

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

**НАМАНГАН МУҲАНДИСЛИК-ПЕДАГОГИКА ИНСТИТУТИ
«ТЕХНОЛОГИЯ» ФАКУЛЬТЕТИ
«ОЗИҚ-ОВҚАТ ТЕХНОЛОГИЯСИ» КАФЕДРАСИ**

**«Озиқ-овқат технологияси» таълим йўналиши учун
«БИОКИМЁ» фанидан
тажриба машғулотларини бажариш бўйича
У С Л У Б И Й Қ ў р с а т м а**



Наманган - 2015

Лаборатория иши №1

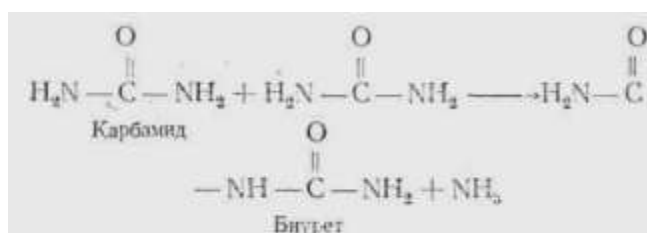
Мавзу: Оксилларни Биурет реакцияси

Керакли реактив ва асбоблар:

1. Оксил эритмаси (тухум оқи) 2. Қарбамиднинг куруқ холдагиси 3. 10% ли натрий гидроксид эритмаси. 4. 1% ли мис сульфат эритмаси. 5. Пробиркалар. 6. Пипеткалар. 7. Штатив. 8. Электр плитка ёки газ горелкаси.

Оксил эритмаси ишқорий муҳитда мис сульфат ионлари билан пушти-бинафша ёки кўк-бинафша ранг беради. Рангнинг ҳосил бўлиши, оксил молекуласидаги пептид боғларининг мис ионлари билан ҳосил қиладиган комплексига боғлиқ.

Биурет реакциясини оксилнинг тўла парчаланмаслиги натижасида ҳосил бўладиган пептон ва полипептидлар ҳам беради. Бундай рангли реакцияни карбамид (мочевина) ни қиздирган пайтда ҳосил бўладиган биурет ҳам беради:



Биурет реакцияси пайтида ҳосил бўладиган комплекснинг ранги пептид занжирининг узунлигига қараб ҳар хил бўлиши мумкин. Масалан, тўртта аминокислота қолдиғидан иборат полипептид берадиган комплекс қизил, трипептид- бинафша ранг ва ниҳоят, дипептид кўк ранг беради.

Биурет реакциясини ўз молекуласида -CS-NH ёки -CH-NH- гуруҳи бўлган бирикмалар ва шунингдек, аминокислоталардан гистидин, амидлардан аспарагин ҳам беради. Биурет реакциясининг ранги эритмадаги мис ионлари миқдорида қараб ўзгаради, яъни мис сульфат эритмаси кўпроқ қўшилса кўк ранг, камроқ қўшилса пушти ранг ҳосил бўлади.

Ишнинг бажарилиши. Ишни бажариш учун яхши ювилиб қурилган пробиркага карбамид қукунидан озроқ солиб, электр ёки газ плитkada қиздирилади. Қиздириш натижасида карбамид суюқ ҳолатга ўтади. Агар қиздиришни давом эттирсак, у яна қотади. Карбамиднинг қаттиқ ҳолатга ўтиши билан қиздириш тўхтатилади. Карбамиднинг қиздирилиш пайтида биурет ҳосил бўлади, аммиак эса ҳавога чиқиб кетади. Аммиакнинг чиқишини унинг ҳидидан билиш мумкин.

Пробирка совугач, унга 1 мл натрий гидроксид эритмаси солиб чайқатилади ва 1-2 томчи мис сульфат эритмасидан томизилиб аралаштирилади. Натижада пробиркадаги эритма пушги рангга ўтади. Мис сульфатни қўшишда эҳтиёт бўлиш керак. Агар ундан кўпроқ қўшилса, эритма кўк- ҳаво рангга ўтиб кетиши мумкин.

Бу ишни ўсимлик оқсили билан ҳам олиб бориш мумкин. Бунинг учун пробиркага ўсимлик оқсидан солиб, унинг устига 1 мл натрий гидроксид эритмаси томизиб чайқатилади. Сўнгра 1-2 томчи мис сульфат қўшиб, эритма аста-секин аралаштирилади. Пробиркада бинафша ранг ҳосил бўлади.

Олинган натижалар асосида хулоса чиқарилади.

