustiga teng hajmda 10%li o`yuvchi natriy va 1-2 tomchi 1%li mis sulfat eritmasidan qo`shib chayqatiladi. Probirkadagi suyuqlik binafsha rangga kiradi.

3- tajriba: Fol reaksiyasi.

Insulin molekulosisidagi 51 ta aminokislota qoldig`dan 6 tasi tarkibida oltingugurt bo`lgan aminokislota-tsesteinga to`g`ri keladi. Probirkaga 0,5 ml (10 tomchi) insulin eritmasidan quyib ,ustiga teng hajmda Fol reaktividan qo`shiladi va qaynatiladi, 1-2 minutdan so`ng probirkada qo`ng`ir yoki qora rangli qo`rg`oshin sulfide cho`kmasi hosil bo`ladi.

VITAMINLAR

Vitaminlar bu past molekulyar moddalar bo'lib, ular odam organizmida deyarli sintezlanmaydi, ammo ular eng kam miqdorda (0,001 yoki mikrogrammda) fermentlar faoliyatida ishtirok etib, organizmga kuchli biologik ta'sir ko'rsatadi. Doimo oziq - ovqat tarkibida yetarli miqdorda kiritilib turilishi kerak. Vitaminlar to'liq tarjima qilinsa – "hayot amin" lari degan ma'noni beradi. 1880- yilda Lunin aniqlagan. Vitaminlarning asosiy manbalari oziq - ovqat mahsulotlari va ayrim mikroorganizmlardir, ular vitaminlarni sintez qiladi, shuning uchun odamning vitaminlarga bo'lgan ehtiyoji oziq - ovqat hisobiga, keyingi vaqtlarda esa suniy yo'l bilan sintezlanadigan vitamin preparatlari hisobiga ta'minlanadi.

Vitaminlar klassifikatsiyasi va ularning unumlari

Harflardagi ko'ri ni-shi	Kimyoviy nomi	Kimyoviy formasi			Fiziologik nomlanishi
		biologik nafaol	biologik faol		
			unumlari	kofermentlar	
	Suvda eruvchan vitaminlar				
B1	Tiamin	Tiamin	Tiamin difosfat, tiamin trifosfat		Antinevrit
B2	Riboflavin	Riboflavin		FMH, FMH.H ₂ ; FAD,FAD.H ₂	Bo'y o'stiruvchi vitamin
B3	Pantoten kislotasi	Pantotenat		Pantetein-4-fosfat, KoA, defosfo-KoA	
B5 (PP)	Niasin	Nikotinamid, nikotin kislotasi		NAD ⁺ , NAD.H; NADFH ₂	Antepelargik

B6	Pirodoksin	Pirodoksin,pirodoksamini,piridoksal		PALF, PAMF	Anti dermatit
B9 (Bs)	Folasin (Fol kislotasi)	Folasin		Tetragidrofol kislotasi	Bo'y o'stiruvchi faktor
B12	Sianokobalamin	Sianokobalamin, oksokobalamin, nitritkobalamin		Metilkobalamindeoksiadenozilkobalamin	Anti-anemik
H	Biotin	Biotin		Karboksibiotin	Antis ebo - riyni
C	Askorbin kislotasi	Degidroaskorbin kislotasi	Askorbin kislotasi		Antis ingotniy

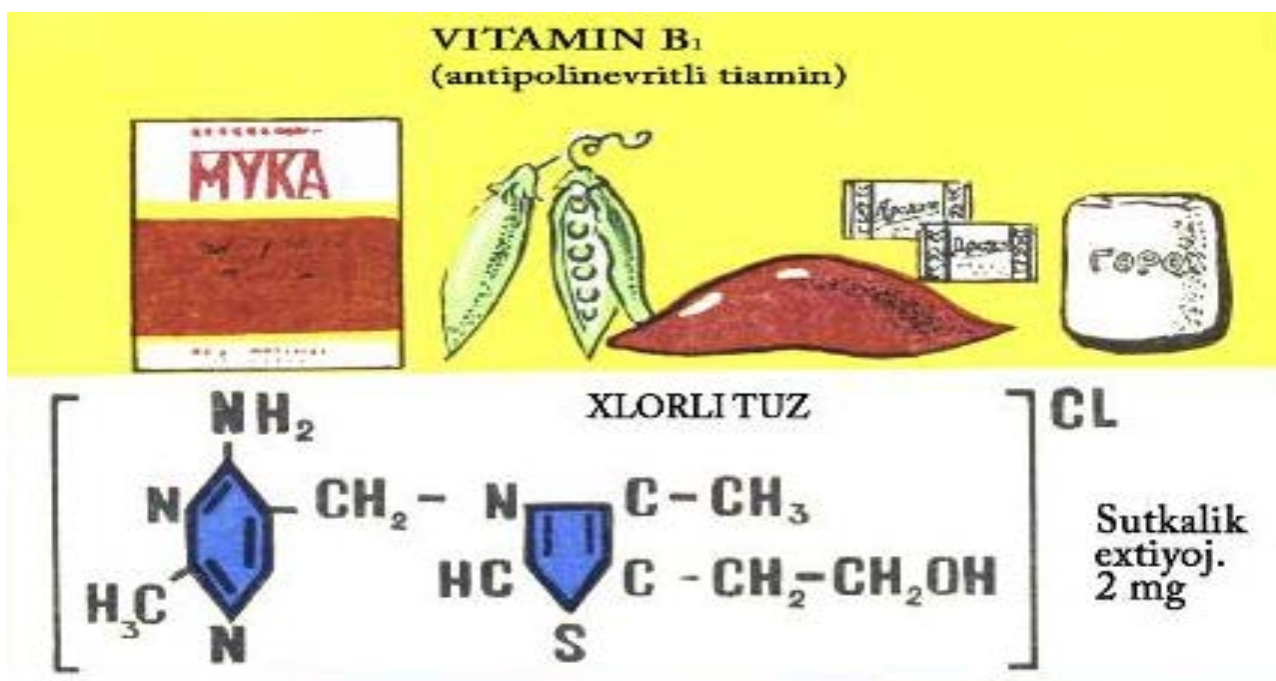
Vitaminsimonlar klassifikatsiyasi va ularning unumlari

Harf - Lardagi ko`rinishi	Kimyoviy nomi	Kimyoviy formasi			Fiziologik nomlanishi
		biologik nafaol	biologik faol		
			unumlari	kofermentlar	
	Vitaminsimon suvda eruvchan moddalar				
B4	Xolin	Xolin	Fosfoxolin		Kapillyarlarni mustahkaml ovchi
P	Bioflavanoidlar		Flavonlar: rutin, kversitin; flavanonlar: gesperidin, katexinlar		

			kompleksi		
B8	Inozit		Ionozit, mezoionozit, mioinozit, difosfatoinozit, idsefalin		
N	Lipol kislota	Lipol kislota		Lipamid, oksidlan gan va qaytarilg an formasi	
BT	Karnitin		Karnitin, asil- karnitin		
B13	Orotat kislota	Orotat kislota	Orotidin-5-fosfat		Bo'y o'stiruvchi faktor
B15	Pangamat kislota		Pangomat kislota		Antioksik
U	S - Metelmetionin		S – Metilmetionin; metilmetioninsulfon iy		Yazvaga qarshi vitamin

