

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA O'RTA  
MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI

BUXORO DAVLAT UNIVERSITETI

BIOLOGIYA KAFEDRASI

*Mustafoyev X.M., Karimova L.F.*

# BIOKIMYO

uslubiy qo'llanma



BUXORO – 2020  
«DURDONA» NASHRIYOTI



00.000ya00

00.000.0.0

M 00

Biokimyo [Matn]: uslubiy qo'llanma/ Mustafoyev X.M., Karimova L.F. - Buxoro : "Sadridin Salim Buxoriy" Durdona nashriyoti, 2020. – 144 b.

**KBK 00.000ya00**

**UDK 00.000.0.0**

## **TUZUVCHILAR:**

Mustafoyev X.M. –BuxDU Biologiya kafedrası o'qituvchisi, Kimyo fanlari nomzodi.

Karimova L.F. –BuxDU Biologiya kafedrası o'qituvchisi.

## **TAQRIZCHILAR:**

Xudoynazarova G.A. – BuxDU Kimyo kafedrası o'qituvchisi kimyofanlari nomzodi, dotsent.

Haydarov A.A. – BuxMTI organik moddalar kimyoviy texnologiyasi kafedrası mudiri, texnika fanlari nomzodi dotsent.

Buxoro davlat universiteti Biologiya kafedrası kengashida ko'rib chiqish uchun tavsiya etildi.

**ISBN 000-0000-0000-0-0**

**© Mustafoyev X.M., Karimova L.F.**

## KIRISH

Ushbu qo'llanmada Biokimyo faniga oid nazariy bilimlarni amaliy laboratoriya mashg'ulotlari asosida mustahkamlash uchun mavzularga doir amaliy mashg'ulotlarni bajarish usuli haqida fikr yuritiladi. Shu orqali talabalarni Biokimyo fanidan olgan bilimlariva amaliy ko'nikmalarini hosil qilishni ko'zda tutiladi.

Amaliy mashg'ulot mavzulari O'zbekiston respublikasi oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi 2018-yil "16" iyundagi 531-sonli buyruqning 10-ilovasi bilan tasdiqlangan o'quv dasturi asosida tanlab olindi. O'zbekiston respublikasi oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi 2018-yil "16" iyundagi 531-sonli buyruqning 10-ilovasi bilan fan dasturi ro'yxati tasdiqlangan.

Fan dasturi Oliy va o'rta maxsus, kasb-hunar ta'limi yo'nalishlari bo'yicha o'quv-uslubiy birlashmalar faoliyatini Muvofiqlashtiruvchi kengashining 2018-yil "26" 05 dagi 2-sonli bayoni bilan ma'qullangan.

BuxDU Biologiya kafedrasida ishlab chiqilgan ishchi dasturga muvofiq tuzildi.

O'quv qo'llanma Oliy o'quv yurtlari universitetlarining, pedagogika institutlarining biologiya, agronomiya va biotexnologiya yo'nalishi bo'yicha tahsil oladigan talabalarga mo'ljallangan. Qo'llanmada oqsillar, nuklein kislotalar, uglevodlar, yog'lar, vitaminlar, gormonlar va biologik suyuqliklarni aniqlashda qo'llaniladigan sifat reaksiyalari bilan birgalikda miqdoriy analiz qilish metodlari ham keltirilgan va elektroforez, spektrofotometriya, xromatografiya, fotokolorimetriya haqidagi bilimlar yoritilgan. Ba'zi bir laboratoriya ishlaridan olingan ma'lumotlar jadval holatida to'ldiriladi va xulosalar yoziladi.

Nazariy kursga oid ayrim jadvallar qo'llanma oxirida ilovada keltirilgan bo'lib, har bir amaliy mashg'ulot mavzusi biokimyo kursining tegishli nazariy boblari bilan uzviy bog'liq. Amaliy mashg'ulotlar yuzasidan nazariy tushunchalar berilgan va har bir metodning mohiyati, qo'llanilishi ko'rsatilgan, bu esa o'z navbatida fanni yanada chuqurroq o'zlashtirishga imkon beradi.

Qo'llanma Tabiiy fanlar sohasida taxsil oladigan bakalavriat ta'lim yo'nalishi talabalari uchun mo'ljallangan bo'lib, olingan bilimlar turdosh fanlardan laboratoriya mashg'ulotlarini bajarishda ko'nikma va malakalarini shakillanishida muhim o'rin tutib, amaliy - laboratoriya mashg'ulotlarini bajarishlarida uslubiy qo'llanma sifatida foydalanishi mumkin.



## BIOKIMYO FANIDAN LABORATORIYA MASHG'ULOTI TO'PLAMIGA KIRITILGAN MASHG'ULOT MAVZULARI

№	Mashg'ulot mavzulari
1	Laboratoriya mashg'ulotlari texnikasi bilan tanishtirish.
2	Eritmalar klassifikatsiyasi va ularni tayyorlash.
3	Eritmalar va ularni tayyorlash.
4	Oqsil eritmasini tayyorlash oqsillarning fizik-kimyoviy xossalari, oqsillarning eruvchanligi.
5	Oqsil va aminokislotalarning rang hosil qilish reaksiyalari.
6	Oltingugurt tutuvchi aminokislotalar uchun reaksiya.
7	Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari. Oqsillarni mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish.
8	Oqsillarni organik erituvchilar bilan cho'ktirish.
9	Oqsillarni dializ qilish.
10	Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash.
11	Qog'oz xromatografiyasi usuli bilan aminokislotalarni ajratish.
12	Qog'oz xromatografiya usuli bilan aminokislotalarni ajratish. Radial xromatografiya usuli bilan tanishtirish
13	Oqsil miqdorini Biuret usuli yordamida aniqlash.
14	Oqsil miqdorini Louri usuli bilan aniqlash.
15	Nukleoproteidlarni achitqidan ajratib olish, oddiy oqsillar gidrolizi
16	Nukleoproteidlar gidrolizi ularni gidroliz qilib, gidroliz mahsulotlarini aniqlash.
17	Nukleoproteidlar gidroliz mahsulotlarini aniqlash.
18	Fosforoproteinlarga xos reaksiyalar.
19	Kazein tarkibidagi fosfatni aniqlash.
20	Fermentlarning yuqori temperatura ta'sirida inaktivatsiyaga uchrashi.
21	Fermentlarning spetsifikligi.
22	So'lakdagi amilaza fermentining aktivligiga pH ning ta'siri.
23	Katalaza fermentining aktivligini aniqlash.
24	Monosaxaridlarga xos sifat reaksiyalari.
25	Disaxaridlarga xos sifat reaksiyalari.
26	Kalsiy saxaratning hosil bo'lishi. Saxarozaning gidrolizi.

27	Polisaxaridlar. Kraxmalga xos sifat reaksiyalari.
28	Polisaxaridlar. Sellulozaga xos sifat reaksiyalari.
29	Qondagi glyukozani miqdorini Xagedorin Luyensen usulida aniqlash.
30	Lipidlarga xos rangli yog'larni erishi va emulsiya hosil qilish reaksiyalar.
31	Yog'larning yod va peroksid sonini aniqlash.
32	Biologik obyektidan umumiy lipidlarni ajratish va miqdorini aniqlash.
33	Tovuq tuxumi sarig'idan Leysitinni ajratib olish.
34	Suvda eriydigan B guruh vitaminlarga xos sifat reaksiyalar.
35	Suvda eriydigan C va P guruh vitaminlarga xos sifat reaksiyalar.
36	Yog'da eriydigan A va D guruh vitaminlarga xos sifat reaksiyalar.
37	Suvda eriydigan E va K guruh vitaminlarga xos sifat reaksiyalar.
38	Gormonlar.Insulinga xos sifat reaksiyalar.
39	Tuxum oqsilidan albuminni kristall holda ajratish.
40	Muskul to'qimasidan oqsil fraksiyalarini ajratish.
41	Oqsillarni kislotali gidrolizi.
42	Oqsillarni gel-filtratsiyasi usuli yordamida tozalash.
43	Oqsillarni ion almashinish usuli yordamida tozalash.
44	Oqsillarni elektroforez usuli yordamida
45	Loviyadan nukleoproteidlarni ajratish.
46	Jigardan nukleoproteidlarni ajratish.
47	Nuklein kislotalarni umumiy va alohida miqdorini aniqlash.
48	Hayvon to'qimasidagi nuklein kislotalarning umumiy miqdorini aniqlash.
49	DNK gidrolizi mahsulotlarini xromatografiya usulida identifikasiya qilish.
50	Nuklin kislotalarni elektroforez usulida ajratish.
51	Polimeraza zanjir reaksiyasi bilan tanishish.



## I BO'LIM

### 1 - LABORATORIYA MASHG'ULOTI

#### LABORATORIYA MASHG'ULOTLARI TEXNIKASI BILAN TANISHTIRISH

#### LABORATORIYA ISHINI O'TKAZISH TARTIBI VA LABORATORIYA ASBOBLARI BILAN TANISHTIRISH

Darsda talabalar tajriba yo'riqnomalaridan foydalanishi mumkin. Odatda Yo'riqnomaga ishning maqsadi mujassamlanadi hamda tarkibida ishni bajarish rejasi va tajriba topshiriqlar kiritiladi. Bunday tajriba yo'riqnomalari o'quvchilarga qo'yilgan masalalarni mustaqil yechish, biologik *tajribalarni* qadamba-qadam amalga oshirish malakalarini rivojlantirish mazkur tajriba varaqalari bilan ishlash jarayonida o'quvchilarda ilmiy tadqiqotchilik faolligi ortib boradi. Laboratoriya ishi samaradorligini oshirish maqsadida o'quvchilarni kichik guruhga bo'lish har bir guruhda alohida vazifalar berish natijalarning nihoyasini tashkil qiladi, lekin hamkorlikda amalga oshirilgan ish esa o'quvchilarning faolligini o'stiradi darsda olingan bilimni yanada mustahkamlaydi.

Laboratoriya mashg'ulotlarida yangi materialni kuzatish tabiiyob'yektlardan keng foydalanish usulini tadbiiq etish ko'zda tutiladi. Bunday darslar real bilimlarni to'plash amaliy malaka va ko'nikmalarni shakllantirish maqsadida o'tkaziladi. biologiya darslarida o'quvchilar bajarayotgan amaliy laboratoriya tajribalari ta'lim-tarbiyaviy ilmiy ahamiyatga egadir.

Laboratoriya mashg'ulotlarini bajarishdan oldin, laboratoriyada ishlatildigan jihozlar va asboblarni va ularni qo'llanilishini mukamal bilishlari kerak bo'ladi.

**Biokimyo fanilaboratoriya mashg'ulotlarida texnika xavfsizligi qoidalari.**

1. Biokimyo laboratoriya xonasidagi elektr jihozlarini o'qituvchining ruxsatisiz ishlatish mumkin emas.
2. Biokimyo laboratoriya xonasidagi kadaskop va proyeksion

ko'rgazmalardan ruxsatsiz foydalanmaslik lozim.

3. Biokimyo laboratoriya xonasidagi formalinga solingan hayvon va quritilgan o'simliklarni ruxsatsiz ishlatmaslik kerak.

4. Laboratoriyada spirt, kislotalarni ruxsatsiz ishlatish mumkin emas.

5. Mikroskopdan o'qituvchi ruxsatsiz foydalanish mumkin emas.

6. Laboratoriya idishlarini ishlatgandan so'ng ularni quritish kerak.

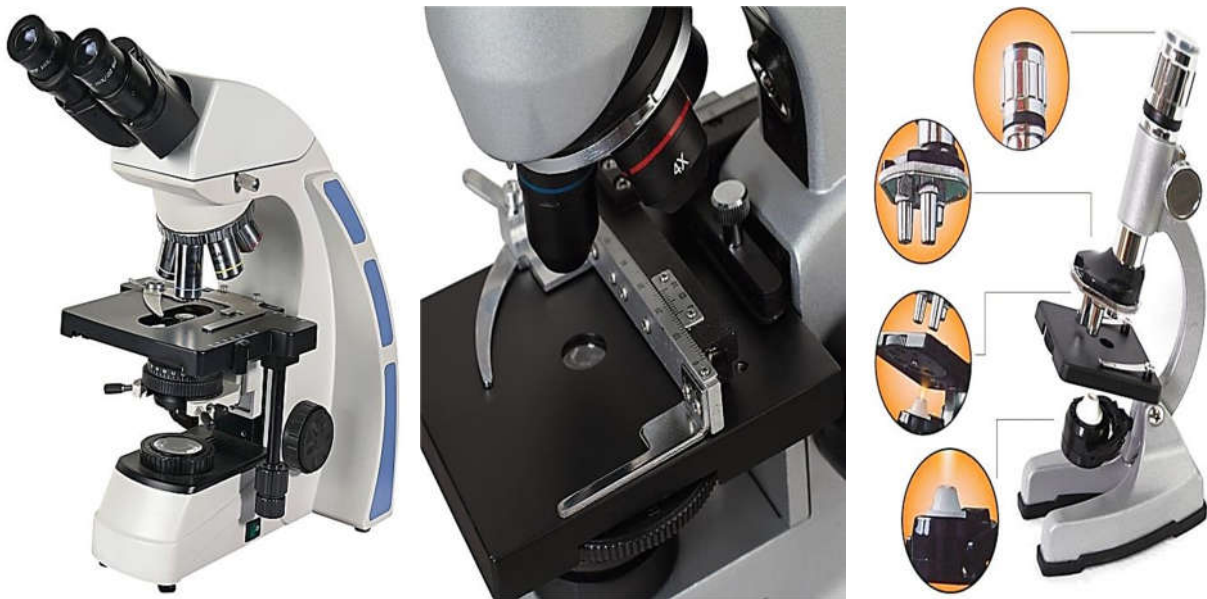
7. Kimyoviy reaktivlardan foydalanishda o'qituvchi bilan birgalikda ishlash zarur.

8. Biokimyo laboratoriyasida amaliy mashg'ulotlar bajarish vaqtida xonaning tozaligiga, hamda mebellarning sozligigatalabalar va laboratoriya mudiri mas'ul.

## MIKROSKOPNING UMUMIY TUZILISHI

Biologiya fanidan laboratoriya ishlari jarayonida oddiy ko'z bilan ko'rib bo'lmaydigan o'simlik va hayvon organlarini, to'qima hujayralarning morfologiyasi, shuningdek mikroorganizmlar tuzilishini o'rganishda optik asbob mikroskopdan keng foydalaniladi. Quyida mikroskop haqida batafsil ma'lumot berilmoqda.





## MIKROSKOP

Yorug'lik mikroskopi murakkab optik asbob bo'lib, uning yordamida obyektlarni mayda qismi, ichki bo'laklari o'rganiladi.

**Mikroskop uch qismdan iborat:**

1. Optik.
2. Mexanik.
3. Yorituvchi.

### OPTIK QISMI

**Obyektiv:**

- Tubusning pastki qismida joylashgan.
- Metall gardishga olingan bir necha linzadan iborat.
- Obyektlar revolverga joylashgan.
- Obyektlar quruq suv bilan(ish jarayonida preparatga distirlangan suv tomiziladi).
- Immersion moy ishlatiladi.

**Okulyar:**

- Tubusning yuqori qismida joylashgan.
- O'zaro gilza bilan berkitilgan ikkita linzadan tashkil topgan.

### YORITUVCHI QISM

**Ko'zgu:**

- buyum stolchasining ostida joylashgan.
- ko'zguning botiq tomoni kuchsiz yorug'likda qo'llaniladi.
- ko'zguning yassi tomoni tekis taralayotgan yorug'likda ishlatiladi.



-diskli teshik orqali yorug'lik tushishi kamaytiriladi yoki ko'paytiriladi.

**Mexanik qism:**

Mikroskopning barcha qismlarini birlashtiradi va uning tayanchi hisoblanadi.

**Tubus:**

Quvur shaklida, uning yuqori qismida okulyar o'rnatiladi, pastki qismida o'z o'qi atrofida aylanadigan revolver plastinka joylashgan bo'lib unda ob'yektivlardan o'rnatish darchalari mavjud.

**Shtativ:**

Tubus va mikroskopning asosi buyum stolchasini birlashtiradi. Katta (makrovint) burama, (dastlabki fokus masofani o'rnatish uchun xizmat qiladi).

**Buyum stolchasi:**

Yumaloq yoki to'rtburchak shaklida qo'zg'almas. Uning markazida darcha bor. Buyum stolchasida (vaqtinchalik va doimiy) preparatning turg'un joylashuvini (fiksatsiyasini) klemmalar qisqichlar ta'minlaydi. Mikroskopning umumiy kattalashtirish darajasini topish uchun obyektiv kattalashtirish darajasini okulyar kattalashtirish darajasiga ko'paytirish kerak.

Obyektiv raqami	Okular raqami	Umumiy kattalashuvi
4 <sup>x</sup>	10 <sup>h</sup>	40 marta
10 <sup>x</sup>	10 <sup>h</sup>	100 marta
40 <sup>h</sup>	10 <sup>h</sup>	400 marta

**Nazorat savollari:**

1. Kimyoviy laboratoriya asboblarning qo'llanilishi va tuzilishini o'rganib chiqing.
2. Mikroskop necha qismdan iborat?
3. Kislota, ishqor, o'tga o'ch suyuqliklar hamda oltingugurtli birikmalarni qayerga to'kish kerak?



## 2-LABORATORIYA MASHG'ULOTI. ERITMALAR KLASSIFIKATSIYASI

Kimyo fanidan eritmalar vaularning sinflanishi bilan tanishsiz shunga ko'ra tabiatda tirik organizimlardagi bio kiyoviy jarayonlarni o'rganishda biologik aktiv moddalarning eritmalaridan fodalaniladi.

Eritmalar turmushda va sanoatda, tibbiyotda ayniqsa farmasiyada katta ahamiyat kasb etadi. Qon plazmasi, limfa va organizmdagi boshqa suyuqliklar eritma holatida bo'ladi. Dori moddalari ham erigan holatda yoki organizmga erigan holatda etgandagina samaraliroq bo'ladi. Eritma xossalarini o'rganish yo'llarini ma'lum qonuniyatga bo'ysinishini va farmatsiya amaliyotida eritmalariga duch kelganda albatta ularni nazarda tutish taqozo etadi.

Molekulyar massasi 5000 g/moldan kichik moddalar eritmasi kichik molekulali moddalar eritmasi, molekulyar massasi 5000 g/moldan yuqori bo'lgan moddalar eritmasi yuqori molekulali eritmasi deyiladi. Erish natijasida elektrolit dissotsiya ketish ketmasligi qarab 3guruhga bo'linadi; elektrolitlar eritmasi noelektrolitlar va amfolitlar eritmasiga bo'linadi. Elektrolitlar eritmasi deb ionlarga dissotsiyalanadigan tuzlar, kislotalar asoslar eritmasiga aytiladi. Masalan;  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{KOH}$  eritmaları. Eritmalarning elektr o'tkazuvchanligi eruvchanligidan yuqori bo'ladi. Noelektrolitlar eritmasi suvli eritmasi amalda dissotsiyalanmaydigan moddalar eritmasi. Masalan: saxaroza, glyukozamochevina eritmaları noelektrolit eritmalariga misol bo'ladi. Ularning elektr o'tkazuvchanligi qariyb farq qilmaydi. Amfolitlar eritmasi ham kislotali ham asosli birikmalar kabi dissotsiyalanganda moddalar eritmasidir. Masalan;  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , glisin aminokislotalarning eritmaları.

### Eritmalarning konsentrasiyasi va uni ifodalash usullari

Eritmalarning eng muhim ko'rsatkichi konsentrasiya ko'rsatkichidir. Konsentrasiya orqali eritmalarning ko'p xossalari aniqlaniladi. Eritma komponentining konsentrasiyasi deberitmaning yoki eruvchining ma'lum massasida yoki hajmida saqlangan erigan moddaning yechiladigan

qiymatiga aytiladi. Binobarin konsentrasiya-erituvchi erigan moddalar qanday nisbatda olinganligini ko'rsatadi. Eng ko'p qo'llaniladigan konsentrasiyalar; massa xossasi molyar, ekvivalentning molyar konsentrasiyasi, molyar hissa, titir. Molyar hissa ( $X$ - berilgan sistemadagi komponentning molyar miqdorining sistemaning umumiy molyar soniga bo'lgan nisbati: Hajm massasi ( $V_i$ )- sistemadagi komponentning hajmi ( $V_i$ )ni sistemaning umumiy hajmiga bo'lgan nisbati. Massahissasi ( $v_i$ ) – sistemadagi komponentning massasini ( $m_i$ ) sistemaning umumiy massasiga ( $m$ ) bo'lgan nisbati " $V$ " komponentning molyar konsentrasiyasi ( $C_M$ ) berilgan sistemadagi B moddaning miqdorini ( $m$ ) sistemaning hajmi ( $V$ ) ga bo'lgan nisbatiga aytiladi. Bu yerda  $n$  - moddaning molyar soni  $m$  - moddaning massa  $M$  - moddaning molyar massasi. Molyar konsentrasiya mol/m, mol/dm, mol/l bilan ifodalanadi. Molyarlik atamasi ishlatilmaydi. Biroq molyarli bir molyarli kabi atamalar qo'llaniladi Yuqoridako'rsatilgan mol,/dm yoki mol,/l o'rniga " $M$ " belgisini ishlatish mumkin.

Masalan: 1M HCl; 0,4M KOH vah.k. Komponent " $V$ "ning molyal, konsentrasiyasi ( $m_B$ ) deb, erigan modda  $V$  ning mol, ( $n$ ) miqdorini erituvchining  $kg$  bilan o'lchangan massasi ( $m_B$ )ga bo'lgan nisbatiga aytiladi: Masalan; agar eritma "bir molyalli" deyilsa, 1mol, moddani 1kg erituvchida erishi natijasida hosil bo'lgan eritmaga aytiladi. Molyal, konsentrasiya " $ml$ " belgisi bilan ham ifodalanadi.

Eritmaning ekvivalent konsentrasiya birligi ( $n$ ) - normallik  $1l$  ( $1 n 10m$ ) eritmadagi erigan moddaning ekvivalent soni bilan aniqlanadi ( $1 n 10$  eritma-  $1 n g 1ekv/l g 1 n 10ekv/m$ ).

Agar  $V_m$  eritmada  $E_i$  ekvivalent modda erigan bo'lsa, eritmaning ekvivalent konsentrasiyasi  $N_i$  ushbu formula bilan topiladi: Molyar massahissasi, molyal, konsentrasiyalar bilan ifodalangan eritma tarkibi sistemaning haroratiga bog'liq emas. Binobarin, bu ifodalar odatda noizotermik (temperatura o'zgaradigan) tajribalarda qo'llaniladi.

Erish jarayoni. Erish jarayonining tabiati murakkabdir. Erishning muhim omili erigan modda va erituvchining diffuziyasidir. Diffuziya tufayli molekular, ionlar kabi zarrachalar eriydigan modda sathidan chiqadi va erituvchi hajmida bir tekis tarqaladi. SHu sababli, agar aralashtirilma erish tezligi diffuziya tezligiga bog'liq bo'ladi. Biroq erish jarayoni bir modda molekula va ionlarni boshqa modda molekula va



ionlari bilan oddiygina aralashuvi bo'lmay, unda o'zaro turli xil kimyoviy va fizik xarakterdagi ta'sirlanishlar ro'y beradi. Eritish jarayoni, eritmaxossasikomponentlarning ta'sir kuchi, hatto zarrachalarning shakli va o'lchamiga ham bog'liq.

Rus kimyogari D.I. Mendeleev (1834-1907) eritish jarayonida kimyoviy ta'sirlanishlar muhimligini isbotlab, sulfat kislotasining etil spirtining vab. gidratlari borligini isbotladi. Bunday hollarda eritish eruvchi modda va erituvchi zarrachalari orasida kimyoviy bog' hosil bo'lishi bilan sodir bo'ladi. Bu jarayon solvatsiya, agar erituvchi suv bo'lsa, gidratsiya deyiladi. Eritilgan modda tabiatiga qarab, solvatlar (gidratlar) 1. ion-dipol, ta'sirlanish, masalan, NaCl kabilarni eritish; 2. Dipol-dipol, ta'sirlanish, masalan, molekulyar strukturaga ega bo'lgan organik moddalarni eritish; 3. Donor-akseptor ta'sirlanish, bunda erigan modda ionlari elektronlar akseptori, erituvchilar elektronlar donori bo'lishi mumkin. Masalan; akva komplekslar hosil bo'lishi; 4. Eritmalar vodorod bog'larini hosil bo'lishi hisobiga vujudga kelishi mumkin.

Masalan: spirtni suvda eritish. Eritgan moddaning erituvchi bilan kimyoviy ta'sirlanishi tufayli eritish jarayoni issiqlik effektining, rangining o'zgarishi bilan kechadi.

Masalan: kaliy gidroksidi suvda eriganda issiqlik chiqadi: xlorid natriy eriganda esa, issiqlik yutiladi. 1 mol, modda eritish natijasida ajralgan yoki yutilgan issiqlik eritish issiqligi deyiladi. Rang o'zgarishiga misol qilib, oq rangli suvsiz mis sulfatni suvda eritish natijasida yorqin ko'k rangni hosil bo'lishini ko'rsatish mumkin. Demak eritish jarayonida solvatlar hosil bo'lishi, rangni o'zgarishi va boshqalar eritmaxomponentlari orasida kimyoviy o'zgarishlar sodir bo'lishini ko'rsatadi. SHunday qilib, zamonaviy tushuncha bo'yicha eritish fizik-kimyoviy jarayondir. Eritish jarayonining termodinamikasi.

Termodinamikaning II qonuniga asosan  $p, T, Q_{const} \rightarrow t, const$  bo'lganda modda biror-bir erituvchida o'z-o'zidan eriydi. Chunki eritilgan moddalar tartibli holatdan, tartibsizroq holatga o'tadi. Buni ushbu 1-jadvaldan ko'rish mumkin: Suvda moddalarning eritishining standart termodinamika harakat - kinetikasi ( $T_{q298Q}$   $r_{q101,3kPa}$ )

## 1 -Jadval

Eriydigan moddalar	DGq0er, J/Kmol,	DGq0er, κJ/mol,	DGq0er, κJ/mol,
NH4NO3		+110,2	-6,3
NaCl	+3,77	+43,5	-9,2
KCl	+17,2	+74,9	-5,0
KNO3	+34,9	+115,2	+0,5
KOH	-55,6	+31,5	-65,0
CO2	-19,4	-98,2	+8,4
CO(NH2)2	+15,1	+71,1	-5,9
CH3COOH	-1,3	+20,1	-7,1

Shunday qilib, eritmalar hosil bo'lishi o'z-o'zidan sodir bo'ladigan jarayondir. Bunda sistemaning tartibsizligi, entropiyasi ortadi. Eritmalarni hosil bo'lishi dinamik jarayon. Eritgan moddaning zarrachalarini (molekula, ion) bir qismi eritmagayetsa, bir qismi qayta eriydigan moddaga o'tadi. Konsentrasiya ortishi bilan keyingi jarayon kuchayadi. Pirovardida, berilgan temperatura uchun erigan moddaning to'yingan konsentraciyasi doimiy bo'lib qoladi. Ya'ni eritmaga etayotgan va eritmadan vaqt birligida ketayotgan zarrachalar soni tenglashadi. Dinamik muvozanat vujudga keladi: **DGq0**-Hosil bo'lgan eritma to'yingan eritma deyiladi. Bunda erishilgan to'yingan konsentraciya - ushbu moddaning eruvchanligidir. Eruvchanlik ko'pincha molyar yoki erituvchining massa birligi (κg) orqali ifodalanadi.

Agar eritmakonsentraciyasi to'yingan eritma konsentraciyasidan yuqori bo'lsa, hosil bo'lgan eritma o'ta to'yingan eritma bo'ladi. Bunday eritma beqaror muvozanatda bo'ladi.  $DG > 0$ . Bunday eritma o'z-o'zidan yoki ozgina tashqi ta'sir (silkitish, kristallar tashlash va b.) natijasida to'yingan eritmaga xos chin muvozanat holatiga o'tadi  $DGq0$ .

Shuni ta'kidlash lozimki, temperatura ortsa, entropiya omilining hissasi ortib, erish yaxshilanadi.

Gazlar suyuqliklarda eriganda sistemaning entropiyasi pasayadi  $DG < 0$ . Chunki eriydigan modda tartibsiz holatdan (hajm katta) tartibli holatga etadi. Shunday qilib, termodinamik ma'lumotlar erishni o'z-o'zidan sodir bo'ladimi yoki yo'q. Oldindan aytishga imkon beradi.



**Eruvchanlik;** Agar eriydigan modda ( $DG < 0$ ) erituvchi bilan kontaktlashsa, eritmahosil bo'lishi ko'pincha o'z-o'zidan sodir bo'ladi. O'z-o'zidan erish, yuqorida aytilgandek to'yingan konsentrasiya hosil bo'lgandagina  $DG < 0$  bo'lgandagina to'xtaydi. Bunda entalpiya va entropiya omillari tenglashadi:  $DH < TDS$  Moddani u yoki bu erituvchida erish qobiliyati eruvchanlik deyiladi. Son jihatidan moddaning eruvchanligi uning to'yingan eritmasi konsentrasiyasiga teng. Eruvchanlik huddi konsentrasiya kabi o'lchov birliklarida ifodalanadi. Masalan; 1l to'yingan eritmada erigan modda miqdori (mol/l), yoki 100 g to'yingan eritmada erigan modda massasi (gramm) orqali ifodalashi mumin. Keyingi ifoda, ya'ni 100 g to'yingan eritmada erigan moddamassasi (gramm) ko'pincha eruvchanlik 100 g erituvchini to'yintiradigan erigan modda massasi bilan ifodalanadi. Bu qiymatlar ko'rsatkich deb yuritiladi. Eruvchanlik eriydigan modda va erituvchi tabiatiga, temperaturaga, bosimga, eritmada boshqa moddalar borligiga bog'liq.

**Idealeritmalar** molekulari polyarligi, tuzilishi va kimyoviy tarkibi bo'yicha bir-biriga o'xshash (benzol-toluol, dibrometilen-dibrompropilenv.x.) molekullardan tashkil topgan moddalardan hosil bo'ladi. Idealeritmalarda erigan modda va erituvchi molekularining ta'sirlanishi hamda birxil erituvchi yoki bir xil erigan modda molekularining o'zaro ta'sirlanishi qariyb birxil bo'ladi. Masalan; A va V komponentlardan tashkil topgan eritma bo'lsa, molekularning o'zaro ta'sirlanish kuchini deb belgilasak quyidagi tenglik hosil bo'ladi.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Elektrolitlar eritmasi deb qanday eritmaga aytiladi?
3. Erish koeffitsientini tushuntiring.

### 3-LABORATORIYA MASHG'ULOTI

## ERITMALAR VA ULARNI TAYYORLASH TEXNOLOGIYASI BILAN TANISHTIRISH

#### 1. Rangli reaktivlar uchun oqsil eritmasini tayyorlash.

1) 10 g tuxum oqsili 100 ml suvda eritilib 1%li oqsil eritmasi tayyorlanadi (10 g tuxum oqsili 1 g oqsil tutadi). Bir dona tuxum oqsili 250 ml suvda eritilib, doka filtrdan o'tkaziladi.

2) Ogqon zardobi 5 marta 0,85%li natriy xlorid eritmasida suyultiriladi. Oqsil eritmalar muzlatgichda saqlanadi.

#### 2. Hidroliz uchun oqsil eritmasini tayyorlash

2 dona tuxum oqsili 1 L suvda quritilib, doka filtrdan o'tkaziladi, eritma muzlatgichda saqlanadi. Tuxum oqsili gidrolizatini tayyorlash uchun 8 dona tuxum oqsili 4 l suvda quritilib, dokadan o'tkaziladi va eritma havoli sovutgich bilan birlashtirilgan dumaloq tubli kolbaga solinadi. Unga 1 litr konsentrlangan xlorid kislota qo'shiladi. Aralashma asbest to'r ustida qaynagandan so'ng 45 daqiqa qaynatiladi, so'ng filtrlanadi. Faollangan ko'mir ishlatilmaydi.

#### 3. Cho'ktirish reaksiyasi uchun oqsil eritmasini tayyorlash

Sarig'idan ajratilgan tuxum oqsili 19-20 barobar hajmdagi suv bilan aralashtiriladi va bir necha qavatli doka yolki qavatlangan filtr qog'ozdan o'tkaziladi. Tuzlash uchun oqsil eritma: 3 ta tuxum oqsili 700 ml suv bilan va 300 ml to'yingan natriy xlorid eritmasi bilan aralashtiriladi.

#### 4. Sog'lom me'da shirasini tayyorlash

37g natriyxlorid 7ml konsentrlangan xlorid kislota, 2 ml konsentrlangan sut kislota (40%), 12 g pepton 11:1 1700 ml suvda eritiladi hamda 2 qavatli dokadan o'tkaziladi. Eritma muzlatgichda saqlanadi.

#### Kislotaliligi kamaygan me'da shirasi

1700 ml suvga 37 g natriy xlorid, 3,5ml konsentrlangan xlorid kislota, 2 ml konsentrlangan sut kislotaga va 12 g pepton solinadi.

#### Kislotaliligi oshgan me'da shirasi

Yuqoridagidek faqat 20 ml xlorid kislota solib tayyorlanadi.

#### 5. Patalogik me'da shirasini tayyorlash

Xlorid kislotasiz 1 ml me'da shirasiga 10 ml sut kislota (40 %) va 13,5 ml limonkislota solingan qon (largal aniqlashdan oldin 10 tomchidan)



solinadi. Ushbu eritma qoraidishda, muzlatgichda saqlanadi.

#### **6. Sut-asetat aralashmasini ivitish uchun pepsin**

100 ml pepsin 0,1 n xlorid kislota eritmasida eritiladi va 10-20 tomchi 2 n xlorid kislota 2,5 ml qo'shiladi. Eritma 3-4 soat turgandan so'ng uning hajmi 0,1 n xlorid kislota bilan 100 ml ga o'tkaziladi. Shunda 0,1 % li pepsin eritmasi olinadi.

#### **7. Me'da osti bezi preparatini tayyorlash**

Qoramolyoki cho'chqa me'da osti bezi yog'lardan tozalanadi va maydalanadi, so'ngra 3barobar hajmda aseton solib, 10-12 soat davomida yog'sizlantiriladi. Aseton to'kib tashlanadi va aseton bilan yog'sizlantirish yana 1-2 marta qaytariladi. Aseton filtrlanadi, cho'kma avval spirt bilan, so'ngra ular– ishqor bilan yuviladi va filtr qog'ozlari orasida havoda quritiladi. Olingan mahsulot xovonchada maydalanadi.

**Tajribalar uchun kerak bo'ladigan ayrim reaktivli eritmalar va ularning tarkibi va tayyorlash texnologiyasi (1 ilova)da berilgan**

#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Cho'ktirish reaksiyasi uchun oqsil eritmasini tayyorlash jarayonini tushuntirib bering.

3. Rangli reaktivlar uchun oqsil eritmasini tayyorlashda qanday reaktivlar kerak bo'ladi?



## II - BO'LIM. OQSILLARNING TARKIBI VA ULARNING XOSSALARI

### 4-LABORATORIYA MASHG'ULOTI

#### OQSIL ERITMASINI TAYYORLASH OQSILLARNING FIZIK- KIMYOVIY XOSSALARIOQSILLARNING ERUVCHANLIGI

Oqsillar yoki proteinlaryuqorimolekulyar organik birikmalarbo'lib, molekulari  $\alpha$ -aminokislotalardan tuzilgan.

Oqsiltarkibigaquyidagi elementlar kiradi (%): uglerod-50,1-54,5%, kislorod-21,5-23,5%,vodorod-6,5-7,3%, azot-16,6-17,6% oltingugurt-0,3-2,5%,fosfor-0,1-2%. Ba'zibir oqsillarning tarkibida oz miqdorda yod, temir, mis, brom,marganes,ruh kalsiy va boshqa moddalar uchraydi.

Oqsillar hujayralarning eng muhim tarkibiy qismidir. Organizmda oqsillar turli xil funksiyalarni bajaradi: hujayraning struktura materiali sifatida xizmat qiladi; to'qimadagi moddalar almashinuvining hamma reaksiyalarini katalizlaydi; oqsillar energiya manbai hisoblanadi, ularning oksidlanishi natijasida energiya ajralib chiqadi. Oqsillar ikkita sinfga bo'linadi: oddiy oqsillar va murakkab oqsillar. Oddiy oqsillarga albuminlar, globulinlar, gistonlar, protaminlar kiradi. Murakkab oqsillar tarkibiga fosfoproteinlar, glyukoproteinlar, xromoproteinlar, nukleoproteinlar, lipoproteinlarni kiritish mumkin.

**Oqsil eritmalarini tayyorlash.** Rangli reaksiyalar va cho'kmaga tushirish reaksiyalari uchun tuxum oqsilining eritmasi tayyorlanadi. Bitta tuxumning oqsili sarig'idan ajratib olinib, 15-20 ml distillangan suvda eritiladi. Eritma 3-4 qavat doka orqali filtrlanadi. Eritmaxolodilnikdasaqlanadi.

**Dializ uchun tuxum oqsilining eritmasini tayyorlash.** Uchta tovuq tuxumining oqsilini sarig'idan ajratib, 700 ml distillangan suvda eritiladi, so'ngra 300 ml natriy xlorid tuzining to'yingan eritmasidan qo'shiladi. Eritma 3-4 qavat doka orqali filtrlanadi va xolodilnikda saqlanadi.