Лаборатория иши №2

Мавзу : Ксантопротеин реакцияси

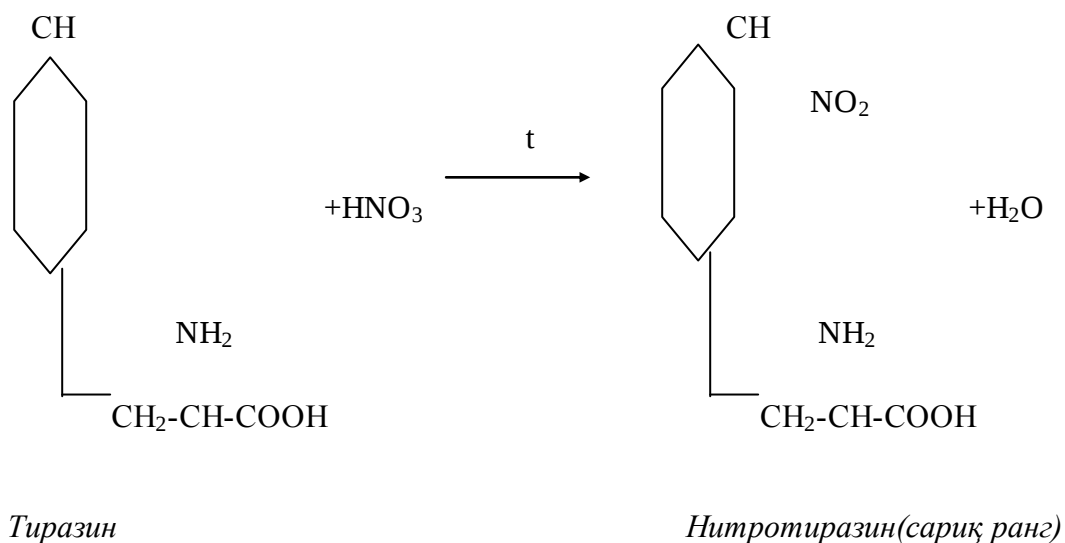
Керакли реактив ва асбоблар:

1. Оқсил эритмаси;
2. 0,1% ли фенол эритмаси;
3. Концентрланган нитрат кислота;
4. 20% ли натрий гидроксид ёки аммиак эритмаси;
5. 1% ли желатина;
6. Пипеткалар;
7. Штатив;
8. Электр плитка ёки газ горелкаси;
9. Пробиркалар.

Оқсил эритмасини концентрланган нитрат кислота билан қўшиб қиздириш орқали сариқ ранг ҳосил бўлади. Ҳосил бўлган сариқ рангли эритма устига оз миқдорда аммиак ёки натрий гидроксид эритмаси қўшилади. Пробиркада зарғалдоқ ранг ҳосил бўлганлигини кузатиш мумкин.

“Ксантос” юнонча сўз бўлиб, “сариқ” деган маънони билдиради. Шунинг учун бу реакцияга ксантопротеин номи билан юритилади. Кучли нитрат кислотанинг терига, тирноққа, жунга ва бошқа хилдаги оқсил тутувчи моддаларга тушган пайтида ҳам сариқ ранг ҳосил бўлишини кузатиш мумкин..

Оқсил эритмаси (таркибида тирозин, фенилаланин ёки триптофан аминокислоталари бўлса) концентранган нитрат кислота билан қиздирилганда сариқ ранг ҳосил бўлади.



Ишнинг бажарилиш. 3 та ювилган тоза пробирка олиб, уларнинг бирига фенол эритмасидан, иккинчисига оқсил эритмасидан, учинчисига эса желатина эритмасидан 1 мл дан солинади. Кейинчалик ҳар бир пробиркага 1 мл дан концентранган нитрат кислота қўшиб, аста-секин қиздирилади. Натижада оқсил ва фенолли пробиркаларда ранг ҳосил бўлади. Пробиркалардаги аралашмалар устига аммиак ёки натрий гидроксид қўшсак, биринчи ва иккинчи пробиркалардаги сариқ ранг зарғалдоқ кўринишга ўтади. Учинчи пробиркада эса бу ҳолат кузатилмайди. Бу эса желатина таркибида юқорида баён этилган аминокислоталарнинг йўқлигини кўрсатади.

Лаборатория иши №3

Мавзу: Оксилларни тузлар ёрдамида чўктириш

Эритма таркибидаги оксилларни чўктириш йўли билан ажратиб олинади. Оксилларни чўктириш реакциялари турлича бўлишига қарамасдан улар икки гуруҳга бўлинади.

Биринчи гуруҳ реакциялари қайтар реакциялар дейилади. Бундай дейилишига сабаб, баъзи бир реактивлар таъсирида чўкмага тушган оксиллар маълум вақтдан кейин қайта эритмага ўтади.

Иккинчи гуруҳ реакциялари қайтмас реакциялар дейилади. Бунда оксиллар ўзларининг эрувчанлик, электрофоретик ҳаракатчанлик, оптик активлик каби физик-кимёвий хусусиятларини ўзгартиради, яъни оксил денатурацияга учрайди. Бу гуруҳ реакциялар каторига оксилларни оғир металл тузлари, алкалоид моддалар, кислоталар ва шунингдек, юқори ҳарорат таъсирида чўктириш реакциялари киради.

