

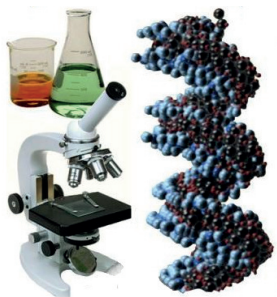
O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIIY VA O‘RTA MAXSUS TA‘LIM VAZIRLIGI

TOSHKENT VILOYATI
CHIRCHIQ DAVLAT PEDAGOGIKA INSTITUTI

P.Mirhamidova, D. Boboxonova, G. Muxamedov

BIOKIMYO

(Amaliy mashg‘ulotlar)



TOSHKENT
«ISHONCHLI HAMKOR»

2021

UO‘K: 577.1(075.8)

KBK: 28.072я73

M 53

Taqrizchilar:

M.Abdullayeva – O‘zMU Biologiya fakulteti “Biokimyo” kafedrası professori, biologiya fanlari doktori;

K.Mutalov – TVChDPI Tabiiy fanlar fakulteti “Biologiya” kafedrası dotsenti, biologiya fanlari nomzodi.

Ushbu o‘quv qo‘llanma pedagogika universiteti va pedagogika institutlarining biologiya, kimyo yo‘nalishi talabalariga mo‘ljallab yozilgan. Mazkur o‘quv qo‘llanmada biokimyodan amaliy mashg‘ulotlar o‘tkazish xususidagi bilimlar jamlangan.

Shu bilan birga qo‘llanmada keltirilgan ko‘pgina metodlardan talabalar ilmiy tadqiqot ishlarida ham foydalanishlari mumkin.

O‘zbekiston Respublikasi Oliy va o‘rta maxsus ta’lim vazirligining 2021-yil 31 maydagi 237-sonli buyrug‘iga asosan o‘quv qo‘llanma sifatida nashrga tavsiya etilgan.

ISBN 978-9943-7476-0-9

QISQARTIRILGAN SO‘ZLAR

ADG-alkogoldehidrogenaza
ALT-alaninaminotransferaza
AsT-aspartataminotransferaza
GGT- γ -glutamatttransferaza
DG-digoksin
DNF-2.4 dinitrofenol
DNFG-2.4 dinitrofenilgidrazin
DFPG-difenilpikrilgidrozil
KFK-kolorimetr
SF-spektrofotometr
MDA-malondialdehid
NAD-nikotinamidadenin nukleotid oksidlangan
NADH-nikotinamidadenin nukleotid qaytarilgan
NADP-nikotinamidadenin nukleotidfosfat qaytarilgan
PO-peroksidaza
LPO-lipidlarning peroksid oksidlanishi
RNK-ribonuklein kislota
TBK-tiobarbitur kislota
 α -TK- α -tokoferol
Tris-(gidrosimetil) aminometan
TXU-uchxlorosirka kislota
FEK-fotoelektrokolorimetr
EDTA-etilendiamintotriksirka kislota

KIRISH

O‘zbekiston Respublikasi Prezidenti Shavkat Mirziyoyev o‘zining Oliy Majlisga murojaatnomasida kimyo, biologiya va boshqa yo‘nalishlarni jadallik bilan rivojlantirish zarurligini ta’kidlab o‘tdilar¹. Davlatimiz si olimlar va yoshlar bilan uchrashuvida biologiyada ilmiy tadqiqotlarni amaliyot bilan bog‘lash, raqamli iqtisodiyot uchun mustahkam poydevor yaratish borasidagi dolzarb vazifalarga to‘xtalib, farmaseftika, qishloq xo‘jaligi, tibbiyot, oziq-ovqat sanoatini rivojlantirish uchun fundamental va texnologik asos bo‘lib xizmat qilishini ko‘rsatib o‘tdilar.

Hozirgi vaqtda biologiyaning turli sohaları orasida biokimyo alohida o‘rin tutadi. Zero, biologiyaning har bir sohasida biokimyoviy metodlardan u erishgan yutuqlardan foydalaniladi. Shuning uchun ham biologiya, qishloq xo‘jaligi va tibbiyot sohalaridagi muhim nazariy masalalarni hal qilish ko‘p jihatdan biokimyo fanining rivojlanish darajasiga bog‘liq. Amaliy ahamiyatga ega bo‘lgan ko‘p masalalarni hal qilish ham puxta biokimyoviy metodlar bilan olib borishga bog‘liq.

Mazkur o‘quv qo‘llanma pedagogika universitetlarining hamda pedagogika institutlarining biologiya yo‘nalishining talabalari uchun mo‘ljallanib yozilgan. Qo‘llanmada biokimyodan amaliy mashg‘ulotlar o‘tkazish borasidagi bilimlar jamlangan.

Ma'lumki, o‘qitish samaradorligini oshirishda laboratoriya mashg‘ulotlarining o‘rni benihoya katta, bugungi kunda yangi mukammallashtirilgan metodlar yordamida laboratoriya mashg‘ulotlarini o‘tkazmasdan turib, asosiy biologik hodisa va jarayonlarning asl mohiyatini bilib olish qiyin. Biokimyo sohasidagi ilmiy tadqiqot ishlarining, tajribalarining muvaffaqiyatli bo‘lishi avvalo, to‘g‘ri tanlab olingan va mohirona qo‘llanilgan usullar bilan aniqlanadi.

Qo‘llanma 15ta bobdan iborat:

1) Bufer eritmalar; vodorod ionlarining konsentratsiyasini aniqlash metodlari; 2) Oqsillar; 3) Murakkab oqsillar; 4) Lipidlar; 5)

¹ O‘zbekiston Respublikasi Prezidenti Shavkat Mirziyoyevning Oliy Majlisga murojaatnomasi. 23 yanvar 2020y.

Pv.uz/oz/newshapezs/poslanie. –prezidenta-respubliki-uzbekistan. –shavkata-mirzieceva-oliy-majlisi-2020

Uglevodlar; 6) Nuklein kislotalar; 7) Fermentlar; 8) Vitaminlar; 9) Organik kislotalar; 10) Gormonlar; 11) Qon; 12) Sut; 13) Muskul to'qimasi; 14) Biologik obyektlarda fosforni aniqlash; 15) Funktsional sistemalarda antioksidlanish aktivligini aniqlash metodlar.

Qo'llanmada oqsillar, nuklein kislotalar, uglevodlar, yog'lar, vitaminlar, gormonlar va biologik suyuqliklarni aniqlashda ishlatiladigan sifat reaksiyalari bilan birgalikda miqdoriy analiz qilish metodlari ham keltirilgan. Miqdoriy analiz qilish uchun bir qator zamonaviy metodlar, yani elektroforez, spektrofotometriya, xromatografiya, fotokolorimetriya haqidagi bilimlar yoritilgan. Ba'zi bir laboratoriya ishlaridan amaliy malumotlar jadval tarzida to'ldiriladi va xulosalar yoziladi.

Qo'llanmadagi ba'zi metodlardan talabalar ilmiy tadqiqot ishlarida ham foydalanishlari mumkin.

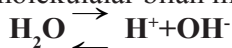
Nazariy kursga oid ayrim jadvallar kitob oxirida ilovada keltirilgan.

Qo'llanmada keltirilgan har bir amaliy mashg'ulotlar mavzusi biokimyo kursining tegishli nazariy boblari bilan uzviy bog'liq. Har qaysi amaliy mashg'ulotga nazariy tushunchalar berilgan, har bir metodning mohiyati va qo'llanmasi ko'rsatilgan, bu esa o'z navbatida fanni chuqurroq o'zlashtirishga yordam beradi.

I BOB. BUFER ERITMALAR

Vodorod ko‘rsatkichi

Hamma suvli eritmalar kislotali yoki ishqoriy eritmalar bo‘lishidan qat’iy nazar, ularda vodorod ionlari H^+ , gidroksil ionlari OH^- ishtirok etadi. Suv-kuchsiz elektrolit bo‘lib, uning molekularining juda oz qismi H^+ va OH^- ionlariga dissotsiatsiyalanadi, bu ionlar dissotsiatsiyalanmagan molekular bilan muvozanatda bo‘ladi:



Bu tenglamadan ko‘rinib turibdiki, suvda $[H^+]$ va $[OH^-]$ qiymatlari bir xil bo‘ladi. Suvdagi vodorod ionlari bilan gidroksil ionlari konsentratsiyalarining ko‘paytmasi suvning ion ko‘paytmasi (K_c) deyiladi. Muayyan haroratda K_c -o‘zgarmas kattalik. Uning harorat 22° bo‘lgandagi son qiymati 10^{-14} ga teng.

$$[H^+] \cdot [OH^-] = 10^{-7} \cdot 10^{-7}$$

Eritmaning kislotali yoki ishqoriyligi vodorod ionlarining konsentratsiyasi orqali ifodalanadi, neytral eritmada $[H^+] = 10^{-7}$, kislotali eritmada $[H^+] < 10^{-7}$ va ishqoriy eritmada $[H^+] > 10^{-7}$. Vodorod ionlarining konsentratsiyasi vodorod ko‘rsatkichi, ya’ni pH bilan belgilanadi. Eritmalarning muhitini pH bilan aniqlash mumkin: neytral $pH = 7$, kislotali $pH < 7$, ishqoriy $pH > 7$.

Vodorod ionlari konsentratsiyasining teskari ishora bilan olingan o‘nli logarifmi vodorod ko‘rsatkichi deb ataladi.

$$pH = -\lg [H^+]$$

Bunda $[H^+]$ -vodorod ionlarining konsentratsiyasi, gramm ekvivalent/litrda ifodalanadi.

Buf eritmalar

Buf eritmalarda vodorod ionlarining konsentratsiyasi doimiy bo‘ladi. Buf eritmalar quyidagicha tashkil topgan bo‘lishi mumkin:

1) kuchli kislota va shu kislota kuchli dissotsiatsiyalanadigan tuzidan, masalan, asetat buferi sirka kislota (CH_3COOH) va natriy asetat (CH_3COONa); gidrokarbonatli bufer karbonat kislota va natriy gidrokarbonat (H_2CO_3 va Na_2HCO_3) dan;

2) kuchsiz asos va shu asosning kuchli dissotsiatsiyalanadigan tuzi, masalan, ammoniyli bufer-ammoniy gidrooksidi va ammoniy xlorid ($\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_2\text{Cl}$)dan;

3) bir almashgan va ikki almashgan ko'p asosli kislolaning tuzlari, masalan, fosfatli buferlar $-\text{NaH}_2\text{P}_0_4/\text{Na}_2\text{HP}_0_4$ dan.

Bufer eritmalarning pHi undagi kislota va tuzlarning nisbatiga bog'liq bo'ladi, shu holda eritmaning pHi doimo bir xil bo'ladi. Bufer eritmalarning pH nazariy jihatdan quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$[\text{H}^+] = \frac{C_{\text{kislota}}}{C_{\text{m}y3}} K \quad \text{yoki} \quad [\text{OH}^-] = \frac{C_{\text{acoc}}}{C_{\text{m}y3}} K$$

Bu erda C_{kislota} - kislolaning konsentratsiyasi; C_{tuz} - tuzning konsentratsiyasi; C_{asos} - asosning konsentratsiyasi; K-kislota (asos)ning elektrolitik dissotsiatsiyalanish nuqtasi.

Vodorod ko'rsatkichining ma'lum darajada saqlanishi fiziologik ahamiyatga ega: barcha biokimyoviy jarayonlar uchun reaksiya muhiti doimiy bo'lishi kerak, muhit pH ining o'zgarishi moddalar almashinuvi jarayonining o'zgarishiga olib keladi.

To'qima va biologik suyuqliklarning bufer sistemalarini hosil qilishda mineral tuzlar muhim rol o'ynaydi va pH ini doim bir xil darajada saqlab turadi. Oqsillar, natriy va kaliy bikarbonatlar, fosfat buferlari organizm uchun g'oyat zarur moddalardir. Masalan, oqsillar amfoter xossaga ega va shuning uchun H^+ ionlarini ham, OH^- ionlarini ham biriktira oladi. Shuning uchun oqsillar muhim bufer sistemalar rolini o'ynaydi va organizmda qanday bo'lmasin, biror erkin kislota yoki asos paydo bo'lganida, pH ning o'zgarishiga to'sqinlik qiladi.

Bikarbonatlar bilan fosfatlarning eritmaları ham pH ning o'zgarishiga qarshi ta'sir ko'rsatadi. Masalan, natriy bikarbonat (NaHCO_3) qanday bo'lmasin biror kislota bilan o'zaro ta'sir qilganda H_2CO_3 hosil qiladi. Bu kislota karboangidraza ishtirokida H_2O va CO_2 ga parchalanib ketadi, natijada muhitning pHi o'zgarmaydi.

Shunday qilib, hujayralarning eng muhim fiziologik funksiyasi vodorod ionlari konsentratsiyasi va ularning nisbatiga ham bog'liq. Biologik suyuqliklardagi biror tuz konsentratsiyasining o'zgarishi bir qancha muhim fiziologik funksiyalarning buzilishiga olib keladi.

Bufar sig'imi

Har bir bufer eritma ma'lum bufer sig'imi bilan xarakterlanadi. Bufar sig'imi bufer eritmaning ta'sir kuchidir. Kislota va ishqor g.ekv. (gramm-ekivalent) miqdor bilan belgilanadi, $1N$ l bufer aralashmaning vodorod ko'rsatkichi birligini o'zgartirish uchun qo'shiladi.

Bufar sig'imi, bufer aralashmadagi komponentlarning konsentratsiyasiga bog'liq, odatda bufer eritmalar suyultirilganda ularning konsentratsiyasi kamayadi.

Bufar sig'imini hisoblash uchun quyidagilarni bilish kerak:

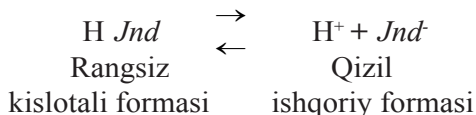
V_c -bufar eritmaning hajmi; V_1 -qo'shilgan kislota yoki ishqorning hajmi; N -qo'shilgan ishqor yoki kislota ning normalligi; pH_0 -bufar eritmani dastlabki pH ; pH_1 -bufar eritmaning ishqor yoki kislota qo'shilgandan keyingi pH . Bufar sig'imi quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$\beta = \frac{N \cdot V_1}{(pH_1 - pH_0) \cdot V_c}$$

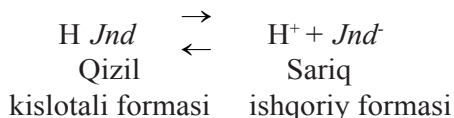
Indikatorlar yordamida vodorod ionlarining konsentratsiyasini aniqlash

Vodorod ionlarining konsentratsiyasini (pH) indikatorlar yordamida aniqlash mumkin. Indikatorlar kuchsiz organik kislotalar yoki asoslar bo'lib, ularning dissotsiatsiyalanmagan formalari rangi, dissotsiatsiyalangan formalaridan farq qiladi. Indikatorlarning dissotsiatsiyalanishi reaksiyaning muhitiga bog'liq.

Masalan: fenolftalein bir xil rang beruvchi indikator bo'lib, faqat anion sifatida bo'yaladi, dissotsiatsiyalanmagan molekula rangsiz bo'ladi:



Ikki xil rang beruvchi indikator, masalan metilrot, dissotsiatsiyalanmagan molekulasi va anionlarning rangi bir-biridan farq qiladi:



Tekshirilayotgan eritmaga indikator qo‘shib, hosil bo‘lgan rangga qarab muhitning pH ini aniqlash mumkin.

Reaktivlar: 1. KH_2PO_4 ning 0.15 M eritmasi. 2. NaHPO_4 ning 0.15 M eritmasi. 3. Metilrot, bromtimol indikatorlari. 4. Universal indikator.

Indikatorlar muhit pH iga qarab turlicha rang hosil qila oladi. Buni quyida ko‘rsatilgan misoldan ko‘rish mumkin:

TN ^o	Indikator	Rangning o‘zgarish chegarasi	Rangi	
			Kislotalada	Ishqorda
1	To‘qsariq metil	3,1-4,4	qizil	sariq
2	Metilrot	4,2-6,2	qizil	sariq
3	Bromtimol	6,0-7,6	sariq	ko‘k
4	Fenolftalein	8,0-9,8	rangsiz	binafsha-qizil
5	Timolftalein	9,3-10,5	rangsiz	to‘k sariq-jigarrang

Ishning borishi. To‘rtta probirka olib, ularga 0,15 M KH_2PO_4 va NaHPO_4 eritmalaridan quyida ko‘rsatilgan nisbatlarda olib, turli pH ga ega bo‘lgan bufer eritmalarini tayyorlaymiz. Eritmalarni aralashtirib, har bir probirkadagi bufer ikkiga bo‘linadi.

Birinchi qatordagi probirkalarga metilrot indikatoridan qo‘shiladi. Ikkinchi qatordagi probirkalarga esa bromtimol indikatoridan qo‘shib, hosil bo‘lgan ranglar kuzatiladi.