**Ksantoprotein reaksiyasi.** Ko'pchilik oqsil eritmaları konsentrlangan nitrat kislota bilan reaksiyaga kirishib, sariq yoki to'q sariq (zarg'aldoq) rang beradi. Bu reaksiya oqsil molekulasidagi aromatik (halqali) aminokislotalar (fenilalanin, tirozin, triptofanlar)ga xos bo'lib, ular nitrat



kislota bilan o'zaro reaksiyaga kirishib, sariq rangli nitrobirikmalarni hosil qiladi: "Ksantos" - bu grekcha so'z bo'lib, sariq degan ma'noni beradi. Tirozin konsentrlangan nitrat kislota ta'sirida dinitrotirozinni (sariq rang) hosil qiladi.

Tirozin Dinitrobirikma (sariq rang) Dinitrotirozinga natriy ishqori yoki ammoniy gidroksidi ta'sir ettirilsa, dinitrotirozinning natriyli yoki ammoniyli tuzi hosil bo'ladi, butuz to'q sariq rangga ega.  $(\text{O}_2 \text{N})_2\text{-CH-COOH}$   $4\text{N-CH}_2\text{-COONa}$  Dinitrotirozinning ammoniy tuzi. Bu reaksiya tarkibida aromatik aminokislota tutuvchi barcha oqsillarga xosdir. Jelatina oqsili tarkibida aromatik aminokislotalar bo'lmaganligi sababli u ksantoprotein reaksiyasiga kirishmaydi. Ksantoprotein reaksiyalarini oddiy aromatik birikmalar-benzol va uning gomologlaridam beradi.

*Reaktivlar.* 1. Tuxum oqsilining eritmasi; soya uni oqsili. 2. L jelatinaning 1% li eritmasi. 3. Konsentrlangan nitrat kislotasi. 4. Natriy ishqorining 20% li eritmasi yoki konsentrlangan ammiakli eritmasi (20-25%). 5. Fenolning 0,1% li eritmasi.

*Ishning borishi.* Probirkaga 2-3 ml fenol eritmasidan solinadi va 1-2 ml konsentrlangan nitrat kislotasi probirka devorlari orqali quyiladi. Ehtiyotkorlik bilan qizdirilganda sariq rang hosil bo'ladi. Probirkaga 1-2 ml tuxum oqsilidan solib, unga 8-10 tomchi konsentrlangan nitrat kislotadan qo'shib qizdirilganda cho'kma sariq rangga kiradi. Sovigandan keyin probirkaga ehtiyotkorlik bilan ammiak eritmasidan yoki natriy ishqorining eritmasidan ko'shiladi. Probirkaga 1-2 ml jelatinaning 1 % li eritmasi, 8-10 tomchi konsentrlangan nitrat kislotasi eritmasidan qo'shib qizdiriladi. Jelatina aromatik aminokislotalarni tarkibida saqlamaganligi uchun bunday reaksiyani bermaydi.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Qaysi sifat reaksiyasi aromatik (halqali) aminokislotalarga xos va reaksiyani tushuntirib bering.
3. Oqsillar necha sinfga bo'linadi?

## 5-LABORATORIYAMASHG'ULOTI

### OQSILLAR VA AMINOKISLOTALARNING RANG HOSIL QILISH REAKSIYALARI

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 xossalariga asoslangan.

Bir qancha kimyoviy 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 yoki tuzilma ekstraktlarida shu o'ziga xos reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin. Rangli reaksiyalarni tuxum oqsili, jelatina eritmali, bir necha marta suyultirilgan qon zardobi, turli hayvon va o'simlik to'qimalari ekstraktlari bilan amalga oshirish mumkin. Ishning natijalari jadval ko'rinishida ifodalanadi (2-jadval).

**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, tirozinning 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 sul'fat kislota.



2-Jadval

No	Reaksiyaning nomi	Tekshirilayotgan manba	Qo'llanilayotgan reaktivlar	Kuzatilgan rang	Reaksiya nimaga bog'liq

## Xulosa

### 1-TAJRIBA. BIURET REAKSIYASI

Biuret reaksiyasi yordamida oqsil va polipeptidlar tarkibidagi peptid bog'lari  $\begin{matrix} \text{---C---N---} \\ \parallel \quad | \\ \text{O} \quad \text{H} \end{matrix}$  aniqlanadi. Biuret reaksiyasini eng kamida 3 ta

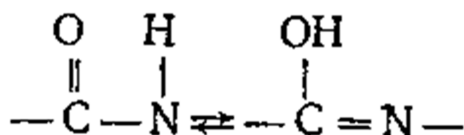
aminokislota qoldig'i ya'ni ikkita peptid bog'i bor moddalar berishi mumkin.

Kuchli ishqoriy sharoitda.

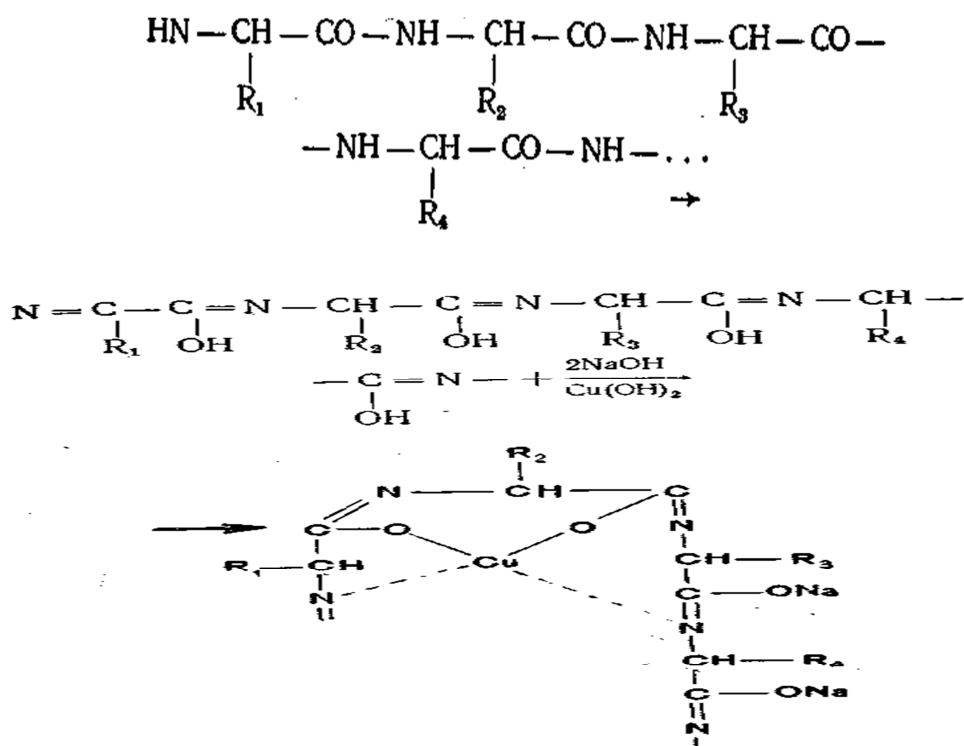
Biuret(NH<sub>2</sub> – CO – NH –CO – NH<sub>2</sub>), oksamid(NH<sub>2</sub> – CO – CO \*NH<sub>2</sub>), polipeptid va oqsil eritmalariga mis tuzlari qo'shilsa, ko'k binafsha, qizil-binafsha rang hosil bo'ladi.

Peptid bog'ni hosil qiluvchi gramma(-CO–NH--)

ishqoriy muhitda tautomer yenoformasida bo'ladi:



Kuchli ishqoriy muhitda hosil bo'lgan gidroksogruppa dissosilanadi, 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 koordinasion bog' hosil qiladi. Bu mislikompleks barqaror birikma bo'lib, paydo bo'lgan rangancha uzoq saqlanadi. Polipeptidlarning misli kompleksini sxematik ravishda quyidagicha ifodalash mumkin:



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

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

## 2-TAJRIBA. NINGIDRIN REAKSIYASI

Ningidrin reaksiyasi erkin  $\alpha$  - aminogruppa uchun xos reaksiya hisoblanadi.

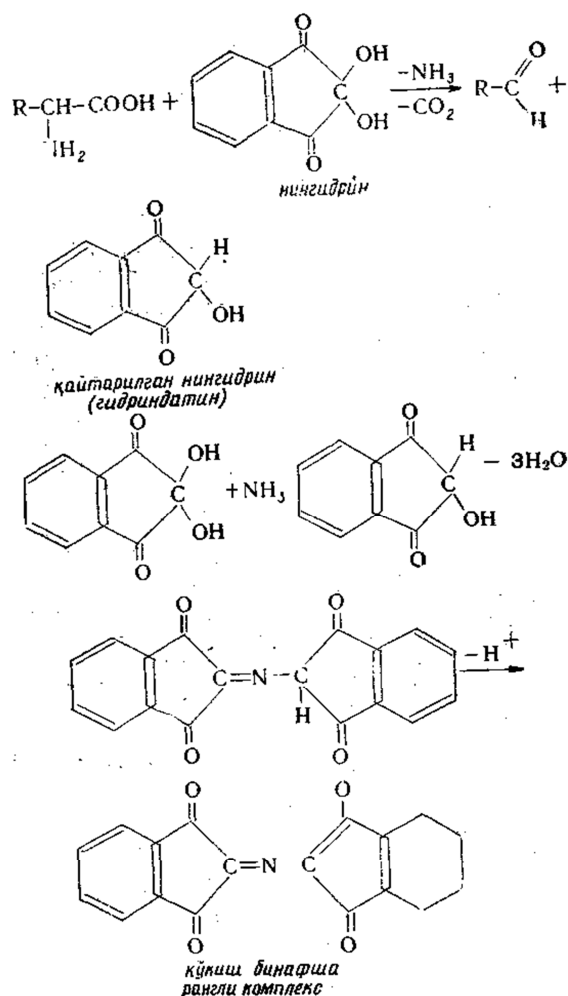
$\alpha$ - aminokislotalar, peptidlar va oqsillarning molekularida erkin  $\alpha$ -aminogruppa bo'ladi. Shuning uchun yuqoridagi moddalarning eritmalariga ningidrin qo'shib qizdirilganda ko'k yoki ko'kish-binafsha rang paydo bo'ladi.

Ningidrin ta'sirida erkin  $\alpha$ -aminogruppasi bor aminokislota, peptid yoki oqsillar oksidlanish yo'li bilan dezaminlanadi, dekarboksillanadi, natijada aldegid hosil bo'ladi. Bu vaqtda ningidrin qaytariladi va ajralib chiqqan  $\text{NH}_3$  yordamida ikkinchi qaytarilmagan ningidrin molekulasini bilan bog'lanib ko'k-binafsha, prolin bilan esa sariq rangli kompleks hosil qiladi.



Ningidrin reaksiyasining kimyoviy mohiyatini quyidagicha ifodalash mumkin (-betga qarang).

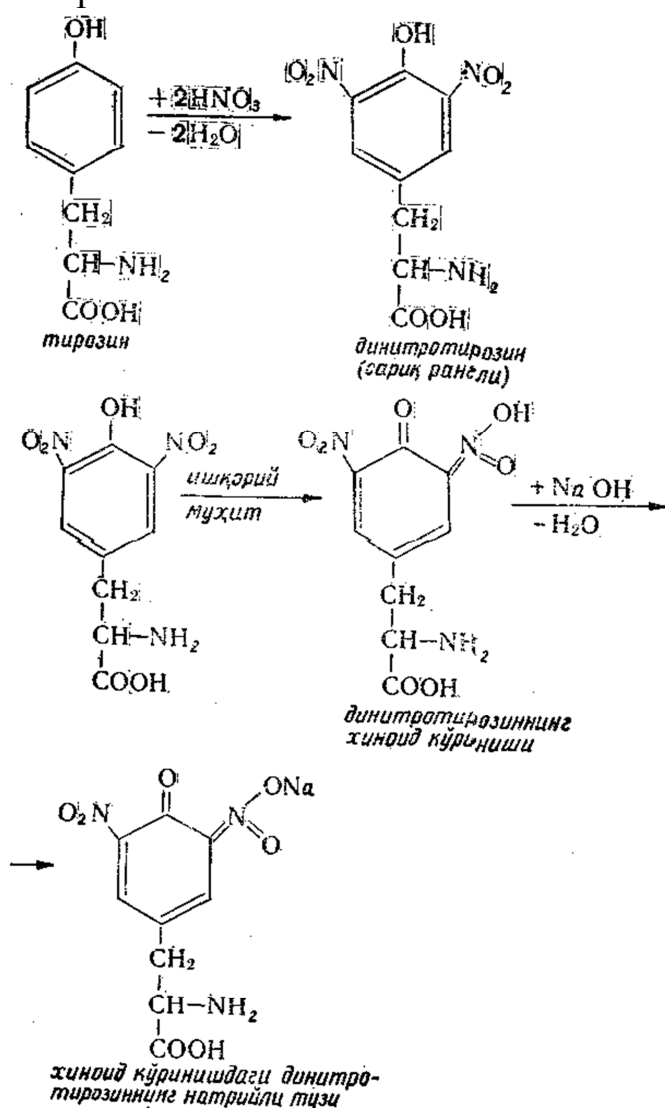
**Ishning bajarilishi.** 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi bug'doy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi alanin eritmasidan tomizib, ustiga 5 tomchidan 0,5% li ningidrin(ningidrin eritmasini tayyorlash 1- ilovada korsatilgan) eritmasidan quyib, 1-2 minut qaynatiladi.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



### 3-TAJRIBA. KSANTOPROTEIN REAKSIYASI

Ksantoprotein reaksiyasi oqsillar molekulasidagi tarkibida benzol yadrosi bor siklik aminokislotalarga (fenilalanin, tirozin, triptofan) 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 benzol yadrosining konsentrlangan nitrat kislota ta'sirida nitrolanishiga asoslangan. Hosil bo'lgan nitrobirikma ishqoriy muhitda xinoid ko'rinishiga o'tib, nitron kislotalari va ularning tuzlarini hosil qiladi.



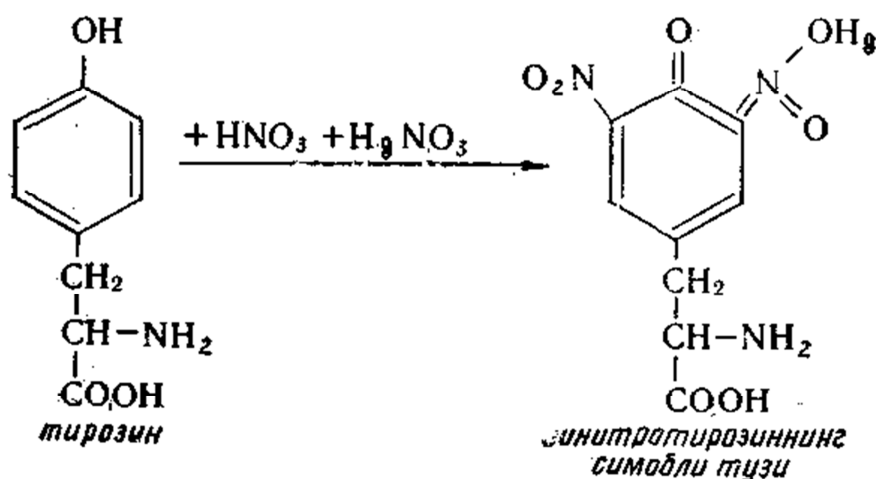
**Ishning bajarilishi.** 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1% li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi bug'doy yoki chigit oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 0,1% li tirozin eritmasidan quyiladi. Hamma probirkaga 3-4 tomchidan konsentrlangan nitrat kislota qo'shib qizdiriladi. Uchala probirkadagi suyuqlik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



#### 4-TAJRIBA. MILLON REAKSIYASI

Millon reaksiyasi oqsil molekulasidagi tirozinga xosdir. Tarkibida tirozin aminokislotalari bor oqsillar bir valentli simobning nitrit va nitrat tuzlari aralashmasining konsentrlangan nitrat kislotadagi eritmasi (Millon reaktivi) ta'sirida oq cho'kma hosil qilib, qizdirganda qizaradi. Bu o'ziga xos qizil rang fenol, saliqilatsalitsilatkislotaga, pirokaxetinlar bilan ham hosil bo'ladi. Ammo tarkibida tirozin bo'lmagan oqsillar jelatina, klupein, salmin va boshqalar Millon reaksiyasini bermaydi.

Millon reaksiyasining kimyoviy mohiyati ksantoprotein reaksiyasini eslatadi:



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

#### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Biuret reaksiyasi qaysi organik guruhni aniqlashda yordam beradi?
3. Erkin  $\alpha$ - aminogruppa uchun xos reaksiya turini tushuntirib bering.



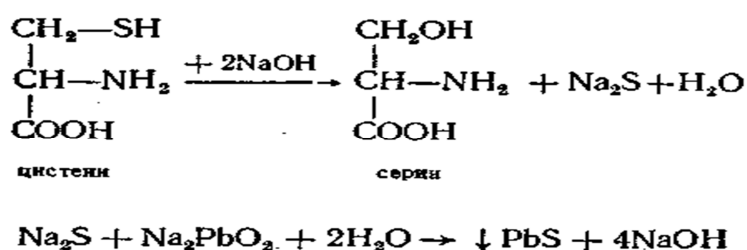
## 6-LABORATORIYA MASHG'ULOTI

### OLTIN GUGURT TUTUVCHI AMINOKISLOTALAR UCHUN REKSIYA

#### 1-TAJRIBA. FOL REAKSIYASI

Fol reaksiyasi yordamida oqsillar molekulasida kuchsiz borlangan oltingugurt bo'lgan aminokislotalar sistein va sistinni aniqlashga imkon beradi. Metionin oltingugurt bilan kuchli bog'langanligi uchun bu reaksiyani bermaydi.

Oqsil eritmasiga ishqor qo'shib qizdirilganda oltingugurt osongina ajralib, natriy sulfid hosil qiladi. Aralashmaga natriy plyumbit yoki qo'rg'oshin atsetat qo'shilsa, qora rangli qo'rg'oshinsulfidcho'kmasi hosil bo'ladi. Reaksiya quyidagicha ketadi:



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

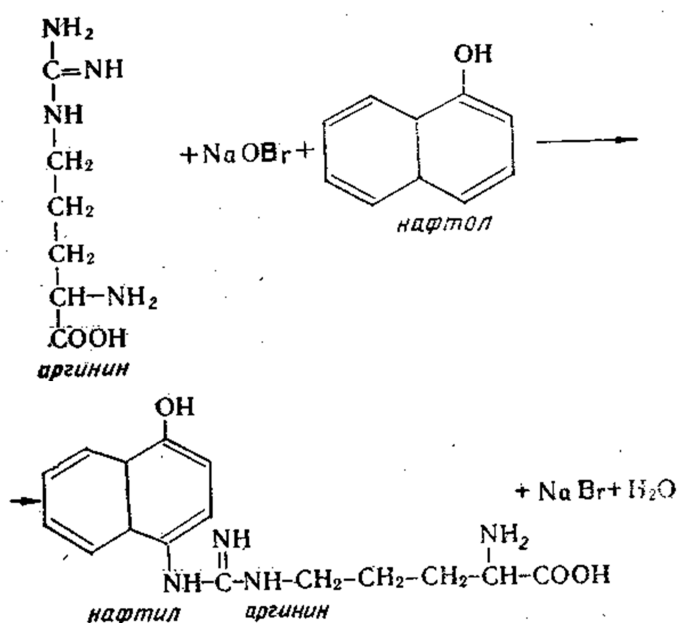
**Ishning bajarilishi.** 3 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1 % li bug'doy yoki soya oqsili, uchinchisiga 5 tomchi 1 % li jelatina eritmasidan quyib, ularning ustiga 5 tomchi 30% li natriy gidroksid va 1 tomchi 5% li qo'rg'oshin atsetati qo'shib, yaxshilab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



## 2-TAJRIBA. SAKAGUCHI REAKSIYASI

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

Arginin gipobromid ta'sirida (oksidlovchi sifatida)  $\alpha$ -naftol bilan kondensatsiyalanadi. Reaksiya vaqtida brom  $\alpha$ -naftol molekulasidagi naftalin yadrosining  $\beta$ -holatiga o'tadi:



Reaksiya faqat argininga xos bo'lmasdan, balki tarkibida guanidin gruppaga bor boshqa moddalar (metil-guanidin, glikosiamin, almatin) ham Sakaguchi reaksiyasini berishi mumkin. Lekin bu birikmalar oqsil tarkibida uchramaydi, shuning uchun reaksiyaga xalaqit bermaydi.

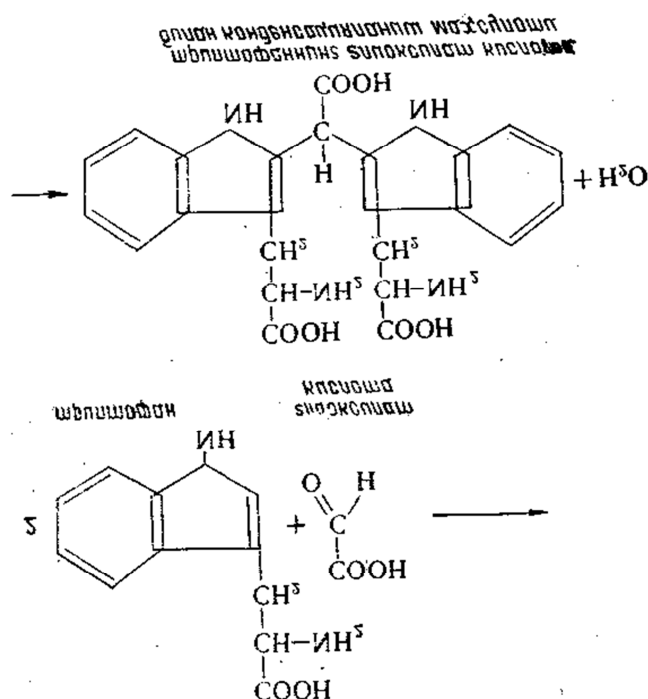
### Ishning bajarilishi.

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

### 3-TAJRIBA. ADAMKEVICH REAKSIYASI

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

Gliksilat kislota doimo oz miqdorda muz-sirka kislota tarkibida bo'ladi, shuning uchun bu kislota gliksilat kislota olinadigan manba sifatida ishlatiladi. Hosil bo'lgan rangning ravshanlik darajasi oksid tarkibidagi triptofanning miqdoriga bog'liq.



**Ishning bajarilishi.** 4 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1 % li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1 % li bug'doy oqsili, uchinchisiga 5 tomchi jelatina, to'rtinchisiga 5 tomchi 0,05% li triptofan eritmasidan quyib, ularning har biriga 5 tomchidan muz-sirka kislota quyiladi. Probirkalardagi suyuqlik sekin-asta qizdiriladi, so'ngra sovutilgach, ohistalik bilan probirka devori bo'ylab 10 tomchidan konsentrlangan sulfat kislota tomiziladi. Bir oz turgandan keyin 1; 2 va 4-probirkalarda 2 qavat suyuqlik chegarasida



qizg'ish-binafsha rang paydo bo'ladi. Agar probirkalar qaynab turgan suv hammomiga qo'yilsa, rangning rivojlanishi tezlashadi. Jelatina molekulasida triptofan bo'lmaganligi uchun uchinchi probirkada rang paydo bo'lmaydi.

**Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Adamkevich reaksiyasi uchun qanday reaktiv va asboblarning zaruri va reaksiya jarayonini tushuntiring.
3. Fol reaksiyasida qora rangning ravshanlik darajasi nimaga bog'liq?

## 7-LABORATORIYA MASHG'ULOTI

### OQSILLARNI CHO'KTIRISH REAKSIYALARI

#### OQSILLARNI MINERAL KISLOTALAR TASIRIDA CHO'KTIRISH

**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'oshinasetat eritmasi, 7% limis (II)-sulfat eritmasi, konsentrlangan nitrat kislota, konsentrlangan sulfat kislota, trixlor sirka 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 aseton.

#### 1-TAJRIBA. OQSILLARNI 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.

**Ishining bajarilishi.** 5 ta probirka olib 10 tomchidan 1% li tuxum oqsilidan tomizib, birinchisiga 1 tomchi distirlangan 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 beshinchi probirkalarda cho'kma hosil bo'lmaydi, zero ularning birida oqsil molekulasi musbat, ikkinchisida manfiy zaryadlanib qolgan.



Ish natijalari jadval ko'rinishida ifodalanadi

3-Jadval

Neytral muhit	Kuchsiz kislotali muhit	Kislotali muhit	Elektrolit	Ishqoriy muhit
Xulosa				

4-Jadval

Oqsillarni cho'ktiruvchi moddalar gruppalarining nomi	Foydalanilgan reaktivlar	Cho'kmaning tabiati va nomi	Cho'ktirish reaksiyasining prinsipi va xususiyati

5-Jadval

Oqsil fraksiyasining nomi	Foydalanilgan tuz	To'yinish darajasi	Muhit raksiyasi

## Xulosa.

Birinchi grafa albumin, globulin yoziladi.

## 2-TAJRIBA. OKSILLARNI OG'IR METALL TUZLARI TA'SIRIDA CHO'KTIRISH

Oqsillar og'ir metall tuzlari ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^+$  va boshqalar) ta'sirida kompleks birikmalar hosil qilib cho'kadi. Bu vaqtda og'ir metall ioni oqsil makro molekulasiga adsorbilanib zaryadsizlantiriladi. Agar og'ir metall tuzi eritmasidan ortiqcha miqdorda qo'shilsa, kolloid 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  $\text{FeCl}_3$ , ikkinchisiga 1

tomchi  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ , uchinchisiga 1 tomchi 7% li  $\text{CuSO}_4$  eritmasidan tomizib, cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi. So'ngra uchala probirkaning har biriga 5-10 tomchidan yuqoridagi tuz eritmalaridan qo'shiladi va cho'kmalarining erib ketishi kuzatiladi.

### **3-TAJRIBA. OQSILLARNI ALKALOID REAKTIVLAR BILAN CHO'KTIRISH**

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

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

Oqsillarni organik erituvchilar bilan cho'ktirish.

#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Trixlorsirka kislota miqdoriy analizlarda qanday jarayonlarda ishlatiladi?
3. Oqsillarni alkaloid reaktivlar bilan cho'ktirish jarayonini tushuntirib bering.



## 8-LABORATORIYA MASHG'ULOTI

### OQSILLARNI ORGANIK ERITUVCHILARDA CHO'KTIRISH REAKSIYALARI

**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'oshinasetat 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 aseton.

#### 1-TAJRIBA. OQSILLARNI ORGANIK ERITUVCHILAR TA'SIRIDA CHO'KTIRISH

Oqsil eritmasiga ko'p miqdorda spirt yoki aseton qo'shilsa, oqsilning loyqa yoki pag'a-pag'a cho'kmasi tushadi. Bu reaksiya oqsil kolloid zarrachasining suv sizlanishiga asoslangan. Oqsil neytral yoki kuchsiz kislotali eritmalarda oson cho'kadi. Agar elektrolit qo'shilsa, cho'kish tezlashadi. Organik erituvchilar past temperaturada 0-15° 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 96° li spirt yoki aseton qo'shiladi, eritma loyqalanadi. Uning ustiga 1 tomchi NaOH ning to'yingan eritmasidan qo'shiladi. Bir oz turgach oqsilcho'kmaga tushadi. O'tkazilgan tajribalarning natijalari jadval ko'rinishida ifodalanadi.

#### 2-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 vaqt ta'sir qilsa, oqsil qisman gidrolizga uchrab cho'kma asta-sekin erib ketadi. Nitrat kislotalarda cho'kma sekin eriydi. Organik kislotalar ta'sirida cho'ktirish keng qo'llanilmoqda. Trixlor sirka kislota miqdoriy analizlarda oqsilsiz, filtrat olish uchun, sulfosalisil kislota, nitrat kislota klinik laboratoriyalarda siydik va boshqa biologik suyuqliklardagi oqsilni aniqlash uchun ishlatiladi.

**Ishning bajarilishi.**1) 2 ta probirka olib, birinчисiga 10-15 tomchi konsentrlangan nitrat kislota, ikkinчисiga shuncha miqdorda konsentrlangan sul'fat 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 (plyonkasi) hosil bo'ladi;

2) 2 ta probirkaga 5 tomchi 1% li tuxum oqsili tomizib, birinчисiga 1-2 tomchi 10% li trixlor sirka kislota, ikkinчисiga 1-2 tomchi 10% li sulfosalisil kislota qo'shib, oq cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Oqsillarni organik erituvchilar ta'sirida cho'ktirish uchun qanday reaktiv va asoblar zarur?

3. Oqsil nativ holati deganda nimani tushunasiz?



## 9-LABORATORIYA MASHG'ULOTI

### OQSILLARNI DIALIZ QILISH

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

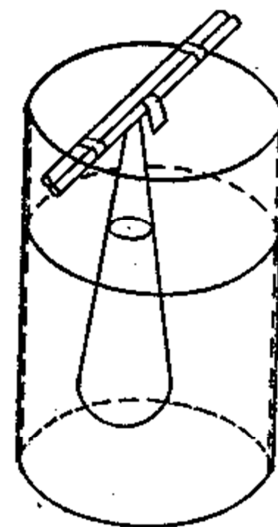
#### 1-TAJRIBA. KOLLODIY XALTACHA TAYYORLASH

**Ishning bajarilishi.** Toza quruq probirka (diametri 2,5-3 sm, uzunligi 4-5 sm) og'zigacha kolloidiy eritmasi quyib, qaytadan idishga ag'darib olinadi. Agar kolloidiy ozroq bo'lsa, probirkani 1/3 qismiga eritma quyib, probirkani asta-sekin aylantirib devorining hamma tomonini kolloidiy xaltacha eritmasi bilan batamom ho'llanadi. Probirka devorida qolgan eritma kolloidiy xaltacha tayyorlash uchun yetarli bo'ladi. Probirka og'zi kaft bilan berkitilib, asta-sekin aylantiriladi, bunda kolloidiyning devor bo'ylab bir xilda tarqalishi ta'minlanadi. Probirka qo'lda isib, spirt bug'lana boshlaydi, kolloidiy quriydi. 5-10 minutdan keyin probirkaga to'latib suv quyiladi. Kolloidiy xaltacha devoridan ajralgandan keyin, pinset bilan asta-sekin probirka chekkasidan ajratib olinadi. Kolloidiy xaltachaning butunligini tekshirish uchun distillangan suv quyiladi.

#### 2-TAJRIBA. OQSILNING TUZLI ERITMASINI DIALIZLASH

**Kerakli asbob va reaktivlar:** uzunligi 4-5 sm, diametri 2,5-3 sm li probirka, sellofan, shisha tayoqcha, rezina halqa, kimyoviy stakan, kolloidiyning spirtli eritmasi,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  aralashgan tuxum oqsili eritmasi, bariy xloridning 1 % li eritmasi, NaOH ning 10 % li eritmasi,  $\text{CuSO}_4$  ning 1 % li eritmasi.

Kollodiyoyoki sellofan xaltacha (dializator)ning 1/3 hajmiga qadar tuxum oqsilining  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  bilan aralashgan eritmasidan quyiladi. Xaltacha yuqori qismidan ikkita shisha tayoqchadan rezina halqa 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 tashqariga chiqqani va oqsil xaltachaning ichida qolganiga ishonch hosil qilinadi.



8-рasm. Энг оддий диализатор.

### 3-TAJRIBA. DIALIZATDA SUL'FATLAR BORLIGINI ANIQLASH

10 tomchi dializatga teng miqdorda 1% li  $\text{BaCl}_2$  eritmasidan qo'shiladi va oq rangli  $\text{BaSO}_4$  loyqasi hosil bo'lishi kuzatiladi.

### 4-TAJRIBA. DIALIZATDA OQSIL BORLIGINI ANIQLASH

10 tomchi dializat olinib, uning ustiga 5 tomchi 10% li  $\text{NaOH}$ , 1 tomchi 1% li  $\text{CuSO}_4$  eritmalari qo'shib chayqatiladi. Aralashma ko'k rangga kirishi dializatda oqsil yo'qligidan darak beradi.

### 5-TAJRIBA. DIALIZLANAYOTGAN SUYUQLIK BILAN BIURET REAKSIYASI O'TKAZISH

Dializ xaltachasidagi suyuqlikdan 10 tomchi olib, ustiga 5 tomchi 10% li ishqor va 1 tomchi 1% li  $\text{CuSO}_4$  eritmalari qo'shiladi. Aralashma qizg'ish-binafsha rangga kirishi oqsil dializ xaltachasi ichida qolganidan darak beradi.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** shtativ, probirkalar, shisha tayoqchalar, pipetkalar, natriy gidrofosfatning 0,2 m eritmasi, jelatina yoki tuxum sarig'ining 1% li eritmasi, etil spirt yoki taninning 0,1% li eritmasi, sirka



kislotaning 0,1 n eritmasi, distillangan suv, natriy asetatning 0,2 M eritmasi, kazeinning 0,4% li eritmasi, limon kislotaning 0,1 M eritmasi, sirka kislotaning 0,2 -M eritmasi.

Oqsillar suvda eriganda ma'lum zaryadga (musbat yoki manfiy) ega bo'ladi. Zaryadning kattaligi oqsillarning aminokislota tarkibiga, undagi ionogen gruppalar miqdori va nisbatiga bog'liq. Shu sababli oqsillar turli darajadagi pH muhitlarida izoelektrik holatga o'tadi, ya'ni dissotsilangan musbat va manfiy zaryadli funksional gruppalarning soni tenglashib, kolloid zarrachaning umumiyzaryadi 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'ini yo'qotib eritmada batamom cho'kadi.

#### **Nazorat savollari:**

- 1.Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Dializ jarayoni nima?
- 3.Dializatda sulfatlar borligini aniqlash uchun nima qilamiz?

## 10-LABORATORIYA MASHG'ULOTI

### OQSILLARNI IZOELEKTRIK NUQTASINI ANIQLASH

#### Nazariy ma'lumot.

Oqsillarning musbat va manfiy zaryadlari yig'indisi nolga teng bo'lib, elektr maydonida na katod va na anod tomonga siljimaيدigan eritmaning pH oqsillarining **izoelektrik nuqtasi** deb ataladi. Turli oqsillarning izoelektrik nuqtasi pH ning har xil o'lchamiga to'g'ri keladi, chunki oqsil molekulalarida ishqor va kislota xarakteriga ega bo'lgan guruhlarining soni bir-biriga teng emas., pH ning turli ko'rsatkichlarida ularning dissotsiatlanish darajasi baravarlashib, molekula, umuman, elektroneytral holatiga keladi. Masalan, kazeinning pH-4,2; tuxum albuminining oqsili-4,8; jelatinniki-4,9; zein-6,2 ga teng. Protaminlar va gistonlarning izoelektrik nuqtasi kuchsiz ishqoriy muhitga to'g'ri keladi.

Oqsillarning izoelektrik nuqtasida cho'kmaga tushirishni tezlatish uchun suvni tortib oluvchi moddalar( spirt, aseton, efir) yoki tannin qo'shiladi. Organik erituvchilar oqsil makro molekulasining suv qobig'ini buzib yuboradi, masalan, tannin bilan azotli geterosiklik guruhlar suvda erimaydigan birikmalarni hosil qiladi.

#### 1-TAJRIBA. TUXUM ALBUMINI YOKI JELATINANINGIZOELEKTRIK NUQTASINI ANIQLASH

**Ishning bajarilishi.** 6 ta probirkaga jadvalda (10-jadvalda ko'rsatilgan miqdorda) ko'rsatilgan miqdorda 0,2 M natriy atsetat  $\text{CH}_3\text{COOHa}$  va 0,2 M atsetat kislota 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 dan 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 quyugligiga qarab 1,2 yoki 3 ta plyus (+) qo'yiladi. Qaysi probirkadagi loyqalanish eng yuqori bo'lsa, jadvalga qarab shu probirkadagi suyuqlikning pH darajasi, shunga qarab tekshirilayotgan oqsilning izoelektrik nuqtasi aniqlanadi.



## 2-TAJRIBA. KAZEINNINGIZOELEKTRIKNUQTASINI ANIQLASH

7 ta probirkaga 0,02 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  va distirlangan suv (6-jadvalda ko'rsatilgan miqdorda) quyiladi.

Hamma probirkaga 0,2 ml dan natriy atsetatning 0,2 M eritmasida eritilgan 0,4% li kazeindan quyiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Bu vaqtda hamma (chekklaridagidan tashqari) 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.

6-Jadval

### Jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Probirka raqami	0,2 M natriy atsetatning miqdori	0,2 M sirka kislotaning miqdori (ml da)	Aralashmaning qiymati	Qo'shilgan jelatina yoki tuxum albuminiyning miqdori (ml da)	Qo'shilgan taminning 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	7,2	5,35	0,5	1	
5	0,9	0,1	5,7	0,5	1	

7-Jadval

### Kazeinning izoelektrik nuqtasini aniqlash

Probirka raqami	0,2 M sirka kislotasi miqdori (ml da)	Suvning miqdori (ml da)	0,2 M natriy atsetatdagi 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	

### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Oqsillarning izoelektrik nuqtasi nima?
3. Tuxum albumini yoki jelatinaning izoelektrik nuqtasini aniqlash jarayonini sxematik tushuntirib bering.