Керакли реактив ва асбоблар:

1. Ўсимлик оксили;
2. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ нинг тўйинган эритмаси;
3. NaCl нинг тўйинган эритмаси;
4. MgSO_4 тузи;
5. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ нинг ярим тўйинган эритмаси;
6. Ацетат кислота;
7. NaCl тузи;
8. Пипеткалар;
9. Штатив.

Оксилларни тузлар ёрдамида чўкмага тушириш ҳодисаси оксилларнинг тузланиши дейилади. Оксилларни чўктиришда ишқорий ёки ишқорий-ер металл тузларидан фойдаланилади. Ҳар хил оксиллар тузларининг концентрациясига қараб турли даражада чўкмага тушади. Оксилларнинг бу хусусиятидан фойдаланиб, уларни бир-биридан ажратиб олиш мумкин. Масалан, глобулинлар аммоний сульфатнинг тўйинган эритмаларида, альбуминлар эса уларнинг тўла тўйинмаган эритмаларида яхши чўкма беради.

Оксилларнинг турли тузлар таъсирида чўкмага тушишида муҳит рНи ҳам катта роль ўйнайди. Масалан, альбуминлар муҳит кучсиз кислотали бўлганида, натрий ва магний сульфатнинг паст концентрацияли эритмаларида осонлик билан чўкмага тушади.

Ишнинг бажарилиши. 1. Тоза ювиб қуритилган пробиркага 2-3 мл ўсимлик оксидан олиб, унинг устига тенг ҳажмда аммоний сульфатнинг тўйинган эритмаси солинади ва эритма чайқатилади. Пробиркада ҳосил бўлган аммоний сульфатнинг ярим

тўйинган эритмасида заррачалари альбуминга нисбатан катта бўлган глобулинлар чўкмага тушади. Чўкмадаги глобулинлар филтрлаш йўли билан ажратиб олинади.

Филтратда қолган альбуминларни ажратиб олиш учун пробиркадаги эритмага $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ нинг майдаланган кукунидан тўйинган туз эритмаси ҳосил бўлгунча қўшилади. Натижада альбуминлар чўкмага тушади. Пробиркадаги чўкма филтрлаш йўли билан ажратилади. Эритмада оксилнинг қолган-қолмаганлигини биурет реакцияси орқали аниқланади.

Ажратиб олинган альбуминлар 4-5 мл дистилланган сувда эритилади ва у билан биурет реакцияси ўтказилади.

2. Оксилларни натрий хлорид ва магний сульфат тузлари билан чўктириш учун иккита пробирка олиб, уларнинг ҳар бирига 3 мл дан ўсимлик оксили эритмасидан қўйилади, сўнгра биринчи пробиркага натрий хлориднинг майдаланган кукунидан, иккинчи пробиркага эса магний сульфат кукунидан тўйинган туз эритмаси ҳосил бўлгунга қадар қўшилади. Натижада глобулинлар чўкмага тушади. Пробиркалардаги чўкма филтрлаш йўли билан ажратиб олинади. Нейтрал туз эритмаларида чўкмага тушмаган альбуминлар филтратда қолади.

Альбуминларни чўктириш учун филтратга ацетат кислотасидан бир неча томчи қўшиб, кейин туз эритмалари қўшилади. Кучсиз кислотали муҳитда чўкмага тушган альбуминларни филтрлаб ажратиб олинади, эритмада оксил бор-йўқлигини билиш учун биурет реакцияси ўтказилади.

Лаборатория иши №4

Мавзу: Оқсилларни спирт ва минерал кислоталар билан чўктириш

I. Оқсилларни спирт чўктириш

Керакли реактив ва асбоблар:

1. Ўсимлик оқсили;
2. Этил спирт;
3. Натрий хлорид тузи;
4. Пробиркалар;
5. Пипеткалар;
6. Штатив.

Оқсиллар кўпгина органик эритувчилар (ацетон, эфир, спирт кабилар) таъсирида нейтрал ва кучсиз кислотали муҳитда чўкмага тушади. Оқсиллар спирт билан бирга бир оз натрий хлорид тузидан қўшганда чўкмага тезроқ ва тўла тушади. Спирт оқсил заррачаларини дегидратацияга олиб келса, туз уларни зарядсизлантиради. Агар оқсилларни чўктириш паст ҳароратда олиб борилса ва тушган чўкма тезда спиртдан ажратиб олинса, оқсил денатурацияга учрамайди.

Ишнинг бажарилиши. Бу ишни бажариш учун 2 та пробирка олиб, уларнинг ҳар бирига 2-3 мл дан оқсил эритмаси солинади. Сўнгра оқсил устига озроқ NaCl кукуни ва 3-4 мл дан спирт солиб, аралашма чайқатилади. Бироз вақт ўтиши билан оқсил чўкмага тушади. Агар пробиркаларнинг бирига дарҳол 4-5 мл дистилланган сув, иккинчисига 10-15 дақиқадан сўнг сув солинса, биринчи пробиркадаги чўкманинг эриганлигини, иккинчи пробиркадаги чўкманинг эримай қолганлигини кўриш мумкин. Бу оқсилга спиртнинг узоқ вақт таъсир этиши натижасида денатурацияга учраганлигини кўрсатади.