Eritmalar	Probirkalarning raqami			
	1	2	3	4
0,15 M KH_2PO_4 , ml	9,5	8,0	6,0	3,0
0,15 M NaHPO_4 , ml	0,5	2,0	4,0	7,0
Tayyorlangan eritma pH	5,59	6,24	6,64	7,17

Universal indikator yordamida pH ini aniqlash

Universal indikator bir necha indikatorlarning aralashmasidan iborat bo‘lib, eritma pH iga qarab o‘zining mos rangini hosil qiladi. Universal indikatorning tarkibi quyidagi jadvalda ko‘rsatilgan.

I va II universal indikatorlar tarkibi

Indikatorlar	Miqdori, grammlarda	
	1	2
Timol	1	-
Bromtimol	0,8	0,4
Dimetilaminoazobenzol	0,6	-
Metilrot	0,4	0,2
Fenolftalein	0,2	0,8
Etil spirti	1000,0	1000,0

I-universal indikator rangining o‘zgarishi pH 1-10 oralig‘ida bo‘ladi; II-universal indikator rangining o‘zgarishi pH 4-10 oralig‘ida bo‘ladi. Universal indikator rangining o‘zgarishi turli pH da quyidagichadir:

I indikator		II indikator	
pH	rangi	pH	rangi
2	qizil	4	qizil
4	to‘q sariq	5	to‘q sariq
6	sariq	6	sariq
8	yashil	7	yashil
10	ko‘k	8,5	ko‘k
		10	binafsha

Yettita probirka olib, quyidagi ko‘rsatilgan bufer eritmalar tayyorlanadi. Tayrlangan bufer eritmalarga 2 tomchidan universal indikatordan qo‘shiladi va hosil bo‘lgan rangga qarab har bir aralashmaning pH i aniqlanadi:

Eritmalar	Probirkalarning raqami						
	1	2	3	4	5	6	7
Na_2HPO_4 -0,1M, ml	040	4,11	7,71	10,30	12,63	15,45	19,45
Limon kislotasining 0,1 M eritmasi miqdori, ml	19,60	15,89	12,29	9,70	7,37	4,55	055
Bufer eritmalarining pH i	2,2	3,0	4,0	5,0	6,0	6,8	8,0

Potensimetrik usul bilan eritmaning pH ini aniqlash

Bu usul maxsus elektrodlar yordamida tekshirilayotgan eritmalaridagi vodorod ionlari konsentratsiyasining taʼsirida galvanik elementlarning elektr yurituvchi kuchini oʻlchashga asoslangan. Bu usul bilan har qanday suyuqliklarning pH ini aniq oʻlchash mumkin. Maxsus asboblardan turli potensimetr yordamida eritmalaridagi pH ni oʻlchash mumkin. Bu asboblarning umumiy tuzilishi va eritmalarining pH ini oʻlchashda bajaradigan barcha operatsiyalari potensimetrlarga (pH-metrlar) qoʻshib beriladigan pasportda yozilgan.

Asbobda ishlash qoidasi. Eritmaning pH ini oʻlchashdan 15-20 minut oldin asbob yoqib qoʻyiladi. Elektrodlar yangi tayyorlangan distillangan suv bilan 3-4 marta yuviladi. Eritmalarining pH ini oʻlchashda avtomatik harorat kompensatsiyasidan foydalaniladi.

Eritmaning pH avval asbobning katta -1÷14 diapozonida, keyin kichik diapozonida oʻlchanadi. Eritmalarda pH oʻlchanib boʻlgandan soʻngra asbob elektrodleri 7-10 marta suv bilan yuviladi. Elektrodlar yuvilgach, boshqa eritmaning pH ini oʻlchash mumkin. Yuvilgan elektrodlar suvda qoldiriladi.

Kichik diapozonlar: -1÷4; 4÷9; 9÷14 dan birida aniq qilib oʻlchanadi.

II BOB. OQSILLAR

Oqsillar yoki proteinlar - yuqori molekulyar organik birikmalar bo'lib, molekulari α -aminokislotalardan tuzilgan. Oqsil tarkibiga quyidagi 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. Bazi bir oqsillarning tarkibida oz miqdorda yod, temir, mis, brom, marganes, rux, 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 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. Eritma xolodilnikda saqlanadi.

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.

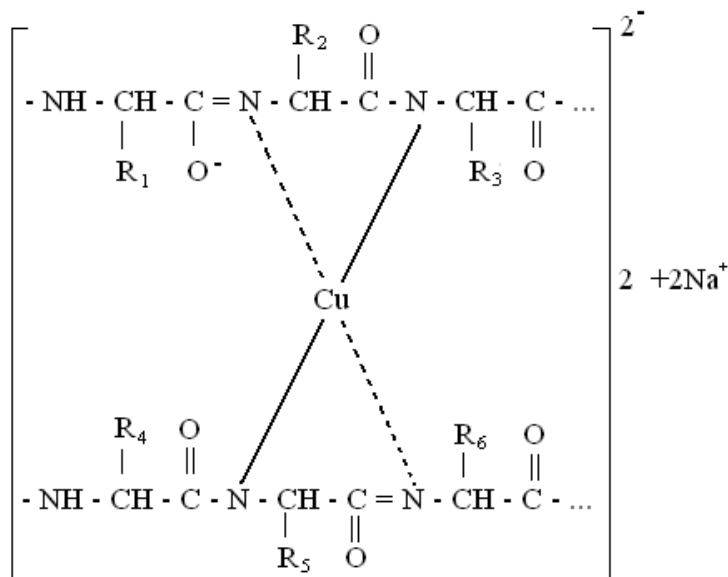
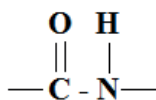
Oqsil va aminokislotalarga xos rangli reaksiyalar

Oqsil gidrolizlanganda aminokislotalargacha parchalanadi. Oqsil tarkibidagi aminokislotalar o'zaro peptid bog'lari orqali birikadi. Ayrim aminokislotalar bir-biridan tarkibidagi turli-tuman funksional guruhlari bilan farqlanadi. Bu guruhlarga xos rangli reaksiyalar yordamida oqsillar, biologik suyuqliklar va aralashmalar tarkibidagi aminokislotalarni aniqlash mumkin. Oqsil va aminokislotalarning

sifat va miqdor jihatdan aniqlashda qoʻllanadigan rangli reaksiyalar ikki guruhga boʻlib oʻrganiladi: birinchi guruhga oqsil tarkibidagi har xil kimyoviy bogʻlar bilan hosil qilinadigan rangli reaksiyalar (biuret reaksiyasi), ikkinchi guruhga esa aminokislotalarning funksional guruhlari bilan hosil qilinadigan rangli reaksiyalar kiradi.

Biuret reaksiyasi

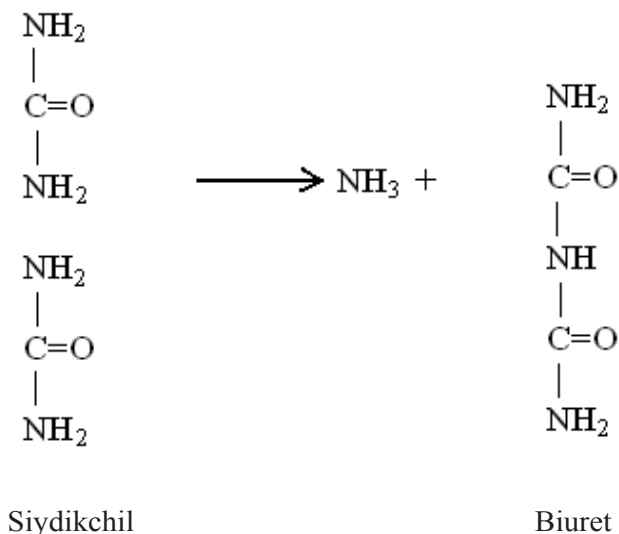
Oqsillar ishqoriy sharoitda mis sulfatning eritmasi bilan murakkab kompleks birikma hosil qiladi. Reaksiya molekulada 2 ta yoki undan ortiq peptid bogʻlar guruhlari boʻgʻlanishiga bogʻliq. Peptidlar va oqsillarni mis natriyli tuzlari bilan hosil qilgan kompleksining tuzilishini quyidagicha yozish mumkin.



Bu erda $-R_1, R_2, R_3, R_4\dots$ -aminokislotalarning qoldiqlari.

Reaksiya natijasida hosil bo'lgan rangning intensivligi peptidlarning uzunligiga bog'liq bo'lib, ko'k binafshadan to qizil binafshagacha va qizil rang oralig'ida bo'ladi.

Siydikchil (mochevina) qizdirilganda uning ikki molekulasidan ammiak (NH_3) ajralib chiqib reaksiya natijasida biuret hosil bo'ladi:



Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; 1, 2 va 5 ml li pipetkalar; spirt lampasi yoki qaynab turgan suv hammomi.

Reaktivlar. 1. Biologik suyuqliklar; tuxum oqsilining eritmasi. 2. Natriy ishqorning 10% li eritmasi. 3. Mis sulfatining 1% li eritmasi. 4. Siydikchil.

Ishning borishi. 1. Probirkaga 100-200 mg siydikchil kristallidan solib, ammiak hidi hosil bo'lguncha qizdiriladi. Hosil bo'lgan massa sovigandan keyin probirkaga 2 ml natriy ishqoridan, 1-2 tomchi mis sulfatdan solinadi. Reaksiya natijasida pushti rang hosil bo'ladi.

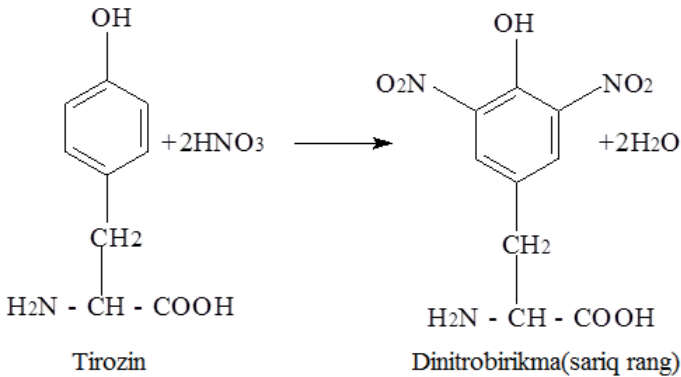
2. Probirkaga 2 ml tuxum oqsilidan solib, keyin shuncha hajmda natriy ishqoridan, 1-2 tomchi mis sulfatning eritmasidan qo'shiladi.

Reaksiya natijasida qizil-binafsha rang hosil bo'ladi.

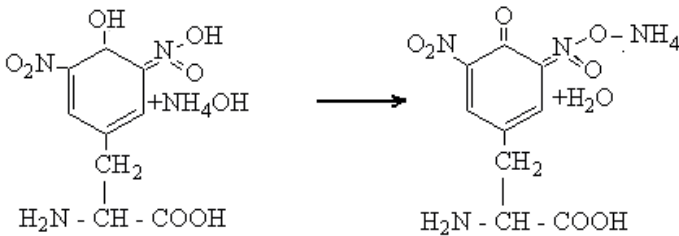
Ksantoprotein reaksiyasi

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.



Dinitrotirozinga natriy ishqori yoki ammoniy gidroksidi ta'sir ettirilsa, dinitrotirozinning natriyli yoki ammoniyli tuzi hosil bo'ladi, bu tuz to'q sariq rangga ega.



Dinitrotirozinning ammoniyli 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 gomologlari ham beradi.

Reaktivlar. 1. Biologik suyuqlik; soya uni oqsili. 2. Jelatinaning 1%li eritmasi. 3. Konsentrlangan nitrat kislota. 4. Natriy ishqorining 20% li eritmasi yoki konsentrlangan ammiak eritmasi (20-25%). 5. Fenolning 0,1% li eritmasi.

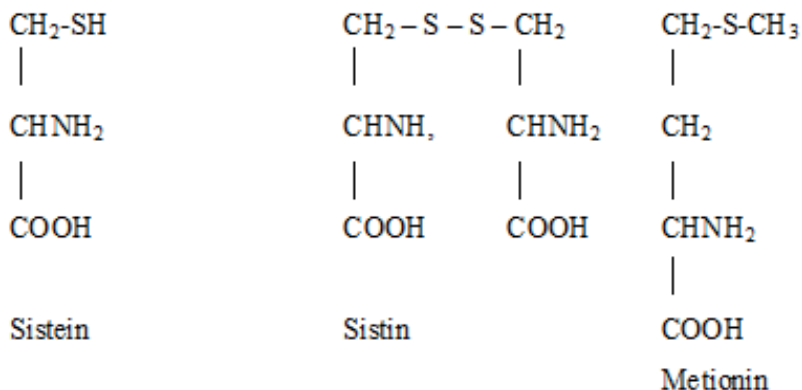
Ishning borishi. Probirkaga 2-3 ml fenol eritmasidan solinadi va 1-2 ml konsentrlangan nitrat kislotasi probirka devorlari orqali quyiladi. Ehtiyotkorlik bilan qizdirilganda sariq rang hosil bo'ladi. Probirkaga 1-2 ml tuxum oqsilidan solib, unga 8-10 tomchi konsentrlangan nitrat kislotadan qo'shib qizdirilganda cho'kma sariq rangga kiradi. Sovigandan keyin probirkaga ehtiyotkorlik bilan ammiak eritmasidan yoki natriy ishqorining eritmasidan qo'shiladi, to'q sariq rang hosil bo'ladi.

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.

Oltिंगugurt tutuvchi aminokislotalar uchun reaksiya

Ko'pgina oqsillar molekulari tarkibida oltिंगugurt tutuvchi aminokislotalar sistein, sistin va metionin saqlaydi.

Oqsilga ishqor qo'shib qizdirilganda, bu aminokislotalardan oltिंगugurut vodorod sulfid holda ajralib chiqadi. Vodorod sulfid qo'rg'oshin asetati bilan qora cho'kma-qo'rg'oshin sulfidni hosil qiladi.

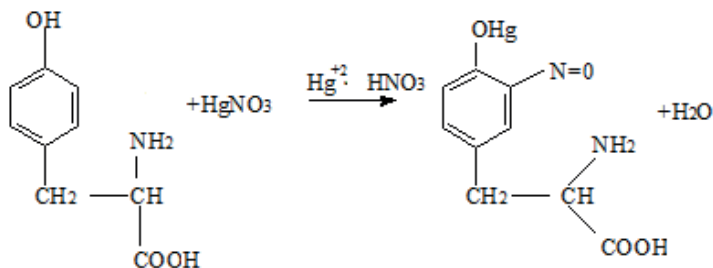


Reaktivlar. 1. Soya uni oqsili. Tuxum oqsili. Siydik. 2. Natriy gidroksidining 20 % li eritmasi. 3. Qo‘rg‘oshin asetatining 0,5 % li eritmasi.

Ish tartibi. Probirkaga 1-2 ml oqsil eritmasidan solinadi va teng hajmda natriy ishqoridan qo‘shiladi, qaynaguncha qizdiriladi va sovugach, 1-2 tomchi qo‘rg‘oshin asetat tuzining eritmasidan qo‘shiladi. Aralashma jigarrang tusga kiradi va sekin rangi to‘qlashib qorayadi va natijada qora cho‘kma PbS hosil bo‘ladi.

Tirozin reaksiyasi

Reaksiya oqsil molekulasidagi tirozin aminokislotasiga xos bo‘lib, uning tarkibida fenol gruppasi bor. Unga millon reaktividan qo‘shib qizdirilganda qizil rangli cho‘kma hosil qiladi.



Tirozin

Nitrotirozinning
simobli birikmasi

Deyarli hamma oqsillar millon reaksiyasini beradi, chunki ular tarkibida tirozin aminokislotasini saqlaydi. Shuningdek, bu reaksiya hamma fenollar uchun ham xarakterlidir.

Kerakli asboblari: Probirkalar bilan shtativ; pipetkalar.

Reaktivlar. 1. Fenolning 0,1% li eritmasi. 2. Millon reaktivi: bu reaktivni tayyorlash uchun 40 g simob olib, 57 ml konsentrlangan nitrat kislotasida (xona haroratida) eritiladi.

Tayyorlangan eritmaga ikki hajmda suv qo‘shib suyultiriladi va hosil bo‘lgan cho‘kma to‘kib yuboriladi. 3. Oqsil eritmasi. 4. Jelatinaning 0,1% li eritmasi.

Ishning borishi. Mashg‘ulot avval fenol bilan bajarib ko‘riladi. 1-probirkaga 2 ml fenol eritmasidan va 1 ml millon reaktividan solib, asta-sekin qizdiriladi, natijada pushti rang hosil bo‘ladi. So‘ngra oqsil bilan shu reaksiya bajariladi. 2-probirkaga 2 ml oqsil eritmasidan solib, 6-8 tomchi millon reaktividan qo‘shiladi, reaksiya natijasida oq cho‘kma hosil bo‘ladi, qizdirilganda to‘q qizil rangli cho‘kmani hosil qiladi. 3-probirkaga 2 ml jelatina eritmasidan solib, 6-8 tomchi millon reaktividan qo‘shib reaksiya bajarib ko‘rilganda millon reaksiyasi ro‘y bermaydi.