## **11-mashg'ulot. QOG'OZ XROMOTAGRAFIYA USULI BILAN AMINOKISLOTALARNI AJRATISH**

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

Moddalarni ajratish mexanizmiga qarab xromatografiyaning bir necha turlari bor, chunonchi adsorbsion, tarqatuvchi, diffuzion 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 ajratishda yaxshi sifatli oddiy filtr qog'ozidan foydalanish mumkin. Bu usul turli xildagi aminokislotalarning qisman aralashadigan ikki xil suyuqliklarda, masalan, biri suvda, ikkanchisi 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 sellyulozaga xromatografiya kamerasidagi nam bilan, to'yingan atmosferadagi suv bug'lari ko'rinishida shimilgan bo'lib, qog'oz tashqi ko'rinishidan quruq bo'ladi. Organik erituvchi esa harakatdagi faza hisoblanadi. Aminokislotaning 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 kimyoviy tuzilishi va xossalriga bog'liq. Erituvchi qog'ozning ikkinchi chekkasiga yaqinlashganda protsess 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 ajralganidan darak beradi.

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

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

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

Xromotogrammada aminokislotalarning taqsimlanish joyini aniqlash uchun «guvoh» moddalardan foydalanish qulaydir, ya'ni shu xromotogrammaning o'ziga aniq, toza individual aminokislotalar – «guvoh» moddalar tomizib ko'riladi.

Xromotografiya jips yopiladigan kameralarda olib borilishi kerak, chunki bu erituvchini bo'g'lanib ketishidan saqlaydi, kameraning erituvchi bug'lari bilan to'yinishini ta'minlaydi. Bu maqsadlarda maxsus xromatografik kameralar yoki oddiy probirka, Petri kosachasidan foydalanish mumkin.

Biz quyida xromotografiyaning 2 ta oddiy usuliga: a) yuqoriga ko'tariluvchi xromotografiya, b) radial xromotografiyaga to'xtalib o'tamiz.

### **1-usul. Yuqoriga ko'tariluvchi xromotografiya.**

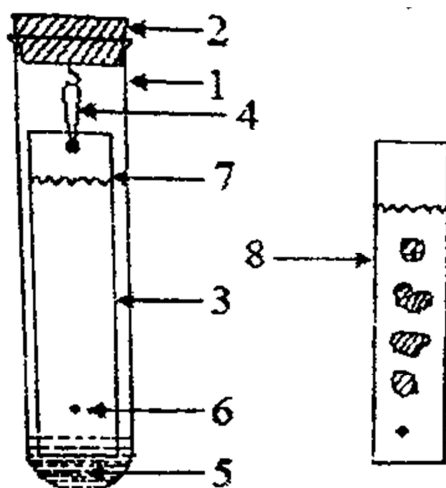
**Kerakli asbob va reaktivlar:** eni 1,5 sm, uzunligi 12-15 sm bo'lgan filtr qog'oz, ip, qora grafit qalam, kapilyar yoki mikropipetka, diametri 2-2,65 sm, uzunligi 18-20 sm li probirka, pipetkalar, termostat, quritkich shkaf, pulverizator, diametri 12 sm li filtr qog'oz. O'lchov probirkasi, filtr qog'oz,



qaychi, pinset, lineyka, Petri kosachasi, glyutamin kislota, alanin, leysin, to'yingan fenol yoki butanol eritmasi, o'simlik yoki hayvon to'qimasidan ajratib olingan ekstrakt.

**Ishning bajarilishi.** Rasmda ko'rsatilgandek

Yuqoriga ko'tariluvchi xromotografiya.



- 1- keng diametrli slindir; 2 - tiqin; 3 - xromotografiyaqog'oz; 4- xromotografiyaqog'ozini ilib qo'yish uchun ip; 5- erituvchi sistema; 6-start nuqta 7- erituvchi fronti; 8 -xromotogramma

Eni 1,5 sm, uzunligi 15 sm keladigan filtr qog'oz kesib olinib, yuqori qismiga 15-20 sm uzunlikda ip o'tkazib olib quyiladi. Qog'oz lentaning pastki chekkasida 1 sm yuqoriga 3-4 mm diametrda qora grafit qalamda doira chizib quyiladi. Doiraning o'rtasiga kaplya yoki mikropepitka yordamida aminokislota aralashmasi (masalan, glyutamat kislota, alanin va lizin aralashmasi) tomiziladi va quritiladi.

Diametri 2-2,5 sm uzunligi 18-20 sm keladigan probirka olib, devoriga tekkizmasdan 15-20 tomchi (2 mm) suvga to'yingan fenol (yoki butanol) quyiladi. Tayyorlangan qog'oz lentani bog'langan ipdan ushlab, 2-3 mm chuqurlikga erituvchi botguncha tushurilib, qog'ozni probirka devoriga tekkizmay va aniq vertikal holatini saqlab, probka (qopqoq) bilan berkitib quyiladi. Probirka 35-40°C termostatda 90-120 minut davomida qoldiriladi. Shu vaqt ichida erituvchi fronti 10-12 sm ko'tariladi.

Ko'rsatilgan vaqt o'tgandan keyin xromotogramma olinib, 10-15 minut davomida to fenol yoki boshqa erituvchi batamom uchib ketguncha 50-100<sup>o</sup>S quritgich shkafiga osib qo'yiladi.



Erituvchi uchib ketgach, qog'oz lentani olib shtativga ilib qo'yiladi va unga 0,5% ningidrin eritmasidan pulverzator yordamida purkaladi yoki kyuvetaga ningidrin eritmasi quyib, unga xromotografik qog'oz botiriladi. Yana 100-110°C quritgich shkafiga 5-6 minut ilib qo'yiladi. Natijada qog'ozning aminokislota to'xtagan joyi ko'k, ko'kish-binafsha ranga bo'yaladi.

Keyin lineyka yordamida har bir aminokislota uchun  $R_f$  – aniqlanadi..

Taqsimlanish koeffitsenti deb aminokislota tomizilgan joydan (start) aminokislota dog'ining markazigacha bo'lgan masofa (millimetrlarda) ( $a$ ) ning start nuqtadan erituvchi frontigacha bo'lgan masofaga ( $b$ ) nisbatiga aytiladi:

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

#### Nazorat savollari:

1. Tajribada kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Xromotogramma nima va uning vazifasi?
3. Nima uchun xromotografiya jips yopiladigan kameralarda olib borilishi kerak?

### **12-mashg'ulot. Qog'oz xromotografiya usuli bilan aminokislotalarni ajratish. Radial xromotografiya.**

Xromotogrammada aminokislotalarning taqsimlanish joyini aniqlash uchun «guvoh» moddalardan foydalanish qulaydir, yani shu xromotogrammaning o'ziga aniq, toza individual aminokislotalar – «guvoh» moddalar tomizib ko'riladi.

Xromotografiya jips yopiladigan kameralarda olib borilish kerak, chunki bu erituvchini bo'g'lanib ketishidan saqlaydi, kameraning erituvchi bo'g'lari bilan to'yinishini ta'minlaydi. Bu maqsadlarda maxsus xromotografik kameralar yoki oddiy probirka, Petri kosachasidan foydalanish mumkin.

Biz quyida xromotografiyaning 2chi oddiy usuliga: b) radial xromotografiyaga to'xtalib o'tamiz.

## 2-usul. Radial xromotografiya.

**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, quritkich shkaf, pulverizator, diametri 12 sm li filtr qog'oz. O'lchov probirkasi, 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.

**Ishning bajarilishi.** Radial xromotografiya uchun 12 sm diametrli (Petri kosachasi diametrida kattaroq) qog'oz diskni qalam bilan to'rt teng qismga bo'lib, o'rtasida diametrli 1 sm li teshik ochiladi va har bir sektorning boshlanishida start nuqta uchun qalam bilan doira chiziladi. Filtr qog'ozdan balandligi 2 sm bo'lgan naycha shaklidagi oyoqcha (pilik) tayyorlab xromatografiya disk o'rtasidagi teshikka o'rnatiladi. So'ngra Petri kosachasining qopqog'iga qo'yib, xromatografik qogozning har bir qismidagi start doiraga kapillyar yordamida quyidagi aminokislota tomiziladi: 1) alanin, 2) glutamin kislota, 3) leysin, - 4) aminokislotalar aralashmasi. Shundan keyin 10 minut davomida havoda quritiladi. Petri kosachasining tag qismiga 10 ml suvga to'yintirilgan fenol quyib, ohistalik bilan qog'ozfiltr erituvchiga tegib turadigan qilib joylashtiriladi va 1 soat davomida xona temperaturasida qoldiriladi. Petri kosachasini shunday tanlash ma'qulki, ostki va ustki (qopqoq) qismining diametri teng bo'lsin (5-rasm, v). Natijada jips berkitilgan kamera hosil bo'ladi. Ko'rsatilgan vaqt ichida erituvchi xromatografik qog'oz chekkasiga borgan bo'lsa, qopqoq ochilib pintset yordamida xromatografik diskni chekkasidan ushlab 10 minut davomida 100-120°C li qurituvchi shkafga yoki termostatga qo'yiladi. Bu vaqt ichida erituvchi batamom uchib ketadi va aminokislotalar ham fiksatsiyalanadi. So'ngra xromatogrammani gorizontol holatga qo'yib, pulverizator bilan ningidrin eritmasidan purkalanadi va 5-10 minut davomida 100-120° li termostatga qo'yiladi.

Xromatogramma daftarga yopishtirib qo'yiladi yoki rasmi chizib olinadi. Lineyka yordamida masofalar o'lchanib, har bir aminokislota uchun  $R_f$  aniqlaniladi.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda







### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Biuretkompleksirangining gravshanlik darajasini mialarga bog'liq.
3. Biuret raksiyasi qanday sifat reaksiyasi?

### 14-mashg'ulot. Oqsil miqdorini Louri usuli yordamida aniqlash

Oqsil miqdorini aniqlashda bu metod juda keng qo'llaniladi. Bu metod yuqori sezgirlikka ega bo'lib, namunalardagi 10-100 mkg bo'lgan oqsil miqdorini aniqlash mumkin. Metod aromatik amino kislotalarni Folin reaktivi bilan birgalikda biuret reaksiyasining peptid bog'lari hisobiga hosil qilgan ranglarga asoslangan. Oksid miqdorini aniqlash uchun kalibrlangan grafik tuziladi. Bu grafik tuzish uchun albuminning standart eritmalaridan foydalaniladi.

**Kerakli asboblari, reaktivlar:** shtativ; probirkalar; 0,1, 1,5 va 10 ml li pipetkalar; spektrofotometr. 1. Natriy ishqorining 0,1 n eritmasi. 2. A eritma: 2% li natriy karbonatning 0,1 n li natriy ishqoridagi eritmasi. 3. Veritma: 0,5 % li mis sul'fatning 1 % li natriy tartaratdagi eritmasi. Eritmani tayyorlash uchun 10 g natriy tartarat tuzi 300 ml suvda eritiladi. So'ngra eritmaga 5 g mis sulfat qo'shiladi va hajmi 1 litrga etkaziladi. 4. S eritmasi: bu eritmani tayyorlash uchun 49 ml A eritmaga 1 ml Veritmadan qo'shiladi. Bu eritma analiz qilishdan oldin tayyorlanadi. 5. Folin reaktivi yoki E eritmasi. Eritmani tayyorlash uchun 2 litrlik kolbaga 100 g

$H_2SO_4 \cdot 2H_2O$  va 25 g  $Na_2SO_4 \cdot 2H_2O$  tuzidan olib, 700 ml suvda eritiladi. So'ngra eritmaga 50 ml 85 % li  $H_2SO_4$  kislota va 100 ml konsentrlangan HCl kislotadan qo'shiladi. Keyin esa shu aralashma solingan kolbani qaytaruvchi sovitgichga ulab, 10-12 soat qaynatiladi. Qaynatib bo'lgach 150 g litiy sul'fat, 50 ml suv, bir necha tomchi bromlisuv qo'shiladi. Ortiqcha bromni chiqarib yuborish uchun 15 minut sovitgichsiz qaynatiladi. Aralashma xona haroratigacha sovutilib, fil'trlanadiva hajmi 1 litrga etkaziladi. Folin reaktivining kislotaligi fenolftalein ishtirokida 0,1 n natriy ishqori bilan titrlanib aniqlanadi. Reaktiv qorong'u idishga solib saqlanadi. Oqsilni aniqlashda kislotaligi 1 n bo'lgan Folin reaktivi ishlatiladi.

**Ishning borishi.** Kalibrlangan grafik tuzish uchun albuminning standart eritmasi tayyorlanadi. Buning uchun 4 mg albuminni 10 ml suvda

eritiladi, bu eritmaning 0,1 ml 40 mkg oqsil miqdorini saqlaydi. Probirkalarga 10-120 mkg al'bumin oqsili eritmasi solinadi. Buni tayyorlash quyidagi jadvalda ko'rsatilgan.

Probirkalar nomeri	Oqsil mikdori, mkg	Oqsil eritmasi, ml	Distillangan suv, ml
1	120	0,3	0,1
2	110	0,275	0,125
3	100	0,250	0,150
4	90	0,225	0,175
5	80	0,2	0,2
6	70	0,175	0,225
7	60	0,150	0,250
8	50	0,125	0,275
9	40	0,1	0,3
10	30	0,075	0,325
11	20	0,050	0,350
	10	0,025	0,375
			0.4

Har bir probirkaga 2 ml S eritmasidan solib, yaxshilab aralashtiriladi va xona haroratida 10 minut qoldiriladi. So'ngra 0,2 ml Folin reaktividan qo'shiladi, probirkalarni chayqatib, 30 minut xonada qoldiriladi. Keyin spektrofoto metrda 750 nm to'lqin uzunligida oqsilsiz probaga qarshi o'lchanadi. Olingan ma'lumotlardan grafik tuziladi. Buning uchun ordinat o'qiga optik zichlik kattaligi, absissa o'qiga oqsil miqdori m kg qo'yiladi. Biologik ob'ektda oqsil miqdorini aniqlash uchun, probirkaga 0,4 ml tekshirilayotgan oqsil (50 yoki 100 marta suyultirilgan) solib, yuqorida yozilgan sharoitda ish olib boriladi. Optik zichligiga qarab grafikdan oqsil miqdori aniqlanadi, keyin suyultirilmagan obyektidagi oqsil miqdori m g da hisoblanadi. Kalibrlangan grafik: Absissa o'qidan amunalardagi oqsillar miqdori, mkg (S); Ordinata o'qida optik zichlik (E).

#### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Louri usuli reaksiyasi jarayonini tusuntiring.
3. Albuminlarga misol ayting va ta'riflang.



## 15-mashg'ulot. Nukleoproteinlarni achitqidan ajratib olish, oddiy oqsillar gidrolizi

Nukleo proteinlarning kimyoviy tarkibini o'rganish uchun qulay ob'yekt achitqi hujayralari hisoblanadi. Quruq achitqi massasi yoki undan ajratib olingan nukleoproteinni sulfat kislota yordamida gidrolizlansa, polipeptidlarga, purin va pirimidin asoslariga uglevod komponentiga va fosfat kislotaga parchalanadi. yordamida aniqlash mumkin. Nukleoproteidlar quyidagicha parchalanadi: Polipeptidlar biuret reaksiyasi yordamida aniqlanadi. Purin asoslarini kumush oksidining ammiakli eritmasi, uglevodlarni Trommer yoki Feling reaktivlari, fosfat kislotani esa ammoniy molibdat yordamida aniqlash mumkin.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** chinni xovoncha, pipetka, laboratoriya sentrifugasi, sentrifuga tarozi, shisha tayoqcha, 25-30 sm uzunlikdagi shisha nay yoki qaytar sovitgich, gaz gorelka yoki spirt lampa, sentrifuga probirkalari, oddiy kimyoviy 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.

### Ishning bajarilishi.

#### 1-bosqich.

1. Achitqidan nukleo proteidlarni ajratib olish.

Chinni xovonchaga 1 g achitqi solib, uning ustiga 1-2 tomchi efir, 4-5 tomchi suv tomiziladi 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. Xovonchadagi massa sentrifuga probirkasiga solinadi, ikkinchi shunday probirkaga suv quyib, sentrifuga tarozisida tenglashtiriladi va 10 minut sentrifugalanadi. Sentrifuga pipetka yordamida toza xovonchaga o'tkaziladi va shisha tayoqcha yordamida, aralashtirib turgan holda 5% li sirka kislota eritmasidan 1,5 ml quyiladi. Bunda nukleoproteid cho'kmasi hosil bo'ladi. Xovonchadagi aralashma pipetka yordamida sentrifuga probirkasiga o'tkaziladi va 10 minut sentrifugalanadi. Sentrifuga to'kib tashlaydi, nukleoprotein cho'kmasi esa gidrolizlanadi. Nukleoproteinlar prostetik guruhlari nuklein kislotalari-DNK yoki RNK dan iborat. Nukleoproteinlar ishqoriy sharoitda yaxshi eriydi va kislotalar ta'sirida cho'kmaga tushadi.



Dezoksiribo nukleoproteinlar kichik konsentrasiyalı tuz eritmasida cho'kadi, yuqori konsentrasiyalı tuzlar eritmasida esa eriydi.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Quruq achitqi massasi yoki undan ajratib olingan nukleoproteinni sulfat kislotaga yordamida gidrolizlansa, nimalarga parchalanadi?
3. Trommer yoki Feling reaktivlari orqali nima aniqlanadi?

### 16-mashg'ulot. Nukleoproteidlar gidrolizi

Nukleoproteinlar suyultirilgan kislotalar bilan chala gidroliz qilinganda ulardan oqsil va nuklein kislotaga ajralib chiqadi. Nuklein kislotalarning o'zi gidrolizlanganda birin-ketin quyidagi parchalanish mahsulotlari hosil bo'ladi:

**Kerakli asboblari va reaktivlari;** probirkalar bilan shtativ; pipetkalar; suvhammomi.

1. Nukleoproteinlarning cho'kmasi. 2. Sulfat kislotasining 5% eritmasi.

3. Konsentrlangan sulfat kislotasi. 4. Natriyli ishqorining 10% li eritmasi.

5. Ammiakning konsentrlangan eritmasi. 6. Natriyli ishqorining 10% li eritmasi. 7. Mis sulfatning 1% li eritmasi. 8. Kumush nitratni ammiakli eritmasi: kumush nitratning 1- 2% li eritmasiga ammiak eritmasidan qo'shiladi, natijada cho'kma hosil bo'ladi, so'ngra (molibden reaktivi: 3,75 g ammoniy molibdat 50 ml suvda eritiladi va 50 ml 32% li nitrat kislotaga qo'shiladi.)

#### **Deoksiribonukleoproteinlarni jigar va taloqdan ajratib olish.**

Nukleoproteinlarning bu turi hujayra yadrosining eng muhim tarkibiy qismi hisoblanadi. Shuningdek ular yadroning oqsillari deb ham ataladi. Jigar, taloq, oshqozon osti bezi, buyrak nukleoproteinlarga boydir. Yadro oqsillarining harakterli xossasi tuzlarning kuchli eritmalarida (natriyxlord va boshqalar) yaxshi eriydi va kislotali eritmalarda esa cho'kmaga tushadi.

**Kerakli asboblari va reaktivlari:** sentrifuga; qaychi; xavoncha; 300 va 400 ml li stakan; 100 ml lisilindr; texnik tarozi. Yog'och tayoqcha



1. Mol, quyon, cho'chqaning jigari yoki talog'i, yangisi yoki muzlatilgani.

2. Natriyxlوريدning 5 %li eritmasi..

**Ishning borishi.** 2-2,5 g jigar yoki taloq olib, qaychi bilan yaxshilab maydalanadi, so'ngra xavonchaga 5 %li natriyxlوريد eritmasidan ozgina solib eziladi. Shundan keyin xovonchaga oz-ozdan 70-80 ml osh tuzi eritmasidan solib, 10-15 minut davomida eziladi.

Xovonchadagi gomogenat sentrifuga stakanlariga solinadi va 10-15 minut 2500 ayl/minut tezlikda sentrifugalanadi, so'ngra cho'kmasi tashlab yuboriladi va suyuqlik qismining hajmi silindr bilan o'lchanadi. Suyuqlik hajmidan olti marta ko'p suv o'lchab stakanga solinadiva uni yog'och tayoqcha bilan aylantirish davomida suvga suyuqlik qo'yiladi. Dezoksiribonukleoproteinlar ipsimon holatda cho'kmaga tusha boshlaydi, ularni yog'och tayoqcha bilan o'rab olinadi va probirkaga solinadi. Ularnukleoproteinlar bilan olib boriladigan sifat reaksiyalari uchunishlatiladi.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

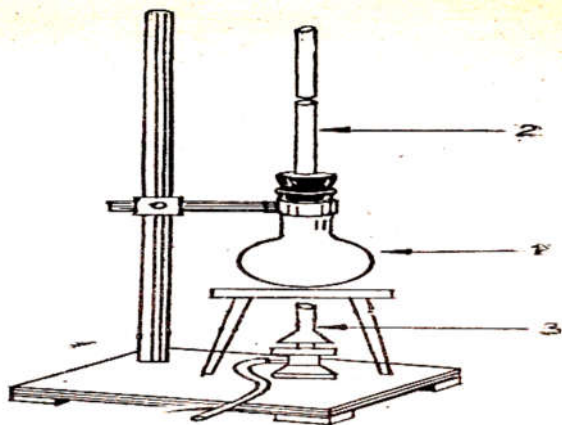
2. Nukleoproteinlar qanday organik moddalar?

3. Yadrooqsillarining harakterli xossasi?

## 17 - mashg'ulot. Nukleoproteidlar gidrolizi mahsulotlarini aniqlash

### 1-bosqich. Nukleoproteinlarni gidrolizlash.

Probirkaga yoki kolbaga nukleoprotein cho'kmasi yoki 100 mg qu-ritilgan achitqi) solinib, ustiga 10 % li sulfat kislotasi eritmasidan 4 ml quyiladi.



Probirka og'zi sovitgich sifatida uzun rezina nay(25-30 sm) o'tkazilgan probka bilan berkitiladi va asbest to'rga qo'yib, kuchsiz alanga yoki elektr plitkasida qutuq spirtida qizdiriladi

Aralashma bir soat qaynatilgandan keyin qizdirish to'xtatiladi va sovitiladi, so'ngra filtrlanadi. Filtr bilan polipeptidlar, 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 reaktiviga 2-3 tomchi gidrolizat qo'shib, bir necha minut qizdiriladi. Agar gidrolizatda fosfat kislota bo'lsa, suyuqlik limon sarig'i rangiga kiradi. Sovitilganda sariq kristall cho'kma paydo bo'ladi.

### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Trommer reaksiyasiga xos jarayonlarni tushuntiring.

3. Trommer reaksiyasida qizg'ish loyqa hosil bo'lish mexanizmini tushuntirib bering.

## **18-mashg'ulot. Fosfoproteinlarga xos reaksiyalar**

Biologik obyektlardan oqsillarni ajratib olish. Oqsillarning sifatini aniqlash uchun avvalo ularni toza holda ajratib olish kerak. Bu oqsillarni biologik qiymatini xarakterlovchi belgilaridan biri. Uning aminokislotali tarkibi, uni ajratib olingan umumiy oqsillarda ko'riladi.



Bu oqsillar tarkibida fosfat kislota (0,40-0,88 %) qoldig'ini saqlaydi.

Oksiamino kislotalar (serin, treonin) fosfat kislota bilanefirli bog'i orqali boglanib, fosforli birikmalarni hosil qiladi. Fosfoproteinlarga muhim biologik rol o'ynaydigan quyidagi oqsillar kiradi: sutdagi kazeinogen (kazein), tuxum sarig'iga oqsillarivitellin, vetillinin va vitin, baliq uvildirig'lari oqsillari, fermentlar, pepsin, fosforilaza, fosfoglyukomutaza va boshqalar. Hujayra yadrosi fosfoproteinlari: gistonlar va giston bo'lmagan xromatin oqsillari proteinkinaza fermenti va ATF ishtirokida fosforlanadi. Bu fosforlanish xromatin regulyatsiyasida katta rol o'ynaydi. Fosfoproteinlar kislotali eritmalarda cho'kmaga tushadi, suvda erimaydi, suyultirilgan ishqor eritmalarida eriydi.

Sutda kazein suvda eriydigan kalsiy tuzi ko'rinishida uchraydi, kislotali muhitda kalsiy tuzi parchalanib kazein cho'kadi, ortiqcha kislota qo'shishdan ehtiyot bo'lish kerak (kazeinning izoelektrik nuqtasi pH-4,7ga teng) pH 4,7 past bo'lsa qayta zaryadlanib erib ketishi mumkin.

#### **Sutdan kazein ajratib olish.**

**Kerakli asbob va reaktivlar :** Menzurka, petri idishi, probirkalar, filtr qog'ozi, shisha stakanlar, sut, kazein kukuni, natriy gidroksidi 10%, sirka kislota 10% eritmasi mis(II) sulfatning 1%, eritmasi va konsentrlangan nitrat kislota.

#### **Ishning bajarilishi:**

Bizga tabiiy sut yoki sut kukuni kerak bo'ladi. Kazeining cho'kmasini olish uchun shisha stakanga 6ml sut olib teng miqdorda distillangan suv bilan suyultiriladi va unuig ustiga 6 tomchi suyultirilgan 10% sirka kislota tomiziladi,

Stakanda oq pag'a-pag'a cho'kma hosil bo'ladi, cho'kma ni filtrlab olib distillangan suvda yuviladi. Olingan kazein cho'kmadan foydalanib oqsillarga xos reaksiyalar qilib ko'riladi. Byuret reaksiyasi, Ksantoprotein, Millonga xos reaksiyalar qilib ko'riladi. Bureaksiyalarni bajarish uchun avvalgi (5-laboratoriya yo'riqnomasiga qarang) tajribalarga tayaniladi va natijalarini kuzatib xulosa qiling.

Ajratib olingan kazein tarkibida fosfoproteinlar borligini aniqlashda gidrolizlash uchun ishlatiladi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Fosfoprotogenli oqsillarni tabiatda uchrashi va ahamiyati nimada?

### **19-mashg'ulot. Kazein tarkibidagi fosfatni aniqlash.**

Kazein-fosfoproteinlarning vakili bo'lib, sutdan ajratib olinadi. Kazein ishqoriy gidroliz qilingandan oqsilga va fosfat kislotasining qoldig'iga parchalanadi.

**Kerakli asboblari va reaktivlar;** pipetkalar, probirkalar, shisha nay o'tkazilgan tiqin, asbest to'r, shtativ, quruq spirt, filtr qog'ozi.

1. Natriy ishqorining 10% li eritmasi.

2. Sulfat kislotasining 10% li eritmasi.

3. Molibden reaktivi (3,75 ammoniy molibdat 50 ml suvda eritiladi va 50 ml nitrat kislotaga qo'shiladi. 3-ildovaga qaralsin)

4. Mis sulfatning 1% li eritmasi.

5. Kazein (yanchilgan) ajratib olingan cho'kmasi.

**Ishning borishi.** Kazeinning gidrolizi.

Probirkaga 0,1 g kazein solib, 10 ml natriy ishqorining 10% li eritmasidan qo'shiladi va havo xolodlikli probirka bilan berkitiladi. Keyin 10-15 minut qaynatiladi va sovutilgach gidroliz mahsulotlari uchun reaksiya bajariladi.

1. Oqsillarni aniqlash.

Oqsillarni aniqlash uchun biuret reaksiyasi amalga oshiriladi. Buning uchun probirkaga 1-2 ml gidrolizat 1-2 ml natriy ishqorining eritmasi va 2-3 tomchi mis sulfatning eritmasidan solinadi. Reaksiya natijasida binafsha rang hosil bo'ladi.

2. Fosfat kislotaqoldig'ini aniqlash.

Probirkaga 1-2 ml gidrolizatdan va 8-10 tomchi sulfat kislotasining eritmasidan solib aralashtiriladi, so'ngra unga 10 tomchi molibden reaktividan qo'shib, qaynaguncha qizdiriladi. Suyuqlik sariq rangga kiradi-ammoniy fosfomolibdatning sariq cho'kmasi hosil bo'ladi, bu holgidan fosfat kislotasining qoldig'i borligidan dalolat beradi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Kazein oqsili haqida ma'lumot bering.



### III BO'LIM. FERMENTLAR

#### **20-mashg'ulot. Fermentlarning yuqori temperature ta'sirida intaktivatsiyaga uchrashi. Ferment aktivligiga ta'sir qiluvchi omillar**

Fermentlar aktivligiga ferment va substratning konsentrasiyasidan tashqari anzimatik reaksiyaning ishtirokchilari, ya'ni temperatura, vodorod ionlari konsentrasiyasi, aktivatorlar va paralizatorlar ham asosiy ta'sir qiluvchi omillar hisoblanadi. Bu omillarning ferment katalitik aktivligiga ta'sir qilish mexanizmi enzimning aktiv markazi shakllanishiga, fermentativ reaksiyaning asosiy sharti bo'lgan ferment bilan substratning kompleks hosil qilishi uchun sharoit yaratilishiga bog'liq.

Har qanday katalitik reaksiyalar singari fermentativ reaksiyaning tezligi temperatura ko'tarilishi bilan ortadi. Lekin boshqa sun'iy anorganik katalizatorlardan farq qilib, fermentlar aktivligining ortishi 40-45°C gacha davom etadi. 50-60° lardan boshlab aktivligi birdaniga pasaya boshlaydi, 70-75°C da ferment denaturasiyalanib, faoliyatini to'xtatadi. Fermentlarning temperaturaga chidamsizligi ularning oqsil tabiati bilan bog'liq.

#### **Ferment aktivligiga temperaturaning ta'siri**

**Kerakli asbob va reaktivlar:** shtativ, probirkalar, muzli stakan, suv xammomi yoki termostat, pipetkalar, kraxmalning 1% li eritmasi, 10 marta suyultirilgan so'lak eritmasi, yodning 0,1% li eritmasi.

#### **Ishning bajarilishi.**

**Suyultirilgan so'lak tayorlash:** Og'iz bir nech marta suv bilan chayiladi va 20 ml distillangan suvda suyultiriladi bir necha marta yaxshilab aralashtiriladi. Shunday qilib bir necha martatakrorlab kerakligicha 50-60 ml suyuqlik tayorlash mumkin 4 ta probirka olib, ularning har biriga 10 tomchidan 1%li kraxmal eritmasidan quyiladi, birinchi probirkani muzli stakanga, ikkinchisini xonatempurasiga, uchinchisini 45° li suv hammomiga, to'rtinchisini 75°C li suv hammomi yoki termostatga quyiladi, 5 minut o'tgandan keyin probirkalarning hammasiga shu turgan holatida 10 marta suyultirilgan so'lakdan 10 tomchidan qo'shib, yana 5 minut shu holatda qoldiriladi. Bu muddat

o'tgandan so'ng probirkalardagi aralashmalardan alohida probirkalarga 1-2 tomchidan olib, ustiga 1 tomchidan 0,1% li yod eritmasidan tomiziladi. Agar hamma probirkalardagi suyuqliklar ko'k rangga kirsa, inkubatsiya yana 5 minut davomida qoldiriladi va yod bilan reaksiya qaytadan qilib ko'riladi. Turli xil probirkalardagi suyuqliklar yod bilan har xil rangga kirishi kraxmalning har xil darajada gidrolizlanganidan darak beradi. Fermentativ reaksiyaning eng yuqori tezligiga 45° C ga erishiladi. Gidrolizning eng sekin ketishi yoki amalda ketmasligi 1 va 4 probirkalarda, ya'ni 0° va 75°C da kuzatiladi. Tajriba natijalari jadvalda (-jadval) qayd qilinadi:

13-Jadval

### Ferment aktivligiga temperaturaning ta'siri

	0°	20°	45°	75°
Tekshirilayotgan eritmaning yod bilan bergan rangi				
Rangli mahsulotning nomi				
Xulosa				

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Fermentlarning spesifikligiga misol keltiring.
3. Fermentlar aktivligiga ta'sir qiluvchi omillarni sanang.

### 21-mashg'ulot. Fermentlarning spetsifikligi

Fermentlarning eng muhim xususiyatlaridan biri, ulardan har birining ta'siri o'ziga xosligidir. Fermentlarning spesifikligi ularning ma'lum bir substratga yoki kimyoviy bog'ga ta'sirida namoyon qiladi. Masalan: amilaza faqat kraxmalni maltozagacha parchalasa, saxaroza yoki laktozaga ta'sir ko'rsatmaydi. Achitqi hujayrasidagi saxaroza esa laktoza yoki kraxmalni parchalamaydi, faqat saxarozani glyukozava fruktozaga gidrolizlaydi. Ferment bilan substrat orasidagi o'zaro aloqaning o'ziga xosligining asosiy sababi ferment aktiv markazining strukturasi bilan substrat molekulasining



fazoviy tuzilishi orasidagi monandlikdir.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** shtativ (probirkalari bilan), pipetkalar, suv hammomi. Kraxmalning 1% li eritmasi, saxarozaning 1 % li eritmasi, 5 marta suyultirilgan so'lak achitqi, Lyugol eritmasi.

**Ishning bajarilishi.** 4 ta probirka olib, 2 tasiga 10 tomchidan 1% li kraxmal, qolgan 2 tasiga 10 tomchi 1% li saxaroza eritmasi quyiladi. 1- va 3- probirkalarga 5 marta suyultirilgan so'lakdan 5 tomchidan, 2- va 4- probirkalarga 5 tomchidan achitqi shirasidan quyib, 38° li suv hammomiga 10 minut qo'yiladi. Ko'rsatilgan vaqt o'tgandan keyin birinchi ikkita probirkadagi aralashmaga yod ta'sir ettiriladi. 3-4 probirkalardagi suyuqlik bilan Trommer reaksiyasi qilinadi. Rangli reaksiyalarning natijasiga qarab fermentlarning o'ziga, xosligi to'g'risida xulosa chiqariladi va jadval ko'rinishida qayd etiladi.

12-jadval

### Fermentlarning o'ziga xosligi

Probirka	Ferment	Substrat	Kontrol reaksiyalar	
			Yod bilan reaksiyasi	Trommer reaksiyasi
1	Amilaza	Kraxmal		
2	Saxaroza	Kraxmal		
3	Amilaza	Saxaroza		
4	Saxaroza	Saxaroza		

### Kraxmalni amilaza fermenti ta'sirida vaqt oraligida gidrolizlanishi

Fermentlar tirikorganizmlarning hamma hujayralari va to'qimalarning tarkibiga kirib, biologik katalizatorlik vazifasini bajaradigan spesifikoqsillardir. Tirik organizmlarning faoliyati fermentlarga bog'liqdir. Organizm bilan tashqi muhit o'rtasidagi moddalar almashinuvi jarayonida fermentlarning g'oyat katta ahamiyati bor. Oddiy oqsillardan, ya'ni faqat amino kislotalardan tashkil topgan fermentlar bir komponentli fermentlar deyiladi.

Masalan: ribonukleaza, tripsin va boshqalar. Agar fermentlar murakkab oqsillardan tashkil topgan bo'lsa, ya'ni ularning tarkibida aminokislotalardan tashqari boshqa birikmalar ham uchrasa, ular ikki



komponentli fermentlar deb ataladi. Oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarida ishtirok etuvchi fermentlar ikki komponentli fermentlardir. Fermentlar bir qator o'ziga xos xususiyatlarga ega. Bularga fermentlarning termolabiligi, spesifikligi, muhitining o'zgarishiga nisbatan sezuvchanligi, aktivator va ingibitorlarning ta'siriga sezuvchanligi, aktivator va ingibitorlarning ta'siriga moyilligi kiradi. Fermentlarning ta'siri va ularning aktivligi reaksiyada ishtirok etayotgan moddaning kamayishiga (modda substrat deb ataladi) yoki hosil bo'layotgan moddaning ortib borishiga qarab belgilanadi. Hozirga qadar ma'lum bo'lgan fermentlar 6 sinfga bo'linadi.

1. Oksidoreduktazalar - oksidlanish va qaytarilish reaksiyalarini katalizlaydi.

2. Transferazalar ma'lum kimyoviy guruhlarni bir birikmadan ikkinchi birikmagako'chirilishini ta'minlaydi. 3. Hidrolazalar murakkab organik birikmalarning suv yordamida parchalanish reaksiyalarini katalizlaydi. 4. Liazar-substratdan suv ishtirokisiz ma'lum guruhlarning ajralishini katalizlaydi. Bu fermentlar faoliyati tufayli yo qo'shbog' hosil bo'ladi yoki ma'lum guruhlarning qo'shbog'larga birikishi ta'minlanadi. 5. Izomerazalar - har xil organik birikmalarning izomerlanish reaksiyalarini katalizlaydi. 6. Ligazalar-ATF yoki shungao'xshash nukleozid trifosfatlar energiyasini hisobiga oddiy molekulalardan murakkab birikmalar hosil bo'lishi reaksiyalarni katalizlaydi. Fermentlarning aktivligini aniqlashda kimyoviy usullar bilan bir qatorda spektrofotometrik monometrik xromatografik va boshqa usullardan keng foydalanilmoqda. Amilaza fermenti kraxmalni qandgacha parchalaydi. Amilaza fermenta so'lakda, oshqozon osti bezining shirasida, qonda, jigarda uchraydi. Don o'simliklar amilaza fermentining eng muhim manbalaridan biri hisoblanadi. Amilaza fermenti kraxmalni qandgacha parchalaydi. Amilaza fermentning muhim manbalaridan biri don o'simliklari hisoblanadi. Ular quruq donda va ayniqsa unayotgan donlarning tarkibida ko'p miqdorda to'planadi. Unayotgan donlar tarkibidagi fermentlar eng yuqori aktivlikka ega bo'ladi. Kraxmal yod bilan ko'k rang beradi, uning parchalanishi natijasida hosil bo'lgan dekstrin zarrachalar katta-kichikligiga qarab yod bilan binafsha, qo'ngir - qizil, sarg'ish va sariq ranggacha (yodning suvdagi rangi) o'zgaradi. Shuning uchun agar kraxmal eritmasiga amilaza fermentidan qo'shilsa, ma'lum vaqt ichidayod ta'sirida aralashma avval ko'k keyin esa binafsha, qizil-sariq va sariq ranggacha o'zgaradi.