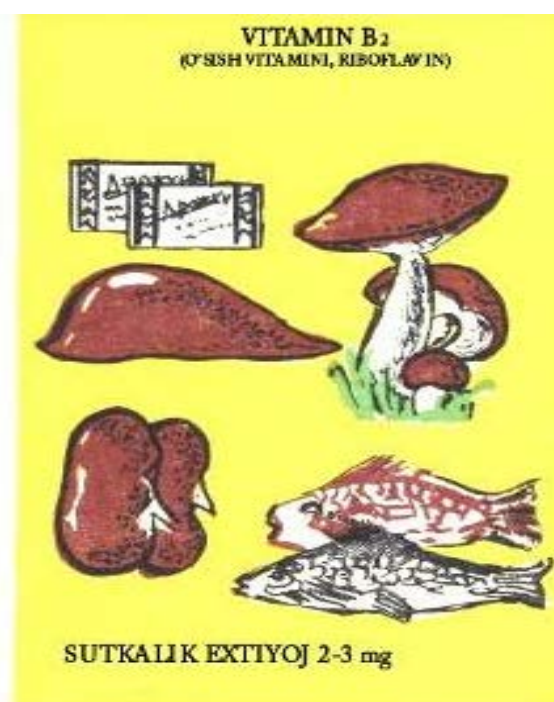
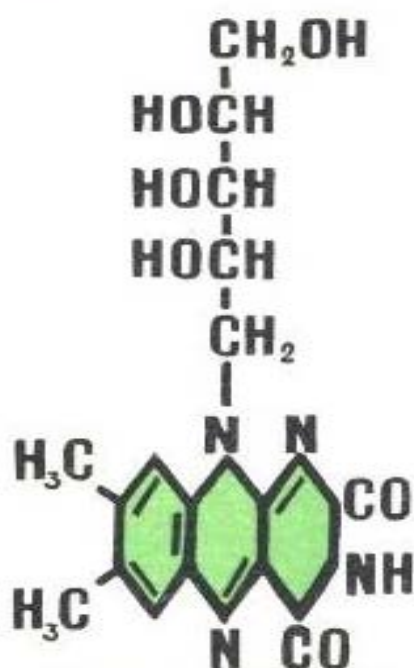
Suvda eruvchi vitaminlar.

Metabolizmi: - barcha suvda eriydigan vitaminlar oddiy diffuziya yo'li bilan ingichka ichakdan so'riladi. To'qimalarda koferment shaklida o'tib, fermentlar tarkibiga kiradi. B vitaminlar kompleksi. Suvda eriydigan vitaminlar qatoriga B vitaminlar kompleksi, C, P vitaminlar kiradi. C vitamin yoki askorbin kislota xo'l meva va sabzavotlarda ayniqsa ko'p miqdorda uchraydi; u singa kasalligini davolaydigan yagona omildir. C vitamining qon tomirlari devorining o'tkazuvchanligi va mo'rtligini kamaytiradigan P vitamin — rutin yoki flavonlar deb ataladigan omil yaqin turadi. B guruh vitaminlar kompleksi turli mahsulotlarda, ayniqsa jigar ekstraktida, achitqilarda va sholi kepagida birgalikda uchraydigan bir qancha alohida omilni o'z doirasiga oladi. Bu kompleksga avvalo, birinchi bo'lib vitamin nomini olgan, beri-beri kasalligini davolaydigan **a n e v r i n** kiradi. U 1911 yilda Kazimir Funk tomonidan guruch kepagidan ajratib olinganida yagona modda deb hisoblangan edi, lekin tez vaqt orasida sholi kepagida, jigarda, achitqilarda oziqa yetishmasligidan kelib chiqadigan boshqa kasalliklarni, xususan, pellagrani davolaydigan omil ham kashf etildi. Funk bu yillarda ma'lum bo'lgan vitaminlar yetishmasligi bilan bog'liq kasalliklarni avitaminozlar deb atadi.



Tiamin, B1 vitamin – Antipolinevrit. Bu vitaminning tiamin deb atalishiga sabab uning tarkibida oltingugurt (yunoncha — tio) va aminoguruh borligidadir. Organizmda tiamin yetishmasligi beri-beri kasalligi (polinevrit, periferik nervlarning yalliglanishi) ga sabab bo'ladi. Bu kasallik falajlikka, yurak va qon tomirlari hamda oshqozon-ichak yo'li ishining buzilishiga olib keladi, suv almashinuvi ham o'zgarib, shish paydo bo'ladi.

Manbai: - boshqoli o'simliklar kepagi, yirik tortilgan undan yopilgan non, achitqilar. Hayvon mahsulotlaridan jigar, buyrak, yurak vitamanga boy.



B₂ vitamin, riboflavin – bo'y o'stiruvchi vitamin. Vitamin ba'zi mikroorganizmlarning, yosh kalamushlar va boshqa hayvonlarning o'sishi uchun zarur. Shu sababli ham B₂ avitaminozining asosiy belgisi o'sishning to'xtashidir. Odam organizmida bu vitamin ichak mikroflorasi tomonidan sintezlanib turadi. Shuning uchun odamlarda B₂ avitaminozini hosil qilib bo'lmaydi.

Manbai: - o'simlik mahsulotlari, achitqilar, dukkaklilar vitaminlarga boy manbadir. Sut, pishloq, tuxum, go'sht, jigar, buyrak, miyada u ko'p bo'ladi. Katta odamlarning kundalik extiyoji 2 – 3 mg ga teng.

B₃ Pantoten kislota (Pantotenat). Achitqi va sut achituvchi mikroblarning o'sish sharoitini o'rganish davomida 1933 yili sholi kepagidan ularning o'sish omili topilgan edi. Bu omil hayvon va o'simliklarning barcha to'qimalarida tarqalgani uchun ajratib olingan moddaga pantotenat kislota yoki pantoten (yunoncha — hamma erda degan ma'noni anglatadi) nomi berilgan edi. Bu omil yetishmaganda hayvonlarda har xil patologik belgilar: jo'jalarning o'sishdan to'xtashi, dermatit, kalamush va boshqa hayvonlar juni hamda patining oqarishi, kalamushlarda buyrak usti bezi nekrozi va qon quyilishi, ishtaxaning yo'qolishi, nerv falajlari, ichki a'zolar kasalliklarining belgilari paydo bo'ladi. Shuning uchun bu modda turli nomlar: antidermatik faktor, jigar filtrati faktori, achitqi faktori va jo'jalardagi pellagra qarshi faktor kabi nomlar bilan atalgan.