Adamkevich reaksiyasi

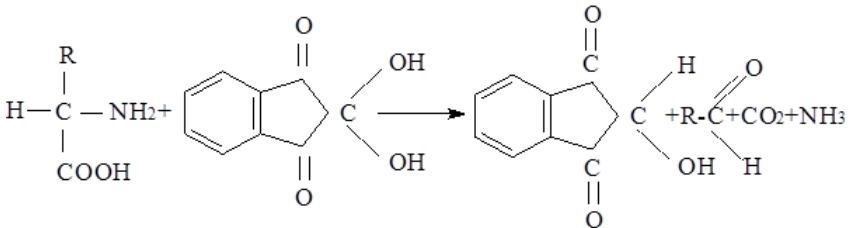
Triptofan aminokislota eritmasiga konsentrlangan asetat kislotasi qo'shib, probirka devori bo'ylab pipetkadan sekin konsentrlangan sulfat kislotasi quyiladi. Bunda ikki suyuqlik chegarasida qizil-binafsha halqa hosil bo'ladi. Bu, asetat kislotasi tarkibida aralashma sifatida uchraydigan glioksilat bilan triptofan kislotasi muhitda rangli mahsulotlar hosil qilish xususiyatiga ega ekanligidan dalolat beradi.

Ish tartibi. Probirkaga 1 ml 0.05 %li triptofan va 1 ml konsentrlangan asetat kislotadan quyiladi. Probirkani bir oz qizdirib, teng hajmda probirka devori bo'ylab yana konsentrlangan asetat kislotadan qo'shiladi (suyuqliklar bir-biri bilan aralashmasligi kerak), 10 minut o'tgach har ikkala suyuqlik chegarasida qizil-binafsha rang hosil bo'ladi.

Reaktivlar: konsentrlangan asetat kislotasi, konsentrlangan sulfat kislotasi va 0.05% li triptofan eritmasi.

Ningidrin reaksiyasi

Oqsil eritmasini va polipeptidlarini ningidrin reaktivi bilan qizdirilganda ko'k-binafsha rang hosil qiladi. Ningidrin reaksiyasi aminokislotalarni α -holatdagi aminoguruhlari hisobiga sodir bo'ladi. Reaksiyaning mohiyati shundan iboratki, α -aminokislotalar va peptidlar, ningidrin ta'sirida dezaminlanish va dekarboqsillanish jarayonlari boradi. Reaksiya natijasida CO_2 , NH_3 , aldegid va qaytarilgan ningidrin hosil bo'ladi. Qaytarilgan ningidrin, ammiak va bir molekula ningidrin o'zaro reaksiyaga kirishib, ko'k-binafsha rangli birikma hosil qiladi.

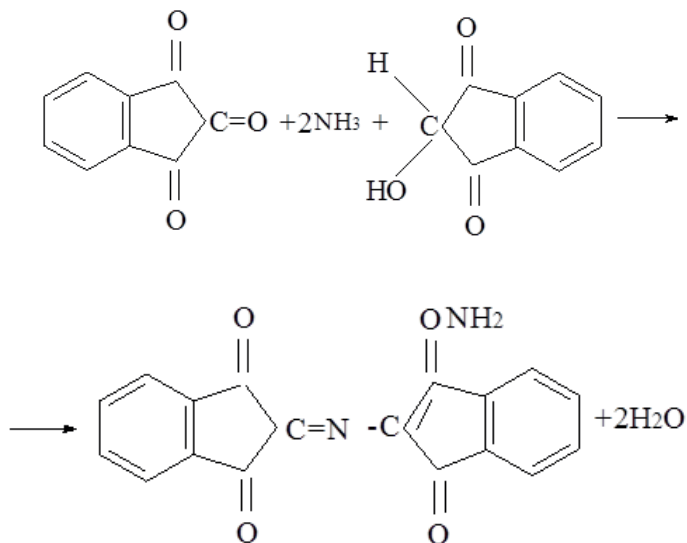


α -aminokislota ningidrin

Qaytarilgan ningidrin

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; pipetkalar; suv hammomi.

Reaktivlar. 1.0.2% li ningidrinning spirtidagi yoki asetonidagi eritmasi. 2.Oqsil eritmasi. 3.0.1 % li glitsinning suvdagi eritmasi.



Ko'k-binafsha rang birikma

Ishning borishi. Probirkaga 2 ml glitsinning eritmasi, 5-6 tomchi ningidrin eritmasi solinib, suv hammomida qizdiriladi. Natijada binafsha rang hosil bo'ladi. Boshqa probirkaga 2-3 ml oqsil eritmasi hamda 10-12 tomchi ningidrin eritmasi solinadi. Eritmalar aralastirilgach bir necha minut suv hammomida qizdiriladi. Reaksiya natijasida ko'k-binafsha rang hosil bo'ladi.

Oqsillarning fizik va kimyoviy xususiyatlari. Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari

Turli reaktivlar oqsil moddalarining fizik-kimyoviy xossalariga ta'sir etib, makromolekula strukturasi o'zgarishiga olib keladi.

Oqsillarning cho'ktirish reaksiyalarini ikkita guruhga bo'lish mumkin: oqsillarni denaturatsiyasiz cho'ktirish (neytral ishqoriy metall tuzlari) va denaturatsiya yo'li bilan cho'ktirish (harorat, mineral va organik kislotalar, og'ir metall tuzlari, alkaloid reaktivlari).

Oqsilning cho'kmaga tushishi unga bog'langan suv qobig'ining buzilishiga bog'liq. Gidrofil moddalar, organik erituvchilar aseton, etil spirti va boshqalar hamda ishqoriy metallar, neytral tuzlarining konsentrlangan eritmaları oqsilning suv qobig'ini buzib, uning eruvchanligini kamaytiradi. Organik erituvchilar hamda ammoniy sulfat, natriy xlorid, natriy sulfat, natriy fosfat va boshqa eritmalar oqsilga ta'sir ettirilganda, oqsil qaytar cho'kmaga tushadi.

Oqsil eritmalariga turli neytral tuzlar qo'shilganda, uning cho'kmaga tushirish reaksiyalari oqsillarni tuzlash deyiladi. Bu jarayonda oqsil molekullari gidrat pardalaridan xoli bo'lib, bir-biri bilan oson qo'shiladi. Oqsil tuzlanishi natijasida ko'pincha tabiiy holatini o'zgartirmaydi. Cho'kmadan tuz ionlarini dializ yo'li bilan chetlatilganda, oqsil qaytadan eritmaga o'tadi. Bunday reaksiyalar qaytar reaksiyalar deb atalib, qaytar denaturatsiyani renaturatsiya ham deyiladi.

Ammoniy sulfat va natriy sulfat bilan tuzlash usuli oqsillarni nativ holatini buzmay ajratib olishda qo'llaniladi. Masalan, qon zardobidagi oqsillar ammoniy sulfat bilan chala to'yintirilganda, globulinlar ajralib chiqadi, globulinlar cho'kmasini filtrlab, eritmaga to'la to'yinguncha tuz kristallidan qo'shilsa, albuminlar fraksiyasi cho'kmaga tushadi.

Og'ir metall (mis, simob, rux, kumush, qo'rg'oshin va hokazo) tuzlari oqsil eritmasiga ta'sir etganda, ular oqsil molekulasidagi sulfhidril guruh- SH bilan birikma hosil qilib, oqsil molekulasining strukturasi o'zgartiradi. Oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan cho'ktirish, qaytmas jarayondir, ya'ni cho'kmaga tushgan oqsilni qaytadan eritma holiga keltirib bo'lmaydi. Bunday holat qaytmas denaturatsiya deb ataladi.

Oqsillarni neytral tuzlar yordamida cho'ktirish

Oqsillarni nativ (tabiiy) holda ajratib olish uchun tuzlash reaksiyalari yaxshi natija beradi. Neytral tuzlar har xil muhitda turlicha ta'sir ko'rsatish xususiyatiga ega. Masalan ammoniy sulfat tuzi ta'sirida oqsillar neytral sharoitda, natriy xlorid ta'sirida esa nordon sharoitda cho'kmaga 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; soya uni oqsili; 2.Ammoniy sulfatning to'yingan eritmasi. 3.Ammoniy sulfatning kristall tuzi. 4.Natriy ishqorining 10 %li eritmasi. 5.Mis sulfatning 1 %li eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga 2-3 ml qon zardobidan yoki suyultirilgan tuxum oqsilidan solib, teng hajmida ammoniy sulfatning to'yingan eritmasidan 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.

Oqsillarni natriy xlorid ta'sirida cho'ktirish

Reaktivlar. 1.Natriy xlorid tuzining kristalli. 2.Sirka kislotasining 2 %li eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga 2-3 ml qon zardobi yoki tuxum oqsili-

dan solib, natriy xlorid tuzining kristallaridan to‘yinguncha qo‘shiladi. 3-5 minutdan keyin probirkada globulinlar cho‘kmasi hosil bo‘ladi. So‘ngra cho‘kma filtrlanadi. Filtratda albuminlar qoladi. Albuminlar to‘yinguncha neytral eritmalarda cho‘kmaga tushmaydi. Filtratga 4-6 tomchi sirka kislotasishshg 2 % li eritmasidan qo‘shiladi, natijada albuminlar cho‘kmaga tushadi, oradan 10 minut o‘tgach cho‘kma filtrlanadi. Cho‘kmalar suvda eritilib, biuret reaksiyasi bajarib ko‘riladi.

Oqsillarni mineral kislotalar ta‘sirida cho‘ktirish

Oqsillar konsentrlangan mineral kislotalar (ortofosfat kislotadan tashqari) ta‘sirida cho‘kmaga tushadi. Bu reaksiya qaytmas reaksiya hisoblanadi, chunki oqsilning kolloid zarrachalari denaturatsiyalanadi va ularning zaryadlari neytrallanadi, natijada kompleks birikmalar hosil bo‘ladi. Bunday holda oqsillar qaytmas denaturatsiyaga uchraydi. Ortiqcha mineral kislotalar (nitrat kislotadan tashqari) cho‘kmaga tushgan oqsillarni eritib yuboradi.

Kerakli reaktivlar. 1.Konsentrlangan xlorid kislotasi. 2.Konsentrlangan sulfat kislotasi. 3.Tuxum oqsilining eritmasi; soya uni oqsili.

Ishning borishi. Uchta probirkaga ehtiyotkorlik bilan 1 ml kislota: birinchisiga-xlorid, ikkinchisiga-sulfat va uchinchisiga-nitrat kislotasidan solinadi. So‘ng hamma probirkalarga 1 ml dan oqsil eritmasidan qo‘shiladi. Shunda oqsil bilan kislota chegarasida oq xalqa hosil bo‘ladi. Har bir probirka sekin-asta chayqatiladi. Ortiqcha xlorid va sulfat kislotasi bo‘lganligi uchun birinchi va ikkinchi probirkalardagi cho‘kma erib ketadi, uchinchi probirkadagi nitrat kislotasi bilan hosil qilingan cho‘kma erib ketmaydi, chunki hosil bo‘lgan cho‘kma ortiqcha nitrat kislotasida erimaydi.

Oqsillarni organik erituvchilar bilan cho‘ktirish

Organik erituvchilar (spirt, efir, aseton va boshqalar) ta‘sirida oqsil makromolekulalarining suvli qobig‘i (gidrosferalari) buziladi, ya‘ni denaturatsiyaga uchraydi, natijada eritmadagi oqsillarning

eruvchanligi kamayadi va oqsil cho‘kmaga tushadi. Oqsil eritmasida tuz ishtirok etsa (NaCl), kolloid zarrachalarining zaryadini o‘zgarishiga olib keladi, bu hol oqsil eritmalarining chidamliligini yanada kamaytiradi. Cho‘ktirish sovitilgan spirt (xloroform) bilan sovuq sharoitda olib borilsa, hosil bo‘lgan oqsil cho‘kmasi suvda eriydi, ya’ni bunda oqsil xossalari o‘zgarmaydi, denaturatsiyaga uchrashga ulgurmaydi. Agar oqsil uzoq vaqt spirtida tursa, denaturatsiyaga uchraydi va hosil bo‘lgan cho‘kma suvda, neytral tuzlar eritmasida erimaydi.

Reaktivlar. 1. Oqsil eritmasi. 2. 96 % li etil spirti. 3. Aseton. 4. Xloroform. 5. Natriy xlorid tuzining kristalli.

Ishning borishi. Uchta probirkaga 1-2 ml dan oqsil solinadi va 0,2-0,3 g natriy xlorid tuzidan qo‘shib, yaxshilab aralashtiriladi.

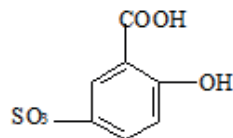
Birinchi probirkaga tomchilab 2-3 ml spirt, ikkinchi probirkaga 2-3 ml aseton va uchinchi probirkaga 2-3 ml xloroform solinadi. Probirkalar chayqatiladi va 5-6 minutdan keyin oqsil cho‘kmasi hosil bo‘lganligini ko‘rish mumkin.

Oqsillarni organik kislotalar bilan cho‘ktirish

Organik kislotalar oqsillarni eritmadan qaytmas cho‘kmaga tushiradi. Turli kislotalarning ta’sir qilish kuchi bir-biridan farq qiladi.

Eng samarali va o‘ziga xos ta’sir qiluvchi sulfosalitsil va uchxlorsirka kislotalasidir.

$\text{CCl}_3\text{-COOH}$
uchxlorsirka
kislota



Sulfosalitsil kislota

Uchxlorsirka kislota ta’sirida faqat oqsillar, sulfosalitsil kislota ta’sirida esa oqsillardan tashqari, peptonlar va polipeptidlar ham cho‘kmaga tushadi.

Reaktivlar. 1.Tuxum oqsilining eritmasi; soya uni oqsili. 2.Sulfosalitsil kislotasining 10 %li eritmasi. 3. Uchxlorsirka kislotasini 10 % li eritmasi.

Ishning borishi. Ikkita probirka olib 2 ml dan oqsil eritmasidan olinadi va birinchi probirkaga 5-8 tomchi sulfosalitsil kislotasidan, ikkinchi probirkaga 5-8 tomchi uchxlorsirka kislotasidan qo‘shiladi. Probirkalar chayqatiladi va oqsillar cho‘kmaga tushganligi kuzatiladi.

Oqsillarni og‘ir metall tuzlari ta’sirida cho‘ktirish

Oqsillar mis, qo‘rg‘oshin, simob, rux, kumush va boshqa og‘ir metallarning tuzlari ta’sirida cho‘kmaga tushadi.

Oqsillar bilan og‘ir metall ionlarining o‘zaro ta’siri juda murakkab bo‘ladi. Avvalo suvda erimaydigan kompleks birikmalar hosil bo‘ladi, ortiqcha tuzning eritmasida (AgNO_3 , HgCl_2) eriydi. Og‘ir metall tuzlari ta’sirida oqsillar denaturatsiyaga uchraydi. Oqsil makromolekulasining ikkilamchi va uchlamchi strukturasi buziladi, peptid zanjirining holatlari o‘zgaradi, ular orasidagi bog‘larda uzilish hollari ro‘y beradi (disulfid bog‘lari). Disulfid bog‘lari oqsillarning ikkilamchi va uchlamchi struktura tuzilishida katta rol o‘ynaydi. Zanjirlar orasidagi uzilish oqsil strukturasi o‘zgarishiga - oqsillarni qaytmas denaturatsiyasiga olib keladi.

Reaktivlar. 1.Tuxum oqsili; soya uni oqsili. 2.Mis sulfatning 5%li eritmasi. 3.Qo‘rg‘oshinning sirka kislotali tuzining 5 %li eritmasi. 4.Kumush nitratning 3 %li eritmasi.

Ishning borishi. Uchta probirkaga 1-2 ml dan oqsil eritmasi solinadi. Birinchi probirkaga tomchilab mis sulfat eritmasidan, ikkinchi probirkaga qo‘rg‘oshinning sirka kislotali tuzi eritmasidan, uchinchi probirkaga esa kumush nitrat eritmasidan qo‘shiladi. Probirkalar chayqatilganda, hamma probirkalarda oqsil cho‘kmasi hosil bo‘ladi. Ortiqcha reaktivdan qo‘shilsa, birinchi va ikkinchi probirkaga kumush nitrat eritmasidan ortiqcha qo‘shilganda ham cho‘kma erimaydi.

Oqsillarni alkaloidlar reaktivi bilan cho'ktirish

Alkaloidlar - azot tutuvchi moddalar bo'lib, kuchli fiziologik ta'sir qilish xususiyatiga ega. Alkaloidlarga quyidagilar: morfin, papaverin, atropin, kofein, efedrin va boshqa birikmalar kirib, bular davolash praktikasida ko'p ishlatiladi.

Ko'p alkaloid reaktivlari ta'sirida oqsillar cho'kmaga tushadi. Bularga quyidagilar kiradi: tanin, yodni kaliy yoddagi eritmasi (Bushard reaktivi), vismut yodni kaliy yoddagi eritmasi (Dragendorf reaktivi), pikrin kislotasi va boshqalar.