**Kerakli asbob va reaktivlar:** shtativ (probirkalari bilan), pipetkalar, suv hammomi. Kraxmalning 1% li eritmasi, saxarozaning 1 % li eritmasi, 5 marta suyultirilgan soʻlak achitqi, Lyugol eritmasi. Soʻlak (soʻlakning distillangan suv bilan 10 marta suyultirilgan eritmasi)

**Ishning borishi.** 9 ta probirka olib har biriga 2-3 ml distillangan suv va bir tomchidan 1% li yod eritmasidan quyiladi. Alohida 10-probirkaga 2-3 ml kraxmalning 0,5 % li eritmasidan olib uning ustiga 1 ml ferment quyiladi. (soʻlak eritmasi) vaqtni belgilab, probirkadagi aralashmani yaxshilab chayqatiladi. Soʻngra pipetka yordamida 1 tomchi aralashma birinchi probirkaga solinadi.

Probirkadagi suyuqlik koʻk rangni beradi. Shunday qilib, har 30 sekunddan keyin 2-,3-,4- ...va hokazo 9-probirkalarga bir tomchidan 10-probir kadagi aralashmadan solib chiqiladi. Probirkalardagi suyuqliklar yaxshilab aralashtiriladi va tegishli ranglar hosil boʻladi. Agar ikkinchi probirkadagi suyuqlik koʻk rang bersa, undan keyingi probirkalarga birmuncha uzoqroq vaqtdan keyin, masalan, har bir minutdan soʻng solish kerak. Bordini ikkinchi probirkada binafshayoki qizgʻish rang hosil boʻlsa, unda vaqtini tezlatish kerak yaʼni har 15 sekundda solish kerak boʻladi. Probirkalardan biridagi sariq rang oʻzgarmayqolsa, bu kraxmal gidrolizining tugaganligini bildiradi. Tajriba natijasi quyidagi jadvalga yoziladi.

### Kraxmalni amilaza fermenti taʼsirida gidrolizlanishi

Probirkalar	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Dis suv 1% yod Kraxmal+ferment										Kraxmal +ferment
Vaqt 1min15sek										
Hosil boʻlgan rang										

Kuzatuv natijasi izohlanadi

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Fermentlarning spesifikligiga misol keltiring.
3. Fermentlar necha guruhga boʻlinadi va qaysilar?

## 22-mashg'ulot. So'lakdagi amilaza fermentining aktivligiga pH ning ta'siri

Ferment faolligiga ta'sir etuvchi omillardan biri bu vodorod ionlarining konsentratsiyasi hisoblanadi. Ko'pchilik fermentlar ma'lum pH intervalida faollikka ega bo'ladi. Manashu fermentning pH qiymati - **fermentni gpH optimali deyiladi**

Ferment faolligining pH ga bo'liqligi - birinchidan : ferment markazidagi substrat bilan bog'lanishda ishtirok eradigan ionlaridan guruhlarining-ikkinchidan substrat malekulasining ferment bilan bog'anishda aloqador funksional guruhiga-uchinchidan ferment molekulasining o'ziga xos kataletik faolligiga ta'sir etuvchi boshqa ferment guruhining ionlanish darajasiga muhitdagi vodorod ionlarining konsentratsiyasiga aloqadorligidan kelib chiqadi.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** shtativ (probirkalari bilan), shkalali pipetkalar, o'lchov stakani menzurka suv hammomi. Termometr, gaz gorelkasi, quruq spirt, pipetka, pH indikator, lakmus qog'ozi, lupa.

Kraxmalning 1% li eritmasi, so'lakning 1: 5 marta suyultirilgan suyuqligi KI ning suyultirilgan eritmasi, Pafatli buffer eritmasi dan 1/15 Mli  $\text{NaHPO}_4$  va  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (4-ilova 2- jadvalga qarang )

**2. Fosfat bufer aralashmasi** quyidagi ikki eritmada tayyorlanadi: 1/15 M natriy gidrofosfat (11,876 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) va 1/15 M kaliy digidrofosfat (9.078 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). Ikkala eritmaning quyidagi hajmiy nisbatlarda aralashtirilib,

pH kattaligi turlicha bo'lgan eritmalar olinadi.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (ml hisobida)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (ml hisobida)	pH	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (ml hisobida)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (ml hisobida)	pH
0,00	10,00	4,49	6,00	4,00	6,98
0,10	9,90	4,94	7,00	3,00	7,17
0,25	9,75	5,29	8,00	2,00	7,38
0,50	9,50	5,59	9,00	1,00	7,73
1,00	9,00	5,91	9,50	0,50	8,04
2,00	8,00	6,24	9,75	0,25	8,34



3,00	7,00	6,47	9,90	0,10	8,67
4,00	6,00	6,64	10,00	0,00	9,18
5,00	5,00	6,81			

### Ishning borishi :

**Suyultirilgan so'lak tayyorlash:** O'g'iz bir nechi marta suv bilan chayiladi va 20 ml distillangan suvda suyultiriladi, birnecha marta yaxshilab aralashtiriladi. Shunday qilib birnecha marta takrorlash kerakligicha 50-60 ml suyuqlik tayyorlanadi, ma'lum Ph muhit hosil qilish uchun fosfat buferli eritmasidan foydalaniladi.

9ta probirkaga olib pH qiymati quyidagicha: 5, 59; 5, 91; 6, 24; 6, 47; 6, 81; 6,94; 7, 17; 7, 38; 8, 04 bo'lgan 1/15 Mli  $\text{NaHPO}_4$  va  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  eritmalarining turli miqdoridan iborat fosfat aralashmasidan 5ml quyiladi, har qaysi probirkaga kraxmalni 1% eritmasidan 1ml dan va 2ml suyultirilgan 1:5 so'lak qo'shiladi va probirkalardagi aralashmalar aralashtiriladi, so'ngra  $45^\circ\text{C}$  li suv hammomiga 15 minut qo'yiladi. Suv hammomidan olib sovuq suvda sovutiladi va har qaysi probirkaga yodning KI dagi suyultirilgan eritmasidan 5-6 tomchi quyiladi. Har bir probirkadagi eritmani rangigigan qarab kraxmalni turli pH muhitida parchalanish darajasi aniqlanadi

### Olingan natijalar jadval ko'rinishida ifodalanadi

Namuna arkibi	Vaqt minut hisobida								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Buferli aralashma tarkibi									
Yod bilan hosil qilgan rangi									
Vaqt ko'rsatgichi									
pH optimumi									

Bufer eritmaning pHining o'zgarishi so'lak amilazasi fermentining faoligiga ta'sirini kuzating va xulosangizni yozing.

## 23-mashg'ulot. Katalaza fermentining aktivligini aniqlash

Katalaza fermenti hujayra nafas olishida paydo bo'ladigan va tirik hujayra uchun zarur mahsulot vodorod peroksidini parchalashda yordam beradi. Katalaza fermentini aktivligini aniqlash bu fermentning ma'lum miqdordagi vodorod peroksid bilan inkubatsiya qilganda parchalanmay qolgan vodorod peroksidni  $\text{KMnO}_4$  bilan titrlab aniqlashga asoslangan bo'lib, katalaza fermentining eng xarakterli funksiyasi katalaza fermenti ta'sirida nihoyatda tez pergidrol suvga va molekulyar kislorodga parchalanadi:



Sutga pergidrol qo'shilsa kislorod ajralib chiqadi, bu sut tarkibida katalazafermenti borligidan dalolat beradi.

**Kerakli asboblari:** probirkalari bilan shtativ; pipetkalar.

**Reaktivlar.** 1. Sut. 2. Pergidrolning 1% li eritmasi. 3. Katalaza fermenti

**Ishning borishi.** Bitta probirkaga 2-3ml sut va shuncha miqdorda pergidrolning 1%li eritmasidan solinadi. Katalaza ta'sirida kislorod pufakchalari ajralib chiqadi. Ikkinchi probirkaga 2-3 ml qaynatilgan sut hamda 2-3 ml pergidrol eritmasidan solinadi. ikkinchi probirkada gaz pufakchalari hosil bo'lmaydi.

Qaynatilgan sutdaferment yuqori harorat ta'sirida denaturasiyaga uchragan, shuning uchunbu probirkada fermentativ reaksiya bo'lmaydi.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Katalaza fermentining aktivligini aniqlashda kerakli asbob va reaktivlarni aniqlang.



## IV BO'LIM. UGLEVODLAR

### 24-mashg'ulot. Monosaxaridlarga xos sifat reaksiyalar

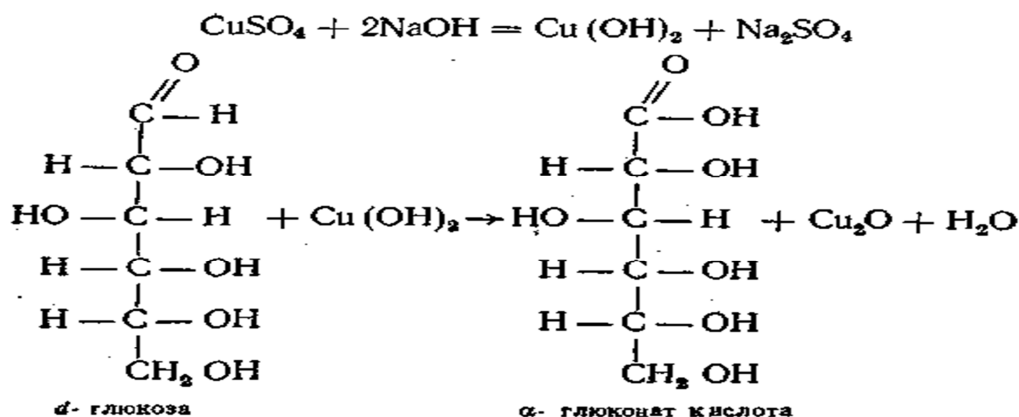
Uglevodlar odam va hayvonlar oziqasi tarkibida miqdor jihatidan birinchi o'rinni egallaydi. Organizmda lipidlar bilan bir qatorda asosan energetik funksiyani bajaradi. Energiya hosil bo'lishi uchun uglevodlar ayniqsa glukoza sarflanadi, chunki organizmda uglevodlar oson gidrolizlanadi.

Monosaxaridlar ishqoriy muhitda og'ir metall gidroksidlarini, masalan; mis (II)-gidroksidni mis (I)-oksidiga, vismut oksidini metall 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 muhitda oson, neytral sharoitda qiyinroq, kislotali sharoitda esa juda qiyin boradi.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** 1; 2; 5 ml li pipetkalar, suv hammomi, 50 ml li biuretka, probirka, gaz gorelkasi yoki quruq spirt yoki 1% li glyukoza eritmasi, 1% li laktoza eritmasi, 1% li maltoza eritmasi, Nilander reaktivi, Feling suyuqligi, Barfed reaktivi. (1-ilovaga qarang)  $\alpha$ -naftolniyag 10% spirtli eritmasirezorsinning 20% li xlorid kislotaldagi 0,05% li eritmasi, difenilamin.

#### 1-tajriba. Trommer reaksiyasi.

Monosaxaridlar ishqoriy muhitda mis (II)-gidroksidni mis (I) oksidgacha qaytaradi. Bu reaksiya natijasida reaksiya uchun olingan aldozalarga to'g'ri kelgan kislotalar hosil bo'ladi:

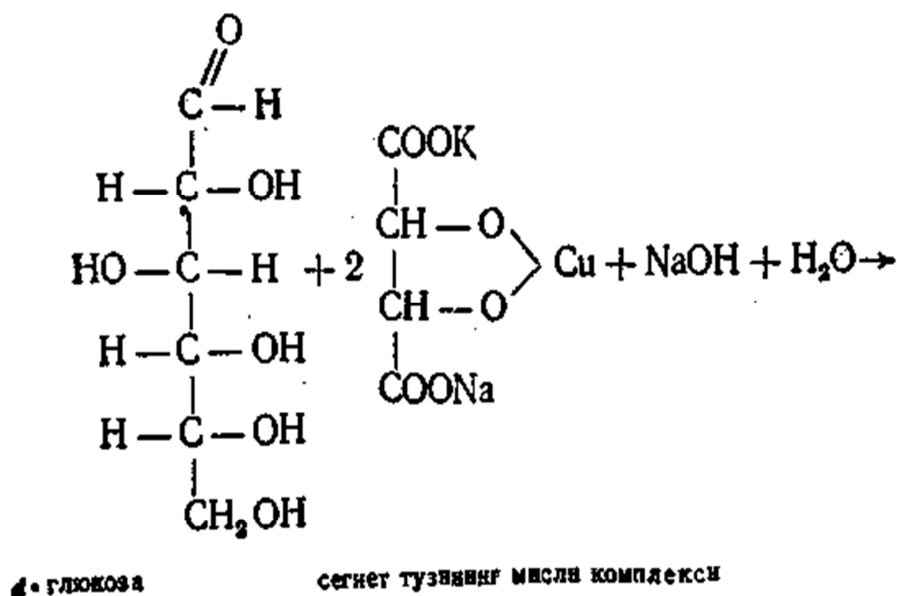


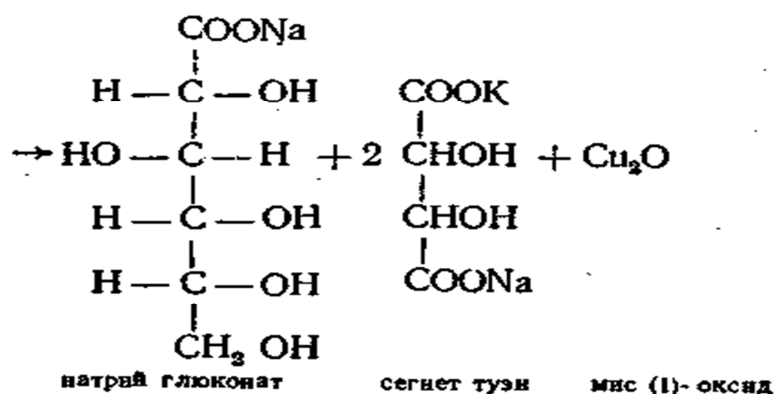
Reaksiya mahsuloti sifatida qizil rangli mis (I)-oksid hosil bo'ladi. Bu reaksiyaning kamchiligi shundaki, agar tekshirilayotgan eritmada shakar juda oz bo'lsa, ortiqcha miqdorda hosil bo'lgan mis (II)-gidroksid qizdirilganda parchalanib, qora rangli mis (II)-oksidga aylanadi. Natijada juda oz miqdorda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

Uglevodlarning qaytaruvchanlik xossasini aniqlash uchun ko'p hollarda Feling reaktividan foydalaniladi. Bu reaktiv tarkibidagi ikki valentli mis ioni segnet tuzi (vino kislotaning natriy-kaliyli tuzi) molekulasida bog'langan holatda bo'lib, oksidlanish qaytarilish reaksiyasiga erkin kirisha oladi. Reaksiya mexanizmi Trommer reaksiyasi bilan bir xil bo'lib, faqat aniqlashga xalaqit berishi mumkin bo'lgan mis (II)-oksid hosil bo'lmaydi. Bu reaksiya asosida glyukozani miqdoriy jihatdan aniqlash usuli ham ishlab chiqilgan:



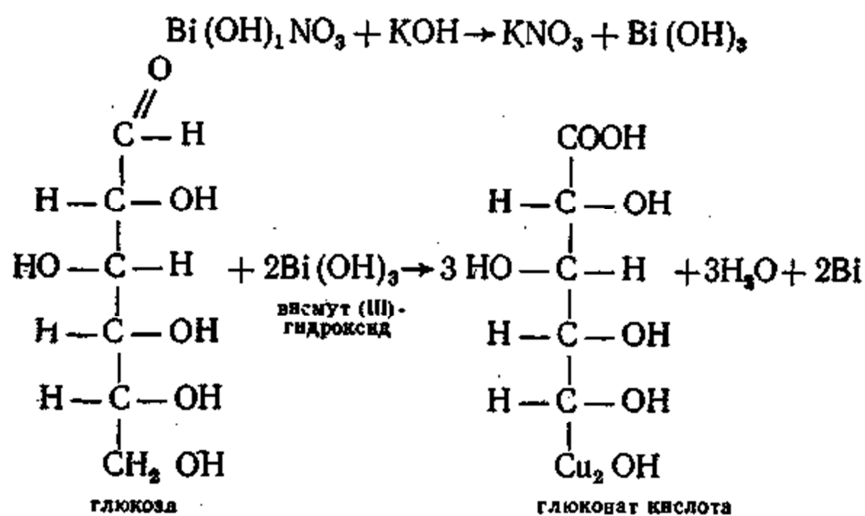


**Ishning bajarilishi.** Probirkaga 1 % liglyukoza eritmasidan 1-2 ml quyib, unga teng hajmda Feling reaktividan qo'shiladi va aralashma ohistalik bilan qaynaguncha qizdiriladi. Reaksiya natijasida qizil rangli mis (I)-oksid cho'kmasi hosil bo'lishi ko'zatiladi. Bu reaksiyani boshqa uglevodlar - maltoza, laktozalar ham hosil qiladi, saxaroza va kraxmal bilan esa qizil cho'kma hosil bo'lmaydi, chunki ular qaytaruvchanlik xossasiga ega emas.

### 3-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 qaytarilmaydi.

**Ishning bajarilishi.** Probirkaga 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'kmasi hosil bo'lishi ko'zatiladi.



### 5-tajriba. Uglevodlarni $\alpha$ -naftol yordamida aniqlash.



Bu reaksiya hamma uglevodlar uchun xosdir. Uglevodlar konsentrlangan sulfat kislota ta'sirida furfurol yoki uning hosilalariga aylanadi. Hosil bo'lgan mahsulot 2 mol  $\alpha$ -naftol bilan kondensasiyalanib rangli kompleks hosil qiladi.

**Ishning bajarilishi.** Tekshirilayotgan eritmadan 2 ml yoki tarkibi uglevodli qattiq moddadan 0,1 g olib, 1 ml suvda eritiladi, ustiga  $\alpha$ -naftolning 10% spirtli eritmasidan 2 tomchi tomiziladi va probirka devoridan ohistalik bilan 1 ml konsentrlangan  $H_2SO_4$  quyiladi. Sulfat kislotaning zichligi katta bo'lgani uchun probirka tagiga cho'kib, suyuqlik ikki qavatga bo'linadi. Xuddi shu ikki qavat chegarasida binafsha rang (halqa) hosil bo'ladi.

### **6-tajriba. Fruktozani rezorsin yordamida aniqlash.**

Fruktozaga xlorid kislota qo'shib qizdirilganda oksimetilfurfurol hosil bo'ladi, bu mahsulot rezorsin bilan pushti-qizg'ish rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiya ketogeksozalarni aldogek sozalardan farqlashga imkon beradi.

**Ishning bajarilishi.** Ikkita probirka olib, ularga rezorsinning 20% li xlorid kislotadagi 0,05% li eritmasidan 3 ml dan quyiladi, ularning biriga 0,5 ml fruktoza, ikkinchisiga 0,5 ml glyukoza eritmasidan quyiladi. Har ikkala probirka  $80^\circ$  li suv hammomiga 8 minut solib quyiladi. Bu vaqtda fruktozali probirkadagi suyuqlik qizil rangga kiradi.

### **7-tajriba. Pentozalarni Orsin reaktivi yordamida aniqlash.**

Orsin reaktivini tayorlash Pentozalar kislotali muhitda temir (III)-xlorid ishtirokida Orsin reaktivi bilan yashil rangli kompleks hosil qiladi. Bu reaksiya pentozalarning kislota ta'sirida furfurolga aylanishini tasdiqlaydi.

**Ishning bajarilishi.** Probirkaga 1 ml riboza yoki tekshiriluvchi eritma quyilib, unga teng hajmda Orsin reaktivi(1-ilovaga qarang) dan qo'shiladi. Aralashma qaynayotgan suv hammomida 20 minut qizdiriladi. Agar tekshirilayotgan suyuqlikda pentoza yoki uning hosilasi bo'lsa, probirkadagi eritma yashil rangga kiradi.

### **8-tajriba. Dezoksiribozani difenilamin yordamida aniqlash.**

2-dezoksipentozaga aromatikamin (difenilamin) qo'shib asta-sekin qizdirilsa, ko'k rangli kompleks birikma hosil bo'ladi. Bu reaksiya yordamida



DNK molekulasidagi dezoksiribozani ham aniqlash mumkin.

**Ishning bajarilishi.** 1 ml dezoksiriboza yoki DNK eritmasiga 2 ml difenilamin eritmasi qo'shiladi, so'ngra 10 minut qaynatiladi. Bu vaqtda reaksiyon aralashma barqaror ko'k rangga kiradi.

#### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Fruktozani rezorsin yordamida aniqlash jarayonini aytib bering.
3. Uglevodlar konsentrlangan sulfat kislota ta'sirida nimani hosil qiladi?
4. Feling reaksiyasi mexanizmini tushuntiring.

### 25-mashg'ulot. Disaxaridlarga xos sifat reaksiyasi

Disaxaridlar maltoza tipidagi disaxaridlarga va trigalaza tipidagi disaxaridlar guruhiga bo'linadi. Maltoza tipidagi disaxaridlarga maltoza, sut sakari, laktoza va sellobioza kiradi. Trigalaza tipidagi disaxaridlarga ( $\alpha$ -Dglukozid, 1,2B-D fruktozid) lavlagi va shakar qamish shakari tabiatda keng tarqalgan.

Shakar molekulasidagi spirt guruhlarining borligi ularning murakkab efirlar va metallarning gidroksidlari bilan sararatlar (alkogolyat tipidagi birikmalar) hosil qilish xususiyati bilan isbotlanadi.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** probirkalar, 1; 2; 5 ml li pipetkalar, suv hammomi (80°C li), filtr qog'ozi, voronka, lakmus qog'ozi, qizdirgich va 10% sulfat kislota eritmasi, Selivanov reaktivi, Feling, Barfed reaktivlari, natriy gidrokarbona tkukuni, kobalt sulfatning va nikel sulfatning 5%li eritmaları, saxaroza, maltozava laktozaning 1%li eritmasi.

#### Saxarozaga xos sul'fat reaksiyalari.

Saxaroza uchun xos bo'lgan bu reaksiya juda seziluvchan bo'lib, eritmalarda qandlar aralashmasida saxarozani aniqlashda ishlatiladi.

**Ishning borishi :** 2ta probirkaga saxarozaning 10 %li eritmasidan qo'yiladi va NaOHning 5%li eritmasidan qo'shiladi. So'ngra 1- probirkaga kobalt sulfatning 5%li eritmasidan 2-chi probirkaga nikel sulfatning 5%li eritmalaridan bir nech tomchi tomiziladi. Bunda saxaroza kobalt tuzlari bilan binafsha rang, nikel tuzlari bilan esa yashil rangli birikma hosil qiladi. Boshqa qandlar bunday reaksiyaga kirishmaydi.

## Barfed reaksiyasi.

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

**Ishning bajarilishi.** 2 ta probirkaga 5 ml dan Barfed reaktividan(1- ilovaga qarang) 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 qizdirmaslik zarur, aks holda disaxaridlar ham oksidlanib ketadi.

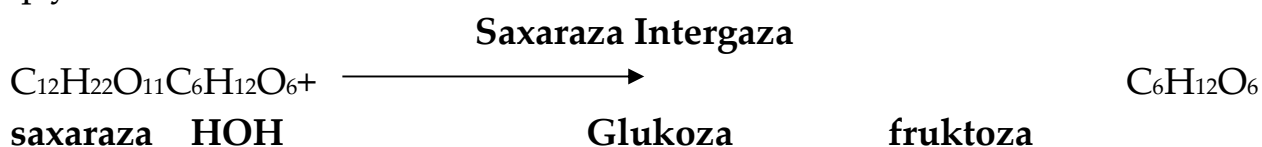
### Nazorat savollari:

- 1.Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
- 2.Barfed reaksiyasi mohiyatini tushuntiring

## 26–mashg'ulot. Kalsiy saxaratning hosil bo'lishi.Saxarozaning gidrolizi

Disaxaridlar xam monosaxaridlar kabi metallarning gidroksidlari bilan saxaratlar (alkogolyat tipidagi birikmalar) tipidagi tuzlarni hosil qiladi. Saxaraza (invertaza) fermenti saxarozani gidrolizlab glyukoza va fruktozagacha parchalaydi.

Saxaraza fermenti ko'pchilik o'simliklar tarkibida uchraydi. Ayniqsa u achitqi zamburug'larida ko'p bo'ladi. Ferment aktivligining aniqlashda bir qator usullardan foydalaniladi. Bulardan biri yuqoridagi reaksiya mahsulotlarining qaytaruvchanlik xususiyatlariga asoslangan bo'lib, glyukoza va fruktoza tegishli kislotalargacha oksidlanadi, mis ionlari esa qaytariladi





**Kerakli asbob va reaktivlar:** probirkalar, 1; 2; 5 ml li pipetkalar suv hammomi (80°C li), filtr qog'ozi, voronka, lakmus qog'ozi, qizdirgich va 10% sulfat kislotaeritmasi, Selivanov reaktivi, Feling, Barfed reaktivlari, natriygidro karbonat kukuni, kobalt sulfatning va nikel sulfatning 5%li eritmalari, saxaroza, maltozava laktozaning 1%li eritmasi.

### **Kalsiy saxaratning hosil bo'lishi**

#### **Ishning bajarilishi:**

Probirkaga 1g saxaroza 5ml suvda eritiladi va unga chayqatib turgan holda yangi tayyorlangan (kalsiy gidroksidining suvdagi 10-15%li suspenziyasidan) tomchilab tomiziladi. Qo'shilayotgan dastlabki ohak suti tomchilari eriydi va saxaroza bilan reaksiyaga kirishib, kalsiy saxarat hosil qiladi. So'ngra tiniq eritmaga chayqatilganda erimaydigan cho'kma hosil bo'lguncha ohak suti qo'shiladi va chayqatiladi. Bir necha minutdan so'ng aralashma filtrlanadi.

Filtrlangan eritmada  $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 3CaO \cdot 3H_2O$  kalsiy saxarat cho'kmaga tushadi (sovutilganda u yana eriydi).

Qand lavlagidan shakar ishlab chiqarishda shakarni tozalash usuli saxarozaning eruvchan kalsiy saxaratlar hosil qilish xususiyatiga asoslangan.

### **Saxarozaning gidrolizi(inversiya)**

#### **Ishning bajarilishi:**

5% li saxaroza eritmasidan 4 ta probirkaga 1 ml dan quyib,

Birinchi probirkada  $\alpha$ -naftol bilan,

Ikkinchisi probirkada Selivanov reaktivi,

Uchinchi probirkada Feling

To'rtinchi probirkada Barfed reaktivlari bilan tajribalar o'tkaziladi.

Shundan keyin alohida 5-probirkaga 5 % li saxaroza eritmasidan 5-10 ml quyib, ustiga bir necha tomchi 10 % li sulfat kislota qo'shib, probirkani qiya holda ushlab, doimo chayqatib turib, 5-10 minut qizdiriladi.

So'ngra gidrolizat sovutiladi va **4 qismga** bo'linadi. Birinchi qismiga natriy gidrokarbonat kukuni qo'shib neytrallanadi (lakmus bilan sinang)

Feling reaktivi bilan tajriba takrorlanadi. Keyingi probirkalar bilan hamtajriba takrorlanadi. Kuzatish natijalari jadval ko'rinishida qayd qilinadi:

Kuzatish vaqti	Bajariladigan reaksiyalar	$\alpha$ -naftol bilan reaksiya	Selivanov reaksiyasi	Feling suyuqligi bilan reaksiya	Barfed reaksiyasi
Gidrolizgacha					
Gidrolizdan keyin					

**Ishning borishi.** Saxarozaning 0,5 % li eritmasi, natriy gidroksidning 20 % li eritmasi, mis sulfatning 2 % li eritmasi, Saxaraza fermenti shirasi, shiraachitqi zamburug'laridan olinadi. Buning uchun 5 gramm achitqi chinni xovonchada eziladi, so'ngra unga 5 ml distillangan suv qo'shib ezish davom ettiriladi. Xovonchaga yana 10 ml issiq (60°) suv qo'shiladi va 10 minut davomida eziladi. Bundan saxaraza fermenti eritmaga o'tadi. Aralashma filtrdan o'tkaziladi, filtratdan ferment shirasi sifatida foydalaniladi.

2 ta probirkaga 1 ml dan 0,5% li saxaroza eritmasidan solinadi. 1 probirkaga 1 ml suv, ikkinchisiga esa 1 ml saxaraza fermenti shirasidan qo'shiladi va 15 minut 35°S inkubatsiyaga qo'yiladi. Belgilangan vaqt tugagach, har ikkala probirkaga 2 ml natriy gidroksidning 20 % li eritmasidan va 5-6 tomchi mis sulfatning 2 % li eritmasidan qo'shib qizdiriladi. Ferment ta'sir qilgan probirkada qizil cho'kma hosil bo'ladi. Chunki glukozadagi aldol guruhi hisobidan mis ionlari qaytariladi.

#### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Invertaza fermenti haqida tushuncha bering.

### 27-mashg'ulot. Polisaxaridlar. Kraxmalga xos sifat reaksiyalar

Polisaxaridlar yuqori molekulyar birikmalar bo'lib, kislotalar yoki fermentlar bilan gidrolizlanganda oligosaxaridlar bilan monosaxaridarga parchalanadi. Har bir monosaxarid qoldig'i yonidagi monosaxarid bilan o'zaro glikozid bog'lar bilan birikkan. Shuning uchun ularni **poliglyukozidlar** deb ham ataladi. Bir xil monosaxaridlardan tashkil topgan polisaxariddar **gomopolisaxaridlar** deyiladi. Gomopolisaxaridlar



tarkibidagi monosaxaridlar qoldiqlarining tabiatiga qarab har xil bo'ladi (kraxmal, glikogen, selluloza). Agar polisaxaridlar tarkibida turli monosaxaridlar bo'lsa, ulargeteropolisaxaridlar deyiladi. Geteropolisaxaridlar tarkibida ba'zan boshqa moddalar (aminokislota, yog, oqsil va hokazo) ham uchraydi. Geteropolisaxaridlarga mukopolisaxaridlar, gemisellyulozalar va boshqalar kiradi.

### Kraxmalning yod bilan reaksiyasi

Kraxmal uchun xarakterli reaksiya yodni kaliyyoddagi eritmasi bilan ko'k rang hosil qilishidir. Kraxmalni yodli reaksiyasi murakkab jarayondir, natijada hosil bo'layotgan rang kraxmalning tuzilishiga bog'liq. Kraxmal ikki xil polisaxarid-amiloza va amilopektin aralashmasidan iborat. Amilaza molekulasida 1000-6000-Dq glyukoza qoldiqlaridan tuzilgan bo'lib, ularning 1,4 spglyukozid bog'orqali bog'langan molekulasida tarmoqlanmagan formatga ega. To'la gidrolizlanganda D-glyukoza molekulariga parchalanadi. Amilaza suvda eriydi va yod ta'sirida to'q ko'krangni beradi. Amilopektin ham juda ko'p D-glyukoza qoldiqlaridan tashkil topgan bo'lib, amilazaga o'xshab 1,4-glyukozid bog'lari bilan bog'langan. Ammo amilopektin zanjiri juda tarmoqlangan bo'lib, tarmoqlangan qismi 1,6 glyukozid bog'lari bilan bog'langan. Amilopektin ham to'lagidrolizlanganda D-glyukoza molekulariga parchalanadi. Amilopektin suvda erimaydi, u suvda shishadi va vakleyster hosil qiladi. Yod ta'sirida u binafsha rangni hosil qiladi.

**Kerakli asboblari va reaktivlari:** probirkalari bilan shativ; 1,2 ml li pipetkalar.

1. Kraxmalning 1% li eritmasi.
2. Yodning kaliyyoddagi eritmasi: 500 ml suvda 20 g kaliyyod va 10 g yod eritiladi.
3. Natriy gidroksidining 10% li eritmasi.
4. Etil spirti.

**Ishning borishi.** Probirkaga 2-3 ml kraxmal eritmasidan va 3 - 4 tomchi yodni kaliyyoddagi eritmasidan solinadi, natijada ko'k rang hosil bo'ladi. Shu probirkadagi suyuqlik uchta probirkaga bo'linadi: birinchi probirkaga 1-2 ml natriy gidroksidining eritmasidan, ikkinchi probirkaga 2 - 3 ml etil spirti solinadi, uchinchi probirka esa qizdiriladi. Hamma hollarda ham ko'k rang yo'qoladi. Uchinchi probirka sovugandan so'ng

yana ko'k rang hosil bo'ladi. Kraxmalning yod bilan hosil qilgan kompleksi spirt, ishqor, yuqori haroratganisbatan ta'sirchan bo'lib, yod bilan gipoyoditlarni hosil qiladi.

**Kraxmalni qaytaruvchanlik xossalarini aniqlash.**

**Kerakli asboblari:** probirkalari bilan shtativ; 1,2 ml li pipetkalar; suv hammomi. Reaktivlar:

1. Kraxmalning 1% li eritmasi.
2. Konsentrlangan sulfat kislota.
3. Natriy gidroksidining 20% li eritmasi.
4. Mis sulfatning 5% li eritmasi.

**Ishning borishi.** Ikkita probirkaga 4-5 ml kraxmal eritmasi solinadi. Birinchi probirkaga 3-5 tomchi konsentrlangan sulfat kislota, ikkinchi probirkaga esa shuncha miqdorda suv qo'shiladi. Ikkala probirka 10-15 minut qaynab turgan suv hammomiga quyiladi.

Sovugandan keyin Trommer reaksiyasi bajariladi. Birinchi probirkada mis oksidining qizil cho'kmasi hosil bo'ladi, bu esakraxmalni gidrolitik parchalanib, qaytaruvchanlik xususiyatiga ega glyukoza hosil bo'lganligini ko'rsatadi. Ikkinchi probirkada esa Trommer reaksiyasi yuz bermaydi, chunki kraxmal gidrolizlanmagan, shuning uchun u qaytaruvchanlik xususiyatiga ega bo'lgan glyukoza hosil qilmagan.

**Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Kraxmal haqida qisqacha ma'lumot bering.
3. Kraxmalni qaytaruvchanlik xossalarini aniqlashda nimalardan foydalanamiz?



## 28-mashg'ulot. Polisaxaridlar sellyulozaga xos sifat reaksiyalari

### Kletchatka miqdorini aniqlash

Sellyuloza o'simlik hujayralarining devorini hosil qilishda ishtirok etadi. Sellyuloza paxta tolasida juda ko'p bo'ladi.

### Sellyulozaning erishi

Sellyuloza suvda, spirtida, kislotalda, ishqorda va boshqa erituvchilarda erimaydi. U ba'zi tuzlarning ( $ZnCl_2$ ,  $SnCl_2$  va boshqalar) konsentrlangan eritmalarida va ishqorli suyuqliklar, masalan,  $CuO$  ning  $NH_3$  dagi eritmasi – Shveytser reaktivida eriydi.

**Kerakli asbob va reaktivlar:** probirka, shisha tayoqcha, shisha stakan, chinni kosacha, filtr qog'oz, shtativ asbestli to'r, shisha plastinka, qizdirgich.

Shveytser reaktivi, paxta, sulfat kislotalning 80 % li eritmasi, distillangan suv, ammiakning 5%li eritmasi, quruq natriy karbonat, kraxmal eritmasi, Feling reaktivi, lyugol eritmasi, konsentrlangan  $HNO_3$ , atseton, sirkaetil efiri, 1:3 nisbatdagi etil spirti va dietil efiri aralashmasi.

#### Ishning borishi:

Sizga berilgan erituvchilarda sellyulozaning erishini kuzating.

Probirkaga 5ml Shveytser reaktividan quyiladi va gigroskopik paxtadan bir bo'lagi botiriladi. Paxta erib ketguncha shisha tayoqcha bilan aralashtirib turiladi. Probirkada to'q ko'k rangli tiniq, qovushqoq eritma hosil bo'ladi. Shisha stakanga 100-150 ml issiq suv solinadi. Unga 2-3 ml konsentrlangan sulfat kislota qo'shib, ustidan sellyuloza eritmasi jildiratib quyiladi. Bunda sellyuloza pag'a-pag'a bo'lib (un shaklida) ajraladi. Sellyuloza Shveytser reaktivida yaxshi eriydi. Uning bu xususiyati sanoatda mis-ammiakli sun'iy tola ishlab chiqarishda foydalaniladi.

### O'simlik materialidagi kletchatka borligini aniqlash

Kyursher va Ganek tomonidan taklif qilingan bu usul o'simlik materialidan sirka va nitrat kislotalarning aralashmasidan eriydigan moddalarni ajratib, qolgan kletchatkani aniqlashga asoslangan.



**Kerakli asbob va reaktivlar:** probirka, shisha tayoqcha, shisha stakan, kolba chinni kosacha, filtr qog'oz, shtativ qum hammomi qizdirgich. Sentrifuga, termostat tarozi.