Manbai: - Droj, jigar, tuxum, baliq, sut, go'sht va dukkali o'simliklar. O'simliklarning yashil yaproqlarida ham pantotenat ko'p bo'ladi. Katta odamlarning kundalik extiyoji – 10 mg.

B₅ (PP) vitamin, nikotin kislota, niatsin –Antipellargik. Nikotinat kislota 1911 yilda birinchi marta Funk tomonidan vitamin tariqasida ajratib olingan va kaptarlardagi beri-beri kasalligini davolashda uning samara bermasligi ko'rsatilgan edi, bu birikma odamlarda uchraydigan "Pellagra" va itlardagi «Qoratil» kasalliklarini davolashini aniqlagach, nikotinat kislota vitaminlar qatoriga qo'shildi. U pellagra qarshi vitamin deb ham ataladi. PP vitaminning yetishmasligi odamlarda og'ir kasallik — pellagrani paydo qiladi. Bu kasallikning xarakterli belgilari dermatit, diareya (ich ketish) va og'ir hollarda dementsiya (aql pasayishi, nerv va psixik buzilishlar) dir. Uchta "D" kasalligi deb ham yuritiladi.

Pellagra so'zi italyancha "pella-aga"-g'adir - budir teri ma'nosini anglatadi va kasallikning eng muhim belgisini — dermatitni eslatadi. Uning kelib chiqishi yomon ovqatlanish, asosan, makkajo'xori unidan tayyorlangan ovqatlarni iste'mol qilish bilan bog'liq edi. Lekin pellagra kasalligining sababi faqat nikotinat kislotaning yetishmasligidan emas. Bu kasallikni davolashda nikotinat kislotadan tashqari, tarkibida aminokislota-triptofanni ko'p tutadigan oziq moddalarning muhim ahamiyatga ega ekanligi aniqlandi. Agar PP-avitaminoziga duchor bo'lgan kalamushlar ozig'iga triptofan qo'shib berilsa, avitaminozning belgilari yengillashadi, lekin kasallik butunlay tuzalib ketmaydi. Oziqaning kaloriyasi ortishi bilan vitamanga bo'lgan extiyoj ham ko'payib boradi.

VITAMIN PP (antipellagrik, nikotinamid)

NC(=O)c1cccnc1
 Nikotin
Kislota

NC(=O)c1cccnc1
 Nikotin
kislota
amidi

Sutkalik extiyoj 15-25 mg



Manbai: - go'sht mahsulotlari, jigar, sut, tuxum, kepaklarda ko'p miqdorda bo'ladi. Katta odamlarning kundalik extiyoji – 15-25 mg.

Yetishmovchiligi - Nikotinat kislota avitaminozi – pellagra ko'pincha "Uchta D" kasalligi deb ataladi, bunda uning 3 ta asosiy simptomlari: dermatit, diariyani (kuchli ich ketishi), demensiyaning (turmushda ortirilgan yaqqol aqliy zaiflik) tushuniladi.

VITAMIN B₆ (Dermatitga qarshi, piridoksin)

OCc1cc(O)c(C)c(O)c1
 Sutkalik
extiyoj
2 mg.



OCc1cc(O)c(C)c(O)c1
FOSFOPIRIDOKSAL

OCc1cc(O)c(C)c(O)c1
FOSFOPIRIDOKSAMIN

VA VITAMINNI TASHIQLASHNI KO'ZGATADIGAN

B₆ vitamin, piridoksin –Antidermatit. B6 vitaminining kashf etilishiga yosh kalamushlar tarkibida tiamin va riboflavin bo'lgan sun'iy oziqa bilan boqilganda ham ularda teri kasalligini — dermatit kelib chiqishiga sabab bo'ldi. Bu dermatit pellagra uchraydigan teri yallig'lanishiga o'xshasa ham, nikotinat kislota bilan

davolanmaydi, ammo ovqatga jigar, achitqi, sholi kepagi qo'shilsa, ancha tez tuzalib ketadi.

Manbai: - bug'doy kepagi, pivo achitqisi, arpa, makkajo'xori, jigar, go'sht va baliq mahsulotlari. Katta odamlarning kundalik extiyoji – 2-3 mg.**Yetishmovchiligi:**– **Bolalarda** MNS ning qo'zg'alishi bilan birga gamma amino moy-kislotalarning yetishmovchiligidan sudorga kelib chiqadi.

Katta odamlarda – piridoksin yetishmovchiligi uzoq vaqt tuberkulezga qarshi preparatlar qo'llaganda kelib chiqadi. Natijada nerv sistemasi qo'zgaluvchanligi ortadi.

B9 (Bc) Folat kislota va uning hosilalari antianemik –bo'y o'stiruvchi faktor. Sutni achituvchi ba'zi bakteriyalarning o'sishi uchun jigar ekstraktida mavjud bo'lgan qo'shimcha faktorning zarurligi aniqlangan edi. Sutni achituvchi streptokokkning turli mahsulotlar qo'shilgan muhitda o'sishini sinash bilan, bu faktor buyrakda, zamburug'larda, achitqida, ayniqsa yashil yaproqlar va ko'katlarda ko'p ekanligi tasdiqlandi. 1941 yilda Vilyams bu moddani jigardan va shpinat yaproqlaridan ajratib olib, unga folat kislota («folium» yaproq demakdir) nomini berdi.

Manbai: - Achitqilar, gulkaram, loviya, ismaloq. Hayvon mahsulotlaridan – jigar, go'sht, tuxum sarig'i. Katta odamlarning kundalik extiyoji – 400 mg. Xomilador ayollarda 800 mg.

Yetishmovchiligi:– Folat kislota vitaminozining eng xarakterli belgisi qon hosil bo'lishining buzilishi va uning bilan bog'liq bo'lgan kamqonlilik belgilaridir. Folat kislotaning organizmga ovqat bilan kirishini kamayishi yoki so'rilishining buzilishi natijasida megaloblastik anemiya kelib chiqadi.

B₁₂ vitamin. Kobalamin–antianemik. Ko'p vaqtlardan beri shifokorlar jigardan kamqonlikni davolash uchun muvaffaqiyatli foydalanib kelganlar. Lekin uning davolash ta'siri nimaga bog'liq ekanligi qorong'u edi. 1929 yilda amerikalik gematolog V. B. Kasl kamqonlikni davolashda ikkita faktor ishtirok etadi, ularning oshqozon shirasidagi «ichki faktor» va ikkinchisini ovqat tarkibidagi «tashqi faktor» degan fikrni bayon qildi.



Mana shu ikki faktorlarining qo'shilishidan hosil bo'lgan maxsus kompleks kamqonlikning davosidir. U ilikda eritrotsitlarning yetilishi uchun zarurdir. Bu faktorlardan bittasi yetishmasa ham xavfli kamqonlik yuz beradi. 1948 yilda jigar ekstraktidan kamqonlikni davolaydigan birikma kristall holda ajratib olinib, unga B₁₂ vitamin yoki antianemik vitamin nomi berildi. B₁₂ vitaminini ajratib olish va uning kamqonlikdagi ajoyib ta'siri o'rganilishi asosida «ichki faktor» ning tabiati ham aniqlandi.