Оқсилларни минерал кислоталар билан чўктириш

Керакли реактив ва асбоблар:

1. Ўсимлик оқсили;
2. Сульфат, хлорид ва нитрат кислоталари;
3. Пробиркалар;
4. Штатив;
5. Пипеткалар.

Концентрланган минерал кислоталар (HCl , H_2SO_4 , HNO_3 ва бошқалар) таъсирида оксиллар чўкмага тушади, чунки минерал кислоталар таъсирида оксилларнинг заррачалари дегидратланади. Оксил чўкмаси ортиқча реактив (HCl , H_2SO_4) таъсирида эрийди. Бунга сабаб, оксил заррачаларининг қайта зарядланишидир.

Ишнинг бажарилиши. Дастлаб учта пробирка олиб, уларнинг бирига 2 мл сульфат кислота, иккинчисига 2 мл хлорид кислота, учинчисига 2 мл нитрат кислота солинади. Кейин пробиркаларни қия тугган ҳолда кислотага тенг миқдорда оксил эритмасидан секин-аста қуйилса, иккала суюқлик чегарасида ҳалқа ҳолдаги оқ чўкма ҳосил бўлади. Агар ҳалқа ҳолдаги чўкма (1-2 пробиркалар) чайқатилса, ҳалқа эриб кетади. Мабодо чўкма эримаса, шу реактивлардан яна бир оз қўшилади. Эриган оксил эритмаси устига 5 % ли натрий гидроксиддан томизилса, қайта чўкма ҳосил бўлишини кузатиш мумкин. Учинчи пробиркада ҳам чўкма ҳосил бўлади. Аммо ҳосил бўлган чўкма пробирка чайқатилганда ҳам, ортиқча кислота қўшилганда ҳам эримайди. Олинган натижалар дафтарга кайд этилади.

Лаборатория иши №5

Мавзу: Оксилларнинг эритмаларига оғир метал тузлар таъсирини ўрганиш

Керакли реактив ва асбоблар:

1. Оксилларни сувдаги эритмаси;
2. 0,5% ли мис сульфат эритмаси CuSO_4 ;
3. 3% ли кумуш нитрат эритмаси (AgNO_3);
4. 0,5% симоб (II) хлорид, сулема эритмаси (HgCl_2)
5. Натрий хлориднинг тўйинган эритмаси (NaCl);
6. Пробиркалар;
7. Пипеткалар;
8. Шиша таёқчалар;
9. Штатив.

Оксиллар оғир метал (Cu , Ag , Hg) тузлари билан ҳам чўкма ҳосил қилади. Бу тузлар таъсирида эритмадаги оксилларнинг чўкмага тушиши, ишқорий ер металл тузлари ёрдамида тушадиган чўкмалардан фарқ қилади, яъни оксиллар оғир металл тузларининг фақат паст концентрацияли эритмалари таъсирида ҳосил бўлган чўкма эриб кетади. Оксил чўкмасининг эриши эритмага қўшилган оғир металнинг оксил заррачаларининг адсорблаб, уларни қайта зарядланиши натижасида юз беради.

Ишнинг бажарилиш: Тўртта пробирка олиб, уларнинг ҳар бирига 2-3 мл дан оксил эритмаси солинади. Сўнгра, биринчи пробиркага қўрғошин ацетат, иккинчисига мис сульфат, учинчисига кумуш нитрат ва ниҳоят, тўртинчи пробиркага оксил устига сулема эритмаларидан 4-5 томчидан томизилади. Бу реактивларни томизилгандан сунг эритмани хусусиятидан келиб чикиб, пробиркага устига қайтадан шу реактивларда кўпроқ томизилса, чўкма эриб кетади. Сулема солинган пробиркадаги чўкма эса озроқ натрий хлорид солингандан кейингина эрийди.

Лаборатория иши № 6

Мавзу: Оксил эритмаларига юқори хароратнинг таъсирини ўрганиш

Керакли реактив ва асбоблар:

1. Ўсимлик оксили;
2. 1% ва 10% ли ацетат кислота эритмаси;
3. Натрий хлориднинг тўйинган эритмаси;
4. 10% ли натрий гидроксид эритмаси;
5. Пробиркалар;
6. Пипеткалар;
7. Штатив;
8. Электр плитка ёки газ горелка.