O'simlik materiali, sirka va nitrat kislotaning aralashmasi, nitrat kislota (zichligi 1,4) bilan sirkakislotaning 80% li eritmasi 1:10 nisbatda (xajmi bo'yicha) aralashtiriladi, 0,2 Mo'yuvchi kaliyni spirtli eritmasi, etil spirti.

**Ishning borishi.** O'simlik materialidan 1 golib chinni xovonchaday axshilab, bir xil massahosil bo'lguncha eziladi. Uni 100-200 ml likolbagao'tkazib, ustiga sirka va nitrat kislota aralashmasidan 40 ml quyiladi. Kolbaga sovitkichni ulab, bir soat davomida qum hammomiga qo'yiladi. So'ngra sovitib, maxsus shisha filtrda filtrlanadi yoki sentrifugalanadi. Chunki bir necha marta cho'kindi 0,2 Mo'yuvchi kaliyni spirtli eritmasida va distillangan suv bilan oxirida esa 10 ml etil spirti yordamida quyiladi. So'ngra cho'kma bir xil og'irlikkacha 105° C da termostatda quritiladi.

Cho'kmani og'irligiga qarab kletchatkaning % miqdori

$A \times 100 \times q$  ----- Haniqlanadi.

**X-kletchatkaning miqdori, % hisobida,** a-tajribada aniqlangan cho'kma og'irligi, H-o'simlik materiali og'irligi.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Kyursher va Ganek usulini izohlang.

## 29-mashg'ulot. Qondagi glyukoza miqdorini Xagerdorin Lyuensen usulida aniqlash.

Bu usul yordamida turli xil biologik obyektlar tarkibidagi glyukoza va boshqa qay taruvchanlik xususiyatiga ega bo'lgan shakarlarni aniqlash mumkin. Reaksiya natijasida shakarlar ishqoriy sharoitda oksidlanib, qizil qon tuzi (kaliy ferrisianid), sariqqon tuzi (kaliy geksasiano-(6)-ferrat) gacha qaytariladi.





Ortiqcha  $K_4[Fe(CN)_6]$  giposulfat yordamida titrlanadi.  
 $2K_3[Fe(CN)_6]+2KJ+2K_4[Fe(CN)_6]$ ;

Hosilbo'lgan  $K_4[Fe(CN)_6]$ + esa ruhsul'fat yordamida cho'kmaga tushiriladi.  $2K_2 Zn_3[Fe(CN)_6]_2$

Glyukoza-qonning doimiy tarkibiy qismi hisoblanadi. Glyukoza qonga ichak orqali kelib tushadi.

Odam qonida normada 80 dan 120 mg % atrofida bo'ladi.

Turli qishloq ho'jalik hayvonlari qoni tarkibida glyukozani miqdori quyidagicha, mg %:

Otlarda .....	90-100
Sigirlarda .....	60-80
Qo'y va echkilarda .....	40-65
Quyondarda.....	100-200
Qushlarda .....	130-260

**Kerakli asbob va reaktivlar:** probirkalar bilan shtativ; 0, 1, 2, 5, 10 mli pipetkalar; suv hammomi; diametri 3-4 sm li voronkalar; 1-2 ml limikrobyuretkalar; filtr qog'oz.

Reaktivlar. Oqsillarni cho'ktirish uchun: ruxsulfatning 0,45% li eritmasi; natriy gidroksidining 0,1 n eritmasi - bu ikki reaktiv aralashmasi oqsillarni cho'ktirish uchun ishlatiladi; natriyoksalatning 5% li eritmasi (mikropipetkalarni yuvish uchun ishlatiladi). Glyukozani aniqlash uchun.

1. Kaligeksasiano (III)-ferrat eritmasi: bu eritmani tayyorlash uchun 1,65 g perekristallangan  $K_3[Fe(CN)_6]$  va 10,6 g suvsiz natriykarbonatni 1 litrli kolbada eritiladi va kolbani belgisigacha suv qo'shiladi. Eritma qorong'u oynali idishda sovuq joyda saqlanadi.

2. Xlor= ruh = yod eritmasi: bu eritmani tayyorlash uchun 10 g ruh sulfat, 50 g natriy xlorid va 5 g kaliyyodat 200 ml kolbada eritiladi.

3. Sirka kislotasini 3 % li eritmasi.

4. Natriy tiosulfatning 0,005 n eritmasi.

5. 1% li kraxmalni to'yingan natriy xlorid eritmasida tayyorlanadi.

6. Quyon qoni, qon ivib qolmasligi uchun 10 ml qonga 0,01 g natriyoksalat tuzidan qo'shiladi.

**Ishning borishi.** Oqsillarni cho'ktirish va ajratish. Qon oqsillarirux gidroksidi bilan qaynatilib cho'kmaga tushiriladi. Buning uchun navval rux gidroksidi tayyorlab olinadi. To'rtta belgilangan probirkalarga 5 ml rux

sulfat eritmasidan va 1 ml natriy gidroksidi eritmasidan solinadi, bunda probirkalarda rux gidroksidining choʻkmasi hosil boʻladi. Soʻngra ikkita probirkaga mikropipetka yordamida (mikropipetkalar natriyoksalat eritmasi bilan yuvilgan boʻlishi kerak) 0,1 mldan qon solinadi.

Qolgan ikkita probirkaga 0,1 ml dan distillangan suv quyiladi, bu namunalar kontrol hisoblanadi. Hamma probirkalar 3 minut qaynab turgan suv hammomiga qoʻyiladi. Natijada qon oqsillari choʻkmaga tushada. Probirkalardagi suyuqliklar filtrlanadi, choʻkma 2 marta 3 ml distillangan suv bilan yuviladi. Hosil boʻlgan filtrat tiniq rangda boʻlishi kerak.

Glyukozani aniqlash. Qonni oqsilsiz filtratlarga vakontrol namunalarga 2 ml dan kaliy geksasian (III) ferratning sodali eritma qoʻshiladi, soʻngra qaynab turgan suv hammomida 15 minut qizdiriladi.

Sovugandan keyin har birstakanga 3 ml dan xlor-ruh-yodli eritmasi va 2 ml dan sirka kislotasining eritmasi qoʻshiladi. Probirkadagi suyuqlik ajralib chiqqan yod taʼsirida sariq rangga kiradi.

Hamma probirkalarga 2 tomchidan kraxmal eritmasi qoʻshiladi va natriy tio sulfat eritmasi bilan koʻk rang yoʻqolguncha titrlanadi. Titrlanish uchun sarf boʻlgan natriy tiosulfatning hajmi maʼlum boʻlgach, jadval yordamida glyukoza miqdori aniqlanadi. Tajriba boʻyicha topilgan sondan kontrol boʻyicha topilgan sonning ayirmasi tekshirilayotgan eritma tarkibidagi qaytaruvchanlik xususiyatiga ega boʻlgan uglevodlar miqdorini beradi. Tekshirish uchun olingan eritmaning umumiy hajmidagi uglevodlar miqdori hisoblanadi.

Uglevodlarning foiz miqdori quyidagicha topiladi.

$$X_q = \frac{a}{H} \cdot 100$$

Bunda:  $a$ -tekshirilayotgan material tarkibidagi uglevod miqdori;  $H$ -olingan materialning miqdori.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang
2. Qon ivib qolmasligi uchun qaysi moddadan foydalaniladi?
3. Xagerdorin Lyuensen usuli haqida gapiring.



## V BO'LIM. LIPIDLAR

### 30-mashg'ulot. Lipidlarga xos rangli reaksiya. Yog'larni erishi va emulsiya qilishi.

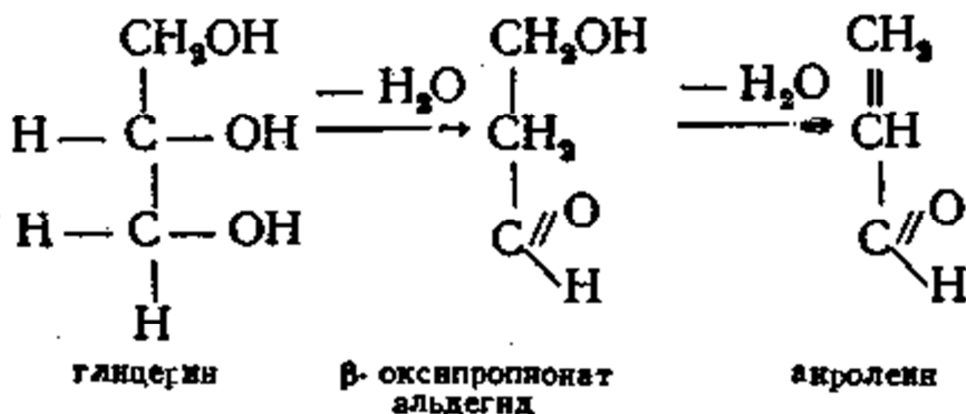
**Kerakli asbob va reaktivlar:** probirkalar, shtativ, spirt lampa yoki gaz gorelkasi, filtr qog'oz, etil spirt, aseton, efir, petroley efiri, dixloretan, xloroform, benzol, benzin, uglerod (IV)-sulfid, kaliy gidrosulfat kristali, kumush gidroksidining ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz, fuksinsulfat kislota 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, dixloretan, 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 gliserin 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 ajralganini aldegidga xos reaksiyalar yordamida aniqlash mumkin.

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

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

#### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang
2. Yog'lardagi glitseringa xos reaksiya jarayoni nimalardan iborat?
3. Aldegidlarga xos reaksiyalar.

### 31-mashg'ulot. Yog'larning yod va peroksid sonini aniqlash

**Yog'larning yodli sonini aniqlash.** 100 gyog'ni biriktirib olgan yodning gramm miqdori bilan ifodalanadigan son yog'larning yodli soni deb ataladi. Bu son yog'lar tarkibigakiradigan moy kislotalarning to'yinmaslik darajasini ifodalaydi. Yodni biriktirib olish reaksiyasi quyidagicha boradi:  $R-COH-COH-R_1 + I_2 + H_2O \rightarrow R-CHI-COHH-R_1 + HI$  Reaksiyaga kirishmay ortib qolgan yod natriy giposulfit bilan titrlanadi. Yodli son qancha katta bo'lsa, yog shuncha Qkj, bo'ladi. Ba'zi bir yog'lar va moylarning yodli soni quyidagicha bo'ladi; mollarda 38-46, qo'ylarda 31-46, cho'chqalarda 50-70, paxta moyida 110, zig'ir moyida 174. Bu son yog'lar tarkibidagi to'yinmagan yog kislotalar miqdorini ko'rsatadi, chunki yod molekuladagi qo'shbog' o'rniga birika oladi.

**Kerakli asboblari:** 50 ml li kolba; byuretkalar, 0,2, 1,5 10 ml lipipetkalar.

Reaktivlar. 1. O'simlik moyi. 2. 96%li etil spirti. 3. 0,1 n yodning spirtidagi eritmasi (tayyorlanishi: 12,691 gyod 1 l 96% li etilspirtida eritiladi). 4. 0,1 n natriy giposulfitning eritmasi. 5. Kraxmalning 1% li eritmasi.

**Ish tartibi.** Birinchi kolbaga (tajriba namunasi) 0,1-0,2 go'simlik



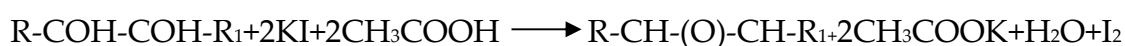
moyidan o'lchab olib, ikkinchi kolbaga (kontrol namunasi)-0,1-0,2ml suv solinadi va har ikkala kolbaga 5 ml dan spirt qo'shiladi. Moyerigandan keyin kolbalarga pipetka bilan 10 ml 0,1 n yodning spirdagi eritmasidan qo'shib, kolba probka bilan berkitiladi va chayqatiladi hamda 15 minut qorong'i joyda saqlanadi. So'ngra 0,1 n natriy giposulfit eritmasi bilanoch sariq rang hosil bo'lguncha titrlanadi, keyin 1ml 1% kraxmal eritmasidan qo'shib ko'k rang yo'q bo'lguncha titrlanadi.Yodli son (hg) quyidagi formula yordamida aniqlanadi:

$$Xq = \frac{(a-v) \times 0.001269 \times 100}{N}$$

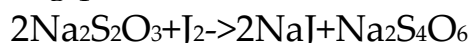
Bunda: u-kontrol namunani titrlash uchun sarf bo'lgan 0,1 n natriygiposulfit eritmasining hajmi, ml; a-tajriba namunasi titrlash uchun sarf bo'lgan natriy giposulfit eritmasining hajmi, ml; K - 0,1n natriy giposulfit eritmasining titrini to'g'rilash koefisienta;0,01269-yodning grammdagi miqdori, bu miqdor 1 ml 0,1 i natriy giposulfit eritmasiga ekvivalentdir; 100-100 gramm yog' uchun hisoblash koefisienti; S-olingan yog'ning og'irligi g.

**Yog'lanish pereoksidli sonini aniqlash.** Yog'lar tarkibidagi kislotalar lipooksidaza va havodagi kislorod, namlik yorug'lik ishtirokida qisman oksidlanadi. Pereoksidli soni, 100 gyog'dagi pereoksidlarning miqdorini ko'rsatib, u yodning gramm miqdori bilan belgilanadi.Ko'rsatkich u yodning gramm miqdori bilan belgilanadi. Metodning prinsipi. Pereoksidli sonini aniqlash shunga asoslanganki, kislotali sharoitda yog' kislotalarini pereoksidiga kaliyyod ta'sir etib, reaksiya natijasida yod ajralib chiqadi.

Bu reaksiyani quyidagicha ifodalash mumkin:



Ajralib chiqqan yod giposulfit bilan titrlanadi:



Titrlash mahsulotlari miqdoridan kelib chiqib yog'ning peroksid soni hisoblanadi

**Kerakli asbob va reaktivlar:** 150-200 ml li kolbalar; byuretkatitrlash uchun; 1 va 2mlli pipetkalar. 1.Sirkakislota. 2.Kaliyyodning to'yingan eritmasi; 3.Kraxmalning 1% li eritmasi. 4.Giposulfitning 0,01 n eritmasi.

**Ishning borishi.** Analitik tarozida 1 gyog' tortib olinadi va 150-200 ml kolbaga solinadi. Boshqa kolbaga (kontrol) 2-3 ml suv quyiladi. Ikkala kolbaga 10 ml dan xloroform solinadi va chayqatiladi. Shundan keyin kolbalarga 20 ml sirka kislotasi va 1 ml dan kaliy yodni to'yingan eritmasidan qo'shib yaxshilab aralashtiriladi va 3 minutqoldiriladi. So'ngraajralib chiqqanyodni 0,01 n giposul'fit eritmasibilan sariq rang hosil bo'lguncha titrlanadi, keyin kolbalarga 1 ml dan 1 % li kraxmal eritmasidan qo'shib, ko'k rang yo'qolguncha titrlanadi. Titrlash mahsulotlari miqdoridan kelib chiqib yog'ning peroksid soni hisoblanadi

Pereoksidli soni quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$Xq = \frac{(a-v) \times T \times 0.001269 \times 100}{N}$$

Bunda: X-pereoksidli soni; a-tajriba namunasini titrlash uchun sarf bo'lgan 0,01 ngiposulfit eritmasining miqdori, ml; -kontrolnamunasini titrlash uchun sarf bo'lgan giposul'fitning miqdori, ml; T- giposulfit eritmasining titri; N -yog'ning og'irligi, g.

#### **Nazorat savollari:**

- 1.Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang
- 2.Yog'larning yodli soni deb nimaga aytiladi?
3. Tajriba namunasiva kontrol namunasi deb nimaga aytiladi?

### **32-laboratoriya mashg'uloti. Biologik obyektlardan umumiy lipidlarni ajratish va miqdorini aniqlash**

Biologik obyektlardan umumiy lipidlarni ajratish va miqdorini aniqlash Metodning prinsipi. Umumiy lipidlar to'qimalardan xloroformva metanol aralashmasi bilan ekstraksiya qilinib, nolipid boshqa qoldiqlardan suv yoki kuchsiz tuzlarning eritmasi bilan yuviladi, quritiladiva lipidlar



cho'kmasi analitik torozilarda o'lchanadi. Umumiy lipidlarni aniqlash Keyts M. (1975) metodiga asoslangan.

**Kerakli asboblari va reaktivlari.** gomogenizator; sentrifuga; silindr; qaychi; byuks yoki stakan; 1, 2,5 ml li pipetkalar.

1. Xloroform. 2. Metanol. 3. 1-aralashma, bu aralashma xloroform va metanoldan tayyorlanadi, aralashma lipidlarni ekstraksiya qilish uchun 1:2 nisbatdagi hajmi tayyorlanadi. 4. 2-aralashma, xloroform-metanol-suv, bu quyidagi nisbatda tayyorlanadi: 1:2:0,8. 5. Qon plazmasi bu o'simlik materialidir.

**Ishning borishi.** Sentrifuga stakanlariga 1 ml qon plazmasi yoki 1 go'simlik material va 3,75 ml 1-aralashmadan solinadi, so'ng 30-60 minut davomida chayqatilib turiladi. So'ngra 10 minut 3000 ayl/minte tezlikda sentrifuga qilinadi va ekstraktni boshqa probirkaga solinadi. Cho'kmaga 4,75 ml 2-aralashmadan qo'shib ekstraksiya qilinadi hamda ikkala ekstraktlarni qo'shib yuboriladi. Shu ekstraktga 2,5 ml xloroform va 2,5 ml distillangan suv qo'shiladi. 10 minut 3000 ayl/min tezlikda sentrifuga qilinadi. Xloroformli qavat shprits yoki pipetka bilan olinadi va boshqa idishga solinadi, hajmi aniqlangach teng hajmda benzol qo'shiladi. Xloroformli lipidlar eritma sioldindan og'irligi o'lchangan byukslarga yoki stakanlarga solinadi va termostatga 60°C ga quyiladi. Quritish doimiy og'irlikka ega bo'lguncha davom ettiriladi. Lipid cho'kmasining og'irligi analitik tarozi bilan o'lchanadi va o'lchab olingan to'qimadagi lipidlanish miqdori foiz hisobida quyidagi formulabilan hisoblanadi.

$$X = \frac{t \cdot 100}{R}$$

Bunda m-lipidlar cho'kmasining og'irligi, g; R - lipidlarning analiz qilish uchun olingan to'qimaning og'irligi, g.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Umumiy lipidlarni aniqlash qaysi metodiga asoslangan?
3. Sentrifuga qanday asbob?



### 33-laboratoriya mashg'uloti. Tovuq tuxumi sarig'idan leysitinni ajratib olish.

Leysitin fosfog litseridlarga (fosfatidilxolinlarga) kiradi. Leysitin gidrolizlanganda glitserinmolekulasi, ikki molekula yog' kislotasi, fosfat kislotasi va azotli asos holatda ajraladi. Xolinfosfat kislotasi qoldig'ining hamda tarkibidagi kislotalarining birikishiga qarab  $\alpha$  va  $\beta$ -letsitinlarga bo'linadi.

Bunda: R1, R2- yog' kislotalarning qoldiqlari.

**Kerakli asboblari va reaktivlar.** Probirkalar bilan shtativ; pipetkalar; 100 mlli stakan, shisha tayoqcha.

1. Tovuq tuxumining sarig'i. 2. Etil spirti. 3. Atseton. 4. Kadmiy xloridning to'yingan eritmasi (spirtida tayyorlanadi).

**Ishning borishi.** Stakanga taxminan tuxum sarig'ining 1/5 -1/6 qismi solinadi va shisha tayoqcha bilan aralashtirilib turib 10 ml issiq spirt qo'shiladi. Stakandagi suyuqlik sovugandan keyin quruq probirkaga filtrlanadi. Filtrat tiniq bo'lishi kerak. Letsitinning shu spirtli filtrati bilan bir qator reaksiyalari bajariladi.

1. Atseton bilan cho'ktirish. Quruq probirkaga 2-3 ml atseton solingach, letsitinning spirtidagi eritmasidan tomchilab qo'shiladi. Natijada cho'kma hosil bo'ladi, sababi letsitin atsetonda erimaydi.

2. Letsitinning emulsiya hosil qilishi. Buning uchun probirkaga 2-3 ml letsitinning spirtidagi filtratdan solib, tomchilab distillangan suv qo'shiladi. Natijada letsitinning suvdagi turg'un emulsiyasi hosil bo'ladi.

3. Kadmiy xlorid bilan cho'ktirish. Probirkaga 1 ml letsitinning spirtidagi eritmasidan solib, tomchilab kadmiy xloridning eritmasidan qo'shiladi. Letsitin kadmiy xlorid bilan birikma hosil qilib, oqholida cho'kmaga tushadi.

#### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang

2. Letsitin gidrolizlanganda nimalar hosil qiladi?

3. Tovuq tuxumi sarigidan Letsitinni ajratib olish tajribasi jarayonlarini gapirib bering.



## VI BO'LIM. VITAMINLAR

### 34–laboratoriya mashg'uloti. Suvda eriydigan vitaminlar.

#### Suvda eriydigan B guruh vitaminlarga xos sifat reaksiyalar.

Suvda eriydigan vitaminlar guruhiga B vitaminlar kompleksi, C va P vitaminlari kiradi. Bu birikmalarning tarkibi va xossalari birxil bo'lib, ularning umumiy biologik roli o'xshashdir. Ular moddalar almashinuvi fermentlari sistemalarida koferment vazifasini bajaradi. B1 vitamin (Tiamin) tarkibida oltingugurt (grekcha tio) va amino guruhni saqlaydi, shuning uchun tiamin deb ataladi. B1 vitamini avitaminozining eng xarakterli va o'ziga xos belgilari: polinevrit, yurak faoliyatining buzilishi, suv almashinuvi buzilishi, me'da-ichak yo'lining sekretor funksiyasining buzilishidir. B vitamini hayvon to'qimalarida asosan erkin holda bo'lmay, balki tiamin pirofosfat ko'rinishida uchraydi. Ichakdan surilib o'tgan erkin vitamin to'qimalarda fosforlanib, tiamin pirofosfat shaklini hosil qilib, pirouzum kislotaning dekarb oksillanishini kataliz qiluvchi karboksilaza fermentining kofermenti-kokarboksilazani tashkil qiladi.

B1 vitamini o'simliklarda keng tarqalgan (tozalanmagan guruch, no'xat uni va boshqalar). B1 vitamin achitqilarda juda ko'p bo'lib, bularda **tiamin pirofosfat** efir shaklida uchraydi. Hayvonlar organizmida B1 vitamini jigarda, buyrakda, yurak muskuli va miyada hammadan ko'p miqdorda uchraydi.

#### B1 vitaminning sifat reaksiyasi

Tiamin diazobenzol-sulfokislotasining ta'sirida birikma hosil qilib, bubirikma pushti yoki sariq-pushti rangga ega bo'ladi.

**Kerakli asboblari va reaktivlar:** probirkalari bilan shtativ; pipetkalar.

1. Sut.
2. B2 vitaminning 0,001% li suvdagi eritmasi.
3. Natriy gidroksidining 5% li eritmasi.
4. A-eritma (100 ml kolbada 0,9 g sulfokislotasi 9 ml konsentrlangan xlorid kislotada eritiladi va kolbaning belgisigacha suv solinadi. Eritma qorong'u idishda saqlanadi.

5. Beritmasi (natriy nitratning 5% li eritmasi).

6. Diazoreaktiv (bu reaktiv tajribadan oldin tayyorlanadi), 50 ml xajmdagi kolbani muzli hammomga o'rnatiladi. 1,5 ml A- eritmasidan 7,5 ml hajmda Beritmasidan tomchilabsolinadi va 15 minutdan keyin ishlatish mumkin.

**Ishning borishi.** Probirkaga 2 ml natriy gidroksididan va 3 ml diazo reaktiv eritmasidan solinadi. Hosil bo'lgan aralashmaga 24 mlsut qo'shiladi.

Natijada probirkada sariq-pushti rang hosil bo'ladi.

**B2 vitamini** B2 vitamin (riboflavin) -organizmda oksidlanish-qaytarilish jarayonlarida ishtirok etadigan fermentlarning aktiv guruhlarini tarkibiga kirib, substratlardan vodorod atomining sitoxrom sistemaga yoki molekulyar kislorodga ko'chirilishini ta'minlaydi. Bu fermentlar organik kislotalar, amino kislotalar va boshqa birikmalarning oksidlanish reaksiyalari nikatalizlashda ishtirok etadi. B2 vitaminning asosini dimetilizo alloksazin tashkil etib, ribotal spirtining qoldig'i bilan bog'langan, shuning uchun riboflavin yoki 6,7-dimetil - 9(1-dimetil)-izoalpoksazin deb atash mumkin.

Riboflavin o'simlik va hayvon mahsulotlarida keng tarqalgan.

**Riboflavin** avitaminozi bo'yning o'sishdan to'xtashi, terining yallig'lanishi-dermatit, ko'z muguz pardasining vaskulyarizatsiyalanishi (ko'zmuguz pardasida qon tomirlarini o'sib ketishi), soch to'kilishi, tomir urishining siyraklanishi, nerv sistemasining falajlanishi bilan namoyon bo'ladi.

#### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang

2. B1 vitaminning sifat reaksiyasi haqida gapiring.

3. Riboflavinning organizmdagi roli?

### 35-laboratoriya mashg'uloti. Suvda eriydigan C va P guruh vitaminlarga xos sifat reaksiyalar

**C vitamin.** C vitamini L-askorbinat kislota deb ataladi. L-askorbinat kislota suvda yaxshi eriydi. L-askorbinat kislota va uning



degidroshakli vodorod atomlarini, ya'ni elektronlar bilan protonlarni olishga ham, berishga ham qodir bo'lgan oksidlanish-qaytarilish sistemasini hosil qiladi. Askorbinat kislotasining degidro shakli judachidamsiz birikmalar diketoglukonat kislotaga aylanishi qaytmas jarayon bo'lib, oksidlanib parchalanish bilan tugallanadi.

C vitamin oksidlovchilar ishtirokida neytralyoki ishqoriy muhitda qizdirilganda juda tez parchalanadi. C vitamin o'simliklarda va ko'pchilik hayvonlar (odam, maymunva dengiz cho'chqasidan tashqari) da sintezlanadi. Sut emizuvchilarning jigarida 25 mg % va buyraklarda 12 mg % C vitamini bo'ladi. Hayvon organizmida C vitamini yetishmasa, oqsillar almashinuvining buzilishi, oshqozon-ichak trakti va nafas olish yo'llarini turli kasalliklarga chidamsizligi, oshqon talashlar va tishlarning tushib ketishi kabi hollari vujudga keladi.

### **C vitamining sifat reaksiyalari. Metilen kukuni bilan reaksiyasi**

Askorbat kislotasi metilenkukuni rangsiz birikmagacha qaytaradi (leykoformasiga), o'zi oksidlanib degidroaskorbat kislotani hosil qiladi.

**Asbob va reaktivlar.** Probirkalar, menzurka, shisha stakanlar, qizdirgich.

1. Metilen kukunining 0,01% li eritmasi.
2. Natriykarbonatning 5% li eritmasi.
3. Kartoshka yoki karam sharbati.

**Ishning borishi.** Probirkaga yangi tayyorlangan kartoshka yoki karamsharbatidan 1-2 ml solib, 1-2 tomchi metilen kukuni eritmasi hamda 2-3tomchi natriy karbonat eritmasidan qo'shib qizdiriladi. Natijada ko'krang intensivligi kamayadi.

Kaliy ferritsianid ( $K_3Fe(CN)_6$ ) bilan reaksiyasi. Askorbat kislotasi oksidlanib, kaliy ferritsianid ( $K_3Fe(CN)_6$ ) ni to kaliy ferrotsianid ( $K_3Fe(CN)_6$ ) gacha qaytaradi va uchvalentli temir ioni bilan kislotalisharoitda temir -(III)-geksotsianoferroat

$Fe[Fe(CN)_6]_3$  ni, ya'ni Berlinzangorisini hosil qiladi.

**Asbob va reaktivlar.** Probirkalar, menzurka, shisha stakanlar, qizdirgich.

1. Kartoshka yoki karam sharbati.
2. Kaliy ferratsianidning 5% li eritmasi.
3. Kaliy ishkoring 5% li eritmasi.

4. Temir-(III)xloridning 1% li eritmasi.

**Ishning borishi.** Probirkaga 1 ml kartoshka yoki karamsharbatidan, 2 tomchi kaliy ishqori va shuncha miqdor kaliy ferritsianid eritmasidan solib chayqatiladi. So'ngra 6-8 tomchi 10% li xlorid kislotasi va 1-2 tomchi temir-(III)-xloridning eritmasidan qo'shiladi. Natijada ko'kyoki ko'k-yashil cho'kma Berlin zangorisini hosil qiladi.

### **Oziqa maxsulotlarida C vitaminining miqdorini aniqlash**

C vitamini hayvon va odam ratsionining eng muhim tarkibiy qismi hisoblanadi. Quyidagi o'simlik mahsulotlarida C vitaminining miqdori ko'rsatilgan (mg, %). Ukrop 135, Limon 40, Karam 30, Yangi kartoshka 35, Ko'k piyoz 60, Sabzi 5, Qora smorodina 300, Namatak (mevasida) 3000. Oziqa maxsulotlarida askorbat kislotasining miqdorini aniqlash uchun suyultirilgan kislotalarda C vitamini ekstraksiya qilinadi (kislotali sharoitga chidamlidir). So'ngra 2,6-dixlorfenolindofenolning eritmasidan olib titrlanadi. Ekstrakt tarkibida askorbat kislotasi bo'lsa, 2,6-dixlorfenolindofenolni qaytaradi. Ekstrakt dagi hamma askorbat kislotalar oksidlanib bo'lgandan keyin 2,6-dixlorfenolindofenol qaytarila olmaydi va eritma qizilrangga bo'yaladi (ya'ni, neytral sharoitda 2,6-dixlorfenolindofenol ko'krangga, kislotali sharoitda esa qizil rangga ega). Titrlash uchun ketgan 2,6-dixlorfenolindofenolning miqdorini va uning normalligini aniqlab, mahsulotdagi askorbat kislotasining miqdori hisoblanadi.

**Kerakli asboblari:** mikrobyuretkasi; 25 va 100 ml li kolbalar; 1 va 10 ml li pipetkalar; xovoncha; tarozi; voronka; filtr qog'ozi.

Reaktivlar. 1. Xlorid kislotasining 25% li eritmasi. 2. 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001n eritmasi. 3. Kartoshka, karam.

### **Kartoshka tarkibida C vitaminini aniqlash**

5 g kartoshka xovonchada 16 ml xlorid kislotasidan qo'shib eziladi. Xovonchada hosil bo'lgan suyulik kolbaga solinadi va filtrlanadi. Filtrat 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi. 100 g kartoshka tarkibida C vitamini miqdorini quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$X = 0.088 \cdot \alpha \cdot 100 / 5$$



Bu yerda: X - 100 g mahsulotdagi C vitamin miqdori, mg; 0,088 - askorbat kislotasining miqdori bo'lib, bu 1 ml 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasiga to'g'ri keladi, mg; a - titrlash uchun sarf bo'lgan dixlorfenolindofenol eritmasining hajmi; 5 - tekshiruvdagi mahsulotning og'irligi, g.

## Kraxmaldagi C vitaminining miqdorini aniqlash

2 g toza karam xovonchada 10 ml sirka kislotasi bilan eziladi, hosil bo'lgan ekstrakt filtrlanadi. Filtratdan 3 ml olib kolbaga solinadi va 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi. 100 g karam tarkibidagi C vitaminining miqdori (X) quyidagi Formula bilan aniqlanadi:

$$X = \frac{0,088 * \alpha * 10 * 100}{3}$$

Bu yerda: 10-sirka kislotali ekstraktning hajmi; a - titrlash uchun sarf bo'lgan, 2,6 - dixlorfenolindofenol eritmasining hajmi; 3-titrlash uchun olingan ekstrakt miqdori.

## Sitrinni (P vitamin) aniqlash

P-vitamin aktivligiga ega bo'lgan moddalarga fenol tabiatli birikmalar kiradi. Bularga rutin, gesperedin, kvarsetin va boshqalarkiradi. Bular o'simlik gullari va mevalarida ko'p miqdorda uchraydi.

**Ishning borishi.** 2-5 gramm limon po'stlog'idan olib chinnixononchada shisha kukunlari yordamida spirt bilan bir xil massahosil bo'lguncha eziladi.

Massa rangsiz bo'lgunga qadar spirtning oz-oz portsiyasi bilan yuviladi. Filtrat spirt yordamida 50 yoki 100 ml hajmga yetkaziladi. Keyin aralashmadagi spirt Vyurs kolbasida ajratiladi. Kolba tagidagi qoldiq (3-5 ml) chinni kosachaga quyiladi va spirt suv hammomida to'liq haydaladi. Keyin kosachaga 3-5 ml suv quyib qoldiq eritiladi.

Suvli eritma bilan quyidagi reaksiyalar qilinadi. 1. Probirkaga 1 ml eritma olinadi va unga 4-5 tomchi temir xlorid eritmasi tomiziladi va yashil rang hosil bo'ladi. 2. Probirkaga 1 ml eritma olinadi. Uning ustiga ehtiyotkorlik bilan probirka devori bo'ylab 1 ml konsentrlangan sulfat

kislota quyiladi. Ikki suyuqlik o'rtasida sariq, rangli aylana hosil bo'ladi.

Reaktivlar: limon mevasi, etil spirtning 80% li eritmasi, temir xloridning 1% li eritmasi, sulfat kislotaning konsentrlangan eritmasi.

### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang

2. Sitrinni (P vitamin) aniqlash jarayonini gapirib bering.

3. Kraxmaldagi C vitaminining miqdorini aniqlash reaksiyasi uchun kerakli asbob va reaktivlarni sanang.

### **36-Laboratoriya mashg'ulotlari. Yog'da eriydigan vitaminlarga xos sifat reaksiyalar. A-D guruh vitaminlari.**

A vitamin hayvon to'qimalarida, ayniqsa, jigarda ko'p miqdorda bo'ladi. O'simliklarda A vitaminning o'zi mutlaqo bo'lmaydi, lekin ularning tarkibida hayvon organizmida A vitaminiga aylanadigan, uning provitami - yog'da eriydigan sariq rangli birikma-karotinlar uchraydi. Karotinlar to'yinmagan rangli uglevodlar-karotinoidlar oilasiga kiradi. Ular xayvonlar ichagining shilimshiq pardasida parchalanib, Avitaminiga aylanadi, so'ngra jigarda to'planadi. Ovqatda A vitamin bo'lmaganda avitaminozlar uchun xarakterli belgilarni, ya'ni o'sishining to'xtashi, ko'zning pardasi qurib qolishi, kseroftalmiya va so'ngra uning yumshab, nekrotik yemirilishi - keratomalatsiya paydo bo'lganligini kuzatish mumkin. A vitamin biologik membranalarining struktura komponentlari hisoblanadi, jigarda oqsil biosintezini stimulyatsiya qiladi, mukopolisa xaridlarning sintezida ishtirok etadi, suyak tuqimalarining taraqqiyotida va yorug'ulikni sezish jarayonlarida ishtirok etadi.

**Kerakli asboblari:** probirkalari bilan shativ; pipetkalar. Reaktivlar.

1. Baliq yog'i.

2. Xloroform.

3.  $SbCl_3$  tuyingan (33%li) eritmasi.

4. Konsentrlangan sulfat kislota.

**Ishning borishi.** 1. Surma (III) xlorid bilan reaksiyasi. Probirkaga bir necha tomchi baliq, yog'idan solinib, 2 ml xloroformda eritiladi va 2 ml to'yingan surma (III) - xloridining eritmasidan qo'shiladi. Reaksiya



natijasida hosil bo'lgan mahsulot ko'k rangga ega bo'ladi. 2.Sulfat kislotasi bilan reaksiyasi. Probirkaga 3-4 tomchi baliqyog'idan solinadi, 20-25 tomchi xloroformda eritiladi va 1 tomchikonsentrlangan sulfat kislotaga qo'shib chayqatiladi. Natijada ko'k vabinafsha rang hosil bo'ladi.