Oqsil moddalarini alkaloid reaktivlari bilan cho'kma hosil qilishning asosiy sababi shundan iboratki, aminokislotalar va alkaloidlar tarkibiga kiradigan geterosiklik guruhlarining o'xshashligidir (indol, imidazol va boshqalar). Alkaloid reaktivlari oqsillar bilan erimaydigan birikmalarni hosil qiladi. Oqsilni alkaloid reaktivlari bilan cho'ktirishga kuchsiz organik kislotalar (masalan, sirka kislotasi) yaxshi ta'sir qiladi, aksincha kuchli kislotalar bu jarayonga qarshilik ko'rsatadi. Cho'kma ishqoriy sharoitda erib ketadi.

Reaktivlar. 1.Tuxum oqsili; soya uni oqsili. 2.Pikrin kislotasi-ning 1 % li eritmasi. 3. Taninning 10 % li eritmasi. 4.Bushard reaktivi: 1 g yod, 2 g kaliy yod, 50 ml suv. Bu reaktivni tayyorlash uchun kaliy yodi bir necha ml suvda eritiladi. Shu eritmada yod eritiladi, so'ngra hajmi distillangan suv bilan 50 ml ga etkaziladi. 5. Dragendorf reaktivi vismut yodining kaliy yoddagi eritmasi: 13.5 g kaliy yodi 20 ml distillangan suvda eritiladi. 2.5 g vismut nitrat 10 ml nitrat kislotasida alohida eritiladi. So'ngra idishda qoldiriladi. Bunda idish tagiga kaliy nitratning kristallari cho'kadi. Tiniq eritma ehtiyojorlik bilan boshqa idishga quyiladi va hajmi suv bilan 50 ml ga etkaziladi. 6.Sirka kislotasining 1 % li eritmasi.

Ishning borishi. To'rtta probirkaga 1-2 ml oqsil eritmasi, so'ngra har bir probirkaga 3-5 tomchi 1 % li sirka kislotasidan solinadi. Shundan keyin birinchi probirkaga 4-5 tomchi pikrin kislota eritmasidan, ikkinchi probirkaga 2-4 tomchi tanin eritmasidan, uchinchi probirkaga 2-4 tomchi Bushard reaktividan, to'rtinchiga 2-4 tomchi Dragendorf reaktividan qo'shiladi. Natijada oqsil cho'kmasi hosil bo'ladi.

Oqsillarni yuqori harorat ta'sirida cho'kmaga tushirish

Barcha oqsillar yuqori harorat ta'sirida cho'kmaga tushadi. Oqsillar kuchsiz kislotali muhitda oson cho'kadi. Kuchli ishqoriy va kislotali muhitda yuqori harorat ta'sirida oqsillar cho'kmaga tushmaydi, chunki oqsil molekullari kuchli musbat yoki kuchli manfiy zaryadga ega bo'ladi.

Reaktivlar. 1.Tuxum oqsilining eritmasi; soya uni oqsili. 2.Sirka kislotasining 2 % li eritmasi. 3.Natriy ishqorining 10 % li eritmasi. 4.Natriy xloridning to'yingan eritmasi.

Ishning borishi. 1.Oltita probirka olib, 10 tomchidan oqsil eritmasi solinadi. 2-3-probirkalarga 2 tomchi sirka kislotasining 2% li eritmasi tomiziladi. 4-5-probirkalarga 10 tomchi sirka kislotasining eritmasidan qo'shiladi. 6-probirkaga 2 tomchi natriy ishqorining 10 % li eritmasidan solinadi. Endi 3 va 5-probirkalarga 4 tomchi natriy xloridning to'yingan eritmasi qo'shiladi. Hamma probirkalar qaynaguncha qizdiriladi. Probirkalarda cho'kma hosil bo'lish tezligi belgilab beriladi.

Tajribada olingan natijalar asosida jadval to'ldiriladi:

Probirkalarning raqami	Probirkalarga moddalar tomchilab solinadi			
	Oqsil	CH ₃ COOH	NaOH	NaCl
1	10	-	-	-
2	10	2	-	-
3	10	2	-	4
4	10	10	-	-
5	10	10	-	4
6	10	-	2	-

Oqsillarni dializ qilish

Oqsillar dializ usulida turli xil tuzlar va kichik molekullari birikmalardan tozalanadi. Bu usulda ular maxsus dializ qiluvchi xaltachalarga solinib, oqar suvga uzoq vaqt botirib quyiladi. Dializ qiluvchi xaltachalar maxsus materiallardan tayyorlanadi. Bu materiallar kichik molekullari birikmalarni va ionlarni yaxshi

o'tkazadigan bo'lishi kerak. Yarim o'tkazgich membranalar sifatida sellofan va hayvonlarning siydik pufagidan foydalanish mumkin. Dializ uchun ko'pincha sellofan xaltachalar ishlatiladi. Agar oqsillar turli xil tuzlar yordamida ajratib olingan bo'lsa, ular tarkibidagi tuz dializ yo'li bilan tozalanadi.

Reaktivlar: tuxum yoki soya uni oqsilining eritmasi, osh tuzining to'yingan eritmasi, kumush nitratning 1 %li eritmasi, natriy gidroksidning 20 % li eritmasi, mis sulfatning 2% li eritmasi.

Ishning borishi. Uzunligi 10-12 sm, diametri 0.7 sm bo'lgan shisha nayning bir tomonini sellofan bilan berkitiladi. Shisha naychaga 5-6 tomchi oqsil eritmasidan va 2-3 tomchi osh tuzi eritmasidan quyiladi. Keyin shisha naycha 2-3 ml suvi bo'lgan probirkaga tushiriladi. 10-15 minut o'tgach shisha naycha olinadi va distillangan suvda xloridlar va oqsil bor yoki yo'qligi tekshiriladi.

Xloridlarni aniqlash uchun distillangan suvda 0,5 ml probirkaga solib, ustiga kumush nitratning 1 % li eritmasidan 0,2 ml qo'shiladi. Bunda kumush xlorid cho'kmaga tushadi.

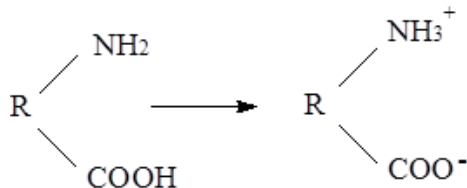
Oqsillarni aniqlash uchun biuret reaksiyasidan foydalaniladi. Buning uchun distillangan suvdan 0,5 ml olib, uning ustiga natriy gidroksidning 20 % li eritmasidan 0,5 ml va mis sulfatning 2 % li eritmasidan 5-10 tomchi qo'shiladi. Binafsha rang hosil bo'lmaganligi oqsil yo'qligidan darak beradi.

Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash

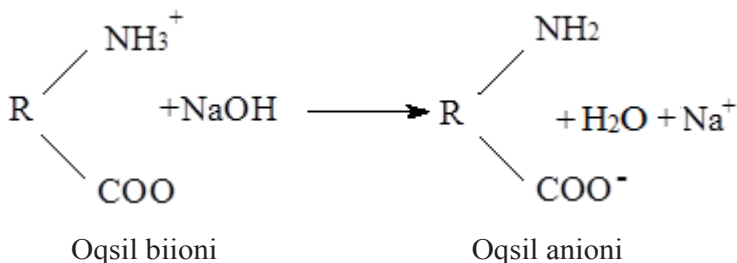
Oqsillar kimyoviy xossalari ko'ra amfoter moddalar hisoblanadi, ularning molekulasida erkin karboksil va amin guruhlari bor. Oqsillarning kislotali xossalari polipeptid zanjirlari oxiridagi karboksil guruhlari va dikarbon aminokislotalar hisobiga namoyon bo'ladi. Kislotali muhitni hosil qilishga tarkibidagi fenol gidroksilini tutuvchi tirozin va sulfhidril guruhini tutuvchi aminokislotalar ta'sir qiladi. Oqsillarning ishqoriy xossalari amin, imin va diamino-monokarbon aminokislotalarning guruhlari hisobiga boradi.

Ham manfiy, ham musbat zaryadli guruhlar mavjudligi tufayli oqsillar ham aminokislotalarga o'xshash amfoterlik xususiyatga ega. Suvli eritmada oqsillarning ishqor va kislota guruhlari orasida

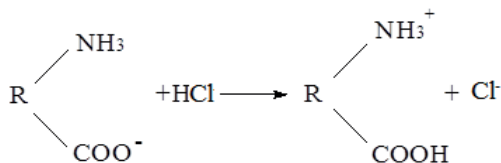
protonlarning ko‘chishi tufayli, tarkibida ko‘p -NH_3^+ va -COO^- guruh tutuvchi amfion hosil bo‘ladi. Agar manfiy va musbat zaryadlarning soni teng bo‘lsa, oqsil molekulasining zaryadi amaliy jihatdan nolga teng bo‘lib, elektr maydonida hech qayoqqa siljmaydi.



shqoriy muhitda oqsillar ortiqcha COO^- guruhdarga ega bo‘lib, anion rolini o‘ynaydi. Masalan, natriy ishqori bilan oqsillarning natriyli tuzi hosil bo‘ladi:



Aksincha, kislotali muhitda oqsil ortiqcha NH_3^+ guruhlariga ega bo‘ladi va musbat ion sifatida katodga qarab harakat qiladi:



Amfionlar shaklida oqsil molekulasi zaryaddan mahrum bo‘ladi va bunday kolloid zarracha eritmada turg‘unligini yo‘qotadi. Oqsillarning musbat va manfiy zaryadlari yig‘indisi nolga teng bo‘lib, elektr maydonida na katod va na anod tomonga siljmaydigan eritmaning pH oqsillarning izoelektrik nuqtasi deb ataldi. Turli oqsillarning izo-

elektirik 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 dissotsilanish darajasi baravarlashib, molekula, umuman, elektroneytral holatiga keladi. Masalan, kazeinning pH-4,2; tuxum albumininig oqsili -4,8; jelatinaniki -4,9; zein (jo'xori oqsili)niki -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 tanin qo'shiladi. Organik erituvchilar oqsil makromolekulasining suv qobig'ini buzib yuboradi, masalan, tanin bilan azotli geterosiklik guruhlar suvda erimaydigan birikmalarni hosil qiladi.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; 2 va 10 ml li pipetkalar.

Reaktivlar. 1. Jelatinaning 1 % li eritmasi. 2. Sirka kislotasining 0,1 N eritmasi. 3. Sirka kislotasi natriyli tuzining 0,1 N eritmasi. 4. 96 % li etil spirti. 5. Taninning 0,1 % li eritmasi.

Ishning borishi. Beshta probirkada turli pH li bufer eritmalar tayyorlanadi, ya'ni sirka kislotasining eritmasidan va sirka kislotasining natriyli tuzi eritmasidan, jadvalda ko'rsatilgan miqdorda solinadi. So'ngra har bir probirkaga 1 ml jelatina eritmasidan solib yaxshilab aralashtiriladi. Shundan so'ng probirkalarga 4 ml dan spirt qo'shiladi (yoki 1 ml tanin eritmasidan) va aralashtiriladi. 15-20 minutdan keyin probirkalarda loyqa hosil bo'ladi, loyqalanish darajasi probirkalardagi bufer aralashmaga bog'liq. Ma'lumki, pH aralashmaning eng yuqori loyqalanishi jelatinaning izoelektrik nuqtasiga to'g'ri keladi. Jelatinaning izoelektrik nuqtasi pH-4,7. Jadvalda quyqum hosil bo'lgan probirkalarga ko'yilgan + ishorasi quyqum hosil bo'lish darajasini ko'rsatadi.

Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash:

Probi-r kalar	Bufer aralashmalarining miqdori, ml		Aralash- malar- ning pHi	Jelatinaning 1% li eritma- si, ml	Etil spirti, ml	Quyqum hosil bo'lish darajasi (+)
	0,1N CH- ₃ COOH	0,1N CH ₃ COO- Na				
1	1,8	0,2	3,8	1	4	
2	1,4	0,6	4,4	1	4	
3	1,0	1,0	4,7	1	4	
4	0,6	1,4	5,1	1	4	
5	0,2	1,8	5,7	1	4	

Aminokislotalarning qog'oz xromatografiyasi yordamida ajratish

Aminokislotalarni bir-biridan ajratishda eng oddiy, oson va nisbatan aniq usul qog'oz xromatografiyasidir. Xromatografiya usuli 1903-yilda rus olimi M.S.Svet tomonidan kashf etilgan. Qog'oz xromatografiyasi uchun yuqori sifatli har qanday filtr qog'ozdan foydalanish mumkin.

Aminokislotalarning ajratish va aniqlash usuli, ularning aralashmasini filtr qog'ozga tomizishdan va qog'ozning bir uchini tegishli organik erituvchiga tushirishdan iborat. Erituvchi filtr qog'ozida shimiladi va o'zi bilan aminokislotalarni ko'chiradi (ilashtiradi). Aminokislotalarni qog'oz bo'ylab ko'chirilish tezligi ularning ximiyaviy tuzilishiga, erituvchilarda erish darajasiga bog'liq bo'ladi. Ayrim aminokislotalar turli xil eritmalarda turlicha erish xususiyatiga ega. Odatda bu eritmalaridan biri suv, ikkinchisi esa suvda to'ydirilgan organik erituvchi bo'ladi (fenol, butil spirti va boshqalar). Odatda suv bilan aralashmaidigan yoki qisman aralashadigan organik erituvchilardan foydalaniladi.

Aminokislota bosib o'tgan masofaning (a) eritma bosib o'tgan masofaga (b) bo'lgan nisbati aminokislotalarning ajralish koeffitsienti deb ataladi. Aminokislotalarning ajralish koeffitsienti (Rf) har bir aminokislota uchun berilgan eritmada doimiy bo'lib, u quyidagicha aniqlanadi.

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

Qog'oz xromatografiyasida aminokislotalar ikki usul yordamida ajratiladi. Bu pastga va yuqoriga harakat qiluvchi xromatografiya usulidir.

Bundan tashqari yana bir tomonlama va ikki tomonlama xromatografiya usuli ham mavjud. Bir tomonlama xromatografiya usulida moddalarning ajralishi bir yo'nalishda bo'ladi. Bunda R_f yaqin bo'lgan aminokislotalar bir-biriga qo'shilib 2-3 tadan bo'lib ajraladi. Ularni bir-biridan ajratish uchun ikki tomonlama xromatografiya usulidan foydalaniladi. Bunda ikkita organik erituvchi ishtirok etadi. Ajratish ketma-ket ikkita o'zaro perpendikulyar yo'nalishda olib boriladi.

Ish tartibi. Filtr qog'ozdan uzunligi 12-14 sm va eni 1,5 sm keladigan lenta qirqiladi. Bu lentaning yuqori tomonidan igna bilan 15-20 sm ip o'tkaziladi. Qog'ozni pastki qismidan 1 sm qoldirib to'g'ri chiziq va uning o'rtasiga diametri 0,5 sm bo'lgan aylana chiziladi. Aylana o'rtasiga kapilyar yordamida 2-3 tomchi aminokislota aralashmasi tomiziladi. Tomchi tomizilgan joy havoda quritiladi. Uzunligi 18-20 sm va diametri 2 sm bo'lgan probirkaning tubiga sekin-astalik bilan probirka devorlariga tekizmasdan suv bilan to'yintirilgan fenol eritmasidan 2 ml quyamiz. Tayyorlangan qog'oz ipini ushlab turib probirkaga tushiramiz, bunda qog'ozning uchi erituvchiga 2-3 mm botib, qat'iy ravishda vertikal turishi kerak. Probirkani probka bilan berkitib 40-50 °C haroratda 1,5-2 soat davomida termostatga qo'yamiz. Probirkadagi eritma qog'oz lenta bo'ylab 10-12 sm ko'tarilgandan keyin xromatogrammani olib 100° C da 10-15 minut davomida quritiladi. Xromatogrammada rangli dog'lar hosil bo'ladi. Dog'larning R_f i aniqlanib jadval (ilovaga qarang) dan qaysi aminokislota ekanligi aniqlanadi. Aminokislotalarning bir-biridan ajralishi aniq bo'lishi uchun odatda R_f bir-biridan ko'proq farq qiluvchi aminokislotalar aralashmasi olinishi kerak.

Reaktivlar: suv bilan to'yintirilgan fenol eritmasi, ningidrinning 0,1% li eritmasi, aminokislotalar aralashmasining 0,1% li eritmasi (80 % li etil spirtida eritiladi).