Manbai: - Mikroorganizmlar va hayvon mahsulotlarigina sianokobalamin manbai hisoblanadi. Jigar, sut, tuxum, buyrak ayniqsa vitamanga boydir. Yosh organizm uchun 0.001 mg. Katta odamlarning kundalik extiyoji –2-5 mg.
Yetishmovchiligi: - avitaminoz havfli kamqonlik (pernitsioz anemiya) yoki AdissonBirmer anemiyasi bilan namoyon bo'ladi.

C vitamini, askorbin kislota–Antitsingali.

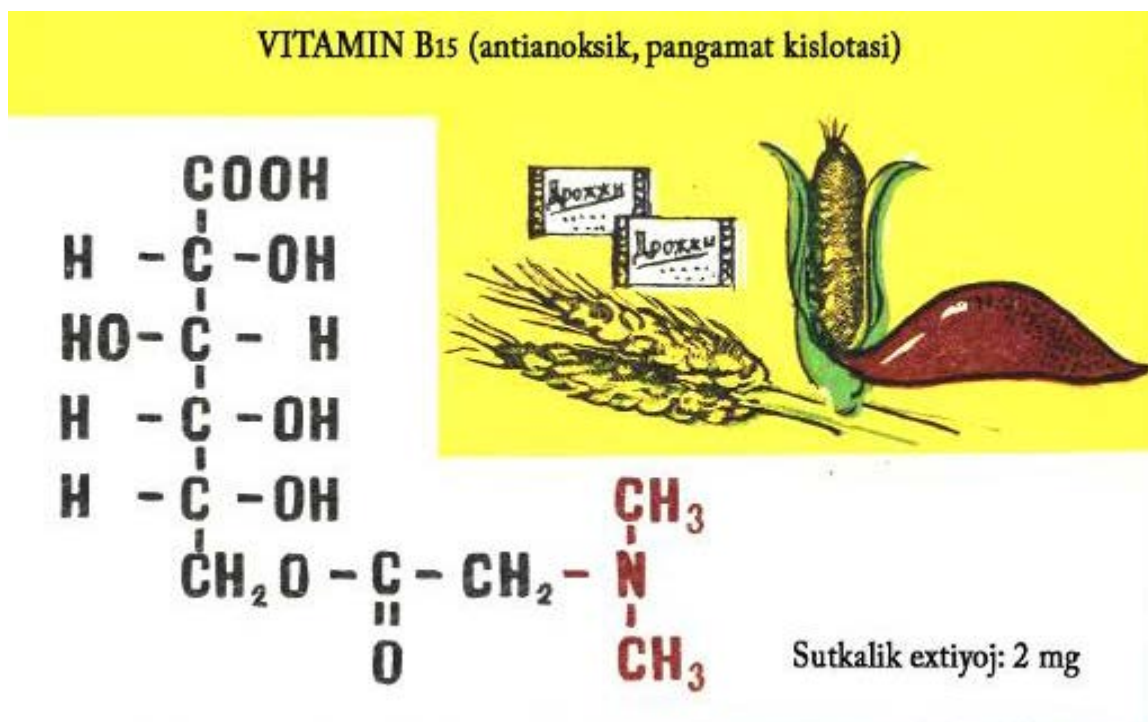
Manbai: - Namatak mevalari, qora smrodina, sitrus o'simliklari, yangi sabzavotlar, kartoshka, pomidorlar vitamanga juda boy.

Vitaminsimon suvda eruvchan moddalar

B4 Xolin –kapilyarlarlarni mustaxkamlovchi. Xolin letsitin va boshqa fosfolipidlar tarkibiga kiradigan azot asosi bo'lib, organizmda uning boshqa funktsiyalari ham bor: u atsetilxolinni hosil qiladi va labil (beqaror) metil guruhlar manbai sifatida moddalar almashinuvida ishtirok etadi. Xolinning oziqa tarkibidagi ahamiyati quyidagilardan ma'lum: agar oshqozon osti bezi kesib tashlangan itlar dietasida xolin bo'lmasa, ularning jigarida yog' to'planadi. Xolinning yetishmasligi boshqa hayvonlarda ham jigarning yog'li degeneratsiyasi va buyrakning gemorragik o'zgarishlariga olib keladi, lekin bu xodisalarning yuz berishi oziqa tarkibiga ham bog'liq. Agar oziqa tarkibida oqsil, ayniqsa, metionin tutuvchi oqsil ko'p bo'lsa, xolinga bo'lgan extiyoj to'la qondiriladi.

P vitamin, Bioflavanoidlar - kapilyarlarni mustahkamligini ta'minlovchi. Bu vitamin yetishmaganda odamlar va dengiz cho'chqalarida qon tomirlari devorining

o'tkazuvchanligi ortadi. P vitamin guruhiga kiradigan flavon pigmentlar glikozidlar bo'lib, ular orasida eng zo'r faoliyatga ega bo'lgani rutin (kvertsetin glyukozidi) dir. Choy o'simligi bargidan P vitamin preparati ham olingan. Uning asosiy ta'sir etuvchi moddasi **katexin** va **gallat** efirlardir. Sitrus mevalari po'stidan gesperidin (sitrin) ham ajratib olingan. Rutin va gesperidin tuzilishining asosini flavon skeleti tashkil qiladi.



B15 Pangamat kislota –antianoksik. Pangamat kislota 1951 yili juda ko'p o'simlik urug'lari, sholi kepagi, achitqi va jigardan ajratib olingan. Uning nomi (yunoncha pan—hamma yerda, gat—urug') ham urug'larda keng tarqalgan degan ma'noni ifodalaydi. Odamlarda bu vitamin yetishmaslik belgilari ma'lum bo'lmasa ham, kasalxonada uning preparatlari jigar, buyrak, qon-tomir kasalliklarida, miya qon tomirlarining skelerogik o'zgarishlarida qo'llaniladi.

Yog'da eriydigan vitaminlar metabolizmi va biologik funksiyasi.

Vitamin D Kaltsiferol –antiraxitik.

Manbai: Vitamin D asosan baliq jigarida, baliqni o'zida (lososda), yog'da, sut va sut mahsulotlarida, tuxumda ko'p miqdorda bo'ladi. Bir sutkalik miqdori normada bolalarda 12-25 mkg.(500-1000 ME) katta odamlarda 10 marta kam talab qilinadi.