Umumiy karotinoidlarni aniqlash. Umumiy karotinoidalar

## Rachevskiy metodi bilan aniqlanadi

**Kerakli asboblari va reaktivlar:**probirkalari bilan shtativ, pipetkalar; chinni idish; 40° C suv hammomi,byuretkaga.

1. Qon zardobi yoki o'simlik materiali.
2. Spirt.
3. Petroleyin efiri.

**Ishningborishi:** Bo'luvchi voronkaga 0,1 ml qon zardobi va 2 mlspirt solinadi va aralashtiriladi, so'ngra 2 ml petroleyin efiridanqo'shib, chayqatiladi va 2 ml suvni tomchilab ikki qavatga ajralish hosil bo'lguncha tomiziladi. So'ngra suvli qavat to'liq ajratib tashlanadiva petroleyin-efirli qavat hajmi aniq 2 ml ga olib boriladi. Keyinana shu eritma mikrobyuretkaga solinadi va 40° C suv hammomiga quyilganchinni idishga tomchilab tomiziladi. Tomchilar idishda bo'yalgan halqa hosil bo'lguncha qo'shiladi. Bo'yalgan halqa hosil bo'lganda cho'kmadagi karotirlarning miqdori 0,05 mkg ga teng bo'ladi.Byuretkadagi petroleyinefiridan qancha hajm ketganligi ham belgilab olinadi. Agarda halqa hosil bo'lishi uchun 0,5 ml efirli eritma sarflangan bo'lsa, unda 100 mlionzardobidagi umumiy karotirlarning soni quyidagicha bo'ladi:

$$xg \frac{0,05 \cdot 2 \cdot 100}{0,5 \cdot 1,0} = 200mkg(0,2mk\%)$$

## D guruh vitaminlarining rangli reaksiyalari

**D guruh vitaminlari** (Kalidaferollar) kimyoviy tuzilishiga ko'ra,steoroidlarga o'xshash birikmalar bo'lib, tabiatda ko'p tarqalgan, biologik aktivligi eng yuqori bo'lgan vitaminlar (D2 vaD3)dir.Ergasterol va xolesterol va D3 vitaminlarning provitami hisoblanadi. Hayvon organizmidagi vitaminlar ultrabinafsha nurlari ta'sirida sterollardan



sintezlanadi. Organizmda D vitamini yetishmasaraxit kasalligi paydo bo'ladi. Chunki suyak to'qimalarida fosfor vakalsiy almashinuvini buzadi. Bunda oshqozon-ichak yo'llarida kalsiyva fosforning surilishi buziladi. Natijada suyakda anorganik tuzlar yetishmaganligidan u yumshaydi va o'z shaklini yo'qotadi. Ergosterin nurlanganda bir qator sterin izomeri hosil bo'ladi. Ulardan biri kalsiferol raxitga qarshi kuchli ta'sir etadi.

**Kerakli asboblari va reaktivlar:** probirkalari bilan shtativ, pipetkalar; chinni idish; 40° C suv hammomi, byuretka. 1. Anilin. 2. Konsentrlangan xlorid kislotasi. 3. SbCl<sub>3</sub>ning 21-23% li xloroformdagi eritmasi. 4. Sirka ангидрид. 5. Vitaminlashtirilgan baliq moyining 10% li xloroformdagi eritmasi. 6. Bromning xloroformdagi eritmasi.

**Ishning borishi:** 1 ml baliq moyiga 4-5 ml anilin bilan 0,5 ml konsentrlangan xlorid kislotasi qo'shiladi. Emulsiya sariq rangga o'tadi, qizdiriladi va u qizil rangga kiradi. Surma (III)-xlorid bilan reaksiyasi:

Quruq probirkaga 3-6 ml baliq yog'ining xloroformdagi eritmasidan solib, 8-10 tomchi sirka ангидрид va shuncha miqdorda SbCl<sub>3</sub> ning xloroformdagi eritmasidan qo'shiladi. Suyuqlik sariq yoki to'q-sariq rangni hosil qiladi.

Brom bilan reaksiyasi. Probirkaga 8-10 tomchi baliq yog'i solingan holda 4-8 tomchi bromning xloroformdagi eritmasidan qo'shiladi. Birqancha vaqtdan so'ng yaxshi farqlanuvchi yashil yoki ko'k-yashil rang hosil bo'ladi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang
2. Surma (III) xlorid bilan A, D vitaminlari reaksiyasini tushuntiring.
3. Kalidaferollar) kimyoviy tuzilishi haqida gapiring.

### **37-laboratoriyamashg'ulotlari. Yog'da eriydigan E - K-vitaminlarga xos sifat reaksiyalar.**

**E vitamini (Tokoferol)** Tabiatda tokoferollar (E vitamini) ko'p bo'lib, biologik ahamiyatga ega bo'lganlari a, g tokoferollardir. Ularning hammasi xroman tuzilishining benzol halqasida metall va gidroksil guruhlari hamda yon shox-fitol guruhini saqlaydi. E vitamini o'simliklar tarkibida, ayniqsa makkajo'xori, g'o'za, bugdoy, na'matakda uchrab,



ularning yashil qismlarida hamda urug' kurtagidako'p bo'ladi. Evitamini **ko'payish vitamini** deb ataladi. E vitamin suvda erimaydi. U issiqqa ayniqsachidamli, shuningdek, kislotalar ta'siriga ham chidamli, oson aniqlanadi va ultrabinafsha nurlar ta'sirida buziladi. Bu o'z navbatida erkak va urg'ochi hayvonlarning jinsiy a'zolarida turli patologik o'zgarishlarga sabab bo'ladi. Hayvonlar organizmida E vitamini yetishmasa, oqsil, yog' va uglevodlar almashinuvi buziladi. E avitaminozining xarakterli belgilaridan biri ko'ndalang targil chiziqli muskullarda kuzatiladigan distrofiya hodisasidir. Bunda muskullarning chiziqlari yo'qoladi, tolalari ingichkalashadi, yemiriladi va nobud bo'ladi, natijada ulardan moddalar almashinuvida ham ma'lum buzilishlar ro'y beradi. E-vitamini ko'pgina birikmalarni oksidlanib ketishdan saqlaydi va antioksidantlar sifatida ishlatiladi.

#### **E vitaminining rangli reaksiyalari.**

1. Nitrat kislotasi bilan reaksiyasi. Metodning prinsipi. E vitamini konsentrlangan nitrat kislotasi bilan o'zaro ta'sir etib, ya'ni a-tokoferoldan 0-tokoferilxinon hosil bo'ladi, natijada bu birikma qizil rangni beradi.

**Kerakli asboblari va reaktivlari:** probirkalari bilan shtativ, pipetkalar; chinni idish; 40° C suv hammomi, byuretka. Reaktivlar: 1. Konsentrlangan nitrat kislotasi. 2. E vitaminining yog'dagi eritmasi. 3. Distillangan suv. 4. E vitaminining yog'dagi eritmasi. 5. 0,2% li temir xloridning spirtidagi eritmasi. 6. 0,05% li ortofenantrolinining spirtidagi eritmasi

**Ishning borishi:** Ikkita probirkaga 2-3 tomchi E vitaminining yog'dagi eritmasidan solinadi. Birinchi probirkaga 1-2 ml distillangan suv, ikkinchi probirkaga shuncha miqdorda konsentrlangan nitrat kislotasidan qo'shiladi. Ikkala probirka ham qaynab turgan suv hammomida 10 minut qizdiriladi. Nitrat kislotasi solingan probirkadagi vitaminning yog'li qavati qizil yoki sariq-qizil rangga bo'yaladi. 2. Temir xlorid bilan reaksiyasi. Tokoferollar temir xlorid bilan oksidlanadi, ya'ni temir -III-xloridi temir-II-xloridga chaqaytariladi, temirni II valentli ioni bilan ortofenantropin kompleks

$\text{Fe}(\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2)_3^{2+}$  ionni hosil qiladi, shuning natijasida eritma qizilrangga bo'yaladi. Tokoferollar temir xlorid bilan oksidlanganda piranhalqasi uzilib  $\gamma$ -oksialkilxinon hosil bo'ladi.

**Ishning borishi:** Probirkaga 1-2 ml E vitaminining yog'dagi eritmasidan solib, 1 ml ortofenantrolin eritmasidan va tomchilab

temirxloridning eritmasidan qizil rang hosil bo'lguncha qo'shiladi. K vitamin organizmda K vitamini yetishmasa, teri ostida va muskullar orasiga qon quyiladi (gemorragiyalar) va qonning ivish tezligi pasayadi. Kvitaminning yetishmasligi asosan, qonda protrombin miqdorining kamayishi bilan xarakterlanadi. K avitaminozda qonning ivishida ishtirok etadigan yana bir nechta oqsilning jigarda sintezi to'xtaydi. Agarda K avitaminozli hayvonlarga vitamin berilsa qon plazmasida protrombin miqdori ortadi va gemorragik hodisalar yo'qoladi. Kvitaminlar hayvon organizmida sintezlanmaydi. Mikroorganizmlar va o'simliklarda sintezlanadi. Ular ayniqsa, beda, ismaloq, karambarglarida ko'p bo'ladi.

### **K vitaminining sifat reaksiyalari.**

**Kerakli asboblari va reaktivlar:** probirkalari bilan shtativ, pipetkalar; chinni idish; 40° C suv hammomi, byuretkasi 1. 0,1% li vikasolning spirtidagi eritmasi. 2. K vitaminining sintetik analoglari. 3. Sisteinning 0,25 % li eritmasi. 4. 10 % li natriyishqorining eritmasi. 5. Dietilmelon efirining 1% li eritmasi. 6. Kaliy gidroksidining 1%li eritmasi. 7. Anilin.

**Sistein bilan reaksiyasi.** Probirkaga 1 ml 0,1% li vikasolning spirtidagi eritmasi solinadi. So'ngra 2 tomchi 0,25% li sistein eritmasidan va 2 tomchi 10% li natriy gidroksidining aralashmasidan qo'shiladi. Natijada sariq rang hosil bo'ladi.

2) Dietilmelon efiri bilan reaksiya. Probirkaga 2 ml 0,1% li vikasolning spirtidagi eritmasidan solinadi va 0,5 ml 1% li dietilmalonefiridan va 0,1 ml 1% li kaliy gidroksididan aralastiriladi. Reaksiya natijasida binafsha-qizil rang hosil bo'ladi.

3) Anilin bilan reaksiya. Probirkaga 2 ml 0,2% li 2-metil 1,4-naftaxinonning spirtidagi eritmasidan va 1 ml anilin eritmasidan solib aralastiriladi. Aralashma qizil rangga kiradi.

### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang
2. Tokoferol vitamin haqida gapiring.
3. E vitaminining rangli reaksiyalariga misol keltiring.



## VII BO'LIM. GORMONLAR

### 38–laboratoriya mashg'ulotlari. Gormonlar. Insulinga xos sifat reaksiyalar

Oshqozon osti bezi gormoni - insulin. Oshqozon osti bezi gormoni - insulin - Langergans orolchalarining  $\beta$ -hujayralaridan ishlab chiqariladi. Organizmda insulin yetishmay qolganda, qonda qand miqdori kamayadi (giperglikemiya) va organizmdan qandni siydik bilan birga chiqib ketishi ortadi, bu hodisa glukozuriya deb ataladi, oqibatda diabet deb ataladigan kasallik kelib chiqadi. Kristall holdagi insulinning molekulyar og'irligi 36000 ga teng bo'lib, ikkita polipeptid zanjiridan iborat: A (21 ta aminokislota qoldig'i) va B (30 ta aminokislota qoldig'i bor). Bu polipeptid zanjirlari disulfid bog'lari orqali bog'langan. Insulinning biologik ahamiyati shundan iboratki, u glikogen sintezi uchun sharoit yaratib beradi.

**Insulinning sifat reaksiyalari.** Insulin hamma oqsillarga xos bo'lgan biuret va oltingugurt tutuvchi aminokislotalarga xos reaksiya sinib beradi.

**Kerakli asboblari:** probirkalar bilan shtativ; 1,2 ml li pipetkalar; spirt lampasi. **Reaktivlar:** 1. Insulin eritmasi (ampulada). 2. Natriy ishqorining 10% li eritmasi. 3. Mis sulfatning 1% li eritmasi. 4. Qo'rg'oshinatsetatning 0,5% li eritmasi. 1. Biuret reaksiya. Probirkaga 1-2 ml insulin eritmasidan solinadi. Keyin tenghajmda natriy ishqori eritmasi va 1-2 tomchi missulfatning eritmasidan qo'shiladi. Natijada binafsha rang hosil bo'ladi. 2. Oltingugurt tutuvchi aminokislotalar uchun reaksiya. Probirkaga 1-2 ml insulin eritmasi va tenghajmda natriy ishqori eritmasidan solib qaynaguncha qizdiriladi. So'ngra 2-3 tomchi qo'rg'oshinatsetat eritmasidan qo'shib qizdiriladi. Natijada probirkada qora cho'kma hosil bo'ladi.

#### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang

2. Insulin gormoni funksiyasi?

3. Insulinga xos sifat reaksiyalar qaysilar?

## VIII BO'LIM. MOLEKULAR BIOLOGIYA

### 39-laboratoriya mashg'uloti. Tuxum oqsilidan albuminni kristali holda ajratish

Tuxum tarkibidagi oqsilning 70%ini albumintashkil qiladi. Albuminni globulin dan ajratish uchun tuxum oqsili distillangan suvning 10% eritmasida suyultiriladi. Globulinlar tuzli eritmada yaxshi eriydi, suv bilan eritilganda esa ular cho'kmaga tushadi. Eritmani filtrlash yoki sentrifugalash yo'li bilan albuminlar globulinlardan ajratib olinadi. Tekshiriluvchi material: tuxum oqsili.

**Kerakli anjomlar:** 100 va 500 ml kimyoviy stakan, 250 va 500 ml silindrlar, kolba, voronka, shisha tayoqcha, filtr qog'ozi, sentrifuga. Reaktivlar: distillangan suv. tuxum oqsili

#### **Ishning bajarilishi:**

Tuxum qobig'ining ikki tomonidan teshikcha ochib, uning oqsili 500 ml stakanga solinadi va ustiga 250 ml distirlangan suv solib, shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi. Eritmaning hajmi 300 ml ga yetguncha distirlangan suv qo'shiladi. Oqsil eritmasi 30 daqiqa xona haroratida qoldiriladi. Bir ozdan so'ng probirka tubiga globulinlar cho'kmaga tushgani ko'rinadi. Eritma filtr qog'ozidan o'tkaziladi. Filtratda qolgan suyuqlik bilan oqsilga xos sifat reaksiyasi o'tkaziladi. Olingan natijalar rasmiylashtiriladi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang
2. Globulinlar nimada eriydi?
3. Tuxum oqsilidan albuminni kristali holda ajratish uchun qanday reaktiv va asboblari kerak?

### 40-mashg'ulot. Muskel to'qimasidan oqsil fraksiyalarini ajratish

Muskel to'qimasida kreatin va kreatinfosfatni aniqlash.

Kreatin ko'ndalang targ'il muskulning muhim tarkibiy qismi



hisoblanadi.

Skelet muskullarining tarkibida kreatinning miqdori 400-500 mg %, yurak muskulida kreatin 2-3-marta kam bo'ladi. Miya to'qimasida taxminan 100 mg %, parenximatoz organlarda 10-50 mg % miqdorda kreatin bor. Muskul to'qimasida kreatin erkin holatda va fosforli hosilalari (kreatinfosfat, fosfokreatin) holatida uchraydi. Kreatin-fosfat makroergik birikma bo'lib, hujayrada energiya manbai hisoblanadi. Muskullarning qisqarishi doimo energiya hisobiga sodir bo'ladi, ya'ni ATF hisobiga - ATF ni regeneratsiyasi kreatinfosfatdagi energiyaga boy guruhni ferment kreatinkinaza ishtirokida ko'chirilishi hisobiga boradi.

Muskuldagi kreatinfosfatning miqdori 30-70 mg %, kreatinkinaza Kreatin + ADF -----> kreatin + ATF bo'ladi. Muskul to'qimasidagi erkin kreatin va kreatinfosfatning miqdori to'qimaning fiziologik holatiga bog'liq

**Miozinni ajratish.** Miozin (aktimiozin) - muskul oqsili bo'lib, muskul to'qimasidantuzli eritmalar yordamida ekstraksiya qilinadi. Hosil bo'lgan ekstraktlarsuv bilan suyultirib yoki dializ qilib, cho'kmaga tushiriladi. MiozinI muskul oqsillarining 55% ini tashkil etadi. Bu oqsilning izo elektrik nuqtasi pH 5,5 da namoyon bo'ladi.

**Kerakli asboblari va reaktivlar;** muz hammomi ,qaychi,1000 ml li kolbalar ,sentrifuga, doka.. 1. 0,15 M fosfat buferi, 0,3 M KCl eritmasida tayyorlanadi pH 6,5. 2. 0° C gacha sovitilgan distirlangan suv.

**Ishning borishi.** Yangi so'yilgan hayvon muskuli to'qimasidan olib maydalanadi. Bu jarayon -2° C da olib boriladi. 100 g maydalangan muskulga 300 ml 0,15 M fosfat buferining 0,3 M KCl dagi eritmasidansolib ekstraksiya qilinadi. Ekstraksiya - 1° C da 10 minut davomida aralashtirib olib boriladi. So'ngra aralashmaga xona haroratidagi suvdan qo'shib, hajmi 1000 ml ga yetkaziladi va doka orqali filtrlanadi. So'ngra filtratni meshalka bilan aktomiozin cho'kmasi hosil bo'lguncha aralashtirib turish (bir-ikki soat) lozim. Cho'kma sentrifuga qilinib, ajratib olinadi. Shundan keyin suyuqlikka 0° C sovitilgan 1500 ml distirlangan suv 10 minut davomida aralashtirib qo'shiladida 0° C da 2 soat qoldiriladi. So'nggi jarayonda miozinning cho'kmasi sentrifuga qilinib miozin ajratib olinadi va uning izoelektrik nuqtasi aniqlanadi.

**Kreatinni aniqlash.** Erkin holatdagi kreatinni aniqlash oqsilsiz eritmada, diasetil bilan a-naftol ishtirokida rangli reaksiya natijasida aniqlanadi.

**Kerakli asboblari varentivlar:** probirkalari bilan shtativ, muz hammomi, sentrifuga, termostat.1.  $H_2SO_4$ - 0,5 M eritmasi, 2. KOH - 2 M eritmasi.3.Diatsetilning 0,05 % li eritmasi.Bu reaktivni tayyorlash uchun 1,6 g dimetilglioksim olib, 200 ml sul'fat kislotasining 5 n eritmasidan qo'shib, kolba qumli hammomda qizdiriladi. To'liq erigandan keyin suyuqlik 100 ml li kolbaga solinadi va hajmi distirlangan suv bilan 100 ml ga yetkaziladi. 1% li diatsetil eritmasi muz xonada saqlanadi, ishlatishdan oldin suv bilan suyultiriladi.

**Oqsilsiz ekstrakti (olish) tayyorlash.** Fosforli birikmalarni aniqlash  $0-4^{\circ} C$  olib boriladi. 1-2 g muskul to'qimasidan olib, suyuq azotda muzlatiladi. So'ngra xovonchada ezilib, 200-300 mg kolbaga solinadi. Oldindan sovutilgan  $H_2SO_4$  0,5 M eritmasi bilan hajmi 10 ml gayetkaziladi, yaxshilab aralashtirilgach, oqsillarni cho'ktirish uchun sentrifuga qilinadi. 7-8 ml oqsilsiz eritmadan olib, 2 M KOH eritmasi bilan neytrallanadi (neytrallash uchun ketgan KOH miqdori hisobigaolinadi). Keyin eritma sovutilib, cho'kmaga tushgan  $K_2SO_4$  filtrlabajratiladi.

Bu filtratni kreatin va kreatinfosfatni aniqlash uchun ishlatish mumkin.

**Ishning borishi:** Kreatin miqdorini aniqlash uchun kalibrlangan grafik tuziladi. Buning uchun bir necha probirkalar olib, 0,1-0,5 mkmolkreatinni bor standart eritmadan 1 ml dan solinadi: 1 ml dan 1% anaftalning ishqordagi eritmasidan va 0,5 ml 0,05 % li diatsetil eritmasidan solinadi. Namunalarning hajmi distirlangan suv bilan 5 mlga yetkaziladi, so'ngra yaxshilab aralashtiriladi va 30 minut xona haroratida qorong'u joyda qoldiriladi. Keyin spektrofotometrda 540 nm to'lqin uzunligida optik zichligi o'lchanadi. Olingan natijalardan grafik chiziladi. Tekshirilayotgan namunalardagi kreatinni aniqlash uchun ham yuqorida yozilgan tartibdagedek ish olib boriladi. Namunaning optikzichligi belgilangandan so'ng, grafikdan qancha miqdorda kreatin borligi aniqlanadi.

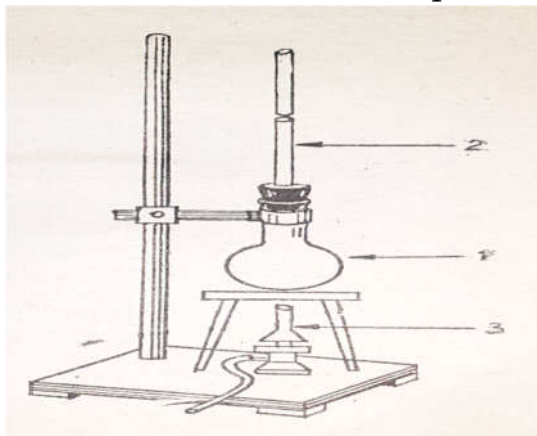
#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang
2. Miozin oqsili to'g'risida ma'lumot bering.
3. Oqsilsiz ekstrakti (olish) tayyorlash jarayonini tushuntiring.



## 41–laboratoriya mashg'uloti. Oqsillarning kislotali gidrolizi.

Oqsillarning aminokislotali tarkibini aniqlash uchun avvaloular gidrolizlanishi kerak. So'ngra xromatografiya usuli yordamida ularning aminokislotali tarkibi aniqlanadi.



**Reaktivlar:** toza oqsil namunasi. 6 n xlorid kislota eritmasi.

**Ishning borishi:** Avvalo oqsillar gidrolizlanadi. Bu uning uchun 50-100 mg toza oqsil tortib olinadi va shisha ampulaga solinadi, unga 10 ml 6 n xlorid kislota qo'shiladi. So'ngra ampula azot bilan to'ldirilib, uning ochiq tomoni eritish yo'li bilan berkitiladi.

Qaynayotgan suvda gidroliz 24 soat davom etadi. Oqsil eritmasi tayyorlanadi. Oqsilni kislota ta'sirida gidrolizlash tajribasi oqsillari tarkibiga kiradigan aminokislotalarni aniqlash uchun oqsillarni to'liq gidroliz qilish kerak. Buning uchun spvitgich o'rnatilgan probkali kolba yoki og'zi berkitilgan ampulada sulfat va xlorid kislota ishtirokida olib boriladi.

Rasmda ko'rsatilgandek yumaloq tubli kolbaga 10 ml dan 1% li oqsil eritmasidan solinadi. So'ngra 5 ml xlorid kislota qo'shiladi. Kolba og'zi uzun shisha nay o'tkazilgan probka bilan berkitiladi va asbestli sim to'rtli shtativga o'rnatiladi. Mo'rili shkaf ichida 30-20 minut davomida qaynatiladi. Gidrolizatni tozalash uchun kolbaga ozroq miqdorda aktivlangan ko'mir solib, aralashtiriladi va 5 daqiqa davomida qaynatin rangsizlantiriladi. Gidroliz tamom bo'lgach, eritma sovutiladi va chinni kosachaga solinadi. Chinni kosachadagi eritma suv hammomida bug'latiladi. Quruq kosachaga 3-4 tomchi distillangan suv qo'shib yana quriguncha bug'latiladi. Bu jarayon kosachadagi kislotali xususiyat yo'qolguncha 3-4 marta takrorlanadi va gidrolizatga distillangan suv qo'shib, 10-15 mlga yetkaziladi. Kislotali gidrolizda triptofan parchalanib ketadi. Gidrolizatdan gidroliz mahsulotlarini aniqlashda foydalaniladi. Xromatogrammaga tomiziladigan oqsil gidrolizatining miqdori, oqsil tarkibidagi aminokislotalarning miqdoriga bog'liq bo'ladi. Agar oqsil tarkibida aminokislotalar ko'p bo'lsa, kam hajmdagi gidrolizat va



aksincha, aminokislotalar miqdori kam bo'lsa, ko'p hajmdagi gidrolizatolinadi. Odatda olingannamuna tarkibidagi oqsil miqdori 0,6 mg dan 2 mg gacha bo'ladi. Gidrolizatni xromatogrammaga tomizish va aminokislotalarni ajratish yuqoridagi bayon qilinganusul yordamida amalga oshiriladi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang
2. Oqsillarning kislotali gidrolizi tajribasi ishning tartibi haqida gapiring.

#### **42–Laboratoriya mashg'uloti. Oqsillarni gel-filtratsiya usuli yordamida tozalash**

Oqsillarni yanada chuqurroq o'rganish uchun ularni fraksiyalarga ajratish kerak. Oqsillarni fraksiyalarga ajratish, ularni turli xilerituvchilarda erishiga asoslangan. O'simlik to'qimalaridan ajratib olingan oqsillar ketma-ketravishda suv (albuminlar), spirt (prolaminlar) va ishqoriy eritmaları (shyuteninlar) yordamida ekstraksiya qilinadi. Oqsillarni fraksiyalarga ajratish ham sovuq xonalarda 4° C atrofida olib boriladi.

**Ishning tartibi:** Tekshirilayotgan o'simlik materialidan 25-50 g olib, suyuq azot bilan fiksatsiya qilinadi va sovutkichda muzlatiladi. So'ngra muzlatilgan material suv bilan (1:4) nisbatda gomogenizatsiya yaqilinadi yoki chinni xovonchada bir xil massahosil bo'lguncha maydalanadi. Hosil bo'lgan gomogen massa kolbaga o'tkaziladi va maxsus tebratuvchiasbob yordamida 1 soat chayqatiladi. Bunda oqsillarni eritmaga to'liqo'tishi ta'minlanadi. So'ngra kolba 15-18 soatga 0° C da sovutkichda qoldiriladi.

O'simliklarning urug'laridan oqsillarni ajratishda esa urug'lar avval mayin kukun holiga kelgungacha maydalanadi. Ularning tarkibidagi moy va moysimon moddalar efir va atseton yordamida ajratiladi. Atsetonporoshoklar eksikatorida quritiladi. Atseton poroshokdan 5-10 g olib, 30-60 ml suv bilan aralashtiriladi va mexanik tebratkich yordamida 1 soat davomida chayqatiladi. So'ngra kolba 15-18 soatga 0° C li sovutkichda qoldiriladi.

**Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Oqsillarni fraksiyalarga ajratish nimaga asoslangan?

**43–laboratoriya mashg'uloti. Oqsillarni neytral tuzlar yordamida cho'ktirish**

Oqsillarni tabiiy holda ajratib olish uchun tuzlash reaksiyalari yaxshi natija beradi. Neytral tuzlar har xil muhitda turlicha ta'sir ko'rsatish xususiyatiga ega. Masalan: sulfat ammoniy tuzi ta'sirida oqsillar neytral sharoitda, natriy xlorid ta'sirida esa nordon sharoitda cho'kma yaxshi tushadi.

Oqsillarni ammoniy sulfat ta'sirida cho'ktirish.

**Kerakli asboblari:** probirkalari bilan shtativ, filtr qog'oz, voronka, 2,5 ml li pipetkalar. Reaktivlar: 1. Qon zardobi yoki tuxum oqsilining eritmasi, soyauni oqsili, 2. Ammoniy sulfatning to'yingan eritmasi. 3. Ammoniy sulfatning kristall tuzi. 4. Natriy ishqorining 10 %li eritmasi. 5. Missulfatning 1 %li eritmasi.

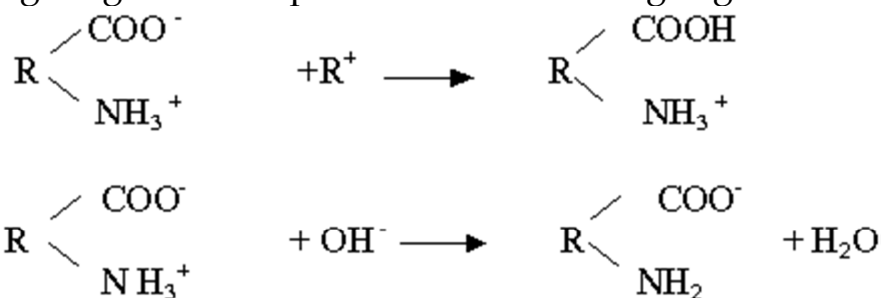
**Ishning borishi:** Probirkaga 2-3 ml qon zardobidan yoki suyultirilgan tuxum oqsilidan solib, teng hajmida ammoniy sulfatning to'yinga neritmasidan qo'shiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Natijada globulin oqsillari cho'kmaga tushadi. 8-10 minutdan keyin filtrlanadi. Globulin oqsillari cho'kmada, albuminlar filtratda qoladi. Filtratdagi albuminlarni cho'ktirish uchun ammoniy sulfatning kristallaridan to'yinguncha qo'shiladi, natijada albuminlar cho'kmaga tushadi, so'ng cho'kma filtrlanadi. 2-3 ml filtratdan olib, biuret reaksiyasi bajariladi. Agar oqsillar to'liq cho'kmaga tushgan bo'lsa, filtrat bilan biuret reaksiyasi hosil bo'lmaydi. Globulin va albumin cho'kmalari suvda eritiladi va biuret reaksiyasi bajariladi.

**Nazorat savollari:**

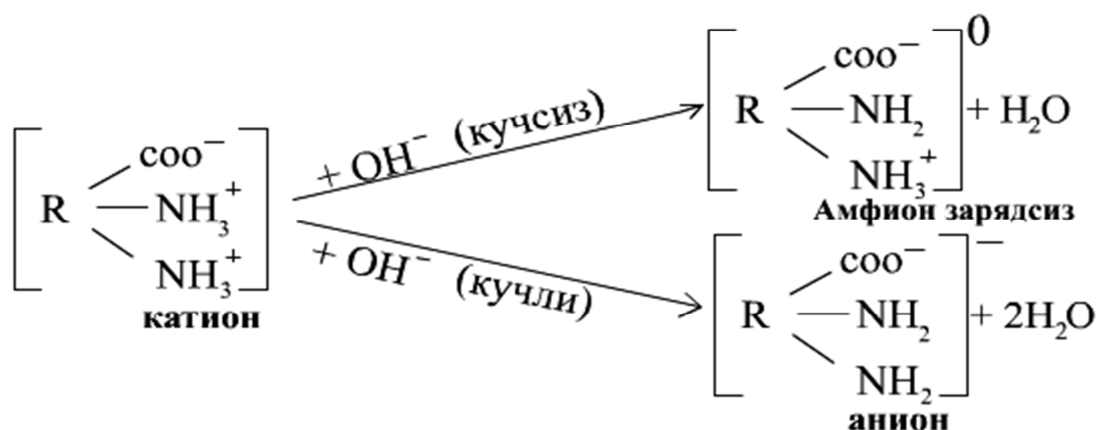
1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Oqsillarni ammoniy sulfat ta'sirida cho'ktirish jarayonini tushuntiring.

## 44–laboratoriya mashg'uloti. Oqsillarni elektroforez usulida tozalash

Molekulasi tarkibida ko'p miqdorda - COOH, - NH<sub>2</sub> funksional guruhlar bo'lganligi uchun oqsillar amfoter xossasiga ega:



Eritmadagi H<sup>+</sup> ionlari konsentratsiyasi (pH ko'rsatkichi) ni o'zgartirish yo'li bilan oqsil molekulasini dissosilanishini kuchaytirish yoki pasaytirish mumkin:



Zaryadsiz amfinonlar eritmaning ma'lum pH ko'rsatkichida, elektr maydoni bo'ylab na anodga va na qatodga qarab harakatlanmaydi. Bu holat izoelektrik holat deyiladi. Ana shu izoelektrik holatini namoyon qiluvchi pH ko'rsatkichi shu oqsilning izoelektrik nuqtasi (IEN) deyiladi. Ayrim oqsillar uchun IEN ko'rsatkichi quyidagicha: pepsin - 1,0; gemoglobin - 6,8; sitoxrom - 10,65; tuxum albumini - 4,6; mioglobin - 7,0; lizosim - 11,0 va hakoza. Oqsil molekulasining kation yoki anion holidagi zaryadining katta-kichikligiga qarab elektroforez (elektr maydonidagi harakat) hodisasi namoyon bo'ladi, undan oqsil molekulasini ajratib olishda, gomogenlik darajasini aniqlashda foydalaniladi. Oqsillar - odatda



musbat yoki manfiy zaryadga ega bo'lib, buni ular molekulasidagi aminokislotalarning musbat yoki manfiy zaryadlangan guruhlarini belgilab beradi. Agarda oqsil elektr maydoniga kiritilsa, u zaryad turiga, shuningdek oqsil molekulasining shakli va ulchamiga bog'liq holda turli tezlikda xarakatlana boshlaydi. Elektroforez metodi oqsillar aralashmalarini erkin suvli eritmalar va qattiq g'ovak matrits (kraxmalda)da ajratishga asoslangan.

Elektroforezning DNS-PAAG ishtirokida poliakrilamid gelidagi turi aniqlangan. Poliakrilamid geli akrilamid;  $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONH}_2$  ning N, N - metilen - bisakrilamid  $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$  bilan sopolimerlangan mahsuloti hisoblanadi. Poliakrilamid gellarining hosil bo'lishiga olib keluvchi sopolimerlanish reaksiyalarida katalizator sifatida ammoniy persulfat yoki riboflavin bilan birgalikda erkin radikallar manbai hisoblangan (masalan, N, N, N, N -tetrametiletildiamin) oksidlovchi-qaytaruvchi tizimlar qo'llaniladi.

Poliakrilamid geli bir qator xususiyatlarga ega: kimyoviy jihatdan turg'un va inert shaffof, adsorbsiyalash va elektro osmosga ega emas, pH va harorat o'zgaruvchanligiga turg'un, ko'pchilik eritmalarda erimaydi. Bundan tashqari, u turli kattalikda teshiklardan iborat. Elektroforez metodida oqsil molekullari nafaqat zaryadi bo'yicha, balki o'lchami bo'yicha ham farqlanadi.

**DDS-Na elektroforezi.** DDS-Na ishtirokidagi PAAG elektroforezi oqsillarni ularning nisbiy molekulyar massasiga bog'liq holda fraksiyalash imkonini beradi. DDS-Na va merkaptotanol ishtirokida ko'pchilik oqsillar DDS-Na bilan bog'lanadi va dissotsiatsiyalanadi, disulfid bog'lar merkaptotanol yordamida uziladi, ikkilamchi strukturaning buzilishi natijasida oqsil subbirliliklari va DDS-Na dan iborat kompleks betartib konfiguratsiyaga ega bo'ladi. Bu hol oqsilning massa birligiga bog'lanuvchi DDS- Na miqdori doimo turg'un va 1g oqsil uchun 1,4g DDS - Na to'g'ri kelishi bilan izohlanadi.

#### **Asbob va reaktivlar.**

**Asboblari:** elektroforez kamerasi, elektrodlar, sentrifuga, mikropipetkalar.

**1-eritma:** akrilamid-29,2gr, MBA-0,8gr, dis.suv 100ml gacha.

**2-eritma:** tris pH 8,8-1,5 M, 8B8-0,4%>, dis.suv 100ml gacha.

**3-eritma:** tri pH 6,8-1,5M, 808-0,4%, dis.suv 100ml gacha.

4,5%gel	10%gel
1-eritma:-1,7ml	1-eritma-5,66ml.
3-eritma-Zml	3-eritma - 4,25ml.
<b>SDS 20%</b> -ZOuk	<b>SDS 20%</b> - 80mkl.
Dis. Suv - 5,3ml	Dis. Suv - 7,1ml.
TEMED - 1 Omkl	TEMED - 1 Omkl.
PSA 10% - 80mkl	PSA 10% - 1 Omkl.

Elektrod buferi: tris - 0,0025M, glitsin - 0,092M, 8B8 - 0,1%, dis.suv 100ml gacha, pH - 8,3.

**Ish tartibi.** Namuna katakchaga kiritilishidan oldin oqsil ekstrakti 1-2 minut qaynab turgan suvda ushlab turilib, denaturatsialanadi va sentrifugalanadi. So'ngra ekstrakt oqsil miqdori aniqlanadi. Odatda katakchaga 20 dan 40 mkb gacha oqsil solinadi. Marker oqsillar sifatida qoramol zardobi albumini (68KD), ovalbulen (45KD) va sitroxrom (12KD) qo'llaniladi.

**Elektroforez tartibi.** Elektroforez katod (-) dan anod (+) ga tomonolib boriladi. Dastlab kichik quvvatga ega tok ulanadi. 20-30 minutdan so'ng tok quvvati oshiriladi va turg'un saqlanadi. Elektroforez so'ngida (3-4 soat) gel eritma (15 ml sirka kislota, 50ml etanol, 135ml dis.suv) da fiksirlanadi. So'ngra quyidagi eritmada bo'yaladi: havorang kumas - 200mg, sirka kislota - 15ml, etanol - 50ml, suv - 135. ortiqcha rang quyidagi eritma yordamida olib tashlanadi: sirka kislota -14mg, etanol -30 ml, suv - 135ml. oqsillarning nisbiy elektroforetik harakatchanligi bo'yovchi bromfenol ko'kning harakatiga nisbatan aniqlanadi. Marker oqsil asosida kalibrovka egri chizig'i chiziladi va o'rganilayotgan oqsillarning molekulyar og'irligi aniqlanadi.

#### **Nazorat savollari:**

1.Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Elektroforez tartibi qanday boradi?