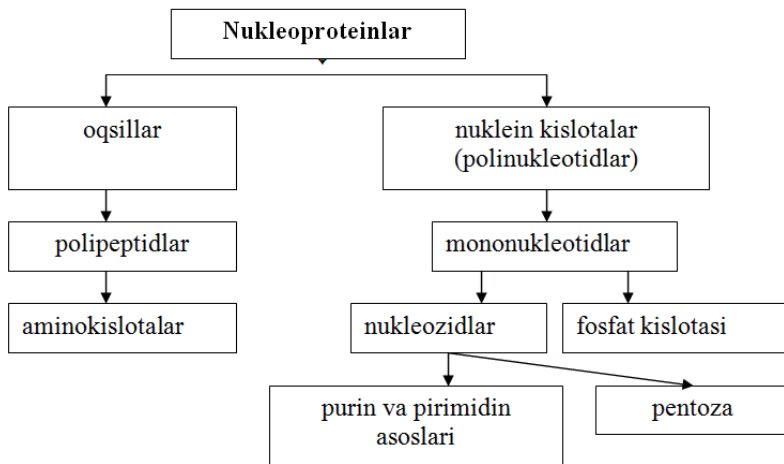
III BOB. MURAKKAB OQSILLAR

Murakkab oqsillar makromolekulasi tarkibiga aminokislotalardan tashqari oqsil bo‘lmagan boshqa komponentlar (prostetik guruh) ham kiradi. Murakkab oqsillar prostetik guruhlarining (nuklein kislotalar, uglevod, lipid, vitamin, metall va boshqalar) kimyoviy tabiatiga ko‘ra quyidagi guruhlariga bo‘linadi: nukleoproteinlar, xromoproteinlar, glikoproteinlar, lipoproteinlar, metalloproteinlar va fosfoproteinlar.

Nukleoproteinlar

Nukleoproteinlar prostetik guruhleri nuklein kislotalar bo‘lib, 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 gidroliz qilinganda ulardan oqsil va nuklein kislota ajralib chiqadi. Nuklein kislotalarning o‘zi gidrolizlanganda birin-ketin quyidagi parchalanish mahsulotlari hosil bo‘ladi:



Dezoksiribonukleoproteinlarni jigar va taloqdan ajratib olish

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

Kerakli asboblari: sentrifuga; qaychi; havoncha; 300 va 400 ml li stakan; 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 havonchaga 5 % li natriy xlorid eritmasidan ozgina solib eziladi. Shundan keyin havonchaga oz-ozdan 70-80 ml osh tuzi eritmasidan solib, 10-15 minut davomida eziladi. Havonchadagi 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. Dezoksiribonukleoproteinlar 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.

DNK uchun rangli reaksiya

DNK uchun rangli reaksiya difenilalanin bilan olib boriladi.

DNK bilan difenilalanin ko'k rangli birikmani hosil qiladi.

Kerakli reaktivlar: 1. Ajratib olingan DNK. 2.Difenilalanin reaktivi: 1 g difenilalaninga 100 ml sirka kislotasi solinadi. Shu eritmaga 2,75 g konsentrlangan sulfat kislotaga qo'shiladi. 3.0.4 % natriy ishqorining eritmasi.

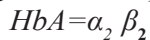
Ishning borishi. Ajratib olingan 1 ml natriy ishqoridan qo'shiladi.

Shu eritmaga teng hajmda difenilalanin eritmasidan qoʻshiladi. Choʻkma hosil boʻladi va 15-20 minut qaynab turgan suv qatlamiga qoʻyiladi. Natijada koʻk rang hosil boʻladi.

Xromoproteinlar

Xromoproteinlar (xromo-grekcha rang, boʻyoq) murakkab oqsil boʻlib, oddiy oqsil globulinlar, prostetik guruh (oqsil boʻlmagan qism) va rangli birikma (pigment) dan tuzilgan. Turli xromoproteinlarning oqsil bilan bogʻlangan rangli guruhi har xil organik birikmalar sinfiga kiradi hamda tarkibi turli metallar - temir, mis, magniy, molibden yoki rux, kobalt va boshqalarga boy. Shuning uchun ular metalloproteinlar ham deb ataladi. Xromoproteinlarning eng muhim vakili - prostetik guruhi pirrol halqalarining qoʻshilishidan tashkil topgan porfirin strukturali murakkab oqsillardir. Bu qatarga oʻsimliklarning yashil pigmenti - xlorofill bilan oqsil birikmasi, hayvon va odam qoni tarkibidagi gemoglobin, muskul nafas olish pigmenti-miogloblin va bir qator nafas olish fermentlari kiradi.

Gemoglobin, oqsil-globin (giston) va prostetik guruhi gem deb ataladigan temir protoforfirindan iborat boʻlgan metalloprotein boʻlib, qizil qon tanachalari-eritrotsitlar tarkibida boʻladi. Uning fiziologik funksiyasi kislorodni oʻpkadan toʻqimalarga tashishdan iborat. Deyarli barcha umurtqalilar eritrotsitlarida gemoglobinning molekula ogʻirligi taxminan 66000 ga teng. Gemoglobin toʻrtta aynan oʻxshash juft subbirlıklardan tashkil toptan. Katta yoshdagi odamlarda asosan gemoglobin HbA struktura tuzilishiga ega, subbirlıklar α va β deb belgilanadi va quyidagicha yozish mumkin.

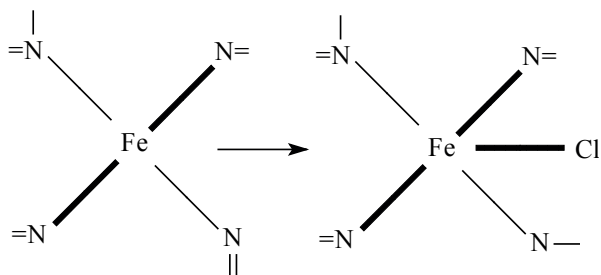


α -subbirlıklar 141 ta, β -subbirlıklar esa 146 ta aminokislotalar qoldigʻidan iborat.

Shu zanjirlarning har biri gem deb ataluvchi prostetik guruhga bogʻlangan. Gem-murakkab molekula boʻlib, toʻrtta azot tutuvchi geterosiklik pirrol halqasidan tuzilgan. Pirrol halqalari bir-biri bilan metil

(=CH-) turkumlari orqali bogʻlangan, porfirin skleti gem tarkibida ikki valentli temir atomi bilan koordinatsiyalovchi aloqada boʻladi.

Shuningdek, temir atomi gistidin qoldig‘idagi azot bilan bog‘langan. Bundan tashqari propionil qoldiqlari elektrostatik kuchlari hisobiga asosiy aminokislotalar qoldig‘laridan ko‘pincha lizin qoldiqlari bog‘lanadi. Shunday qilib, gem bilan globin orasidagi bog‘ etarli darajada mustaxkamdir.



Tajriba mikroskopik oyna ustida o‘tkaziladi, hosil bo‘lgan gemin kristallari juda xarakterli ko‘rinishda bo‘lganligidan, bu reaksiya qonni tekshiruvchilar uchun qulay hisoblanadi.

Kimyoviy tuzilishiga ko‘ra gemoglobinga yaqin yana bir qator temir-porfirinli proteinlar mavjud. Ular qatoriga umutqalilar va umurtqasizlarning muskullaridagi nafas olish pigmenti-mioglobin kiradi. Bu metalloproteinning molekula og‘irligi 17000 ga teng, u yagona polipeptid zanjiridan iborat bo‘lib, temir atomini tutadi. Mioglobin ham gemoglobinga o‘xshash kislorod bilan qaytalama birikish xossasiga ega. Bu qatordagi boshqa muhim temir proteinlar hujayraning sitoxromlar deb ataladigan nafas olish pigmentlari guruhidan iborat.

Sitoxromlarning to‘la o‘rganilgan vakili-sitoxrom C ning molekula og‘irligi 13000 ga teng bo‘lib, u tarkibida bitta temir tutadi. Organizmda keng tarqalgan fermentlar-masalan, katalaza tarkibida to‘rtta temir atomi, peroksidazaning tarkibida bir atom temir bor.

Oksigemoglobin kristallarini ajratib olish

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; pipetkalar; sentrifuga; 100 ml li stakanlar; diametri 6-8 li voronka; predmet va qoplag‘ich oyna.

Reaktivlar. 1. Yangi soʻyilgan quyon, ot yoki boshqa turdagi hayvon qoni. 2. Dietil efiri. 3. Ammoniy sulfatning toʻyingan eritmasi. 4. Natriy xloridning 0,9 % li eritmasi. 5. 96 % li etanol. 6. 0,1 % li natriy xloridning sirka kislotasidagi eritmasi (0,1 g natriy xlorid 100 ml kislotada eritiladi).

Ishning borishi. Probirkaga 5 ml qon olib, unga 1 ml suv bilan efir (1:1) aralashmasidan solinadi va toʻliq gemoliz hosil boʻlguncha aralashtiriladi. Hosil boʻlgan qizil suyuqlik gemolizlangan qon deb ataladi. Shu suyuqlikka teng hajmda (6 ml) ammoniy sulfatning toʻyingan eritmasidan solib aralashtiriladi va sentrifugalanadi yoki filtrlanadi. Filtratni probirkali kolbaga solib 1 soatga yoki 1 sutka sovuqda qoldiriladi.

Soʻngra bir tomchi filtratdan predmet oynasiga tomiziladi va qoplagich oyna bilan yopilgan mikroskopda koʻriladi. Qizil rangda oksigemoglobin kristallari prizma yoki turli formadagi plastinka shaklida koʻrinadi (bu shakl hayvonlarning turiga bogʻliq).

Geminni olish reaksiyasi

Gemoglobin kislotali sharoitda qizdirilganda parchalanadi va natriy xlorid taʼsirida gem geminga aylanadi, yaʼni temir atomi bilan xlor bogʻlanadi. Bunda ikki valentli temir uch valentliga aylanadi.

Kerakli asboblari: predmet va qoplagich oynasi; mikroskop.

Reaktivlar. 1. Natriy xloridning kristalli. 2. Sirka kislotasi.

Ishning borishi. Predmet oynasiga bir necha tomchi qon tomiziladi va 60° C dan yuqori boʻlmagan haroratda quritiladi. Quritilgan qonga bir necha natriy xloridning kristallidan, 1-2 tomchi sirka kislotasidan qoʻshib aralashtiriladi, soʻngra qoplagich oyna bilan yopiladi hamda qaynaguncha ehtiyotkorlik bilan qizdiriladi.

Sovigandan soʻng mikroskopda koʻriladi, bunda gemin kristallari rombik shaklda (jigar rangli) koʻrinadi.

Geminni amidopirin bilan aniqlash

Kerakli asboblari: pipetkalar, probirkalari bilan shtativ.

Reaktivlar. 1. Defibrinlangan qon. 2. Amidopirin (piramidon) ning 5% li spirtidagi eritmasi. 3. Sirka kislotasini 30% li eritmasi. 4. Vodorod peroksidining suvdagi 3% li eritmasi ishlatishdan oldin tayyorlanadi.

Ishning borishi. Probirkaga suyultirilgan defibrinlashgan qonning eritmasidan 1-2 ml solinadi va teng hajmda amidopirin spirtidagi eritmasidan 10-15 tomchi sirka kislotasi va vodorod peroksidining eritmasidan qoʻshiladi. Natijada koʻk-binafsha rang hosil boʻladi.

Glikoproteinlar

Glikoproteinlar - murakkab oqsil boʻlib, prostetik guruhi uglevodlar va ularning hosilasidir. Glikoproteinlarning oqsil boʻlmagan qismlarining tarkibiga glyukoza, galaktoza, fruktoza; glyukuron, sirka, neyramin, sulfat va boshqalar kiradi.

Glikoproteinlar hayvon organizmida keng tarqalgan. Ular deyarli hamma toʻqimalarda uchraydi. Ularning bir qismi mexanik funksiyalarini bajarishda ishtirok etadi, boshqalari ovqatning oshqozonga sirgʻanib tushishini va ovqat hazm qilishni engillashtiradi. Shuningdek, glikoproteinlarga qondagi bir guruh moddalar, fermentlar, masalan, xolinesteraza va boshqalar kiradi. Glikoproteinlar bir qator oʻsimliklar (arpa, bugʻdoy va boshqalar) ning urugʻlarida ham uchraydi. Bir qator glikoproteinlarning prostetik guruhi mukopolisaxaridlardan iborat va ular mukoproteinlar deb ataladi.

Bu guruhning asosiy vakillari barcha toʻqimalarda ham uchraydi. Ular suyak, togʻay, koʻzning muguz pardasi va shishasimon tanasida, soʻlakda koʻp uchraydigan mutsinlar va mukoidlardir. Bir qator mukopolisaxaridlar (gialuron kislotasi, xondroitinsulfat kislotasi, geparin) organizmda katta rol oʻinaydi.

So‘lakdan mutsinni ajratib olish

So‘lakda va turli shilimshiq bezlarning sekretlari tarkibida uchraydigan mutsin-suyuqlik yuqori darajada yopishqoqlik xususiyatiga ega bo‘lib, ovqatning oshqozonga tushishini engillashtiradi, og‘izning shilimshiq pardasini zararli mexanik, termik va ximiyaviy ta’sirlardan saqlaydi.

Mutsin-kislotali xossaga ega bo‘lgan oqsil bo‘lib, suvda yaxshi erimaydi, ishqor va xlorid kislotalarida esa oson eriydi. Mutsinning ishqoriy eritmasi sirka kislotasi ta’sirida cho‘kmaga tushadi.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; shisha tayoqcha; pipetkalar.

Reaktivlar. 1. Sirka kislotasining 1% li eritmasi. 2. Natriy ishqorining 10% li eritmasi. 3. Xlorid kislotasining 0,1% li eritmasi. 4. Mis sulfatning 1% li eritmasi. 5. Alfa-naftolning 0,2% li eritmasi. 6. Konsentrlangan sulfat kislotasi.

Ishning borishi. Uchta probirkaga 2-3 ml so‘lak quyiladi va har bir probirkaga 1% li sirka kislotasidan mutsin cho‘kmasi hosil bo‘lguncha tomchilab solinadi. Keyingi jarayonda cho‘kma suv bilan yuviladi.

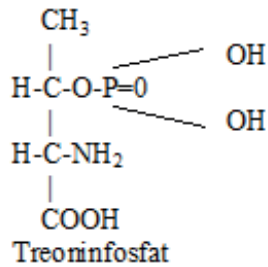
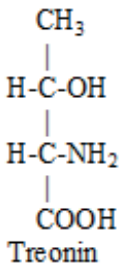
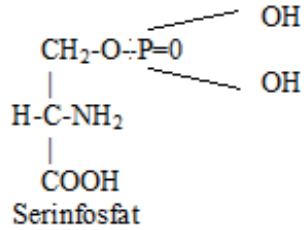
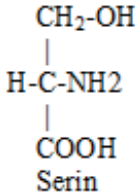
Birinchi probirkadagi mutsinning cho‘kmasiga 1 ml natriy ishqorining 10% li eritmasidan qo‘shib aralashtiriladi va cho‘kma butunlay erib ketgandan so‘ng biuret reaksiyasi bajariladi. Buning uchun yana 10 tomchi natriy ishqori va 1-2 tomchi mis sulfatning eritmasidan qo‘shiladi hamda probirka chayqatiladi. Reaksiya natijasida pushti yoki binafsha rang hosil bo‘ladi.

Ikkinchi probirkaga 1 ml xlorid kislotasining 0,1% li eritmasidan qo‘shilsa cho‘kma erib ketadi.

Uchinchi probirkadagi mutsinning cho‘kmasiga 6-8 tomchi alfa-naftol qo‘shib aralashtiriladi va ehtiyotkorlik bilan 1-2 ml konsentrlangan sulfat kislotasi qo‘shiladi. Ikkala suyuqlikning chegarasida binafsha rang hosil bo‘ladi. Bu reaksiya mutsinning prostetik guruhi monosaxaridlar va ularning hosilasi hisobiga hosil bo‘ladi, ya’ni sulfat kislotasi ta’sirida furfurool va oksimetilfurfurool hosil bo‘lib, alfa-naftol bilan binafsha rangli birikmani beradi.

Fosfoproteinlar

Bu oqsillar tarkibida fosfat kislota (0,40-0,88 %) qoldig'ini saqlaydi. Oksiaminokislotalar (serin, treonin) fosfat kislota bilan efirli bog' orqali bog'lanib, fosforli birikmalarni hosil qiladi.



Fosfoproteinlarga muhim biologik rol o'ynaydigan quyidagi oqsillar kiradi: sutdagi kazeinogen (kazein), tuxum sarig'i oqsillari vitellin, vetillinin va vitin, baliq uvildiriqlari 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.

Kazein tarkibidagi fosfatni aniqlash

Kazein-fosfoproteinlarning vakili boʻlib, sutdan ajratib olinadi. Kazein ishqoriy gidroliz qilingandan oqsilga va fosfat kislotasining qoldigiga parchalanadi.

Kerakli asboblari: pipetkalar; probirkalar bilan shtativ.

Reaktivlar. 1.Natriy ishqorining 10% li eritmasi. 2.Sulfat kislotasining 10% li eritmasi. 4.Molibden reaktivi: 3,75 g ammoniy molibdat 50 ml suvda eritiladi va 50 ml nitrat kislota qoʻshiladi. 4.Mis sulfatning 1% li eritmasi. 5.Kazein (yanchilgan).

Ishning borishi. Kazeinning gidrolizi. Probirkaga 0,1 g kazein solib, 10 ml natriy ishqorining 10% li eritmasidan qoʻshiladi va havo xolodilnikli probka 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 boʻladi.