Ҳамма оксиллар ҳам юқори харорат таъсирида ивийди, яъни чўкмага тушади. Аммо турли оксилларнинг юқори харорат таъсиридан чўкмага тушиши бир хилда бўлмайди. Масалан, бир хил оксиллар $50-55^{\circ}\text{C}$ да коагуляцияга учраса, бир хиллари қисқа муддатли қайнатишда ҳам ўзларининг натив (бошланғич) хусусиятини сақлаб қолади. Шунга қарамасдан, кўпчилик оксиллар юқори хароратда таъсирида ўзининг актив хусусиятини йўқотади, яъни денатурацияга учрайди. Денатурацияга учраган оксил ўзининг биологик активлигини йўқотибгина қолмай, балки у эрувчанлигини ҳам йўқотади. Демак, оксиллар юқори хароратда киздирилганда эрийди, чукмага тушади, яъни денатурацияланади.

Оксилларнинг чукмага тушиши мухитдаги pH га қараб узгаради. Масалан, кучли ишқорий ёки кислотали мухитда юқори харорат таъсирида оксилларнинг чукмага тушиши кузатилмайди. Чунки бундай шароитда оксиллар молекулалари кучли манфий ёки кучли мусбат зарядга эга бўлади.

Ишнинг бажарилиши. Бешта пробирка олиб, уларнинг ҳар бирига 2-3 мл дан оксил эритмаси солинади. Агар биринчи пробиркадаги оксил эритмаси киздирилса, чукма тушади. Иккинчи пробиркадаги оксил эритмаси устига 2-3 томчи бир фоизли ацетат кислотадан томизиб киздирилса, чукма ҳосил бўлади, бунга сабаб оксил узининг изоэлектрик нуктасига яқин шароитда бўлганлигидир. Учинчи пробиркага 10 фоизли ацетат кислотадан 0,5 мл солиб киздирилса, чукма тушмайди. Агар туртинчи пробиркадаги 2-3 мл оксил эритмаси устига 10 фоизли ацетат кислотадан 0,5 мл солиб, ундан кейин аралашма устига 4-5 томчи натрий хлориднинг тўйинган эритмасидан томизиб киздирилса, чукма тушади. Бешинчи пробиркадаги оксил эритмасига 0,5 мл натрий гидроксид қушиб киздирилса, чукма тушмайди. Хатто қайнатилса ҳам чукма ҳосил бўлмайди. Бу натижалар дафтарга ёзиб олинади ва улардан тегишли хулосалар чиқарилади.

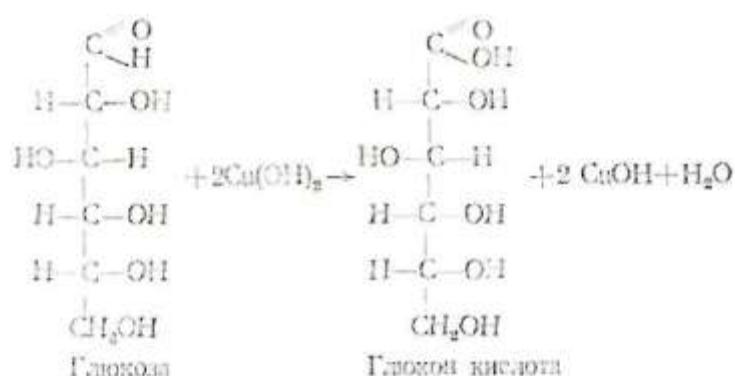
Лаборатория иши № 7

Мавзу: Углеводларни Троммер реакцияси

Озиқ-овқат саноатида хом ашё ва тайёр маҳсулотлар таркибидаги углеводлар миқдорини ва уларнинг сифатини таҳлил қилиб туришга тўғри келади.

Мураккаб моддалар таркибидаги углеводларни аниқлашда γ- нафтол ва тимол реактивларидан фойдаланилади. Крахмални эса йод ёрдамида аниқлаш мумкин.

Моносахаридлар таркибида эркин альдегид ёки кетон гуруҳлари бўлгани учун ҳам улар айрим металл гидроксидларини (AgOH , $\text{Cu}(\text{OH})_2$, $\text{Bi}(\text{OH})_3$) эркин металлларгача ёки уларнинг қуйи оксидларигача қайтариш хоссасига эга. Альдогексозалар таркибида альдегид гуруҳи металл гидроксидлари таъсирида оксидланиши натижасида моносахаридларга тегишли кислоталар ҳосил бўлади:



Углеводларнинг сифат реакцияларига асосланган таҳлиллар айнан улардаги функционал гуруҳларда юз берадиган ўзгаришларга асосланган.

Керакли реактив ва асбоблар. 1. Глюкоза, сахароза, мальтоза ва крахмалнинг 1% ли эритмалари; 2. 10% ли натрий гидроксид; 3. 1% ли мис сульфат эритмаси; 4. Пробиркалар; 5. Пипеткалар; 6. Штатив; 7. Электр плитка ёки газ горелкаси.