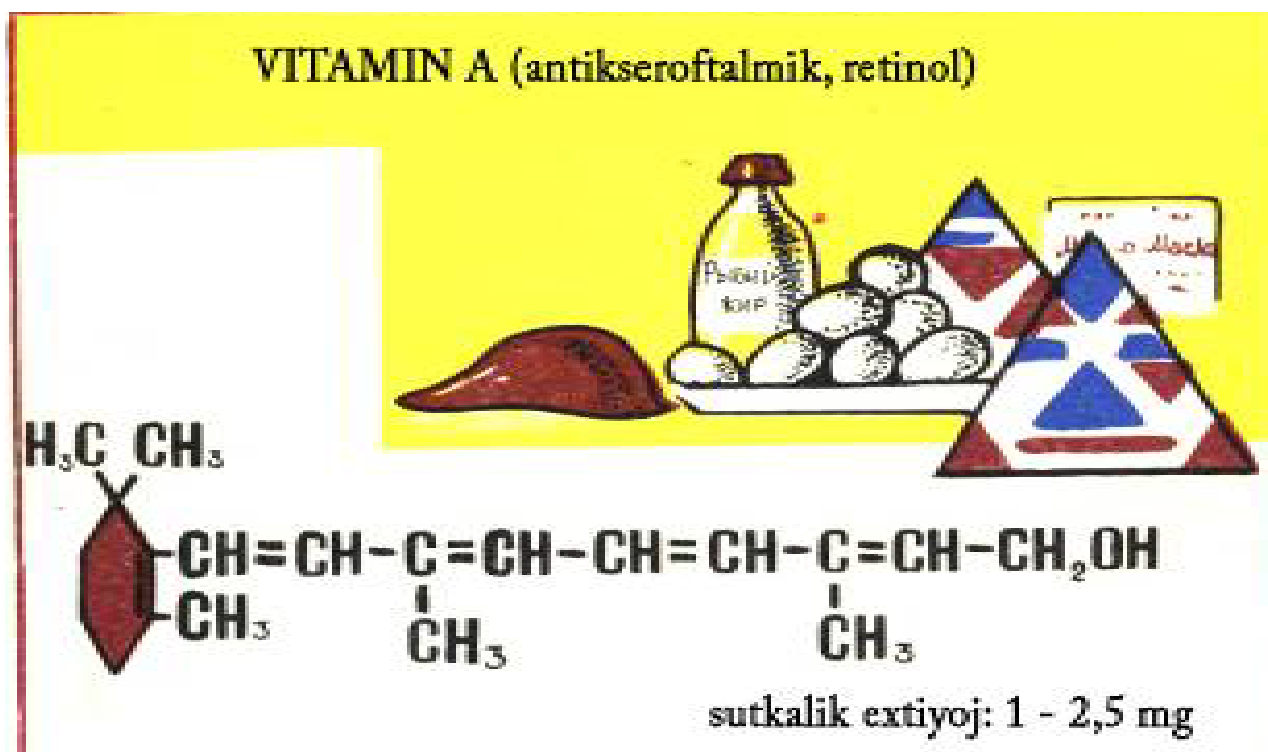
Vitamin D - Ergokaltsiferol D2, kolikaltsiferol D3 ko'rinishida bo'ladi.

Vitamin D to'qimada to'planmaydi faqat istesno tariqasida yog' to'qimasida to'planadi. Qondagi vitamin D buyrakga o'tadi, u erda oqsilni plazmasi bilan bog'lanib, 1,25-digidroksikaltseferolga eng faol formaga aylanadi.

Yetishmovchiligi. Vitamin D yetishmaganda bolalarda raxit kasaligi kelib chiqadi, bolalar avitaminozi. Odatda kattalarda vitamin D yetishmovchiligi kuzatilmaydi. Agar quyosh nuri yetishmasa, vitamin D ni qabul qilish buyuriladi.

Vitamin A Retinol –antikseroftalmik.

Manbai: Vitamin A asosan hayvon mahsulotlarida bo'ladi. Jigar, baliq jigari, moyi vitamin A ga boy. Undan tashqari tuxum sarig'ida, sut, sabzi, qizilcha va pomidorda ham mavjud. Vitamin A ning sutkalik miqdori 1.5 mg (500 ME) ni tashkil etadi.



Biologik funktsiyasi.

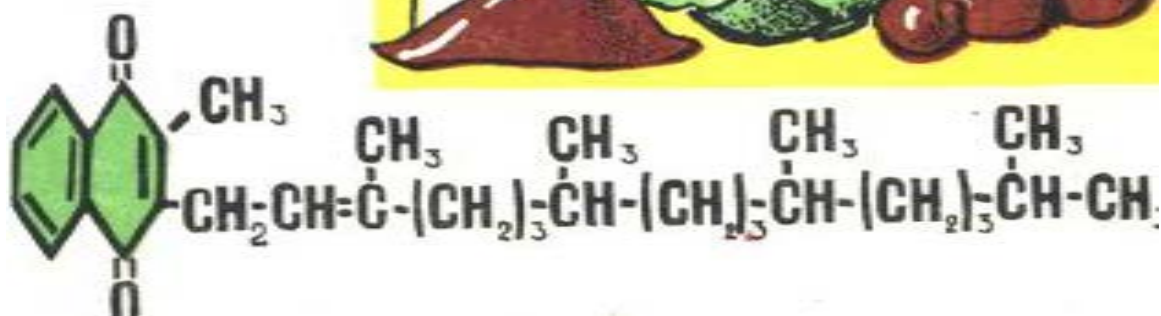
1. Normal bo'y va organizm rivojlanishi uchun hujayralarni differentsiyalaydi (yosh organizm, embrion).
2. Hujayra va to'qimalar bo'linishini regulyatsiya qiladi.
3. Ko'rish qobilyatini fotokimyoviy aktida ishtirok etadi.

Qo'llanilishi va foydasi. Vitamin A gipovitaminozni davolashda, ko'rish qobilyatini yaxshilash uchun, bolalarda bo'y o'stirish maqsadida, bepushtlikda profilaktika uchun qo'llaniladi. Undan tashqari regeneratsiya jarayonini tezlatishda, to'qimalarni tez tiklanishida va boshqa maqsadlarda ichishga buyuriladi.

Vitamin K Naftixinon –antigemorrogik.

VITAMIN K₁ (antigemorogik, naftoxinon)