2. Fosfat kislota qoldigini aniqlash. Probirkaga 1-2 ml girolizatdan va 8-10 tomchi sulfat kislota eritmasidan solib aralastiriladi, soʻngra unga 10 tomchi molibden reaktividan qoʻshib, qaynaguncha qizdiriladi. Suyuqlik sariq rangga kiradi-ammoniy fosfomolibdatning sariq choʻkmasi hosil boʻladi, bu hol girolizatda fosfat kislotasining qoldigʻi borligidan dalolat beradi.

Oʻsimliklardan umumiy oqsillarni ajratib olish

Oʻsimliklarning turli organlarida oqsillarni ajratib olishning turli usullari mavjud. Yangi shifobaxsh sano oʻsimlik materialidan, yaʼni barg, poya, meva yoki boshqa vegetativ organlardagi oqsillarni ajratish uchun 50 - 100 g namuna olib, sovitgichda yoki suyuq azot yordamida muzlatiladi. Soʻngra muzlatilgan namuna gomogenizatorida yoki chinni hovonchada borat bufer eritmasi (pH-10) bilan 1:4 nisbatida bir xil massa hosil boʻlguncha eziladi. Ezish davomida oqsillarning eruvchanligini oshirish maqsadida bir oz natriy bisulfatning 0,2 %li eritmasidan va koʻpik hosil boʻlmasligi

uchun 3-4 tomchi oktil spirti qo'shiladi. Hosil bo'lgan gomogenat sovitgichda muzlatiladi, so'ngra eritib tebratuvchi asbob yordamida 1-2 soat davomida chayqatiladi. Vaqt tugagach minutiga 3000 aylanma tezlik bilan 10-15 minut sentrifugalanadi. Eritma hajmi 500 ml bo'lganicha o'lchov kolbaga quyiladi. Cho'kma esa kam hajmdagi bufer eritma bilan yana 5-6 marta ekstraksiya qilinadi. Har safar gomogenat sentrifugalanib eritmalar o'lchov kolbaga quyiladi. Ekstraksiya kolbadagi eritmaning umumiy hajmi distillangan suv bilan chiziqqacha to'ldiriladi.

Eritmaga o'tgan azot miqdori, o'simlik tarkibidagi umumiy azotning 90 - 95% ini tashkil qilishi kerak. Eritmadagi oqsilni aniqlash uchun undan 20 ml olib Keldal bo'yicha azot miqdori topiladi, shu bilan birga to'g'ridan-to'g'ri tekshirilayotgan o'simlik materialidagi umumiy azot ham aniqlanadi.

Eritmaga o'tgan oqsillarni cho'ktirish uchun eritma 1000 ml li stakanga quyiladi va sirka kislotaning 10 % li eritmasi yordamida pH 4,4-4,5 ga keltiriladi. Eritma pH ini qog'oz indikator yordamida aniqlanadi. Agar muhit kislotali bo'lib ketsa, ishqor yordamida uning pH ini 4,4-4,5 ga keltirish mumkin. Eritma solingan stakan suv hammomida 70°C da qizdiriladi va cho'kmaga tushgan oqsillar sentrifugalanib ajratiladi. Cho'kmaga tushgan oqsillarni sirka kislotasi bilan yuviladi. Buning uchun sentrifuga probirkasiga sirka kislotaning 1 % li eritmasidan quyib cho'kma aralashtiriladi, sentrifugalanadi va cho'kma ustidagi eritma to'kib yuboriladi.

Oqsillarni yanada tozaroq holda ajratib olish uchun ularni qayta cho'ktiriladi. Buning uchun sentrifuga probirkalariga o'yuvchi natriyning 0,2 N eritmasidan quyiladi va cho'kma yaxshilab aralashtirilib, suyuqlik probirkadan stakanga quyiladi. Probirka yana bir necha marta o'yuvchi natriyning 0,2 N eritmasi bilan yuviladi va ular ham stakandagi suyuqlikka qo'shiladi. Stakandagi suyuqlik suv hammomida 50°C da oqsillar to'liq erigunga qadar aralashtirib turiladi. Erimagan zarrachalar sentrifugalash yo'li bilan ajratiladi.

Oqsillarni qayta cho'ktirish uchun oqsil eritmasi bo'lgan stakanga 50 % li trixlorasetat kislotasidan, eritmadagi oxirgi konsentratsiya 5% bo'lguncha qo'shiladi. Bunda cho'kmaga tushgan oqsillar sentrifugalash bilan ajratib olinadi. Sentrifuga probirkasidagi oqsil cho'kmasini aseton (5-6 marta), issiq etil spirti (1-2 marta) va efir

(2-3 marta) bilan yuviladi (efir bilan sentrifuga qilinganda, sentrifuga qopqog‘i ochiq bo‘lishi kerak). Har gal sentrifugalashdan so‘ng cho‘kma ustidagi suyuqlik to‘kib yuboriladi. Shu yo‘l bilan olingan oqsil preparatlari uy haroratida, vakuum eksikatorida quritiladi va saqlanadi. Oqsil preparatlari tarkibidagi umumiy azot Keldal metodi bo‘yicha aniqlanadi. Olingan oqsil preparatlari oq yoki och kulrang poroshok bo‘lib, tarkibida 14-16% azot bo‘ladi.

Oqsillarni ayrim fraksiyalarga ajratish

Oqsillarni yanada chuqurroq o‘rganish uchun ularni fraksiyalarga ajratish kerak. Oqsillarni fraksiyalarga ajratish, ularni turli xil erituvchilarda erishiga asoslanadi.

O‘simlik to‘qimalaridan ajratib olingan oqsillar ketma-ket ravishda suv (albuminlar), spirt (prolaminlar) va ishqoriy eritmalari (glyuteninlar) 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 sovitkichda muzlatiladi. So‘ngra muzlatilgan material suv bilan (1:4) nisbatda gomogenizatsiya qilinadi yoki chinni hovonchada bir xil massa hosil bo‘lguncha maydalanadi. Hosil bo‘lgan gomogen massa kolbaga o‘tkaziladi va maxsus tebratuvchi asbob yordamida 1 soat chayqatiladi. Bunda oqsillarni eritmaga to‘liq o‘tishi ta‘minlanadi. So‘ngra kolba 15-18 soatga 0°C da sovitkichda qoldiriladi.

O‘simliklarning urug‘laridan oqsillarni ajratishda esa urug‘lar avval mayin un holiga kelgungacha maydalanadi. Ularning tarkibidagi moy va moysimon moddalar efir va aseton yordamida ajratiladi. Aseton poroshoklar eksikatorida quritiladi. Aseton 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 sovitkichda qoldiriladi.

Suvda eruvchi oqsillarni ekstraksiya qilish. Bundan keyingi ish tartibi o‘simlik materiali qanday bo‘lishidan qat‘iy nazar bir xilda olib boriladi. Oqsil eritmalari sovitkichdan olingandan so‘ng sentrifugalanadi va cho‘kma ustidagi suyuqlik katta stakanga

quyiladi. Sentrifuga probirkasidagi choʻkma esa massaga nisbatan uch barobar koʻp suv bilan gomogenizatsiya qilinadi va kolbaga qoʻyib 30-40 minut chayqatiladi. Shundan soʻng yana sentrifuga qilinadi va choʻkma ustidagi suyuqlik oldingi stakanga quyiladi. Suv bilan ekstraksiya qilinib, sentrifugalash yana 4-5 marta takrorlanadi. Bunda suvda eruvchi oqsillar toʻliq ekstraksiya qilinadi, choʻkma esa massaga nisbatan 4-5 barobar koʻp hajmdagi kaliy xloridning 1 M eritmasi bilan aralastirib sovitkichda qoldiriladi.

Oʻsimlik toʻqimalarini suv bilan ekstraksiya qilinganda eritmaga faqat oqsillar emas, balki boshqa suvda eriydigan birikmalar, shu jumladan erkin aminokislotalar, shakarlar va mineral tuzlar ham oʻtadi. Shuning uchun olingan ekstraktni kuchsiz tuzli eritma deb hisoblasa ham boʻladi. Bunday eritmaga faqat suvda eruvchi oqsillar (albuminlar) emas, balki qisman boʻlsada, tuzli eritmalardagi oqsillar (globulinlar) ham oʻtadi. Albuminlar va globulinlarni bir-biridan ajratish uchun ekstrakt distillangan suvda dializ qilinadi. Dializ vaqtida kichik molekulali moddalar, shu jumladan mineral tuzlar ham sellofan xaltacha ichidan suvga chiqadi. Xaltachada esa faqat oqsillar qoladi. Dializ oxirida sellofan xaltachada tuzlar qolmaganligi sababli tuzli eritmalarda eriydigan oqsillar darhol choʻkmaga tushadi, eritmada esa albuminlar qoladi. Albuminlarni tuzli eritmalarda eriydigan oqsillardan ajratish uchun sellofan xaltachadagi eritma va choʻkma sentrifuga probirkalariga oʻtkaziladi. Xaltacha 2-3 marta distillangan suv bilan yuviladi va u ham sentrifuga probirkasiga quyiladi. Soʻngra 5-10 minut davomida minutiga 3-4 ming tezlik bilan sentrifugalanadi. Eritma 250 ml li oʻlchov kolbaga quyiladi. Choʻkma esa disitillangan suv bilan 2-3 marta yuvilib sentrifugalanadi. Barcha eritmalar oʻlchov kolbaga quyiladi va distillangan suv yordamida chiziqgacha toʻldiriladi. Tarkibida albumin boʻlgan bu eritma sovitkichda saqlanadi.

Sentrifuga probirkalarida qolgan choʻkma 10-15 ml 1M kaliy xlorid eritmasi bilan eritiladi va 250 ml li kolbaga quyiladi. Probirkalar 2-3 marta kaliy xlorid eritmasi bilan yuviladi va ular ham kolbaga quyiladi. Kolbadagi suyuqlik kaliy xlorid eritmasi yordamida chiziqgacha toʻldiriladi. Tarkibida osonlik bilan eruvchi globulinlar boʻlgan bu eritma sovitgichda saqlanadi.

Tuzda eruvchi oqsillarni ekstraksiya qilish. Kaliy xloridning 1

M eritmasi bilan qoldirilgan o'simlik massasi, mexanik tebratkich yordamida 1 soat davomida aralashiriladi. So'ngra sentrifugalanib eritma ajratib olinadi. Cho'kma esa yana 3-4 marta kaliy xloridning 1 M li eritmasi bilan ekstraksiya qilinib, sentrifugalanadi. Eritmalar esa hammasi dastlabki eritmaga qo'shiladi va o'lchov kolba chizig'igacha kaliy xlorid eritmasi bilan to'ldiriladi. Bu eritma globulinlardan iboratdir.

Globulinlar ajratib olingandan keyin qolgan cho'kma etil spirtining 80 % li eritmasi bilan ekstraksiya qilinadi. Bundan spirtida eruvchi oqsillar prolaminlar ajraladi, ekstraksiya 1 soat davom etadi, so'ngra sentrifugalanib, oqsil eritmaları o'lchov kolbaga quyiladi.

Cho'kma esa yana 3-4 marta spirt eritmasi bilan ekstraksiya qilinadi va barcha eritmalar kolbaga quyiladi. Kolba chizig'igacha spirt eritmasi bilan to'ldiriladi. Spirtli eritmalar sovitkichda saqlanmaydi. Ularni xona haroratida saqlash mumkin va iloji boricha oqsil miqdori tezroq aniqlanishi kerak.

Ishqorda eruvchi oqsillarni ekstraksiya qilish. Buning uchun sentrifuga probirkasida qolgan cho'kma 0,2 M borat buferda (pH-10) tayyorlangan bisulfit natriyning 0,2% li eritmasida eritiladi. Ayrim oqsil fraksiyalarini ajratib olish ko'p jihatdan o'simlik materialini erituvchida turish vaqtiga bog'liq.

Hamma oqsil fraksiyalarini ajratib bo'lgandan so'ng qolgan o'simlik materialini suv bilan yuviladi va filtrlanadi, so'ngra qoldiq 50-60°C qizdirilib quritiladi. Uning tarkibidagi umumiy azot Keldal metodida aniqlanadi.

Shunday qilib, o'simlik materialidan 6 xil oqsil fraksiyalari albuminlar, osonlik bilan eriydigan globulin va kaliy xlorid yordamida ajratiladigan globulinlar; prolaminlar, glyutelinlar va erimaydigan azot ajratib olinadi. Oqsil miqdorini aniqlash uchun har bir kolbadan (oxirgi fraksiyalardan tashqari) 20-50 ml eritma olinib Keldal kolbasida quyidagilardan oqsillar aniqlanadi.

Qondagi qoldiq azot miqdorini aniqlash

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; 25 ml li Keldal kolbasi; fotokolorimetr yoki spektrofotometr; filtr qog'oz bilan voronka; 0,2

ml mikropipetka; 1, 2, 5 ml li pipetkalar; 25, 50, 100 ml li kolbalar, qaychi.

Reaktivlar. 1. Qon (qonning sitratli yoki oksalatli aralashmasi). 2. 86 % li etil spirti. 3. Uchxloruksus kislotasining 20 % li eritmasi. 4. Konsentrlangan sulfat kislotasi. 5. Pergidrol. 6. Ammoniy sulfatning standart eritmasi: 0,2357 g tuz 1 L suvda eritiladi, 1 ml bunday eritmada 0,05 mg azot bor. 7. Nessler reaktivi: birinchi stakanga 15 g simobning yodli tuzidan solinadi, ikkinchi stakanga quyiladi, shisha tayoqcha bilan to simobning yodli tuzi eriguncha aralastiriladi.

Ishning borishi. Probirkaga 1,8 ml distillangan suv va 0,2 ml qon solinadi, soʻngra 2 ml 20 % li trixlorosirka kislotasidan quyib shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralastirgach, 5 minut tindiriladi. Suyuqlik jigar rangga kiradi. Probirkalardagi suyuqlik filtr qogʻoz bilan filtrlanadi. 2 ml filtratdan olib (yaʼni 0,1 ml qonga toʻgʻri keladi) Keldal kolbasiga solinadi va 2 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi qoʻshilgach toʻq tutun hosil boʻlguncha qizdiriladi. Soʻngra kolbani qizdirishdan toʻxtab, sovugach 2 tomchi pergidrol qoʻshiladi va kolbadagi suyuqlik rangsizlanguncha qizdiriladi. Keyin esa kolbadagi suyuqlik sovutiladi va 2-3 ml suv qoʻshib suyultiriladi, hajmini oʻlchab kolbaga solinadi (kolbaning devorlari ham maʼlum hajmdagi suv bilan yuviladi). 25 ml li kolba hajmining 2/3 qismiga suv qoʻshiladi, 3 ml nessler reaktividan solib, soʻngra kolbadagi belgigacha suv qoʻshiladi.

Boshqa kolbaga 1 ml ammoniy sulfatning standart eritmasi va 1 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi solinadi hamda kolba hajmining 2/3 qismigacha suv qoʻshiladi. Soʻngra 3 ml nessler reaktividan qoʻshiladi va kolbadagi belgigacha suv quyiladi. Kolbalardagi suyuqlik chayqatilgach, spektrofotometrda oʻlchanadi va quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$X = \frac{0,05 \cdot h_1 \cdot 100}{h}$$

Bu erda: X-azot qoldigʻi, mg %; 0,05-1 ml ammoniy sulfatning standart eritmasidagi azotning miqdori; h-standart suyuqlikning optik zichligi ekstinksiyasi; h_1 -tekshirilayotgan suyuqlikning optik zichligi ekstinksiyasi; 100-azotni mg % da hisoblash uchun umumiy koʻpaytiruvchi.

Aminoguruhlardagi azotni formaldegid bilan titrlab aniqlash

Polipeptidlar, oqsillar va aminokislotalardagi erkin aminoguruhlarining azoti amin azoti deb ataladi. Oqsil molekularining strukturasi va tarkibini, shuningdek, ularning gidrolizlanish natijasida hosil bo'lgan mahsulotlarini o'rganishda, aminoguruh azotlarining miqdori katta ahamiyatga ega. Amin azotlarining miqdoriga qarab proteolitik ferment (katepsin)larning aktivligini va oqsillarning gidrolizlanish tezligini o'rganish mumkin. Biologik materiallarda aminoguruhlarini aniqlash organizmda aminokislotalar va oqsillar almashinuviga qo'shimcha xarakteristika beradi.

Oqsillar fermentlar yoki kislotalar ta'sirida parchalanganda aminokislotalar hosil bo'ladi, aminokislotalar tarkibida erkin holda aminoguruhlar va karboqsil guruhlarini saqlaydi. Aminoguruhlarining miqdorini aniqlash uchun, formaldegid bilan aminokislotalardagi erkin aminoguruhlar metilinli hosilasini paydo qilib bog'lanadi, shundan keyin karboksil guruhlar ishqor eritmasi bilan titrlanadi:

Ishqor bilan neytrallangan karboqsil guruhlarining miqdoriga qarab, eritmadagi aminokislotalarda qancha miqdorda erkin holda aminoguruhlar borligi hisoblanadi. Ko'pchilik aminokislotalarning molekulasi ekvivalent miqdorda amino va karboqsil guruhlarini saqlaydi.