Альдогексозаларнинг мис (II)-гидроксид таъсирида оксидланиши натижасида улардан ҳар бир гексозага тегишли кислоталар ҳосил бўлади. Мис (II)- гидроксид эса Cu_2O гача қайтарилади. Мис (I)-оксиднинг ҳосил бўлиши бир неча босқичли реакциялардан иборат. Аввало, мис сульфат натрий гидроксид билан реакцияга киришиб, ҳаво ранг мис (II)-гидроксид ҳосил қилади:



Ҳосил бўлган $\text{Cu}(\text{OH})_2$ глюкоза эритмасига қўшиб қиздирилса, сариқ рангли CuOH бирикмаси ҳосил бўлади.



Агар ҳосил бўлган мис (I)-гидроксидни қиздиришда давом этсак, у ҳолда қизил-ғишт рангли Cu_2O ҳосил бўлади.



Ишнинг бажарилиши. Тоза ювиб қуритилган пробиркага 1-2 мл глюкозанинг 1% ли эритмасидан олиб, унинг устига баробар ҳажмда 10% ли натрий гидроксид эритмасидан қуйилади ва чайқатилганда ҳам йўқолмайдиган кўк рангли лойқа, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ ҳосил бўлгунига қадар мис сульфатнинг 1% ли эритмасидан томчилатиб қўшилади. Пробиркада ҳосил бўлган кўк рангли аралашма аста-секин қиздирилади. Қиздириш натижасида пробиркадаги аралашма аввало сариқ рангли CuOH ҳолига келиши, сўнгра эса қизил-ғишт рангли Cu_2O чўкмага тушиши кузатилади. Шу тажриба мальтоза, сахароза ва крахмал эритмалари билан ҳам бажарилади ва олинган натижаларга қараб хулоса чиқарилади.

Лаборатория иши №8

Мавзу: Амилаза ферменти фаоллигини ўрганиш

Иш моҳиятини: Крахмал эритмасини амилаза ферменти таъсирида парчаланиб, дастлаб декстрин сўнгра глюкоза ҳосил қилишини йод пробаси билан назорат қилишга асослангин. Крахмал эритмаси декстрин ҳосил қилганда эритмани ранги кўк рангдан жигарранга айланади. Крахмал тўла парчаланганда эса жигарранг оч сариқ ранга айланади.

Идиш ва реактивлар:

Пробиркалар,
крахмални 0,5 ва 1% ли эритмалари,
йодни спиртдаги 5 %ли эритмаси
суюлтирилган амилаза ферменти
Сув хаммоми
пробирка
штативи.

Ишни бажарилиши : 3- тадан пробиркага 0,5 ва 1- % ли крахмал эритмалари куюлади ва пробиркадаги эритмаларга бир-хил миқдорда (2 ёки 3-томчи) йод эритмасидан томизилади. Хар-бир пробиркага бир-хил миқдорда 0,5 мл дан амилаза ферменти эритмаси қўшилади. Пробиркалар штативларга ўрнатиб, 25-30 С ли сув хаммомига солинади. Кузатилган натижалар қуйидаги жадвалда қайд қилиб борилиб хулоса чиқарилади.

№	Пробирка тартиби	Инкубацион бошланиш ранг интенсивлиги	Инкубацион 10 мин ўтгандан кейинги ранг интенсивлиги бошлангандан	Инкубацион бошлангандан 20 минут ўтгандан сўнг ранг интенсивлиги
1				
2				
3				
4				

Қайт қилинган натижалар асосида амилаза ферментини таъсирини реакция вақти ва крахмал парчаланиш миқдориға боғлиқлиги хақида хулосалар чиқарилади.

Лаборатория иши №9

Мавзу: Ферментларни фаоллигига турли

мухитлар таъсирини ўрганиш

Ферментларни фаоллиги оптимал шароитда улар таъсирида субстрат массаси ўзгариб, янги модда ҳосил ҳосил бўлиши билан ифодаланади. Улар фаоллигига турли мухит ва моддалар таъсир кўрсатади. Агар таъсир натижасида ферментларни фаоллиги кучайса ушбу мухит ёки модда активатор деб, аксинча улар фаолияти пасайса ингибитор деб юритилади. Ферментлар фаолиятига мухитни таъсири кўпроқ, уларни табиати билан боғлиқ бўлади яъни айрим ферментлар пастроқ фаолликка эга бўлсалар баъзи ферментлар кислотали ёки ишқорий мухитда юқори фаолликка эга бўладилар. Биз ушбу лаборатория ишида фаоллиги нейтрал мухитга яқин амилаза ферментига фаоллигини кислотали ва ишқорий мухитда озгаришини крахмал эритмасини йод эритмаси билан ҳосил қилган комплексини ранги интенсивлигини ўзгаришини индивидуал йўл билан аниқлашга асосланади.

Идиш ва реактивлар:

Пробиркалар

термометр

крахмални 1% ли эритмаси

1 % ли NaOH

H₂SO₄ эритмалари,

сув хаммоми

йодни спиртдаги 5 % ли эритмаси,

пробирка штативи

пипеткалар.