sutkalik ehtiyoj
10-15 mg

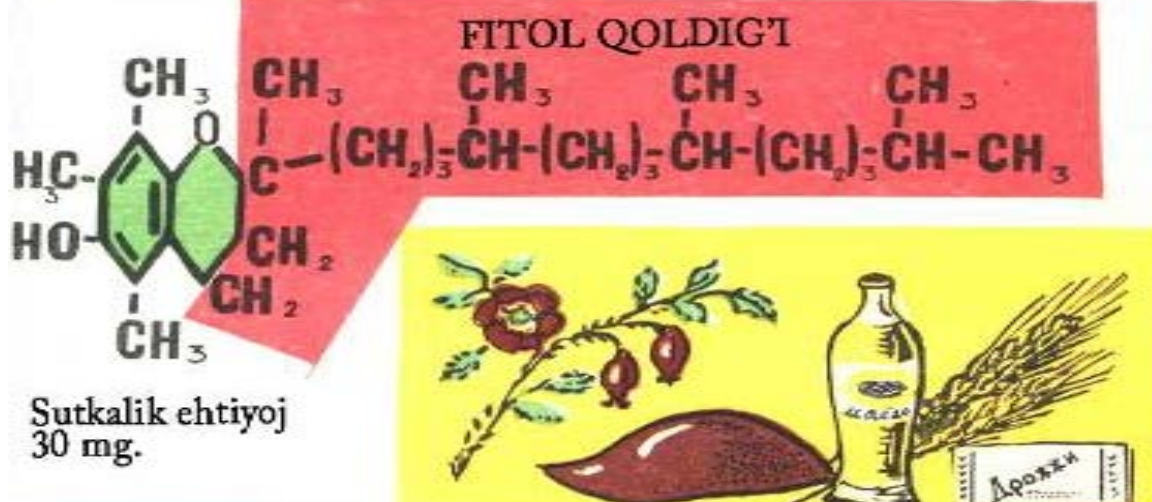


Manbai: Vitamin K asosan sabzavot va ildiz mevalarda, karam, qizil sabzi va shpinatda, hayvon mahsulotlaridan jigarda ko'p uchraydi. Vitamin K ni sutkalik miqdori 2 mg. Yosh organizm uchun 5 barobar ko'p.

Yetishmovchiligi. Vitamin K yetishmaganda qon suyulishi, shikastlanganda qon oqishini tezlashishi, ichak mikroflorasini buzilishi, jigarda vitamin K ni hosil bo'lishi kamayadi, preprotrombinni trombinga aylanishi ham kamayadi.

Vitamin E Tokoferol –antisteril

VITAMIN E (antisteril, a - tokaferol)



Sutkalik ehtiyoj
30 mg.

Manbai: Vitamin E asosan o'simlik yog'larida: kungaboqar yog'i, makkajo'xori, paxta, zaytun moylarida ko'p bo'ladi. Lekin hayvon mahsulotlari, sut mahsulotlarida juda ham oz miqdorda bo'ladi.

Katta odamlar uchun vitamin E ni sutkalik miqdori 20-50 mg.

Yetishmovchiligi. Gipovitaminoz E odamda deyarli kuzatilmaydi faqat ba'zi muddatidan oldin tug'ilgan chaqaloqlarda gipovitaminoz gemolitik anemiya ko'rinishida kuzatiladi. Gipovitaminoz E da to'qima membranasini potologiyasi kuzatiladi, bunda jigar nekrozi, miyani yumshab qolishi, xomiladorlikda xomilani normasi buziladi.

Qo'llanilishi. Jigar kasalliklarida, xomiladorlikda profilaktika maqsadida buyuriladi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №33

MAVZU: A VITAMINIGA XOS SIFAT REAKSIYALARI.

Maqsad: Vitaminlarga xos sifat reaksiyalarini tajribalar asosida o'rganish, bilim va ko'nikmalarni mustahkamlash.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, baliq moyi, surma(III)-xloridning xloroformdagi to'yingan eritmasi, sirka angidrid, xloroform, kontsentrlangan sulfat kislota, A vitaminining xloroformdagi 0,05%li eritmasi, temir(II)-sulfatning sirka kislotadagi to'yingan eritmasi.

1- tajriba: Surma (III)- xlorid bilan qilinadigan reaksiya.

Quruq probirkaga 2-3 tomchi baliq moyi tomizib, 4-5 tomchi surma(III)-xloridning xloroformdagi to'yingan eritmasidan qo'shiladi. Aralashma ko'k rangga bo'yaladi, sekin-asta pushti binafsha rangga o'tadi. Agar probirka nam bo'lsa, suvni yo'qotish uchun 1-2 tomchi sirka angidrid qo'shish mumkin.

2- tajriba: Sulfat kislota bilan qilinadigan reaksiya.

1 tomchi baliq moyi 4-5 tomchi xloroformda eritiladi va 1 tomchi kontsentrlangan sulfat kislota tomiziladi. Aralashma ko'k rangga kirib tezda qoramtir-qizil rangga o'tadi.

Bu reaksiya kontsentrlangan sulfat kislota A vitamindan suv tortib olish hisobiga turli xil rangli modda xosil qilishga asoslangan.

3-tajriba: Temir(II)-sulfat bilan qilinadigan reaksiya.

1-2 tomchi toza baliq moyi yoki A vitaminining 0,05%li xloroformdagi eritmasidan olib, 5-10 tomchi FeSO₄ ning muz-sirka kislotadagi to'yingan eritmasidan tomiziladi, unga 1-2 tomchi konsentrlangan sulfat kislota qo'shiladi. Aralashma ko'k rangga kirib, asta-sekin pushti-qizil rangga o'tadi. Karotinlar bu reaksiyada yashil rang beradi.

LABORATORIYA MASHG'ULOTI №34

MAVZU: D VA E GURUH VITAMINLARIGA XOS SIFAT REAKSIYALARI.

Maqsad: D va E guruh vitaminlariga xos sifat reaksiyalari tajribalarini o`rganish va bilimlarni oshirish.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, gaz gorelkasi yoki spirt lampa, baliq moyi, bromning xloroformdagi eritmasi, 1:60 nisbatdagi anilin reaktivi.

1-tajriba: Kaltsiyferolga bromxloroform bilan qilinadigan reaksiya.

Ishning bajarilishi: a) quruq probirkaga 2-3 tomchi baliq moyi va 3-4 tomchi bromning xloroformdagi (1:60) eritmasi qo`shiladi. Suyuqlik yashil havo rang tusga kiradi.

2- tajriba: Quruq probirkaga 1 tomchi baliq moyi va 5 tomchi xloroform quyib, aralashtirib turgan holda 1 tomchi aniline reaktividan (15 qism anilin+1 qism konsentrlangan HCl) tomizib, qizdiriladi.Hosil bo`lgan sariq emulsiya qizil rangga kiradi.

E vitamininga hos sifat reaksiyalar.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, shisha tayoqcha, α - tokoferolning spirtidagi 0,1%li eritmasi, temir(III)-xloridning 1%li eritmasi, konsentrlangan nitrat kislota.

1- tajriba: temir(III)-xlorid bilan qilinadigan reaksiya.

Ishning bajarilishi: Quruq probirkaga 4-5 tomchi α - tokoferolning 0,1%li spirtli eritmasidan quyib, 0,5 ml 1%li temir(III)-xlorid eritmasidan qo`shiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Aralashma qizil rangga kiradi.Bu vaqtda tokoferol temir(III)-xlorid ta`sirida oksidlanib, qizil rangli tokoferilxinonga aylanadi.

2- tajriba: Kontsentrlangan nitrat kislota bilan qilinadigan reaksiya.

Quruq probirkaga 4-5 tomchi 0,1%li α - tokoferolning spirtli eritmasidan, 10 tomchi kontsentrlangan nitrat kislotadan quyib, probirkadagi aralashma chayqatiladi. Hosil bo`lgan emulsiya asta-sekin ikki qatlamga ajraladi:yuqori-moySimon qavat qizil rangga kiradi. Bu reaksiya mexanizmi ham yuqridagiga o`xshash tokoferilxinon hosil bo`lishiga asoslangan. Xuddi shu reaksiya asosida E vitaminni miqdoriy jihatdan aniqlash mumkin.