Kerakli asboblari: 50 ml li kolbalar; 5, 10, 20 ml li pipetkalar; 10 ml li byuretka.

Reaktivlar. 1. Glitsinining 0,25 % li eritmasi. 2. Fenolftaleinning 0,1 % li eritmasi. 3. Natriy ishqorining 0,1 N eritmasi. 4. Formol aralashmasi, bu reaktiv analiz qilishdan oldin tayyorlanadi, 6 ml 20 % li formaldegidning eritmasiga 1-2 tomchi fenolftalein solinadi va 0,1 N natriy ishqorini eritmasidan byuretka orqali tomchilab, aralashma pushti rang hosil qilguncha qo'shiladi.

Ishning borishi. Kolbaga 3 ml 25 % li glitsin eritmasi solib, 1-2 tomchi fenolftalein qo'shiladi va 0,1 % li natriy ishqori eritmasi bilan byuretka orqali to pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi. So'ngra neytrallangan glitsin eritmasiga pipetka bilan 2 ml formol aralashmadan qo'shiladi (eritmaning pushti rangi yo'qoladi). 0,1

N natriy ishqorining eritmasi bilan pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi. Titrlash uchun sarf bo'lgan 0,1 N natriy ishqori eritmasishg miqdori belgilab olinadi.

Hisoblash. Misol uchun 3 ml 0,25 % li neytrallangan glitsinii titrlash uchun 0,1 N ishqor eritmasidan 0,88 ml sarf bo'lgan, vaholanki, 1 ml 0,1 N ishqor eritmasiga 1,4 mg azot to'g'ri keladi. Shuning uchun titrlash uchun sarf bo'lgan 0,1 i ishqor eritmasi miqdorini 1,4 ga ko'paytirib, 3 ml 0,25 % li glitsin eritmasiga qancha miqdor amin azoti borligi topiladi.

$$0,88 \cdot 1,4 = 1,232 \text{ mg yoki } 0,001232 \text{ g.}$$

Demak, 3 ml 0,25 % li glitsin eritmasida yoki 0,0075 g aminokislotada shuncha azot bor. Agar 0,0075 g glitsin tarkibida 0,001232 g bor bo'lsa, unda 100 g glitsinda X g azot bor.

$$\text{Bundan } 0,0075 \text{ g} - 0,001232 \text{ g}$$

$$100 \text{ g} - X$$

$$X = \frac{100 \cdot 0,001232}{0,0075} = 16,4 \text{ g azot}$$

Demak, glitsin tarkibida 16,4 % amin azoti bor.

Shunga o'xshagan tekshirishlarni gidrolizlangan oqsillar bilan ham olib borish mumkin. Buning uchun kolbaga 3 ml 0,25 % li gidrolizatdan solib, yuqorida glitsin uchun yozilgan variantda ish olib boriladi

Oqsil miqdorini Biuret metodi bo'yicha aniqlash

Oqsillar ishqoriy sharoitda mis atomlari bilan reaksiyaga kirishib ko'k-binafsha rang hosil qiladi. Bu rangning intensivligi eritmadagi oqsil miqdoriga qarab o'zgaradi. Biuret usuli Keldal usuliga nisbatan tez va osonlik bilan bajariladi. Bu usul faqat oqsil miqdori yuqori bo'lgan materiallarni tekshirishda qo'llaniladi.

Kerakli asboblari: shtativ; probirkalar; 1, 2, 5, 10 ml li pipetkalar; spektrofotometr.

Reaktivlar. 1. Albumin oqsilining standart eritmasi, bu eritmaning 1 ml da 10 mg albumin oqsili bor. 2. Biuret reaktivi, 0,15 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ va 0,6 g $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (natriy tartarat-kaliy yoki segnet tuzi) tuzidan olib, 50 ml suvda eritiladi. Shu eritmaga 30 ml 10 % li natriy ishqori eritmasidan solib aralastiriladi va eritmada qaytar reaksiyasi ketmasligi uchun 0,1 g KJ ning tuzidan qo'shib, eritma hajmi suv qo'shib 100 ml ga etkaziladi.

Ishning borishi. Kalibrlangan grafik tuzish uchun albumin oqsilining standart eritmasidan foydalaniladi, bu eritmaning 1 ml 10 mg albumin oqsilini saqlaydi. Namunalar quyidagicha tayyorlanadi.

Probirkalar raqami	Oqsil miqdori, mg	Oqsil eritmasining hajmi, ml	H ₂ O, ml
1	2	0,2	1,8
2	4	0,4	1,6
3	6	0,6	1,4
4	8	0,8	1,2
5	10	1,0	1,0
6	12	1,2	0,8
7	16	1,6	0,4
8	20	2,0	-
9	0	-	2,0

Hamma probirkalarga 8 ml dan biuret reaktividan qo'shiladi va xona haroratida qoldiriladi. O'lchashni to'qqizinchi probirkadagi suvga solishtirgan holda olib boriladi, bu probirka oqsildan boshqa hamma komponentlarni saqlaydi. 30 minutdan keyin spektrofotometrda 540 nm to'liq uzunligida o'lchanadi. Olingan natijalar kalibrlangan grafik tuzishda ishlatiladi. Grafik tuzish uchun ordinata

o'qiga optik zichlik kattaligi, absissa o'qiga-shu optik zichlikka mos oqsil miqdori quyiladi.

Tekshirilayotgan eritmada oqsil miqdorini aniqlash uchun yuqorida ko'rsatilgan sharoitda ish olib boriladi. Buning uchun tekshirilayotgan oqsil suyultirilib, undan 2 ml olinadi, so'ngra 8 ml biuret reaktividan qo'shiladi.

Tekshirilayotgan oqsilning optik zichligiga qarab, grafikdan oqsil miqdori aniqlanadi. Oqsil miqdori mg % da hisoblanadi.

Oqsil miqdorini mikrobiuret metodi bilan aniqlash

Reaktivlar. 1. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -2,1% li eritmasi. 2. KOH-30% li eritmasi. 3. A eritma. 4. Bu eritmani tayyorlash uchun $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -2,1% li eritmasidan 1 qism, 9 qism KOH-30% li eritmasidan olib aralashiriladi. Bu eritma foydalanishdan oldin tayyorlanadi.

Ishning borishi. Tekshirilayotgan ob'ektda oqsil miqdorining aniqlash uchun albumin oqsilining standart eritmasidan kalibirlangan grafik tuziladi. Grafikni tuzish uchun tarkibida 5 mkg-120 mg oqsil saqlagan namunalar tayyorlanadi. Bu namunalarga 2,5 ml dan A eritma qo'shiladi, 30 minutdan keyin spektrofotometrda 310 nm to'lqin uzunligida o'lchanadi.

Tekshirilayotgan eritmada oqsil miqdorini aniqlash uchun shu eritmadan 0,5 ml olib, unga 2,5 ml eritmadan qo'shiladi va yuqorida bayon qilingan sharoitda o'lchanadi.

Oqsil miqdorini Louri usuli bilan 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 aminokislotalarni Folin reaktivi bilan birgalikda biuret reaksiyasining peptid bog'lari hisobiga hosil qilgan ranglarga asoslangan.

Oqsil miqdorini aniqlash uchun kalibrlangan grafik tuziladi. Bu grafik tuzish uchun albuminning standart eritmalaridan foydalaniladi.

Kerakli asboblari: shtativ; probirkalar; 0,1, 1,5 va 10 ml li pipetkalar; spektrofotometr.

Reaktivlar. 1.Natriy ishqorining 0,1 N eritmasi. 2.A eritma: 2% li natriy karbonatning 0,1 N li natriy ishqoridagi eritmasi. 3.B eritma: 0,5 % li mis sulfatning 1 % li natriy tartaratdagi eritmasi. Eritmani tayyorlash uchun 10 g natriy tartarat tuzi 300 ml suvda eritiladi. Soʻngra eritmaga 5 g mis sulfat qoʻshiladi va hajmi 1 litrga etkaziladi. 4.C eritmasi: bu eritmani tayyorlash uchun 49 ml A eritmaga 1 ml B eritmadan qoʻshiladi. Bu eritma analiz qilishdan oldin tayyorlanadi. 5.Folin reaktivi yoki E eritmasi. Eritmani tayyorlash uchun 2 litrli kolbaga 100 g $\text{Na}_2\text{CO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ va 25 g $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ tuzidan olib, 700 ml suvda eritiladi. Soʻngra eritmaga 50 ml 85 % li H_3PO_4 kislota va 100 ml konsentrlangan HCl kislotadan qoʻshiladi. Keyin esa shu aralashma solingan kolbani qaytaruvchi sovitgichga ulab, 10-12 soat qaynatiladi. Qaynatib boʻlgach 150 g litiy sulfat, 50 ml suv, bir necha tomchi bromli suv qoʻshiladi. Ortiqcha bromni chiqarib yuborish uchun 15 minut sovitgichsiz qaynatiladi. Aralashma xona haroratigacha sovilib, filtrlanadi va hajmi 1 litrga etkaziladi. Folin reaktivining kislotaligi fenolftalein ishtirokida 0,1 N natriy ishqori bilan titrlanib aniqlanadi. Reaktiv qorongʻi idishga solib saqlanadi. Oqsilni aniqlashda kislotaligi 1 N boʻlgan Folin reaktivi ishlatiladi.

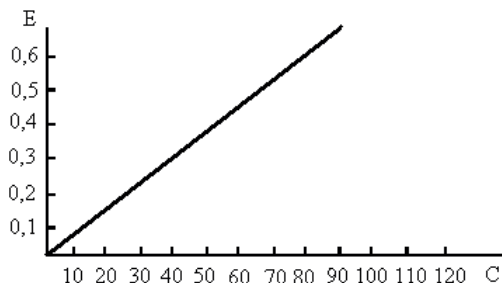
Ishning borishi. Kalibrlangan grafik tuzish uchun albuminning standart eritmasi tayyorlanadi. Buning uchun 4 mg albuminni 10 ml suvda eritiladi, bu eritmaning 0,1 ml 40 mkg oqsil miqdorini saqlaydi. Probirkalarga 10-120 mkg albumin oqsili eritmasi solinadi. Buni tayyorlash quyidagi jadvalda koʻrsatilgan.

Probirkalar raqami	Oqsil miqdori, 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	0,05	0,35
12	10	0,025	0,375
13	-	-	0,4

Har bir probirkaga 2 ml C 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 spektrofotometrda 750 nm to'liq uzunligida oqsilsiz probaga qarshi o'lchanadi. Olingan ma'lumotlardan grafik tuziladi. Buning uchun ordinat o'qiga optik zichlik kattaligi, absiss o'qiga oqsil miqdori mkg quyiladi.

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 ob'ektdagi oqsil miqdori mg da hisoblanadi.



Kalibrlangan grafik. Absissa o'qida -namunalardagi oqsillar miqdori, mkg (C); Ordinata o'qida-optik zichlik (E).

Oqsillarni gidrolizlash va ularning aminokislotali tarkibini aniqlash

Oqsillarning aminokislotali tarkibini aniqlash uchun avvalo ular 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. Buning 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. Gidroliz tamom bo'lgach, ampula sovutiladi va eritma 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 xususiyati yo'qolguncha 3-4 marta takrorlanadi. Ampulani muzxonada saqlab qo'iish ham mumkin. Kislotali gidrolizda triptofan aminokislota parchalanib ketadi.

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 gidrolizat olinadi. Odatda olingan namuna tarkibidagi oqsil miqdori 0,6 mg dan 2 mg gacha bo'ladi. Gidrolizatni xromatogrammaga tomizish va aminokislotalarni ajratish yuqoridagi bayon qilingan usul yordamida amalga oshiriladi.

Aminokislotalarni yupqa qavatli xromatografiya usulida aniqlash

Yupqa qavatli xromatografiya usulida oqsil gidrolizatlari yoki aminokislotalar aralashmasidan barcha aminokislotalarni ajratish mumkin. Yupqa qavat sifatida ko'pincha silikagel, alyuminiy oqsili, selluloza hosilalari va boshqa moddalardan, tayyor holdagi maxsus plastinka (silufol)lardan foydalaniladi.

Bu metod ikkita aralashmaydigan suyuqliklar fazasida (harakat qilmaydigan suv fazasi va harakatlanuvchi organik erituvchi fazasi) aminokislotalarning turlicha bo'linish darajasiga asoslangan. Aminokislotalar suvli fazada ko'p erisa, organik erituvchilarning frontida sekin harakatlanadi. Barcha aminokislotalarning siljish tezligi turlichadir. Siljish tezligining koeffitsienti quyidagicha hisoblanadi.

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

Bu yerda: a -aminokislota tomizilgan joyidan to shu aminokislota hosil qilgan dog'ning o'rtasigacha bo'lgan masofa, sm; β -eritmaning fronti, sm.

Aminokislotalar bo'lingandan keyin plastinka quritiladi va ningidrin eritmasidan purkaladi. a -aminokislotalar ningidrin bilan o'zaro ta'sir etib oksidlangach, ammiak, aldegid va karbonat kislotaga parchalanadi, ningidrin qaytariladi. Qaytarilgan ningidrin hamda ningidrinning boshqa molekulasi ammiak bilan reaksiyaga kirishib, ko'k-binafsha rangni beruvchi murakkab mureksid birikmasini hosil qiladi.

Kerakli asboblari: xromatografiya kamerasi; termostat; 0,1 ml li pipetka.

Reaktivlar. 1.0,1 M sitrat buferi, pH-5,3. 2.0,1 % li ningidrinning asetondagi eritmasi. Xromatografiya plastinkalaridagi rangning turg'un bo'lishi uchun ningidrinli reaktivga kadmiy qo'shiladi. Bu eritma 5:1 nisbatda tayyorlanadi:

1. 1 % li ningidrinning asetondagi eritmasidan -5 qism. 2.Kadmiy asetatining aralashmasi; bu aralashmani tayyorlash uchun 50 ml sirka kislota va 100 ml suv olib aralashtiriladi hamda bu aralashmada 1 g kadmiy asetat eritiladi. So'ng ushbu eritmada -1 qism olinadi. 3. Oqsil gidrolizati. 4. "Silufol UV-254" plastinkasi.

Ishning borishi. "UV-254" plastinkasini pastki tarafidan 2-2,5 sm o'lchab olib, oddiy qalam bilan start chizig'i chiziladi. Tekshirilayotgan oqsil gidrolizatlarini bir-biridan 1,5-2 sm oraliq masofada tomiziladi. So'ng bu oqsil gidrolizatlaridan 10-20 ml olib, tomchilab tomiziladi va dog' issiq havo bilan quritiladi-xromatografiya kamerasiga vertikal holatda quyiladi. Xromatofafiyalanish maxsus kameralarda olib boriladi, erituvchi sifatida 0,1 M sitrat buferi pH-5,3 ishlatiladi. Erituvchi kamera 1-1,5 sm qalinlikda quyiladi.

Erituvchi plastinka balandligi 4/5 qismiga ko'tarilganda, plastinka kameradan olinadi va issiq havoda quritiladi. Shundan so'ng plastinkaga ehtiyotkorlik bilan 1 % li ningidrinni asetondagi eritmasidan purkaladi. Plastinkani 105°C da termostatda 10 minut davomi-

da qizdiriladi. Natijada aminokislotalar ko'k-binafsha dog'lar holida ko'rinadi. So'ngra har bir aminokislotalarni yuqorida ko'rsatilgan formula yordamida siljish tezligi koeffitsienti (R_f) hisoblanadi.

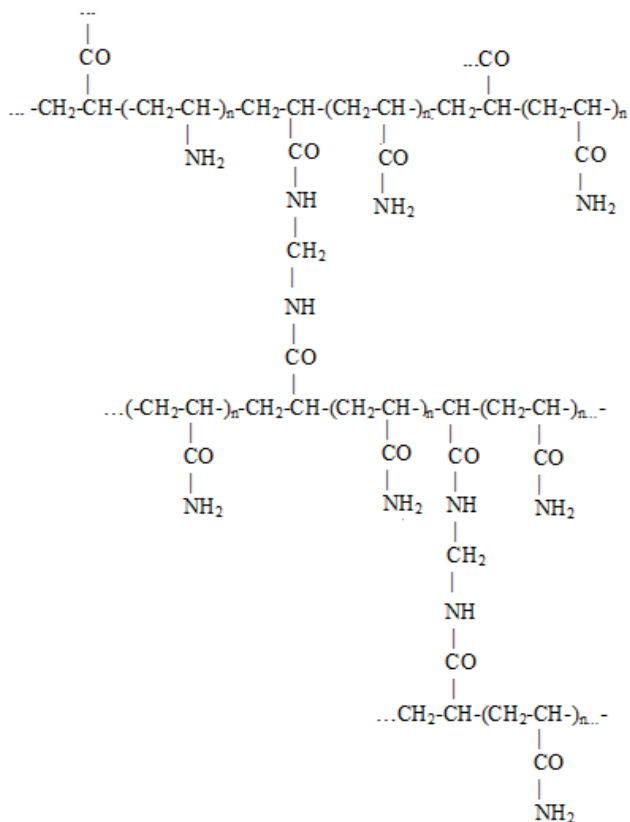
Tekshirilayotgan oqsil gilrolizati bilan birga kontrol (standart) eritmalar ham xromatografiya qilinadi. Bu tekshirilayotgan namunadagi aminokislotalarni tezda aniqlashga imkon beradi. Shuni ta'kidlab o'tish kerakki, yupqa qavatli xromatografiya usulida aminokislotalar sifat jihatdan baholanadi va ularning miqdorini aniqlashga imkon bo'lmaydi.