Ишни бажарилиши: Пробирка олиб, уни номерлаймиз. пробиркаларга 2 мл дан 1 % ли крахмал эритмасидан қуямиз ва устига 2 томчидан йод томизамиз. Биринчи пробиркага 0,2 мл сув қуямиз (контроль) вариант. Иккинчи пробиркага 0,1 мл 1 % нормал сульфат кислотаси қўшамиз. Учинчи пробиркага 0,1 % натрий гидроксид қўшамиз. Барча пробиркаларни штативга ўрнатиб 60°C ли сув хаммоми солиб, 20 минут ушлаймиз.

Пробиркаларда кузатилган ҳолатларни қуйидаги жадвалда баён қилиб борамиз.

Пробиркалар тартиби	10 минутдаги ўзгариш	20 минутдаги ўзгариш
1		
2		
3		

Кузатиш натижаларга қараб ҳулоса қиламиз.

Лаборатория иши №10

Мавзу: Ферментларнинг фаолиятига хароратнинг таъсири.

Ферментлар фаоллигига хароратнинг таъсир юкори хисобланади. Фермент фаоллигини кескин пасайиши 60-70 С дан кейин кузатилади. Шу сабабли ферментни фаоллигини тўла тўхтатиш учун уни эритмасини 2-3 минут қайнаётган сувда сақланади кўпчилик ферментлар термобил харорат кўтарилишига чидамсиз бўлиб, ўз фаоллигини 60-70° С юкори хароратда тезда йўқотади.

Керакли идиш ва реактивлар:

Пробиркалар

термометр

крахмални 1 % ли сувли эритмаси

Солод (ферменти)

йод эритмаси

пробирка штативи

сув хаммоми

муз ёки кор

Ишни бажарилиши:

Микроорганизмлардан ажратиб олинган ферментлар фаоллиги учун оптимал харорат 37-40 С, усимлик ферментлари учун 40-50 С хисобланади. Ферментлар активлигини пасайтириш учун тасир этаётган харорат хар 10 С га пасайишида реакция тезлиги 2-2,5 мартага пасаяди ёки аксинча. Ферментлар фаоллиги -18 С да бутунлай тухтайди.

Ишнинг бажарилиши учун биз 8 та пробирка олинади ва бир хил миқдорда 4 та пробиркага крахмал ва 4 та пробиркага амилаза ферментидан куйилади.

1

2

3

4

Крахмал

1 ¹

2 ¹

3 ¹

4 ¹

Амилаза ферменти

Хосил булган пробиркаларни гурухларга ажратилади, яъни:

- | | | | |
|-------------------------------------|------------|-----------|-----------------|
| А) 1-1 ¹ Сув хаммомида | (100 °С) | 10 дакика | |
| В) 2-2 ¹ Термостатда | (37-38 °С) | 10 дакика | |
| С) 3-3 ¹ Муз ёки корда | (0 °С) | 10 дакика | |
| Д) 4-4 ¹ Хона хароратида | (18-22°С) | 10 дакика | ушлаб турилади. |

Белгиланган вақт ўтгандан сунг, тегишли мухитдаги пробиркаларни бир-бирига қўшилади, хосил булган 4 та пробиркадаги эритмаларни тегишли мухитга такроран қўйилади.

Алохида 1 та пробирка олиниб унга 1 мл сув қуйилади, унинг устига 1 томчи йод томизилади ва йод эритмаси хосил қилинади.

Хосил қилинган йод эритмасидан юқоридаги (турли мухитлардаги) пробиркаларга 3 томчидан томизилади. Агарда пробиркаларда қўқ ёки сиёҳ ранг хосил бўлса пробиркаларни такроран 5 дақиқага тегишли мухитларга қўйилади. Белгиланган вақт ўтиши билан пробиркада қизил ранг хосил бўлса жараён тўхтатилади.

Лаборатория якунида шуни кузатиш мумкинки ферментларнинг фаоллигига турли мухитлар ва хароратнинг таъсири турлича эканлиги яъни

- | | | |
|-------------------------------------|------------|---|
| А) 1-1 ¹ Сув хаммомида | (100 °С) | эритма денатурацияга учраши, |
| В) 2-2 ¹ Термостатда | (37-38 °С) | эритма фермент фаоллигини, |
| С) 3-3 ¹ Муз ёки корда | (0 °С) | эритма фермент фаоллиги жуда пастлигини |
| Д) 4-4 ¹ Хона хароратида | (18-22°С) | эритма фермент фаоллиги нисбатан пастлигини кўриш мумкин. |

Демак, ферментлар анорганик катализаторлардан фарқи шундаги, юқори фаолликдан иборат бўлиб, юмшоқ шароитларда юқори фаоллик кўрсатадилар. Тирик организмларда ферментатив реакциялар тезлиги харорат ортиши билан ортади. Температуранинг маълум даражасига етгандан кейин, хароратнинг ортиши ферментлар фаоллигини пасайтиради. Ферментатив реакция максимал фаол кечадиган харорат ушбу фермент учун оптимал харорат деб юритилади. Қўпчилик ферментларнинг таъсири учун оптимал температура 37°Сга яқин (соғлом одам тана харорати). Масалан: оксил ва крахмалнинг кислоталар таъсирида гидролизи 100°Сда бир неча соат давомида кечса, фермент таъсирида эса 37°Сда бир неча дақиқада содир булади.