3. Poliakrilamid geli xususiyatlari?



### **45-Laboratoriya mashg'uloti. Loviyadagi nukloproteidni aniqlash.**

Nukleoproteinlar prostetik guruhlari nuklein kislotalari-DNK yoki RNK dan iborat. Nukleoproteinlar ishqoriy sharoitda yaxshi eriydi va kislotalar ta'sirida cho'kmaga tushadi. Dezoksiribonukleoproteinlar kichik konsentratsiyali tuz eritmasida cho'kadi, yuqori konsentratsiyali tuzlar eritmasida esa eriydi. Nukleoproteinlar suyultirilgan kislotalar bilan chala gidrolizqilinganda ulardan oqsil va nuklein kislota ajralib chiqadi. Nuklein kislotalarning o'zi gidrolizlanganda birin-ketin quyidagi parchalanish mahsulotlari hosil bo'ladi:

**Kerakli asboblari:** probirkalar bilan shtativ, pipetkalar, suv hammomi.

**Reaktivlar:** 1. Nukleoproteinlarning cho'kmasi. 2. Sulfat kislotasining 5% li eritmasi.

3. Konsentrlangan sulfat kislotasi. 4. Natriy ishqorining 10% li eritmasi.

5. Ammiakning konsentrlangan eritmasi. 6. Natriy ishqorining 10% li eritmasi.

7. Missulfatning 1% li eritmasi. 8. Kumush nitratni ammiakli eritmasi: kumush nitratning 1-2% li eritmasiga ammiak eritmasidan qo'shiladi, natijada cho'kma hosil bo'ladi, so'ngramolibden reaktivi: 3,75 g ammoniy molibdat 50 ml suvda eritiladi va 50 ml 32% li nitrat kislotaga qo'shiladi.

#### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Dezoksiribonukleoproteinlar kichik konsentratsiyali tuz eritmasi va yuqori konsentratsiyali tuzlar eritmasi bilan reaksiyasi?

3. Loviyada nukloproteidni aniqlash jarayoni haqida gapiring.

### **46-laboratoriya mashg'uloti. Jigardan nukleoproteidlarni ajratish.**

Nukleoproteinlarning bu turi hujayra yadrosining eng muhim tarkibiy qismi hisoblanadi. Shuningdek, ularyadroning oqsillari

debham ataladi. Jigar, taloq, oshqozon-osti bezi, buyrak nukleoproteinlarga boydir. Yadro oqsillarining xarakterli xossasi - tuzlarning kuchli eritmalarda (natriy xlorid va boshqalar) yaxshi eriydi va kislotali eritmalarda esa cho'kmaga tushadi.

**Kerakli asboblari:** sentrifuga, qaychi, xavoncha, 300 va 400 ml listakan, 100 ml li silindr, texnik tarozi.

**Reaktivlar:** 1. Mol, quyon, cho'chqaning jigari yoki talog'i, yangisi yoki muzlatilgani. 2. Natriy xloridning 5 %li eritmasi. 3. Yog'och tayoqcha.

**Ishning borishi.** 2-2,5 g jigar yoki taloq olib, qaychi bilan yaxshilab maydalanadi, so'ngra xavonchaga 5 %li natriy xlorid eritmasidan ozgina solib eziladi. Shundan keyin xavonchaga oz-ozdan 70-80 ml oshtuzi eritmasidan solib, 10-15 minut davomida eziladi. Xavonchadagi gomogenat sentrifuga stakanlariga solinadi va 10-15 minut 2500 ayl/minut tezlikda sentrifugalanadi, so'ngra cho'kmasi tashlab yuboriladi va suyuqlik qismining hajmi silindr bilan o'lchanadi. Suyuqlik hajmidan olti marta ko'p suv o'lchab stakanga solinadi va uni yog'och tayoqcha bilan aylantirish davomida suvga suyuqlik quyiladi. Dezoksiribo nukleoproteinlar ipsimon holatda cho'kmaga tusha boshlaydi, ularni yog'och tayoqcha bilan o'rab olinadi va probirkaga solinadi. Ular nukleoproteinlar bilan olib boriladigan sifat reaksiyalari uchun ishlatiladi.

### **Nazorat savollari:**

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.

2. Jigardan nukleoproteidlarni ajratishda ishning borishini gapirib bering.

3. Nukleoproteidlar qanday organik moddalar?

### **47-laboratoriya mashg'uloti. Nuklein kislotalarni umumiy va alohida miqdorini aniqlash**

**Asbob va reaktivlar** sentrifuga, qaychi, 300 va 400 ml listakan, 100 ml li silindr, texnik tarozi. Termometr, termostat, lakmus qog'ozi

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ning 5% li va 57% li eritmasi sulfat kislotaning konsentrlangan eritmasi, xlorid kislotaning 2 n va 6 n eritmasi, xlorat kislotaning 0,5 n va 1 n eritmasi, natriy gidroksidining 1 n eritmasi, etil spirtning 80% li va 96% li



eritmasi, efir.

Yuqoridagi tajribada ajratib olingan nukleoproteidlar kislotada eruvchi fosfor va fosforlipidlarni ajratib olgandan so'ng, probirkada qolgan cho'kma 20 ml o'yuvchi natriyning 1 n eritmasi bilan yaxshilab aralashtiriladi va 18 soat davomida 37° C da termostatda saqlanadi. So'ngra 20 minut davomida 4000 tezlik bilan sentrifugalanadi. Ishqoriy eritmadan umumiy fosfor aniqlanadi. Keyingi ishlar sovuq sharoitda bajarilishi kerak. DNK ni cho'ktirish uchun sentrifuga probirkasiga eritmadan 5ml quyiladi va sovitiladi. Sovitilgan eritmaga xlorid kislotaning 6 neritmasidan tomchilab pH 6,6-6,8 ga yetguncha qo'shiladi. So'ngra DNK ni cho'ktirish uchun 5 ml xlorat kislotaning 1 n eritmasidan (sovitilgan) qo'shiladi va 3 soat davomida DNK to'liq cho'kmaga tushguncha sovuqxonada saqlanadi. Cho'kmani 20 minut davomida 4000 tezlik bilan sentrifugalab DNK ajratiladi. Eritmada RNK komponentlari qoladi. Shu eritmadan umumiy va anorganik fosfor aniqlanadi. Nuklein kislotalarni ekstraksiya qilish DNK cho'kmasi 10 ml xlorat kislotaning 0,5 n eritmasi bilan 100° C da 20 min. davomida ikki marta ekstraksiya qilinadi. Har safar eritma 10 min. davomida 3000 tezlik bilan sentrifugalanib ajratiladi. Eritmalar qo'shilib undagi umumiy va anorganik fosfor aniqlanadi. Ishqoriy eritmadagi umumiy fosfor (R<sub>1</sub>) va DNK ni cho'ktirgandan keyin eritmadagi umumiy fosfor (R<sub>2</sub>) ni aniqlash bilan nuklein kislotatarkibidagi umumiy fosfor (P<sub>j</sub>-P<sub>2</sub>) topiladi.

Nuklein kislotalarning ishqoriy eritmasida DNK o'zgarmaydibiroq, RNK qisman mononukleotidlargacha parchalanadi. DNK ni cho'ktirgandan keyingi eritmadagi umumiy fosfor (R<sub>2</sub>) va shu eritmadagi anorganik fosfor (R<sub>3</sub>) ni aniqlash bilan RNK tarkibidagi fosfor (R<sub>2</sub>-R<sub>3</sub>) topiladi. DNK tarkibidagi fosfor esa DNK komponentlari ekstraksiya qilingandan keyin qolgan eritmadagi umumiy fosfor (R<sub>4</sub>) bilan shu eritmadagi anorganik fosforning ayirmasiga (R<sub>4</sub>-R<sub>5</sub>) teng bo'ladi.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Nuklein kislotalar kimyoviy tarkibi?
3. Nuklein kislotalarni ekstraksiya qilish qanday amalga ishirladi?



## 48-laboratoriya mashg'uloti. Hayvon to'qimasidagi nukleinkislotalarining umumiy miqdorini aniqlash.

Metod purin va pirimidin asoslari ultrabinafsha nurlarining 260-280 nm to'lqin uzunligidagi qismini yutishga asoslangan. Hayvonto'qimasidagi umumiy nuklein kislotalarining miqdorini aniqlashmetodini A.S.Spirin yaratgan bo'lib, kislotada eruvchi nukleotidlar sovutilgan 0,2 n xlor kislotasi bilan ajratib olinadi, nuklein kislotalarning ekstraksiyasi va gidrolizi 0,5 n xlor kislotasi bilan 100° C da olib boriladi, ekstraktlarning optik zichligi 270 va 290 nm to'lqin uzunligida aniqlanadi va formula bo'yicha hisoblanadi.

**Kerakli asboblari va reaktivlari:** probirkalari bilan shtativ, pipetkalar, sentrifuga, spektrofotometr, suv hammomi. 1. Perxlorat kislotasining 0,2 n va 0,5 n eritmasi.

**Ishning borishi:** 100-200 mg to'qima tortib, maydalanadi va sentrifuga stakaniga solib, unga 5-10 ml sovutilgan 0,2 n xlor kislotas eritmasidan qo'shiladi. Stakanlardagi suyuqlik yaxshilab aralashtiriladi, so'ngra 3000 ayl/min tezligida 5 minut sentrifuga qilinadi. Sentrifugaga tashlab yuboriladi, cho'kmaga esa 5-10 ml 0,5 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> kislotasini eritmasidan qo'shiladi va probirkalar qaynab turgan suv hammomiga 20 minut qo'yiladi. Gidrolizat sovutilib, sentrifuga qilinadi hamda spektrofotometrda 270 va 290 nm to'lqin uzunligida kontrol 0,5 n H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> eritmasiga nisbatan o'lchanadi, optik zichligi aniqlanadi. 1 ml tekshirilayotgan eritmaning nuklein kislotasidagi fosfor miqdori mkg da hisoblanadi.

Bunda 0,19-1 ml eritmaning nuklein kislotasidagi fosforning (1 mkg) optik zichlik ko'rsatkichi. Nuklein kislotalarning miqdori ularning tarkibidagi fosforga qarab hisoblanadi va bunda o'rtacha hisoblash ko'effitsiyenti 10,3 qo'llanadi.

$$C_{\text{mkgNK}} = C_{\text{mkgR}} \cdot 10,3$$

10,3 – o'rtacha hisoblash ko'effitsiyenti.

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Hayvon to'qimasidagi nuklein kislotalarining umumiy miqdorini aniqlash tartibini aytib bering.



## 49-laboratoriya mashg'uloti. DNK gidrolizi mahsulotlarini xromotografiya usulida identifikatsiya qilish

Dneasy Tissue Kit (QIAGEN GmbH, Germany) reagentlar to'plami afzalligi jinsiy voyaga yetgan nematodalarning 10 mg to'qimasidan tashqari, juda kichik o'lchamdagi nematodalarning lichinkasi yoki tuxumidan genom DNK sini ajratib olish mumkin (4-rasm).

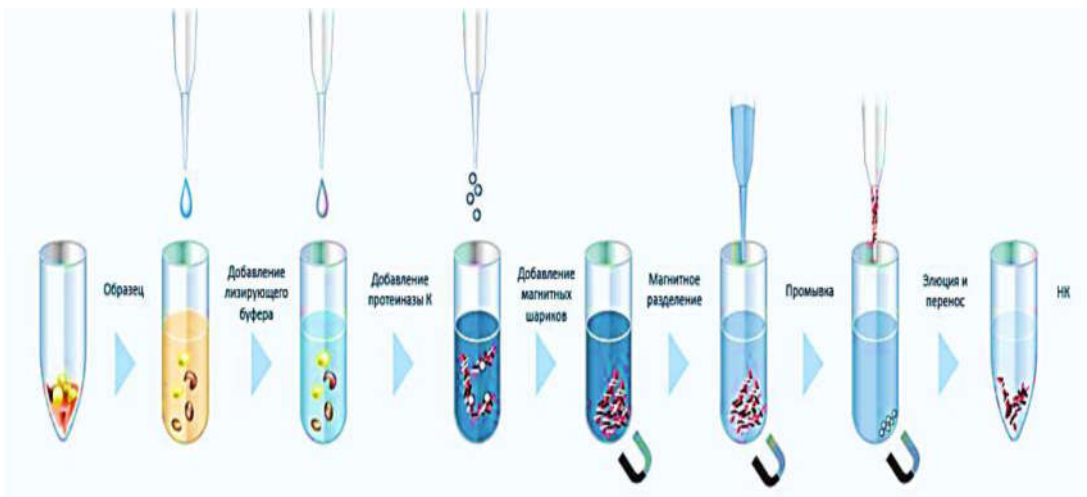
Bunda nematoda to'qimasining kichik bo'lagi ajratib olinadi yoki pipetka bilan 1-2 dona lichinka yoki tuxumi olinadi va 1,5 ml li "Ependorf" probirkasiga solinadi. Namunalar og'irligi 10 mg dan oshmasligi kerak. Biologik materialga 180 mkl ATL buferi solinadi. 20 mkl proteinaza K qo'shiladi va vorteksda 15 sek davomida aralashtiriladi. Probirkalar termostatda 55° C haroratda biologik materialning to'liq parchalanishiga qadar inkubatsiya qilinadi. Namunalarni 1-3 soatga yoki kechasiga 18 soatga qoldirish mumkin. 15 sek davomida vorteks qilinadi, keyin 200 AL buferi qo'shib, 15 sek vorteksda aralashtiriladi, 70° C haroratda 10 minut inkubatsiya qilinadi.

So'ngra 200 mkl etanol (96-100% li) qo'shib, vorteksda gomogen eritma hosil bo'lguncha aralashtiriladi. Har bir gomogen ehtiyotkorlik bilan

(Dneasy Mini spin column) filtrli epindorf probirkalarga solinib, qopqoqlari berkitilib 1 minut davomida 8000 ayl/min tezlikda sentrifuga qilinadi. Epindorfga o'tgan toza suyuqlikni 2 ml li probirkalarga o'tkazilib, ustiga 500 mkl AW1 solinib 1 minut davomida 8000 ayl/min tezlikda sentrifuga qilinadi.

Toza suyuqlikni 2 ml li filtrli probirkalarga o'tkazilib, ustiga 500 mkl AW2 bufer solinib filtdan suyuqlik to'liq ajralguncha 14 000 ayl/min tezlikda 3 minut davomida sentrifuga qilinadi. Filtrli epindorfni boshqa 1,5 ml li yoki 2 ml li probirkalarga o'tkaziladi va ustiga 50-100 mkl AE bufer yoki distillangan suv solinadi, so'ngra xona haroratida 2 minut inkubatsiya qilinadi va 8000 ayl/min tezlikda 1 minut sentrifuga qilinadi.

Buferda erigan DNK -20° C haroratda saqlanadi. Eluat olish jarayonini 8-bosqichga ko'ra takrorlash mumkin. Bundan tashqari, hozirgi vaqtda nuklein kislotalarni avtomatik ravishda ajratib olish uchun bir necha priborlar ishlab chiqarilgan. 4-rasm. MagPurix 12s tizimi yordamida NK avtomatik ravishda ajratib olish bosqichlari. NK ajratib olishda moddalarni ajratishda magnit shariklari yordamiga asoslangan.



### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. Nematodalarning lichinkasi yoki tuxumidan genom DNK sini ajratib olish tartibi haqida gapiring.

### 50-mashg'ulot. Nuklein kislotalarni elektroforet usulida ajratish

**DNK elektroforezi** - analitik metod bo'lib, ajratish, tenglashtirish va dnk qismlarini tozalash uchun foydalaniladi. DNK elektroforezi gorizontaal yo'nalishda amalga oshiriladi (Osterman, 1996).

DNK molekulasida shakarfosfat qoldig'i manfiy zaryadlangan, shuning uchun DNK zanjiridagi manfiy zaryadlangan katoddan elektor maydon kuchi ostida musbat zaryadlangan anod tomonga harakatlanadi, uzunroq bo'lgan molekular sekinroq ko'chadi, chunki gelda ushlanib qoladi, qisqaroq molekular tezroq harakat qiladi (Maniatis, 1984).

Natijalarni vizuallashtirish maqsadida erigan agarozaga bromli etidiy kiritiladi (Dretzen et. Al., 1991). Olingan DNK qismlari o'lchamlari tahlili uchun chiziqli DNK markeridan foydalaniladi.

Elektor maydon kuchlanishi katta ahamiyatga ega, shu sababli taqsimlanish samaradorligi pasayishi kuzatiladi. DNK qismlarini ajratishda eng maksimal samaradorlikka erishish maqsadida, kuchlanish 1 santimetr gelda 5 voltdan oshmasligi zarur (Girvitz et. al., 1990).

Gelning tarkibiga quyidagilar kiradi: 1x tae (rn 8,1), agaroz, bromli etidiy. Gelning foiz ulushiga qarab har xil tarkibiy qismlar qo'shiladi. Gelning foiz ulushi DNK qismlari tarqalish uzunligi orqali tanlanadi (4



jadval). 18s r RNK gen tahlili uchun (uzunligi taxminan 600 j.n.) 2% li agaroz geli optimal hisoblanadi.

4-jadval. Gelda agaroz konsentratsiyasining nisbati va tahlil qilinayotgan DNK fragmentining optimal razmeri. Geldagi agarozaning miqdori (%) DNK qismlari o'lchami (ming j.n, kb)

Geldagi agarozaning miqdori (%)	DNK qismlari o'lchami (ming j.n, kb)
0,3	50-60
0,6	1-20
0,7	0,8-10
0,9	0,5-7
1,2	0,4-6
1,5	0,2-3
2,0	0,1-2

### Nazorat savollari:

1. Tajribadan kuzatilgan natijalarini ketma-ketlikda sxematik tarzda ifodalang.
2. DNK elektroforezi metodi to'g'risida gapiring.

### 51 mashg'ulot. PCR bilan tanishish. PCR-amplifikatsiyasi metodining asosiy tushunchalari

Polimeraza zanjir reaksiyasi (PCR) - in vitro amplifikatsiya metodi bo'lib, uning yordamida qisqa vaqt mobaynida muayyan sondagi DNK ketma-ketligini odatdagidan 1000 marotaba ko'proq tanlash yoki ko'paytirish mumkin (mullis, faloon, 1987). Metod mohiyati - probirkada muayyan DNK qismlarini qaytalanuvchi temperatura sikllarida ko'p marotabali ko'chirish (amplifikatsiya). Amplifikatsiyaning har bir siklida yuqorida sintezlangan fragmentlar yana DNK-polimeraza fermenti yordamida ko'chiriladi va DNK fragmentlari o'ziga xos ko'p marotaba kattalashadi (Boldireva, 2005).

Pzr qo'llanilish sohasi: genom ketma-ketligini yuqori darajali klonlash (scharf et al., 1986), mitoxondriya va genom dnk larini to'g'ri sekvenerlash (wong et al., 1987), nukleotid ketma-ketligi o'zgaruvchanligini tahlillash va kasallik qo'zg'atuvchilarni aniqlash

Polimeraza zanjir reaksiyasini o'tkazish uchun reaksiya aralashmada turli xil tarkiblar bo'lishi zarur (saiki i dr., 1990):

Ikta praymer – sun'iy yo'l bilan sintezlangan.

Praymerning nukleotidlar ketma-ketligiga bo'lgan talablar:

Ichki ikkilamchi tuzilishning bo'lmasligi;

Nukleotidlar tarkibining muvozanatlangan bo'lishi g/s, a/t va hamma ketma-ketlik bo'yicha to'g'ri taqsimlanganligi;

Dimer praymerlar bo'lmasligi uchun, 3'chi oxiri orasida komplementarlikni bo'lmasligi.

Praymerlarning optimal konsentratsiyasi 0,1-0,5 mkm. Praymerlarning yuqori konsentratsiyasi o'ziga xos bo'lmagan qizdirishga yoki o'ziga xos bo'lmagan pcr-amplifikatsiya mahsulotlari yig'ilishiga olib kelishi mumkin.

DNK-polimeraza termostabilligi (taq-polimeraza). DNK-polimerazaning umumiy xususiyati shundaki, 5'x3' yo'nalishida nuklein kislotalarning matritsiyalangan sintezini olib borishi. Ko'pchilik DNK-polimerazalar xatolik orqali qo'shilgan nukleotidlarni olib tashlash uchun mo'ljallangan 3'x5' ekzonukleazali faollikka ega bo'ladi. Odatda reaksiya o'tkazish uchun 0.5-0.25 birlikda termostabil polimerazaning thermus aquaticus o'zi kifoya. 2'-dezoksinukleozid-5'-trifosfat aralashmasi (dngf - datf, dgtf, dstf i dttf) - taq-polimeraza yordamida ikkinchi DNK zanjiri sintezi uchun foydalaniladi. Nostabillangan dotf aralashma DNK polimeraza ishi aniqligini kamaytiradi. Dngf baland konsentratsiyasi mg<sup>2+</sup>, ionlari konsentratsiyasini kamaytiradi va DNK polimeraza faolligini pasaytiradi.

Bufer - ma'lum konsentratsiyadagi kation va anionlar aralashmasi bo'lib, reaksiya uchun optimal sharoit yaratadi: stabil rn va eritmaning ion kuchi.

Tahlil qilinayotgan namuna - reaksiya aralashmasiga kiritish uchun tayyorlangan preparat bo'lib, PCR-amplifikatsiyasi uchun nishon hisoblangan DNKni o'zida saqlaydi.

Mg<sup>2+</sup> ioni - taq-polimeraza ishi uchun kerakli. Ishchi konsentratsiyalar diapazoni: 0,5-5,0 mm (10 mm - dng-polimerazani 40-50% ga susaytiradi mg<sup>2+</sup> konsentratsiyasining oshishi polimeraza zanjir reaksiyasining o'ziga xosligiga va samaradorligiga kuchli ta'sir ko'rsatadi: PCR-mahsulotlar chiqishini ko'paytiradi, lekin praymerlar gibridlanishi xosligi susayadi. Mg<sup>2+</sup> optimal konsentratsiyasi DNK-matritsasi va praymerlari nukleotid ketma-ketligiga bog'liq. Mg<sup>2+</sup> dntf bilan kompleks



hosil qiladi, aynan shu koplekslar taq- polimeraza uchun substrat hisoblanadi.  $Mg^{2+}$  konsentratsiyasi ko'tarilishi DNK erish temperaturasini ko'tarilishiga va praymerlar gibridlanishi aniqligini pasayishiga olib keladi.

Siklik temperatura rejimi - PCR- amplifikatsiyasida tahlil qilinayotgan dnkdagi qator hodisalar bo'lib muayyan temperatura parametrlari taminlanadi. Har bir amplifikatsiya sikli 3ta bosqichdan iborat (ribchin, 2002):

Denaturatsiya. Reakcion aralashmani  $95^{\circ} C$  gacha qizdiriladi, buning natijasida ikki zanjirli dnk molekulasi yechilib ketadi (ajralib) va ikkita bir zanjirli molekula hosil qiladi.

Yumshatish (praymerlarning qo'shilishi, gibridlanishi). Praymerlar bir zanjirli dnkga qo'shiladi. Ko'zlangan spetsifik soha chegarasidagi qarama-qarshi dnk zanjirlariga mos keladigan ketma-ketlikka to'g'ri va qarama-qarshi praymerlar komplementar bo'lib qo'shiladi. Har bir juft praymer uchun o'zining yumshatish temperaturasi mavjud bo'lib, u  $50-65^{\circ}C$  oraliqda bo'ladi. Yumshatish vaqti 20-60 sek.

Elongatsiya (dnk sintezi). DNK zanjirining qarama-qarshi yo'nalishda 5'chi oxirdan 3'chi oxirga komplementar qurib bitirilishi. DNKning yangi zanjirlari sintezi uchun 2'- dezoksinukleozid-5'-trifosfat eritmasi material bo'lib xizmat qiladi. Bu bosqichda reakcion aralashmadagi temperaturani optimum darajasiga olib chiqiladi ( $72^{\circ} C$ ). Elogatsiya davom etish vaqti apmlifikatsiya qilinayotgan dnk fragmentining uchunligi yoki dnk-polimeraza fermentining ishlash tezligi bilan belgilanadi. Elongatsiya vaqti odatda quyidagi formula yordamida aniqlanadi:  $t(\text{elongatsiya}) = 1 \text{ daqiqa} \times n$  (m.j.n. DNK).

Apmlifikatsiyaning temperatura sikli ko'p marotaba qaytariladi (25 va undan ko'p). Har bir siklda sintezlanayotgan dnk fragmentlari ikki marotaba ko'payadi. Siklik jarayon natijasi dnk fragmentlarining o'ziga xos eksponensial ko'payishidir.

Tugallanayotgan qurilish. Odatda PCR-amplifikatsiyasi oxirgi siklidan so'ng qisman sintezlangan PCR mahsulotlarini tugallash uchun reakcion aralashmani qo'shimcha ravishda 5-15 daqiqa mobaynida  $72^{\circ} C$  da inkubatsiya qilinadi (saiki i dr., 1990).

Nazorat savollari:

1. PCR metodi mohiyatini gapirib bering.
2. Bu metod qo'llanilish sohalari haqida tushuncha bering.

## ASOSIY ATAMALARNING QISQACHA LUG`ATI

**Biokimyo-tirik** organizmlar tarkibiga kiradigan moddalarning kimyoviy tabiati, almashinuvi va bu almashinuv jarayonlarining organ va to'qimalar faoliyati bilan bog'liqligini o'rganuvchi fan.

**Statistik biokimyo-tirik** organizmlarning tarkibini o'rganuvchi fan.

**Dinamik biokimyo**-organizmda modda va energiya almashinuvini o'rganuvchi fan.

**Funksional biokimyo**-xilma-xil hayotiy jarayonlarning asosini tashkil qiluvchi kimyoviy jarayonlarni o'rganuvchi fan.

**Makro elementlar**- tirik organizmning tarkibida 10%dan 0,01%gacha bo'lgan miqdorda uchrovchi elementlar.

**Mikro elementlar**- tirik organizmning tarkibida 0,001-10<sup>-5</sup> %gacha bo'lgan miqdorda uchrovchi elementlar.

**Ultramikro elementlar**- tirik organizmning tarkibida 10<sup>-6</sup> -10<sup>-12</sup>%gacha bo'lgan miqdorda uchrovchi elementlar.

**Katabolizm** –degradasiya, dissimilyasiya jarayoni.

**Anabolizm** –sintez, assimilyasiya jarayoni.

**Protein** –aminokislotalardan tashkil topgan makromolekula

**Proteid** –aminokislotalar va nooqsil tabiatli moddalardan tashkil topgan ulkan makromolekula.

**Koferment** –ferment tarkibiga kiruvchi nooqsil tabiatli modda bo'lib, dissosiasiya jarayonida oqsil molekulasidan ajraladi.

**Kofaktor** –ferment tarkibiga kiruvchi nooqsil tabiatli modda, lekin dissosiasiya jarayonida ham undan ajralmaydigan birikma.

**Nukleozid** –azotli asos va riboza yoki dezoksirobozadan tashkil topgan makromolekula.

**Nukleotid** –azotli asos, riboza yoki dezokriboza va fosfat kislota qoldig'idan tashkil topgan makromolekula.

**Ribonuklein kislota**- ribonukleotidlarning o'zaro qo'shilishidan hosil bo'lgan ulkan makromolekula.

**Dezoksaribonuklein kislota** -dezoksiribonukleotidlardan tashkil topgan makromolekula.

**Ribonukleoprotein** –ribonuklein kislotalari va oqsildan hosil bo'lgan makromolekula.

**Dezoksiribonukleoprotein** –dezoksiribonuklein kislotalari va oqsildan



hosil bo'lgan makromolekula.

**Replikasiya**-DNK qo'sh zanjirining bir-biridan ajralishi.

**Transkripsiya**-DNK negizida mRNKni hosil bo'lishi.

**Translyasiya**-ribosomalarda tRNK va mRNK ishtirokida amalga oshiriladigan oqsil biosintezi.

**Ingibitorlar**-biokimyoviy jarayonlarni kechishini bo'g'ib qo'yuvchi moddalar.

**Aktivatorlar**-biokimyoviy jarayonlarni kechishini faollovchi moddalar.

**Disaxarid**-ikkita geksoza qoldig'idan iborat bo'lgan karbonsuv.

**Polisaxarid**-ko'pdan-ko'p pentoza yoki geksoza qoldiqlaridan tashkil topgan makromolekula.

**Lipidlar**-yog' va yog'simon moddalar.

**Vitaminlar**- organizmda oz miqdorda uchrovchi, oziqa ahamiyatiga ega bo'lmagan moddalar almashinuvida ishtirok etadi.

**Avtonom plazmidlar** — asosiy xromosomaga birika olmaydigan va asosiy xromosomadan mustaqil ravishda o'z-o'zidan replikasiya qiladigan halqasimon DNK molekulalari.

**Agrobakterium** — (lotincha **Agrobacterium**) o'simliklarni zararlantirganda shish hosil qiladigan tuproq bakteriyalari.

**Antigen** — (ingl. **anti** — qarshi) hujayraga kirganda antitana hosil qiluvchi, organizm uchun yot bo'lgan molekulalar.

**Antitana** — antigenni neytrallovchi oqsil molekulalari.

**Bakterifaglar** — bakteriyalarda parazitlik qiladigan va ularni lizis qiluvchi viruslar.

**Biotexnologiya** — biologik makromolekulalar va organizmlardan foydalanib mahsulotlar ishlab chiqarish texnologiyasi.

**Vektor konstruksiyasi** — biror ahamiyatga ega DNK bo'lagi kiritilgan plazmid, virus yoki ko'chib yuruvchi genetik elementlarning DNK molekulasi.

**Gen** — polipeptid zanjiri sinteziga javobgar bo'lgan DNK bo'lagi.

**Genetik injeneriya** — gen yoki genlar yig'indisining maqsadga muvofiq o'zgartirilishi (manipulyatsiya qilish).

**Genlarni klonlash** — ko'zlangan DNK bo'lagini vektorlar vositasida ko'paytirish.

**Genom** — organizmlar genlari yig'indisi.



**Gibridoma** — limfotsit yoki har qanday normal hujayra bilan rak hujayrasining qo'shilishi natijasida hosil bo'lgan, tez bo'linuvchi duragay hujayralar to'plami.

**Ekssiziya** — (ingl. excision — chiqib ketish) profagning bakteriya genomidan chiqib ketish jarayoni.

**Elektroforez** — molekullarning elektr maydoniga joylashtirilgan maxsus gel ichida kattaligiga ko'ra bir-biridan ajratish usuli.

**Endonukleaza** — DNK zanjirining kesuvchi fermentlari (restriktaza).

**Inseriya** — (ingl. insertion — kiritmoq) DNK bo'lagi genomning ma'lum joylariga kirishi.

**Kallus to'qima** — hujayraning bo'linishidan hosil bo'lgan, deyarli ixti-soslashmagan hujayralar massasi.

**Klon** — bitta hujayradan hosil bo'lgan, irsiy jihatdan o'xshash hujayralar koloniyasi.

**Koferment** — ferment tarkibiga kiruvchi nooqsil tabiatli modda bo'lib, dissosiasiya jarayonida oqsil molekulasidan ajraladi.

**Kofaktor** — ferment tarkibiga kiruvchi nooqsil tabiatli modda, lekin dissosiasiya jarayonida ham undan ajralmaydigan birikma.

**Nukleozid** — azotli asos va riboza yoki dezoksirobozadan tashkil topgan makromolekula.

**Nukleotid** — azotli asos, riboza yoki dezokriboza va fosfat kislota qoldig'idan tashkil topgan makromolekula.

**Ligaza** — DNK molekulasi uchlarini bir-biriga ulovchi fermentlar.

**Lizis** — bakteriya hujayrasining bakteriofaglar tomonidan nobud qilinishi.

**Lizogeniya** — bakteriofagning bakteriya genomiga profag holida joylashib olish qobiliyati.

**Lizogen bakteriya** — genom tarkibida noaktiv profag tutgan bakteriya.

**Molekulyar genetika** — organizmlar irsiyatining molekulyar asoslari-ni o'rganuvchi genetika fanining bir bo'limi.

**Monoklonal antitana** — bir tur antitana hujayralarining o'sma hujayralariga duragaylash orqali olingan gomogen antitana oqsil molekullari.

**Plazmid** — xromosomadan tashqarida joylashgan, o'z-o'zini replikasiya qila oladigan halqali DNK molekulasi.



**Poliklonal antitana** — organizmga tushgan yot moddaga qarshi ishlab chiqilgan geterogen antitana oqsil molekulari.

**Pronukleus** — urug'langan tuxum hujayradagi hali qo'shilib ulgur-magan sperma va tuxum hujayra yadrolari.

**Protoplast** — hujayra qobig'i maxsus usullar bilan olib tashlangan o'simlik hujayrasi.

**Protein** — aminokislotalardan tashkil topgan makromolekula.

**Proteid** — aminokislotalar va nooqsil tabiatli moddalardan tashkil topgan ulkan makromolekula.

**Rekombinan T-DNK** — yot DNK molekulasini vektor plazmida tarkibiga kiritishdan olingan genetik konstruksiya.

**Restriktaza** — (ingl. restriction — kesish) DNK molekulasining maxsus nukleotidlar izchilligiga ko'ra bo'laklarga bo'luvchi fermentlar.

**Retrotranspozon** — i-RNK matritsa vositasida o'z nusxasini sintezlab, genomning boshqa joyiga ko'chib o'tadigan virussimon DNK molekulasini.

**Ribonuklein kislota** — ribonukleotidlarning o'zaro qo'shilishidan xosil bo'lgan ulkan makromolekula.

**Dezoksiribonuklein kislota** — dezoksiribonukleotidlardan tashkil topgan makromolekula.

**Ribonukleoprotein** — ribonuklein kislota va oqsildan hosil bo'lgan makromolekula.

**Dezoksiribonukleoprotein** — dezoksiribonuklein kislota va oqsildan hosil bo'lgan makromolekula.

**Replikasiya** — DNK qo'sh zanjirining bir-biridan ajralishi.

**Transkripsiya** — DNK negizida mRNKni hosil bo'lishi.

**Translyasiya** — ribosomalarda tRNK va mRNK ishtirokida amalga oshiriladigan oqsil biosintezini.

**T-DNK** — Agrobakterium Ti-plazmidasi tarkibidagi shish hosil qiluvchi DNK bo'lak.

**Teskari transkripsiya** — bir zanjirli RNK molekulasidan qo'shaloq zanjirli DNK molekulasining sintezlanishi.

**Ti-plazmid** — agrobakteriya hujayrasidagi o'simliklarda shish kasalligini keltirib chiqaruvchi plazmid.

**Transgen o'simlik** — (ingl. trans — ko'chish) yot genni hujayraga kiri-tib, undan sun'iy sharoitda olingan yangi xususiyatli o'simlik.

**Transduksiya** — induksiya davrida profagning bakteriya genomidan biror genni olib chiqib ketishi.

**Transmissibl plazmid** — hujayra xromosomalari tarkibiga rekombina-tsiyalana oladigan plazmidlar.

**Transpozonlar** — genomdan o'zini qirqib, genomning boshqa joyiga ko'chib o'tadigan genetik strukturalar.

**Transpozaza** — transpozonlarning ko'chib o'tishini ta'minlaydigan ferment.

**Transformatsiya** — bir hujayra DNK bo'lagining ikkinchi hujayra genomiga funksional aktiv holatda ko'chib o'tishi.

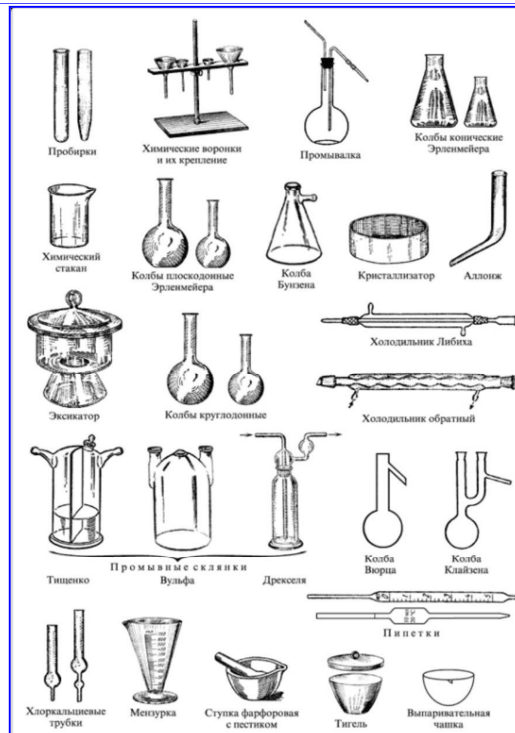
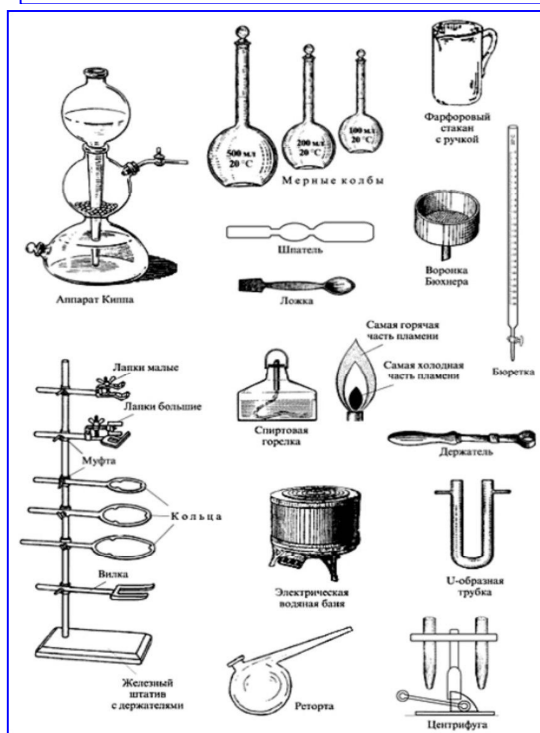
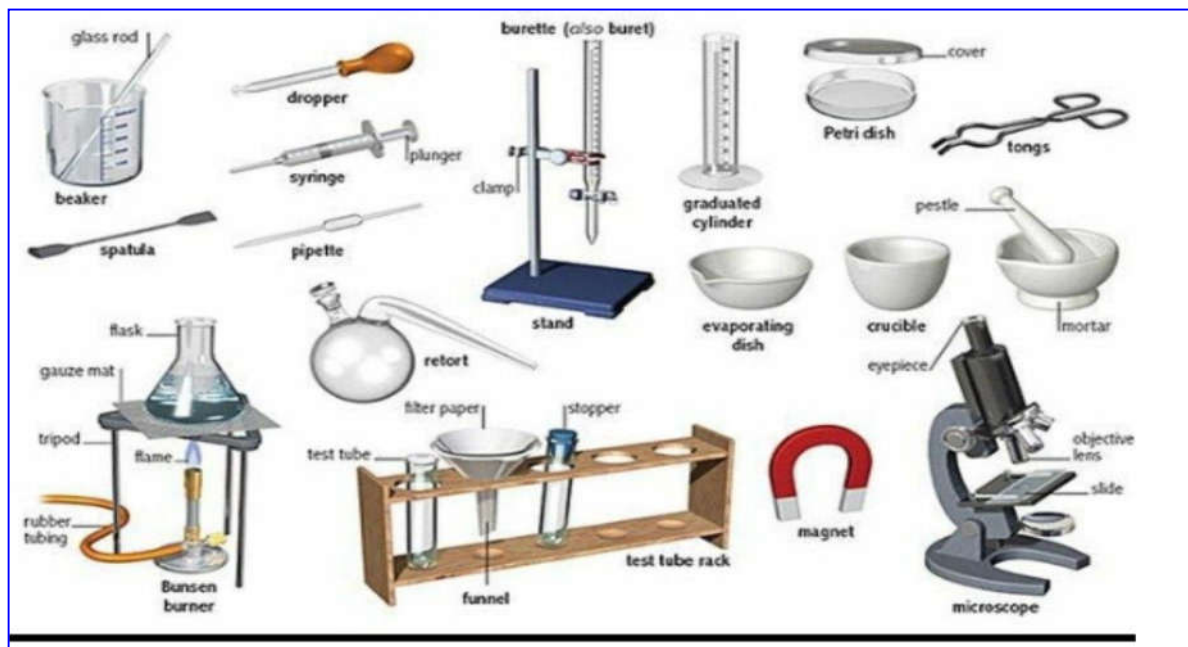
**Fag** — bakteriofag so'zining qisqartmasi.