LABORATORIYA MASHG`ULOTI №35

MAVZU: B1 , B2 , PP GURUH VITAMINLARIGA XOS REAKSIYALAR.

Maqsad: Tajribalar asosida B1 , B2 , PP guruh vitaminlarida bo`ladigan o`zgarishlarni o`rganish.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, gaz gorelkasi yoki spirt lampa, sulfat kislotaning 1%li eritmasi, natriy nitritning 5% li eritmasi, tiamin kukuni, natriy gidrokorbanatning 10%li eritmasi, tiaminning 5%li eritmasi, kaliy gidroksidning 10%li eritmasi, qizil qon tuzining 5%li eritmasi.

1- tajriba: B1 vitaminiga xos diazo reaksiya.

Tiamin ishqoriy muhitda diazoreaktiv bilan to`q-sariq rangli murakkab kompleks birikma hosil qiladi.

Ishning bajarilishi: Probirkaga 1%li sulfat kislotadan 5 tomchi va 5%li natriy nitrid eritmasidan 5 tomchi tomizib, ozgina tiamin kukunidan sepiladi. Shundan keyin probirka devoir bo`ylab 10%li natriy gidrokorbanat( $\text{NaHCO}_3$ ) eritmasidan 5-7 tomchi tomiziladi. Ikki qavat suyuqlik chegarasida to`q sariq halqa paydo bo`ladi.

2-tajriba: B1 vitaminini tioxromgacha oksidlash reaksiyasi.

B1 vitamin ishqoriy muhitda qizil qon tuzi ta`sirida oksidlanib, sariq pigment-tioxromga aylanadi.

Ishning bajarilishi: 5%li tiamin eritmasining 2-3 tomchisini (yoki 1-2 mg kukunini) 10%li o`yuvchi kaliyning 5-10 tomchi eritmasi bilan aralashtirib, uning ustiga 5%li qizil qon tuzi $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ dan 1-2 tomchi tomiziladi. Aralashma qizdirilganda tiaminning tioxromga oksidlanishi hisobiga sariq rangga kiradi. Ishqoriy eritmada ultrabinafsha nur bilan nurlantirilganda ravshan ko`k fluorestsensiyaga ega bo`ladi.

B2 vitaminning qaytarilish reaksiyasi.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, riboflavinning 0,025%li eritmasi, konsentrlangan xlorid kislota, ruxmetali.

Riboflavin eritmasi bilan konsentrlangan HCl aralashmasiga ozgina rux metali tashlansa, birdaniga vodorod ajrala boshlaydi. Sariq rangli eritma qizarib(rodoflavin), so`ngra rangsiz leykoflavinga aylanadi.

Ishning bajarilishi: Riboflavinning suvdagi 0,25%li aralashmasidan probirkaga 10 tomchi quyib, ustiga 5 tomchi konsentrlangan HCl va rux metalining mayda donachalari solinadi. Ajralayotgan vodorod riboflavin bilan reaksiyaga kirishadi, bunda eritmaning rangi sariq, qizil, pushti rangga o`tib, nihoyat rangsizlanadi.

PP vitamininga xos sifat reaksiya.

Kerakli asbob va reaktivlar: shtativ, probirkalar, pipetkalar, gaz gorelkasi yoki spirt lampa, nikotin kislota, sirka kislotaning 10%li eritmasi, mis atsetstning 5% li eritmasi, natriy bikarbonatning 10%li eritmasi, natriy gidrosulfatning 5%li eritmasi.

1-tajriba: Nikotin kislotaga mis atsetstning ta`siri.

Nikotin kislotaga mis atsetat eritmasi ta`sir ettirilganda nikotin kislota misli tuzining ko`k cho`kmasi hosil bo`ladi.

Ishning bajarilishi: 5-10mg nikotin kislota 10-20 tomchi 10%li sirka kislotada qizdirish yo`li bilan eritiladi. Qaynash darajasiga yetgan eritmaga teng miqdorda 5%li mis atsetat eritmasi qo`shiladi. Havo rang tusli suyuqlik loyqalanadi, bir ozdan so`ng ko`k rangli cho`kma tushadi.

1-tajriba: PP vitaminiga natriy gidrosulfit ta`siri.

PP vitamini natriy gidrosulfit bilan qaytarilib, sariq rang hosil qiladi.

Ishning bajarilishi: Probirkaga 10-15mg PP vitamin solib, 10%li natriy bikarbonat eritmasidan 15 tomchi quyib, aralashtiriladi, uning ustiga yangi tayyorlangan 5%li natriy gidrosulfitdan 15 tomchi qo`shiladi. Syuqlik sariq rangga kiradi.

LABORATORIYA ISHLARIDA ENG KO'P ISHLATILADIGAN REAKTIVLARNI TAYYORLASH USULLARI

Ortsin reaktivini tayyorlash uchun 0,2 g Ortsin 100 ml 30 % li xlorid kislotada 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 kislotada eritiladi.

Difenilamin eritmasini tayyorlash uchun 70° li spirtida ikki marta qayta kristallangan 1 g difenilamin, 2,75 ml qontsentrlangan sulfat kislota va 100 ml muz-sirka kislotada 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 $\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 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 eritladi, so'ng hajmi 500 ml ga yetkaziladi.

Kumush gidroksidining ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz tayyorlash uchun 1 % li kumush nitrat eritmasi ustiga qontsentrlangan 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 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{N}_2\text{O}$ 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 sovutilgach 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  $\text{CO}_2$  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  $\text{NaOH}$  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  $\alpha$ -ketoglutarat kislota, 0,4 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  va 0,07 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  solinadi va aralashma ustiga 5-8 ml suv, 0,4 ml 10 % li  $\text{NaOH}$  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 medial 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 medial 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 kontsentrlangan 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.

Adrenalinning 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 kontsentrlangan xlorid kislota 0,9 g sulfanil kislota eritilib, hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi. Bu eritmani shartli ravishda A reaktiv deb olamiz. B-reaktiv esa 5% li natriy nitrit eritmasidir. Foydalanishidan oldin har ikkala eritma muz yordamida sovutiladi, so'ng 1,5 ml sulfanil kislota 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.

Eyqonogen eritmasi tayyorlash uchun - 0,25 g eyqonogen, 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 $K_3[Fe(CN)_6]$ 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 kislota eritmasiga 1 g tiomochevina 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 kislota eritilib, uning ustiga 2,7 ml qontsentrlangan 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 eritmadan 1 ml olib, 50 ml gacha shu buferda suyultiriladi. Tayyor bo'lgan eritma tarkibida 100 ng/ml DNK-aza bo'ladi.

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 qo'shib, aralashma eriguncha $50^\circ\text{-}60^\circ\text{C}$ 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.

Sun'iy 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 qontsentrlangan HCl, 1,2 ml qontsentrlangan sut kislotasi 7 g pepton 1 litr suvda eritiladi.