Купчилик ферментлар юкори тургунлик ва фаолликка изоэлектрик нукта ёки унга якин булган шароитда эга буладилар. Мухитнинг кескин узгариши молекула конформациясининг узгаришига олиб келади; денатурация ва ферментнинг ноактивланишини вужудга келтиради. Ферментатив фаоллик энг юкори булган нукта ферментнинг оптимал рНи деб аталади. Хужайра ичида жойлашган ферментлар одатда нейтрал мухит (рН 7,0), яъни тана суюкликлари эга булган рН кийматига эгадирлар.

Умумий хулосалар:

Ферментатив реакцияларнинг тезлиги харорат ортиши билан ортиши

Реакция тезлигининг хароратга богликлиги Вант-Гофф конуни билан таърифланади яъни Хароратни хар 10 градусга ортиши реакция тезлигини 2-4 маротаба ортиши ёки аксинча

маълум хароратга етгандан кейин фермент фаоллиги пасаяди. (Ферментатив реакция утаётган пробиркада харорат 50-60 градусдан ортса энзимнинг апофермент кисми денатурацияга учраб реакция тезлиги пасаяди.)

Ферментатив реакция энг тез булган температура ушбу фермент учун оптимал температура хисобланиши ҳамда купчилик ферментларнинг таъсири учун оптимал температура 37°C (соғлом тана температураси)га тенглиги.

Лаборатория иши №11

Мавзу: Ёғларнинг хоссалари ва эмульция хосил қилишни ўрганиш

Ёғлар липидларга тегишли бўлиб, бу гуруҳга фосфатидлар, мумларни ҳам киритиш мумкин. Ёғлар кўп микдорда гидрофоб гуруҳ сақланганлиги учун улар сувда эримайди, бироқ улар органик эритмаларда яхши эрийди. Ёғлар эритувчилар таъсирида эмпулцияланиб майда ёғ заррачалари эмпулция хосил қилади. Ёғларни эммулсия хосил қилишига ёрдам бурувчи моддаларни эмулгаторлар деб аталади.

Жихоз ва реактивлар:

Пробиркалар

сув хаммоми

пипеткалар

турли –хил ёғлар

натрий бикарбонат кукуни.

Ишни бажарилиши: Турли пробиркаларга 5 мл дан сув ва унинг устига 1 мл дан ёғ қўшамиз ва яхшилаб қайнатамиз. Бироз вақтдан сўнг ёғ сувда эримасдан юқорига қўтарилиб чиқишини кўришимиз мумкин.

2. Пробиркадаги сув ҳамда ёғ устига бироз натрий бикорбанат қукунидан қўшиб, пробирка қайнатилганда пробиркадаги сувнинг турли қисмига майда томчилар (эмульсия) тарқалиб кетганини кузатиш мумкин.

Ёғларни липаза ферменти таъсирида парчаланиши

Липаза ферменти ёғни гидролитик парчалаб, ёғ кислоталри ва глициринга парчалайди. Фермент таъсир этиши учун ёғ эмульсия хосил қилган бўлиши керак. Ичакда ёғларни парчаланиши ўт кислотлари ишпирокида боради. Ёғ эмульсияси липаза ферменти таъсирида парчланиб, глицирин ва ёғ кислотларини сувли эритмаларига айланади.

Керакли жихоз ва реактивлар:

Пробиркалар,
пипетка,
термометр
сув хаммоми,
липаза ферментини эритмаси ёки қукуни
пахта ва зиғир ёғлари.

Ишни бажарилиши: Иккита пробирка олиб унга 5- мл дан сув ва 1- мл дан ёғ қуямиз. 1— чи пробиркага эмульгатор қўшамиз ҳар икки пробиркага бир-хил миқдорда (0,2 мл) липаза ферментини эритмасидан қўшамиз. Ҳар икки пробиркани 30 °C ҳароратли сув хаммомида 20 минут инкубация қиламиз, сўнгра пробиркаларни чайқатилади. Биринчи пробиркада ёғларни эмульсия хосил қилмаганини ва парчаланмаганини кўриш мумкин. 2-пробиркадаги эритма таркибидаги ёғ бутунлай эриб пробирка бўйлаб ҳарактланаётганини кўриш мумкин. Кузатувлардан тегишли ҳулоса чиқарилади.