**Shtamm** — bir tur hujayraga mansub bo'lgan faqatgina ayrim genlari bilangina farqlanadigan hujayralar xili.







1-ilova.









## Biokimyo laboratoriyasida ishlatiladigan asboblar va jihozlar

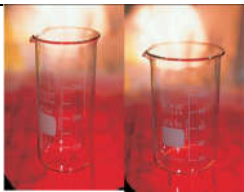












## Biokimyo laboratoriyasida ishlatiladigan asboblari, jihozlar va qurilmalar haqida ma'lumot





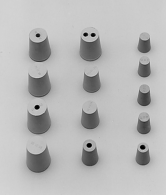




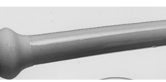
No	Labopatoriya jihozlarining nomi	Qo'llanilishi	Rasimdagi ko'rinishi
1	Idish va flakonlarni saqlash tagligi	Reaktivlarni saqlashda ishlatiladi	
2	50 ml li ingichka bo'yinli polietilenli idish	Reaktivlarni saqlashda ishlatiladi	
3	Xromotografiya uchun ishlatiladigan asbob-uskunalar	Xromotografiya tajribasi uchun ishlatiladi	
4	Tomchili voronka	Eritmalar uchun	
5	DIN 45. – 500 ml li laboratoriya shisha idishi	Reaktivlarni saqlashda ishlatiladi	
6	Shprints mkl 1 µl	Gazlixromatografiyada suyuqlikmiqdorini o'lchash uchun maxsus ishlatiladi	











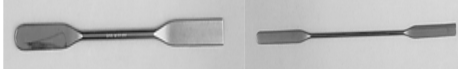
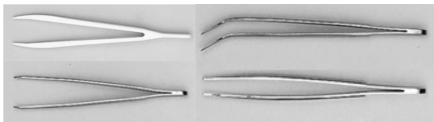
7	Xofmanning 20 mm probirkalar qisqichi	Rezinali quvurni qisish uchun ishlatiladi	
8	Stativ ustuni	Shtativ qisqichlarini o'rnatish uchun	
9	Pipetka mkl, 100 ml	Eng kam bo'lgan suyuqlikni tez va oson o'lchashda ishlatiladi	
10	magnitli aralashtirgich tayoqchalarini ajratib olish belkurakchasi	Magnitlitayoqchalarni jratibolishda ishlatiladi	
11	Namlikni o'lchash asbobi	Havodaginamlikni o'lchash uchun maxsus mo'ljallangan o'tkazuvchian jomi (ClimateBox) (524057).	
12	Analitik kimyo STM to'plami	Tajribalar anjomlari; birinchi ishchi guruhi uchun, paddonsiz saqlash uchun	
13	Kimyoviy termometrlar to'plami	Haroratni o'lchash uchun	
14	Ariometrlar to'plami	Eritmalar zichligini o'lchash uchun	

15	Shisha stakanlar	Ishning bajarilishi uchun ishlatiladi	
16	Erlenmeyerning konussimon kolbalar to'plami	Titrlash va suvoqlar tayyorlashda ishlatiladi	
17	O'lchov menzurkasi	Eritmalar tayyorlash uchun	
18	Soat oynasi	Perekristalizatsiya reaksiyalari uchun	
19	Petrininig idishlar to'plami	Eritmalarni bug'lantirish uchun	
20	Kristallashtirish uchun idishlar to'plami	Kristallash uchun	
21	Tomchilivoronka noksimon 250 ml li	Tomchilash uchun	
22	Ajratgichvoronkasi	Aralashmalarni ajratish uchun	
23	Vakuimli eksikator	Reaktivlarni saqlash va quritish uchun	
24	Shisha qoplagich	Yopish uchun	
25	Yoqishanjomi	Quruqnarsalar uchun	

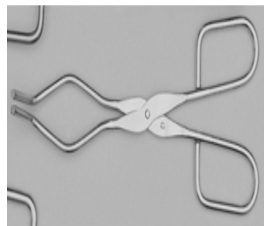






26	Qattiq silikonli tiqinlar	Idishlarni berkitish uchun	
27	Silikonli nay	Tutashtirish uchun	
28	Quritish anjomi	Quritish uchun	
29	Shishali naychalar to'plami	Reaksiyalar o'tkazish uchun	
30	Rezinali tiqinlar to'plami	Berkitish uchun	
31	Rezinali naycha Ø 7 mm li	Gazo'tqarish uchun	
32	PVX naychalari 7x1,5mm, 1 m	Gazo'tkazish uchun	
33	Bug'lantirish idishlar to'plami	Bug'lantirish uchun	
34	Hovoncha	Maydalash (ezish) uchun	
35	O'g'ircha	Maydalash (ezish) uchun	









36	25 ml li chinni Tigel	Quritish uchun	
37	35 ml li metalli Tigel	Qizdirish uchun	
38	Byuxnerning 70 mm li voronkasi	Vakuumli filtrlash uchun	
39	1000 ml li shishali so`rish kolbasi	Vakuumhosilqilish uchun	
40	8 mm Ø rezinali vakuumli naycha	Vakuum hosil qilish uchun	
41	Himoya ko`zoynagi	Himoyalanish uchun	
42	25 ml li shisha naychali Byuretka	Titrlash uchun	
43	Qosiq-shpatellar to`plami	Quruq moddalarga ishlatish uchun	
44	Ikki tomonli shpatellar	Quruq moddalarga ishlatish uchun	
45	Pinsetlar to`plami	Ushlash uchun	












46	200 mm li Tigel qisqichlari	Ushlash uchun	
47	Shtativ halqasi	Ushlash uchun	
48	Pipetkalar uchun plastik lisaqlagich	Ushlash uchun	
49	50 mixliqurutgich doskasi	Qurutish uchun	
50	Probirkalar uchun Shtativ	Qo'yish uchun	








## Texnik asboblari va qurilmalar bilan tanishtirish

### Laboratoriya asbob-uskunalari

No	Laboratoriyada qo'llaniladigan texnik qurilmalar nomi	Jihoz fotosurati
1	Kolbali qizdirgich	
2	Kalorimetr	
3	Xrom-mass-spektrometr	
4	IK- spektrometr	
5	Idish yuvish uskunasi	
6	Havo so`rgich javoni	
7	Bir o`rinli vakuumli filtratsiya to`plami NCGH01.	



8	Yog'siz diafragmali vakuumli nasos LH-85.	
9	Zanglamaydigan yuqori sifatli uch o`rinli vakuumli filtrasiya SUS316.	
10	Magnitlitayoqcha	
11	Optik sxemasi bir nurli Spektrofotometr V-5000	
12	FluoresSENSIYA uchun to'plam	
13	Ichki kalibrovkali elektron tarozi model' PTX-FA210S210g/0,1mg	
14	Tashqi kalibrovkali presizionli tarozi model' NV2201, 2200g/0,1g.	
15	PH metr FiveEasy, plastic PH-elektrod va buffer eritma to'plami	
16	Mikroskop	

17	Qizdirgichli magnet aralastirgich aylanish tezligi 100-1500 об/мин. H2O] 3л.	
18	Qizdirgichpechi.	
19	2 qatorli suv hammomi.	
20	Quritgichpechi +10°C - +300°C.	
21	Keramikalik 8,2 litrli mufelli pechi Qizdirishi 1100°C gacha termoboshqaruvli.	
22	Zanglamas Avtoklav A24	
23	Elektroforez (poliakrilamid gelida)	



## BIOKIMYO FANIDAN LABORATORIYA MASHG'ULOTILARI BAJARILISHIDA FOYDALANILADIGAN QO'SHIMCHA MA'LUMOTLAR

### Laboratoriya ishlarida eng ko'p ishlatiladigan reaktivlarni tayyorlash usullari

T/R	Eritmalar nomi	Eritmalar tarkibi va tayyorlash texnologiyasi
1	<b>Biuret reaktivi tayyorlash</b>	Biuret reaktivi tayyorlash uchun 250 ml li kolbaga 0,375 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ va 1,5 g signet 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.
2	<b>Orsin reaktivini tayyorlash</b>	Orsin reaktivini tayyorlash uchun 0,2 g orsin 100 ml 30 % li xlorid kislotada eritilib, uning ustiga 0,1 g temir (III)-xlorid kislotali qo'shiladi. Eritma rangli sklyankada saqlanishi kerak.
3	<b>Difenilamin eritmasini tayyorlash</b>	Difenilamin eritmasini tayyorlash uchun 70 % spirtida ikki marta qayta kristallangan 1 g difenilamin, 2,75 ml konsentrlangansulfat kislotasi va 100 ml kislotasiz muz-sirka kislotada eritiladi.
4	<b>Nilander reaktivini tayyorlash</b>	Nilander reaktivini tayyorlash uchun 2 g vismut nitratning 10 % li Na OH eritmasida, qaynayotgan suv hammomida qizdirish yo'li bilan eritiladi. So'ngra sovutib filtrlanadi.
5	<b>Feling suyuqligi</b>	Feling suyuqligi ikkita eritmadan tayyorlanadi. 1) 34,6 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 500 ml suvda eritiladi; 2) 172 g signet tuzi va 70 g NaOH 500 ml suvda eritilib, alohida saqlanadi. Foydalanishdan avval teng hajmda aralashtiriladi.
6	<b>Barfed reaktivini tayyorlash</b>	Barfed reaktivini tayyorlash uchun 13,3 g mis atsetat 100 ml distillangan suvda eritiladi. Eritma filtrlangach, 1,9 ml muz-sirka kislotasi qo'shiladi. Eritma rangli idishda saqlanadi.

7	<b>Lugol eritmasini tayyorlash</b>	Lyugol eritmasini tayyorlash uchun 500 ml li kolbaga 20 g kaliy yodid va 10 g yod kristali solib, 200 ml suvda eritiladi, so'ng hajmi 500 ml ga yetkaziladi.
8	<b>Kumush gidroksidining ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz tayyorlash</b>	Kumush gidroksidining ammiakli eritmasi bilan namlangan filtr qog'oz tayyorlash uchun 1 % li kumush nitrat eritmasi ustiga konsentrlangan amiak qo'shiladi. Bunda avval loyqa hosil bo'ladi, amiak tomizish davom ettirilsa, cho'kma erib ketadi. Hosil bo'lgan tiniq eritma bilan filtr qog'oz namlanadi.
9	<b>Neytrallangan 1:1 nisbatli spirt efir aralashmasini tayyorlash</b>	Neytrallangan 1:1 nisbatli spirt efir aralashmasini tayyorlash uchun teng hajmdagi etil spirt bilan efir aralashtiriladi va uning ustiga 3-4 tomchi fenolfgalein tomiziladi, so'ngra Qon ning 0,1 h spirtli eritmasi och pushti rang hosil bo'lguncha tomchilatib qo'shiladi.
10	<b>Molibdatli reaktiv tayyorlash</b>	Molibdatli reaktiv tayyorlash uchun 18,75 gammoniy molibdat 250 ml distillangan suvda eritilib, uning ustiga 250 ml 32 % li Distillangan suv issiq bo'lishi kerak. Nitrat kislota (zichligi 1,2) qo'shiladi va cho'kma erib ketguncha chayqatiladi.
11	<b>Anilin reaktivi tayyorlash</b>	Anilin reaktivi tayyorlash uchun 15 qism anilin 1 qism konsentrlangan HCl bilan aralashtiladi.
12	<b>Nitrat molibdenli reaktiv quyidagicha tayyorlanadi</b>	10 g natriy nitrit shuncha miqdordagi natriy molibdat bilan aralashtirilib, 100 ml distillangan suvda eritiladi.
13	<b>Qizil qon tuzining 0,005 H eritmasini tayyorlash</b>	Qizil qon tuzining 0,005 H 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.
14	<b>Glukozaning standart eritmasini tayyorlash</b>	Glukozaning standart eritmasini tayyorlash uchun benzoy kislotaning to'yingan eritmasining har 100 ml da da 5; 10; 20 g glukozaga eritiladi.



15	<b>DNK-azaning standart eritmasini tayyorlash</b>	DNK-azaning standart eritmasini tayyorlash uchun 5 mg oshqozon osti bezining DNK-aza fermenti 1 l agetat buferida eritiladi. Tayyorlangan eritmadan 1 ml olib, 50 ml gacha shu buferda eritiladi. Tayyor bo'lgan eritma tarkibida 100 ng/ml DNK-aza bo'ladi.
16	<b>Sun'iy oshqozon shirasi</b>	Sun'iy oshqozon shirasi ikki usulda tayyorlanadi: 1) 330 ml 0,1 n HCl bilan 156 ml, 0,2 m $\text{KH}_2\text{PO}_4$ eritmasi 514 ml suv bilan aralashtiriladi; 2) 21,76 g NaCl, 4,1 ml konsentrlangan HCl, 1,2 ml konsentrlangan sut kislotasi 7 g penton 1 litr suvda eritiladi.
17	<b>1 % li Kazein eritmasini tayyorlash</b>	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 h HCl yordamida neytrallanadi.
18	<b>Ningidrin reaksiyasi uchun bufer (pH-5,3-5,4) aralashma tayyorlash</b>	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.
19	<b>Oltingugurtning standart eritmasini tayyorlash</b>	Oltingugurtning 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 oltingugurt bo'ladi.
20	<b>Cho'ktiruvchi reaktiv tayyorlash</b>	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 amidoshvars 10 v qo'shiladi va aralashma erib ketguncha chayqatiladi. Shundan so'ng eritmaning hajmi bidistillangan suv bilan 1 litrga yetkaziladi.



## Elementlarning nisbiy atom massalari

Elementning tartib raqami	Element ramzi	Element nomi	Elementning nisbiy atom massasi
1	H	Vodorod	1,0079±0,0001
2	Li	Litiy	6,941±0,001
3	Be	Berilliy	9,01218±0,00001
4	B	Bor	10,81±0,01
5	C	Uglerod	12,011±0,001
6	N	Azot	14,0067±0,0001
7	O	Kislorod	15,9994±0,0003
8	F	Ftor	18,999403±0,000001
9	Na	Natriy	22,98977±0,00001
10.	Mg	Magniy	24,305 ±0,001
11.	Al	Alyuminiy	26,98154 ± 0,00001
12.	Si	Kremniy	28,0855 ± 0,0003
13.	P	Fosfor	30,97376 ± 0,00001
14.	S	Oltingugurt	32,06 ± 0,01
15.	Cl	Xlor	35,453 ± 0,001
16.	K	Kaliy	39,0983 ± 0,0003
17.	Ca	Kalsiy	40,08 ± 0,01
18.	Ti	Titan	47,90 ± 0,03
19.	Cr	Xrom	51,996 + 0,001
20.	Mn	Marganets	54,9380 ± 0,0001
21.	Fe	Temir	55,847 ± 0,003
22.	Co	Kobalt	58,9332 ± 0,0001
23.	Ni	Nikel	58,70 ±0,01
24.	Cu	Mis	63,546 ± 0,003



25.	Zn	Rux	$65,38 \pm 0,01$
26.	Ga	Galliy	$69,72 \pm 0,01$
27.	Ge	Germaniy	$72,59 \pm 0,03$
28.	As	Mishyak	$74,9216 \pm 0,0001$
29.	Se	Selen	$78,96 \pm 0,03$
30.	Br	Brom	$79,904 \pm 0,001$
31.	Ag	Kumush	$107,868 \pm 0,001$
32.	I	Yod	$126,9045 \pm 0,0001$
33.	Ba	Bariy	$137,33 \pm 0,01$
34.	Au	Oltin	$196,9665 \pm 0,0001$
35.	Hg	Simob	$200,59 \pm 0,03$
36.	Pb	Qo'rg'oshin	$207,2 \pm 0,1$

### Bufer aralashmalar

1. Fosfat – sitrat bufer aralashmasi quyidagi ikkita eritmadan tayyorlanadi: 21,018 g limon kislotaning monogidratidan tayyorlangan 0,1 M eritmasi va 35,598 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dan tayyorlangan 0,2 M natriy gidrofosfat eritmasi.

Ikkala eritma turli nisbatlarda aralashtirilib, pH kattaligi turlicha bo'lgan eritmalar olinadi

Limon kislota (ml)	Natriy gidrofosfat (ml)	pH	Limon kislota (ml)	Natriy gidrofosfat (ml)	pH	Limon kislota (ml)	Natriy gidrofosfat (ml)	pH
19,60	0,40	2,2	11,72	8,28	4,2	6,78	13,22	6,2
18,76	1,24	2,4	11,18	8,82	4,4	6,15	13,85	6,4
17,82	2,18	2,6	10,65	9,35	4,6	5,45	14,55	6,6
16,83	3,17	2,8	10,14	9,86	4,8	4,55	15,45	6,8
15,89	4,11	3,0	9,70	10,30	5,0	3,63	16,47	7,0
15,06	4,94	3,2	9,28	10,72	5,2	2,61	17,39	7,2
14,30	5,70	3,4	8,85	11,15	5,4	1,83	18,17	7,4
13,56	6,44	3,6	8,40	11,60	5,6	1,27	18,73	7,6
12,90	7,10	3,8	7,91	12,09	5,8	0,85	19,15	7,8
12,29	7,71	4,0	7,37	12,63	6,0	0,55	19,45	8,0

2. Fosfat bufer aralashmasi quyidagi ikki eritmadan tayyorlanadi: 1/15 M natriy gidrofosfat (11,876 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) va 1/15 M kaliy digidrofosfat (9,078 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). Ikkala eritmaning quyidagi hajmiy nisbatlarda aralashtirilib, pH kattaligi turlicha bo'lgan eritmalar olinadi.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (ml hisobida)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (ml hisobida)	pH	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (ml hisobida)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (ml hisobida)	pH
0,00	10,00	4,49	6,00	4,00	6,98
0,10	9,90	4,94	7,00	3,00	7,17
0,25	9,75	5,29	8,00	2,00	7,38
0,50	9,50	5,59	9,00	1,00	7,73



1,00	9,00	5,91	9,50	0,50	8,04
2,00	8,00	6,24	9,75	0,25	8,34
3,00	7,00	6,47	9,90	0,10	8,67
4,00	6,00	6,64	10,00	0,00	9,18
5,00	5,00	6,81			

### 3. Atsetat buferi (0,2 M pH =3.6 – 5.8)

0,2 M natriy atsetat eritmasi, ml hisobida	0,2 M sirka kislotasi eritmasi, ml hisobida	18° C dagi pH
0,75	9,25	3,6
1,20	8,80	3,8
1,80	8,20	4,0
2,65	7,35	4,2
3,70	6,30	4,4
4,90	5,10	4,6
5,90	4,10	4,8
7,00	3,00	5,0
7,90	2,10	5,2
8,60	1,40	5,4
9,10	0,90	5,6
9,40	0,60	5,8

### 4. Fosfat buferi (0,1 M, pH 5,8 – 8,0)

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ning 0,2 M eritmasi, ml hisobida	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ning 0,2 M eritmasi, ml hisobida	Suv ml hisobida	pH
8,00	92,0	200 ml gacha	5,8
12,3	87,7	———— « ———	6,0
18,5	81,5	———— « ———	6,2
26,5	73,5	———— « ———	6,4
37,5	62,5	200 ml gacha	6,6
49,0	51,0	———— « ———	6,8
61,0	39,0	———— « ———	7,0
72,0	28,0	———— « ———	7,2

81,0	19,0	—— « ——	7,4
87,0	13,0	—— « ——	7,6
91,5	8,5	—— « ——	7,8
94,7	5,3	—— « ——	8,0

#### 4 - ilova

### Aralash indikatorlar

Indikator eritmaning tarkibi	A-B <sup>1</sup>	Rangi		pT <sup>2</sup>	Eslatma
		Asosli ko'rinishda	Kislotali ko'rinishda		
A. Metiloranj (suvdagi eritmasi, 0,1 % li)	1:1	Sapsar	Yashil	4,1	Sun'iy yoritilishda titrlash uchun juda qulay
B. Indigokarmin, suvdagi eritmasi 0,2 %		—— « ——	—— « ——	5,1	
A. Bromkrezol ko'ki, (spirdagi eritmasi 0,2 % li)		Qizil	Yashil		Juda keskin o'zgarish
B. Metil-qizg'ish, spirdagi eritmasi (0,2 % li)	3:1	Sapsar-ko'kish	Yashil	7,0	Qora idishda saqlanadi

1 grafada A va B eritmalarning hajm nisbatlari ko'rsatilgan.

2 berilgan indikator bilan titrlash tugaydigan nuqtadagi pH ning kattaligi, titrlash ko'rsatkichi deb nomlanadi va pT bilan belgilanadi.



## Indikatorlarning nomlari va ularning ba'zi xossalari xarakteristikasi

Nomi	Rangning o'zgarishzonasi (pH)	Rangi	
		Nordon muhitda	Ishqorli muhitda
Dimetilaminoazobenzol	2,9-4,0	Qizil	To'q sariq
Metiloranj	3,1-4,4	— « —	— « —
Kogno	3,1-5,2	Ko'k-sapsar	Qizil
Metilrot	4,2-6,3	Qizil	Sariq
Alfa-dinitrofenol	2,8-4,5	Rangsiz	— « —
Gamma-dinitrofenol	4,0-5,5	— « —	— « —
Para-nitrofenol	5,2-7,0	— « —	— « —
Meta-nitrofenol	6,7-8,4	— « —	— « —
Lakmus	5,0-8,0	Qizil	Ko'k
Tashiro indikator	4,4-6,2	Sapsar	Yashil
Fenolftalein	8,2-10,00	Rangsiz	Qizil
Timolftalein	9,3-10,05	— « —	Ko'k
Alizarin sarig'i	10,1-12,0	Sariq	Sapsar
Krezol purpuri	7,4-9,0	— « —	Qirmizi qizil
Fenol-qizg'ish	6,4-8,0	— « —	Qizil
Bromtimol-ko'ki	6,0-7,6	— « —	Ko'k
Bromfenol ko'ki	3,0-4,6	— « —	— « —
Tropeolin 00	1,4-3,2	Qizil	Sariq
Kristallfiolet	0,0-2,0	Yashil	Sapsar

## Turli eritmalarning zichligi, normal va foiz konsentratsiyalari

### 1.O'yuvchi kaliy eritmasining zichligi, normal va foiz konsentratsiyalari

Zichligi (15° C da)	Normalligi	Foiz	Zichligi (15° C da)	Normalligi	Foiz
1,100	2,13	10,85	1,340	8,26	34,60
1,120	2,59	12,96	1,360	8,84	36,47
1,140	3,05	14,99	1,380	9,42	38,25
1,160	3,53	17,08	1,400	10,00	40,09
1,180	4,02	19,13	1,420	10,60	41,88
1,200	4,52	21,15	1,440	11,20	43,64
1,220	5,03	23,13	1,460	11,81	45,38
1,240	5,55	25,11	1,480	12,42	47,09
1,260	6,08	27,05	1,500	13,04	48,79
1,280	6,61	28,97	1,520	13,68	50,48
1,300	7,15	30,87	1,540	14,31	52,15
1,320	7,70	32,74			

### 2.O'yuvchi natriy eritmasining zichligi, normal va foiz konsentratsiyalari

Zichligi (15° C da)	Normalligi	Foiz	Zichligi (15° C da)	Normalligi	Foiz
1,100	2,47	8,99	1,320	9,54	28,92
1,120	3,02	10,79	1,340	10,31	30,78
1,140	3,59	12,59	1,360	11,13	32,74
1,160	4,17	14,39	1,380	11,96	34,66
1,180	4,78	16,19	1,400	12,81	36,60
1,200	5,40	17,99	1,420	13,70	38,58
1,220	6,04	19,80	1,440	14,61	40,58
1,240	6,70	21,60	1,460	15,56	42,62
1,260	7,37	23,42	1,480	16,54	44,70
1,280	8,08	25,25	1,500	17,55	46,80
1,300	8,79	27,07	1,520	18,58	48,90



### 3.Kuchli kislotaning zichligi va konsentratsiyalari

Zichligi g/sm <sup>3</sup>	Eritmaning konsentratsiyasi			Zichligi g/sm <sup>3</sup>	Eritmaning konsentratsiyasi		Zichligi g/sm <sup>3</sup>	foiz
	HCj	HNO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		HNO <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		
1,00	0,16	0,10	0,09	1,30	47,29	39,19	1,60	68,51
1,01	2,14	1,90	1,57	1,31	47,07	40,35	1,61	69,43
1,02	4,13	3,70	3,03	1,32	50,71	41,50	1,62	70,32
1,03	6,15	5,50	4,49	1,33	52,37	42,66	1,63	71,16
1,04	9,16	7,26	5,96	1,34	54,07	43,74	1,64	71,99
1,05	10,17	9,99	7,37	1,35	55,79	44,82	1,65	72,82
1,06	12,18	10,68	8,77	1,36	57,57	45,88	1,66	73,64
1,07	14,17	12,33	10,19	1,37	59,39	46,94	1,67	74,51
1,08	16,15	13,95	11,60	1,38	61,27	48,00	1,68	75,42
1,09	18,11	15,53	12,99	1,39	63,23	49,06	1,69	76,30
1,10	20,01	17,11	14,35	1,40	65,30	50,11	1,70	77,19
1,11	21,92	18,67	15,71	1,41	67,50	51,15	1,71	78,04
1,12	23,82	20,23	17,01	1,42	69,80	52,15	1,72	78,92
1,13	25,75	21,77	18,31	1,43	72,17	53,11	1,73	79,80
1,14	27,66	22,31	19,61	1,44	74,68	54,07	1,74	80,68
1,15	29,57	24,84	20,91	1,45	77,28	55,03	1,75	81,56
1,16	31,52	26,56	22,19	1,46	79,98	55,97	1,76	82,44
1,17	33,46	27,80	23,47	1,47	82,90	56,90	1,77	83,51
1,18	35,39	29,38	24,76	1,48	86,05	57,83	1,78	84,50
1,19	37,23	30,88	26,04	1,49	89,60	58,74	1,79	85,70
1,20	39,11	32,36	27,32	1,50	94,09	59,70	1,80	86,92
1,21		33,82	28,58	1,51	98,10	60,65	1,81	88,30
1,22		35,28	29,84	1,52	99,67	61,59	1,82	90,05
1,23		36,78	31,11	1,53		62,53	1,83	92,10
1,24		38,29	32,28	1,54		63,43	1,84	95,60
1,25		39,82	33,43	1,55		64,26	1,841	96,38
1,26		41,34	34,57	1,56		65,08	1,8415	97,70
1,27		42,87	34,71	1,57		65,90	1,8400	99,20
1,28		44,41	36,87	1,58		66,71	1,839	99,70
1,29		45,95	38,03	1,59		67,59		



Ba'zan foiz hisobida massa qismini bilishdan ko'ra 1 litr eritmadagi kislotaning grammlarda ifodalangan massasini bilish qulayroq. Uni quyidagi formula asosida hisoblab topish mumkin:

$$m = \frac{1000 \cdot P \cdot d}{100}$$

Bu yerda:  $d$  – zichlik,  $P$  – massa ulushi (% hisobida).

Olingan kattalikni kislotaning ekvivalentligiga ( $E$ ) bo'lib, kislota eritmasining normalligini ( $H$ ) ham topish mumkin:

$$C_H = \frac{1000 \cdot d \cdot P}{100 \cdot E}$$

#### 4. Ammiak eritmasining zichligi, normal va foiz konsentratsiyalari

Zichligi (15° C da)	Normalligi	100 g eritmadagi gr. miqdori	Zichligi (15° C da)	Normalligi	
0,960	5,58	9,91	0,910	13,35	24,99
0,950	7,10	12,74	0,900	14,97	28,33
0,940	8,63	15,63	0,890	16,59	31,75
0,930	10,18	18,64	0,882	18,10	34,95
0,920	11,75	21,75			



### Foydalanilgan adabiyotlar

1. To'raqulov E.H. "Biokimyo va molekulyar biologiya". O'zbekiston. 1996
2. Valixonov M.N. "Biokimyo". Toshkent. 2009
3. Leninjer A. "Osnovi bioximii" M.1984
4. Egamnazarov R.P., Abdullaeva M.M, Umarova G.B. "Biokimyoviy tadqiqot uslublari." T.2003
5. Ris E, Sternberg M, "Vvedenie v molekulyarnuyu biologiyu" M.2002
6. To'raqulov E.H. "Molekulyar biologiya" T.2003
7. Ashmarin I.P. "Molekulyarnaya biologiya" Leningrad 1997
8. R.P. Iganazarov, M.M. Abdulloeva "Biokimyodan laboratoriya mashg'ulotlari". Toshkent "Universitet" .2015
9. Qosimov A.K., Qo'chqorov K.K., Muborakova D.X.- "Bioximiyadan amaliy mashg'ulotlar"- Tosh.-O'qituvchi-1989-y.
10. M. Ya. Ergashov, Z.Q. Qodirova -"Biokimyodan laboratoriya mashg'ulotlari". Toshkent "Turon zamin ziyo".2016

### Qo'shimcha adabiyotlar:

1. Mirziyoyev Sh.M. – Buyuk kelajakni mard va oliyjanob xalqimiz bilan birga quramiz.-Toshkent, O'zbekiston nashriyoti, 2017.
2. Mirziyoyev Sh.M. – Tanqidiy tahlil, qat'iy tartib va shaxsiy javobgarlik har bir rahbarning faoliyatining kundalik qoidasi bo'lishi kerak-Tosh., O'zbekiston nashriyoti, 2017.
3. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining " O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasi to'g'risida" gi Farmoni.
4. "Xalq so'zi" G.// 08.02.2017-y. №28(6722).  
Internet resurslari  
[www.ziyonet.uz](http://www.ziyonet.uz);  
[www.chemport.ru](http://www.chemport.ru)  
[www.pedagog.uz](http://www.pedagog.uz)

## MUNDARIJA

KIRISH .....	3
<b>I BO'LIM. LABORATORIYA MASHG'ULOTLARINI TASHKIL ETISH</b>	
Laboratoriya mashg'ulotlari texnikasi bilan tanishtirish .....	6
Eritmalar klassifikatsiyasi .....	10
Eritmalarning konsentratsiyasi va uni ifodalash usullari.....	10
Eritmalar va ularni tayyorlash texnologiyasi bilan tanishtirish.....	15
<b>II - BO'LIM. OQSILLARNING TARKIBI VA ULARNING XOSSALARI</b>	
Oqsil eritmasini tayyorlash oqsillarning fizik-kimyoviy xossalari oqsillarning eruvchanligi .....	17
Oqsillar va aminokislotalarning rang hosil qilish reaksiyalari .....	19
Oltin gugurt tutuvchi aminokislotalar uchun reaksiya.....	25
Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari.....	29
Oqsillarni mineral kislotalar tasirida cho'ktirish.....	29
Oqsillarni organik erituvchilarda cho'ktirish reaksiyalari.....	32
Oqsillarni dializ qilish.....	34
Oqsillarni izoelektrik nuqtasini aniqlash.....	37
Qog'oz xromotografiya usuli bilan aminokislotalarni ajratish.....	39
Radial xromotografiya. ....	42
Oqsil miqdorini Biuret usuli yordamida aniqlash. ....	44
Oqsil miqdorini Louri usuli yordamida aniqlash .....	46
Nukleoproteinlarni achiqidan ajratib olish, oddiy oqsillar gidrolizi .....	48
Nukleoproteidlar gidrolizi .....	49
Nukleoproteidlar gidrolizi mahsulotlarini aniqlash.....	50
Fosfoproteinlarga xos reaksiyalar .....	51
Kazein tarkibidagi fosfatni aniqlash.....	53
<b>III BO'LIM. FERMENTLAR</b>	
Fermentlarning yuqori temperature ta'sirida intaktivatsiyaga uchrashi. Ferment aktivligiga ta'sir qiluvchi omillar.....	54
Fermentlarning spetsifikligi.....	55
So'lakdagi amilaza fermentining aktivligiga pH ning ta'siri .....	59
Katalaza fermentining aktivligini aniqlash .....	61
<b>IV BO'LIM. UGLEVODLAR</b>	
Monosaxaridlarga xos sifat reaksiyalar .....	62
Disaxaridlarga xos sifat reaksiyasi.....	66



Kalsiy saxaratning hosil bo'lishi.Saxarozaning gidrolizi .....	67
Polisaxaridlar. Kraxmalga xos sifat reaksiyalar.....	69
Polisaxaridlar sellyulozaga xos sifat reaksiyalari.....	72
Qondagi glyukoza miqdorini Xagerdorin Lyuensen usulida aniqlash. ....	73

## V BO'LIM. LIPIDLAR

Lipidlarga xos rangli reaksiya. Yog'larni erishi va emulsiya qilishi. ....	76
Yog'larning yod va peroksid sonini aniqlash .....	77
Biologik obyektlardan umumiy lipidlarni ajratish va miqdorini aniqlash .	79
Tovuq tuxumi sarig'idan leysitinni ajratib olish. ....	81

## VI BO'LIM. VITAMINLAR

Suvda eriydigan vitaminlar. Suvda eriydigan B guruh vitaminlarga xos sifat reaksiyalar.....	82
Suvda eriydigan C va P guruh vitaminlarga xos sifat reaksiyalar .....	83
Yog'da eriydigan vitaminlarga xos sifat reaksiyalar. A-D guruh vitaminlari. ....	87
Yog'da eriydigan E va K vitaminlarga xos sifat reaksiyalar.....	89

## VII BO'LIM. GORMONLAR

Gormonlar.Insulinga xos sifat reaksiyalar .....	92
---	----

## VIII BO'LIM. MOLEKULAR BIOLOGIYA

Tuxum oqsilidan albuminni kristali holda ajratish.....	93
Muskul to'qimasidan oqsil fraksiyalarini ajratish.....	93
Oqsillarning kislotali gidrolizi. ....	96
Oqsillarni gel-filtratsiya usuli yordamida tozalash .....	97
Oqsillarni neytral tuzlar yordamida cho'ktirish.....	98
Oqsillarni elektroforez usulida tozalash.....	99
Loviyadagi nukloproteidni aniqlash. ....	102
Jigardan rupleoproteidlarni ajratish.....	102
Nuklein kislotalarni umumiy va alohida miqdorini aniqlash .....	103
Hayvon to'qimasidagi nukleinkislotalarining umumiy miqdorini aniqlash. ....	105
DNK gidrolizi mahsulotlarini xromotografiya usulida identifikatsiya qilish .....	106
Nuklein kislotalarni elektroforet usulida ajratish .....	107
PCR bilan tanishish. PCR-amplifikatsiyasi metodining asosiy tushunchalari .....	108
Asosiy atamalarning qisqacha lug`ati .....	111

1–ilova. Biokimyo laboratoriyasida ishlatiladigan asboblari va jihozlari ...	116
Biokimyo fanidan laboratoriya mashg'ulotlari bajarilishida foydalaniladigan qo'shimcha ma'lumotlar .....	126
2– ilova. Elementlarning nisbiy atom massalari .....	129
3–ilova. Bufer aralashmalar .....	131
4 – ilova. Aralash indikatorlar .....	133
5 – ilova. Turli eritmalarining zichligi, normal va foiz konsentratsiyalari .	135
Foydalanilgan adabiyotlar .....	138



*Qaydlar uchun*

## *Qaydlar uchun*



*Mustafoyev X.M., Karimova L.F.*

# BIOKIMYO

uslubiy qo'llanma