1% li Kazein eritmasini tayyorlash uchun ma'lum miqdordagi kazein bir necha tomchi 0,1 % li natriy karbonatda bir oz qizdirish yo'li 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 kislotasi qo'shiladi va distillangan suv qo'shib, hajmi 750 ml ga yetkaziladi.

Nessler reaktivi tayyorlash uchun 1 litrli o'lchov kolbaga 30 g simob (II)-yodid va 40 ml suv qo'shiladi. So'ngra 80 g NaOH 400 ml suvda eritilib, yodidli kolbaga qo'yiladi. Kolbaning o'lchov belgisigacha distillangan suv quyib, qorong'i joyda 3 kun qoldiriladi, shundan keyin eritma filtrlanadi.

Temirning standart eritmasi quyidagicha tayyorlanadi: temir sim ikki marta qayta haydalgan bir necha tomchi nitrat kislotasi qo'shilgan xlorid kislotada eritiladi. Avval 100 ml temirli eritma tayyorlanadi, so'ng undan ish eritmalar olinadi.

Oltinugurtning standart eritmasini tayyorlash uchun 710 mg suvsiz natriy sulfat 1 litr suvda eritiladi. Tayyor bo'lgan eritmadan 2,5 ml olib, 200 ml gacha suyultiriladi. Bu eritmaning 1 ml da 2 mkg oltinugurt bo'ladi.

Cho'ktiruvchi reaktiv tayyorlash uchun 37,65 g limon kislotasi 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 qo'shiladi va aralashma erib ketguncha chayqatiladi. Shundan so'ng eritmaning hajmi bidistillangan suv bilan 1 litrga yetkaziladi.

1. Mirxamidova P. va boshq. Biokimyo, amaliy mashg'ulotlar. T. Universitet 2002 yil.
2. Zikiryaev 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. A.A. Chirkin «Praktikum po bioximii». «Novoye znaniye» 2000 god
5. Sultonov.R va b." Bioximiyadan amaliy mashg'ulotlar" T.Abu Ali ibn Sino 1995yil.
6. www.urss.ru.
7. lib-online.ru.
8. www.pereplet.ru.
9. www.5-qa.ru.
10. www.cultinfo.ru.
11. To`raqulov.Yo.X. Biokimyo T:"O`qituvchi"1998 yil
12. Nikolayev.A.YA. Biologik ximiya T "Ibn Sino" 1991yil
- 13.Qosimov.A, Qo`chqorov.Q, Teshaboyev.C. Bioximiya "O`qituvchi" T 1988yil
- 14.Fillipovich Yu.B Osnovi bioximii,"Visshaya shkola" 1985 god.
- 15.Metodi bioximicheskogo issledovaniya rasteniy (pod redaksi Yermakova A.I) "Kolos" 1987god

Kirish

laboratoriya mashg`uloti №1

Laboratoriyada ishlash qoidalari va texnika xavfsizligi

Oqsillar

laboratoriya mashg`uloti №2

Oqsillarga xos rangli reaksiyalar

laboratoriya mashg`uloti №3

Ksantoprotein, Millon reaksiyalari.

laboratoriya mashg`uloti №4

Fol, Sakaguchi, Adamkevich reaksiyalari.

laboratoriya mashg`uloti №5

Oqsillarni dializ qilish.

laboratoriya mashg`uloti №6

Oddiy oqsillarni gidroliz qilish

laboratoriya mashg`uloti №7

Oqsillarni miqdoriy jihatdan aniqlash

laboratoriya mashg`uloti №8

Oqsillarni cho`ktirish reaksiyalari.

laboratoriya mashg`uloti №9

Oqsillarni organik va mineral kislotalar ta`sirida hamda alkaloid reaktivi bilan cho`ktirish

Aminokislotalar

laboratoriya mashg`uloti №10

Aminokislotalarni xromotografik usulda ajratish.

laboratoriya mashg`uloti №11

Louri usuli bo`yicha oqsilni miqdor jihatdan aniqlash.

laboratoriya mashg`uloti №12

Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash.

laboratoriya mashg`uloti №13

Achitqidan nukleoproteinlarni ajratib olish va gidrolizlash.

laboratoriya mashg`uloti №14

DNK ni hayvon to`qimasidan ajratib olish va tozalash.

Uglevodlar

laboratoriya mashg`uloti №15

Monosaxaridlarning qaytaruvchanlik xossalari

laboratoriya mashg`uloti №16

Nilander va Barfed reaksiyalari.

Disaxaridlar

laboratoriya mashg`uloti №17

Disaxaridlarning qaytaruvchanlik xususiyatini tekshirish.

Polisaxaridlar

laboratoriya mashg`uloti №18

Polisaxaridlarga xos rangli reaksiyalar.

laboratoriya mashg`uloti №19

Qon zardobidagi oqsil konsentratsiyasini refraktometrik va qon

zardobidagi glyukozofosfat - izomeraza fermentining aktivligini aniqlash

laboratoriya mashg`uloti №20

Qondagi glyukoza miqdorini Xagedori-Iensen usuli bo`yicha aniqlash.

laboratoriya mashg`uloti №21

Piyoz ekstraktidagi glyukoza va boshqa qaytaruvchi shakarlarni hamda o`simliklarning yashil barglaridagi kraxmalni aniqlash.

Lipidlar

laboratoriya mashg`uloti №22

Yog`larga xos sifat reaksiyasi.

laboratoriya mashg`uloti №23

Yog`larning sovunlanishi va yog` kislotalar olish.

laboratoriya mashg`uloti №24

Yog`larning to`yinganlik darajasini aniqlash. yod sonini aniqlash.

laboratoriya mashg`uloti №25

Yog`ning kislota sonini aniqlash.

laboratoriya mashg`uloti №26

Biologik obektlardagi umumiy lipidlarni aniqlash.

laboratoriya mashg`uloti №27

Valgemut usuli bo`yicha biologik obektlardagi amilazaning aktivligini aniqlash.

Fermentlar.

laboratoriya mashg`uloti №28

Ferment aktivligiga muhitdagi vodorod ionlari konsentratsiyasining ta`siri.

laboratoriya mashg`uloti №29

Anorganik katalizatorlar bilan fermentlar ta`sirini taqqoslash.

laboratoriya mashg`uloti №30

Ferment aktivligiga aktivator va paralizatorlarning ta`siri.

Gormonlar.

laboratoriya mashg`uloti №31

Qalqonsimon bez gormoni-tiroksinga xos reaksiya.

laboratoriya mashg`uloti №32

Oshqozon osti bezining gormoni- insulinga xos reaksiyalar.

Vitaminlar

laboratoriya mashg`uloti №33

A vitaminiga xos sifat reaksiyalari.

laboratoriya mashg`uloti №34

D va E gruppalari vitaminlariga xos sifat reaksiyalari.

laboratoriya mashg`uloti №35

B1 , B2 , PP guruh vitaminlariga xos reaksiyalar.