Oqsillar fraksiyalarini poliakrilamid gelida elektroforez usuli bilan aniqlash

Oqsillarni elektroforezi analitik maqsadlarida qo'llaniladi. Disk elektroforez usuli-oqsillarni ma'lum konsentratsiyali va ma'lum molekularining g'alvirli geldagi bo'linishidir. Disk-elektroforezni amalga oshirishda poliakrilamid geli qo'llaniladi. Poliakrilamid geli uch xil qismdan tashkil topgan:

- 1) katta g'alvirli gelning start qismi;
- 2) katta g'alvirli konsentrllovchi gel;
- 3) kichik g'alvirli bo'lavchi gel.

Poliakrilamid geli-akrilamid $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$ va N_1N metilenbisakrilamidning $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{NH}_2$ sopolimerizatsiyalanish mahsulotidir.



Gelning yopishqoqligi, mustahkamligi va elastikligi poliakrilamidni polimerizatsiyalanish va tikilish darajasiga, shuningdek tikilishda ishtirok etgan N,N¹-metilenbisakrilamidning miqdoriga bogʻliq. Gel ustuncha shaklida mahkamlangan shisha trubkalarda polimerizatsiya qilinadi. Sopolimerizatsiyalanish reaksiyasi katalizatorlari sifatida oksidlovchi-qaytariluvchi sistemalar ishlatiladi, ular erkin radikallar manbai hisoblanadi, masalan: persulfat ammoniy (NH₄)₂S₂O₃ va N,N,N,N₁-tetrametiletildiamin (TEMED): (CH₃)₂=N-CH₂-CH₂-N=(CH₃)₂.

Elektrod eritmalari, yaʼni bufer eritmalari, elektroddar bilan gelning sirgʻi qismlarida tok oʻtkazuvchi vazifasini bajaradi, bunday holatlarda buferlarning pH va tarkibi turlicha boʻladi. Elektroforez

usuli juda yuqori sezgirlikka ega. Bu usul bilan qon zardobi oqsil-larning 30 dan ortiq fraksiyalarini aniqlash mumkin.

Kerakli asboblari: Elektroforez uchun apparat organik oynadan yasalgan bo'lib, ikkita elektrodni rezervuarlardan iborat, yuqori va pastki, har birining hajmi 1,5 l. Ikkala rezervuarlarning ko'mir elektrodli bo'lib, bu elektrodga doimiy tok ulanadi. O'zgaras tok manbai sifatida UIP-1 pribori ishlatiladi.

Reaktivlar. 1. A - eritmasi: 100 ml kolbaga 48 ml 1 N HCl, 36,3 g tris va 0,46 ml TEMED solinadi, erib bo'lgandan keyin kolbaning belgisigacha suv solinadi. Eritma pH 8,9 ga teng bo'lishi kerak. 2. B-eritmasi: 100 ml kolbaga 30,0 g akrilamid va 0,8 g metilenbisakrilamid solib, 70-80 ml distillangan suvda eritiladi va filtrlanadi, so'ngra eritmaning hajmi distillangan suv qo'shib 100 ml ga etkaziladi, so'ng yaxshilab aralashtiriladi. 3. C-eritmasi: 0,14 g ammoniy persulfat 100 ml distillangan suvda eritiladi, bu eritmani ishlatishdan avval tayyorlanadi. 4. Elektrod buferi: 6,0 g tris va 28,8 g glitsin distillangan suvda eritiladi va hajmi suv qo'shib 100 ml ga etkaziladi, pH-8,3. Foydalanishdan oldin 10 marta suyultiriladi. 5. Bo'yoq-indikatorning eritmasi: bromfenol ko'kning 0,001% li distillangan suvdagi eritmasi. 6. Oqsil fraksiyalarini bo'yash uchun amido-shvars reaktivi ishlatiladi. Amidoshvars 10 B ni 1% li eritmasi 7% li sirka kislotasining eritmasida tayyorlanadi. 7. Sirka kislotasining 7% li eritmasi. 8. Qon zardobi.

Ishning borishi. Gelni tayyorlash. Toza va quruq trubkalarning bir uchini leykoplastir yopishtirib berkitiladi va rezinali halqachalar kiygiziladi, so'ngra shtativga o'rnatiladi.

Alohida kolbaga yoki stakanga 1 qism A eritmadan, 2 qism B eritmadan, 4 qism C eritmadan va 1 qism distillangan suv olib aralashtiriladi. Tayyorlangan aralashmada har bir trubkalariga pipetka bilan 2,5 ml dan solinadi. Gelning usti bir xil tekis bo'lishi va kislorod o'tishining oldini olish uchun kapillyar yordamida 0,2-0,3 ml distillangan suvni aralashma ustiga qavat qilib quyiladi. Trubkalardagi gellarni polimerizatsiyalanish uchun 30 minut xona haroratida yoki termostatda 30°C da 15-20 minut saqlanadi. Polimerizatsiyalanish tamom bo'lgandan keyin, gel bilan qavat qilib quyilgan suv filtr qog'ozdan qirqib tayyorlangan lentachalar bilan olinadi va gelning yuqori qismi elektrod buferi bilan yuviladi.

Analiz qilishga ishlatiladigan oqsil eritmasi gel tayyorlash uchun qo'llaniladigan bufer eritmasidan tayyorlanadi. Oqsil eritmasining konsentratsiyasi 1-5 mkg/ml bo'lishi kerak. Masalan: qon zardobini tekshirish uchun 3 mkl qon zardobi (oqsil miqdori taxminan 200 mkg) 0,15 ml gel tayyorlash uchun ishlatiladigan bufer eritmasi bilan aralastiriladi va zichligini oshirish uchun konsentratsiyasi 20-25 % bo'lguncha saxaroza yoki glitserin qo'shiladi, har bir trubkaga 10-100 mkl tayyorlangan oqsil eritmasidan solinadi. Shundan so'ng trubkalar oxirigacha elektrod buferi bilan to'ldiriladi.

Elektroforezni olib borish. Elektroforez xolodilnikda olib boriladi. Elektrod buferlari ishlatishdan avval harorati +4°S ga keltiriladi. Elektroforez apparati ham sovutiladi. Yuqorigi idishdagi bufer eritmasining 500 ml ga 1 ml bo'yoq-indikator, 0,001 % li bromfenol ko'k eritmasidan qo'shiladi. Apparatning qopqog'ini yopib, elektroddar o'zgarimas tok manbai bilan ulanadi, pastki elektrod anod (+), yuqori elektrod katod (-) bo'lib hizmat qiladi.

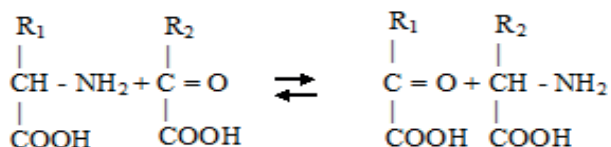
Har bir trubkaga 0,5-1,0 mA tok beriladi (20-30 minut) keyin uni har trubka uchun 2-5 mA ga etkaziladi. Oqsil fraksiyalarining bo'linishi 2-3 soat davom etadi, ya'ni bo'yoq trubkaning pastki uchiga 3 mm qolganda tok manbai o'chiriladi. Elektrod buferlari apparat idishlaridan boshqa idishlarga quyib olinadi va trubkalar burab chiqariladi. Trubkalardan gelni chiqarish uchun shprisga distillangan suv olib, igna bilan trubka devorlari hamda gel orasiga yuboriladi va asta-sekin gel chiqarib olinadi. Gellardagi oqsil zonalarini bo'yash uchun amidoshvars 10 B eritmasi probirkalarga solinadi va 10-15 minutga qoldiriladi. Shundan keyin boshqa idishga quyiladi. Gellar 7% li sirka kislotasining eritmasi bilan yuviladi. Gelning oqsilsiz qismlarini rangsizlantirish uchun ko'p marta shu eritma bilan yuvish lozim. Rangsizlantirish jarayoni 10-12 soat davom etadi. So'ngra oqsil fraksiyalari bor zonalar rangining intensivligiga va ularning joylashishiga qarab elektroforegrammalar chiziladi.

Oqsillar elektroforegrammalarining ko‘rinishi

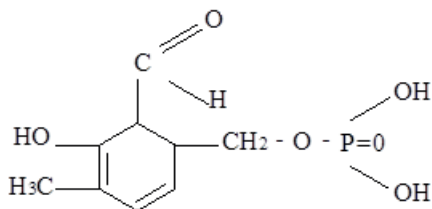


Pereaminlash reaksiyasi

Aminokislotalardan aminoguruhni erkin ammiak shaklida ajratib chiqmasdan α -ketokislota ko‘chirilishi pereaminlanish yoki transaminlanish deb ataladi. Reaksiyani umumiy shaklda quyidagicha yozish mumkin.



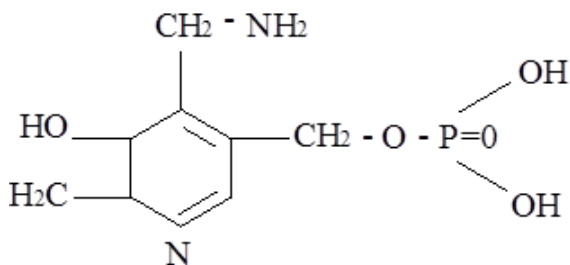
Pereaminlanish jarayoni barcha to‘qimalarda keng tarqalgan fermentlar-aminotransferazalar ishtirokida boradi. Aminotransferazalar piridoksalfosfat proteinlar bo‘lib, ularning kofermenti oraliq fosfopiridoksaldir (vitamin B₆).



Piridoksalfosfat

Pereaminlanish reaksiyasi davomida piridoksalfosfat piridoksaminfosfatga aylanadi, soʻngra aminoguruh ketokislotaga koʻchiriladi va yana piridoksalfosfatga aylanadi.

Pereaminlash reaksiyasi toʻqimalarida keng tarqalgan. Barcha aminokislotalar pereaminlanish reaksiyasida ishtirok etadi. Glutamat, asparagin, alanin bilan bu reaksiya tez oʻtadi. Glitsin, ley-sin, izoleysin, gistitsin, triptofan, fenilalanin va tirozin qiyinroq pereaminlanadi.



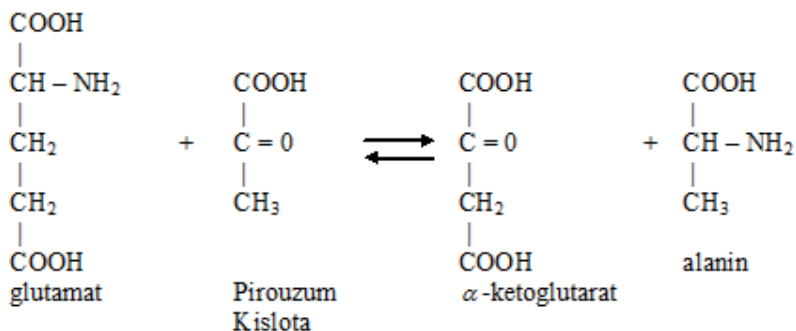
Piridoksaminfosfat

Pereaminlanish reaksiyasi azot alamashinuvida alohida ahamiyatga ega. Birinchidan, bu reaksiya natijasida α - ketokislotalardan yangi aminokislotalar sintezlanadi. Ikkinchidan, pereaminlanish reaksiyasi aminokislotalar parchalanishidagi usullardan hisoblanadi.

Ferment preparatini tayyorlash +4°C da olib boriladi. Ferment preparatini olish uchun birorta hayvon soʻyilib, skelet muskuli kesib olinadi va qaychi bilan maydalanadi. Hosil boʻlgan toʻqima boʻtqasini gomogenizator stakaniga solib, 1:5 nisbatda 0,1 % li KHCO₃ eritmasidan qoʻshib 2 minut davomida gomogenizator bilan maydalanadi. Gomogenat toʻrt qavat doka orqali filtrlanadi va u tajriba uchun ishlatiladi. Tajribani olib borish uchun probirkalarga quyidagi sxema reaksiyasi aralashmalari tayyorlanadi:

Probirkalarning raqami	CH ₂ JCOOH ni KHCO ₃ dagi eritmasi, ml	Glyutamin kislota, ml	Pirouzum kislota, ml	H ₂ O, ml	Gomogenat, ml
1	0,5	0,5	0,5	-	1,5
2	0,5	0,5	0,5	-	1,5
3	0,5	-	0,5	0,5	1,5

Pereaminlanish barcha aminokislotalarning aminoguruhini -ketoglutarat kislotaga ko'chirish orqali ularning dezaminlanishini ta'minlaydi. Hosil bo'lgan glutamat kislota glutamatdehidrogenaza ta'sirida aminoguruhini yo'qotadi, NH₃ ni ajratadi. Bu reaksiya qaytar bo'lib, qaytadan α - ketoglutarat kislotaga aylanadi. Muskuldagi ferment ishtirokida, glutamat va pirouzum kislota misolida pereaminlanish jarayoni bilan tanishish mumkin.



Pereaminlanish reaksiyasini qanday borganligini bilish uchun pirouzum kislotasining pereaminlanish jarayoni to'xtatiladi. Natijada qolgan pirouzum kislotasi salitsil aldegid bilan to'q sariq rangni hosil qiladi. Pereaminlanish reaksiyasini to'xtatish uchun monoiod sirka kislotasi ishtirokida inkubatsiya qilinadi.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; suv hammomi; qaychi; gomogenizator; 1,2 ml li pipetkalar.

Reaktivlar. 1. Kaliy bikarbonatning (KHCO₃) 0,1% va 2% li eritmalari. 2. Glyutamin kislota eritmasi 6 mg glyutamin kislota 1 ml 2% li KHCO₃ eritmasida eritiladi. 3. Pirouzum kislota eritmasi,

4,6 mg pirouzum kislotasi 1 ml distillangan suvda eritiladi. 4. Monoyod sirka kislotasining kaliy bikarbonatdagi eritmasi, 0,002M CH_2JCOOH eritmasi 0,1% li KHCO_3 eritmasida tayyorlanadi. 5. Kaliy ishqorining to‘yingan eritmasi. 6. Salitsil aldegidaning spirtidagi 2% li eritmasi. 7. Uchxlorsirka kislotasshshng 10% li eritmasi.

Ishning borishi. Bu ishda ferment manbai sifatida muskul to‘qimasining gomogenati ishlatiladi. Gomogenat filtrati yuqorida bayon qilinganidek tayyorlanadi. Birinchi probirkaga 1 ml uchxlorsirka kislotasi eritmasidan solinadi, sungra to‘qima gomogenati filtratidan qo‘shiladi. Bu kislotaga ta‘sirida fermentativ reaksiya bo‘lmaydi. Ikkinchi va uchinchi probirkalarga to‘qima gomogenatidan qo‘shib, aralastiriladi va 37-38°C da inkubatsiya qilinadi. Inkubatsiya 90 minut davom etadi, har 5-10 minutda chayqatib turiladi.

Inkubatsiyadan keyin probirkalarga 1 ml dan uchxlorsirka kislotaga eritmasidan qo‘shib, fermentativ reaksiya to‘xtatiladi va 10 minutdan keyin hamma probirkalardagi aralashma filtrlanadi. Filtrat salitsil aldegid bilan pirouzum kislotasini aniqlashga ishlatiladi. Buning uchun uchta probirka olib, 1-raqamli probirkaga avvalgi birinchi probirkadagi filtratdan 1 ml, raqamli probirkaga ikkinchi probirkadagi filtratdan, 3-raqamli probirkaga uchinchi probirkadagi filtratdan solinadi. So‘ngra hamma probirkalarga 1 ml dan KOH ning to‘yingan eritmasidan va 0,5 ml 2 % li salitsil aldegidaning eritmasidan solinadi. Probirkalardagi suyuqliklar chayqatib aralastiriladi. Shundan keyin probirkalarni 10 minut 37-38°C li suv hammomida inkubatsiya qilinadi. Hamma probirkalardagi hosil bo‘lgan ranglar solishtiriladi va bu erdagi ranglarga qarab pereaminlanish jarayoni qanday borganligini bilish mumkin. Olingan natijalardan xulosa yoziladi.

IV BOB. LIPIDLAR

Lipidlar ikkita katta sinfga bo'linadi: yog'lar (neytral yog'lar) va lipidlar (yog'simon moddalar).

Lipidlar bir qator organik erituvchilarda, masalan-etanol, efir, xloroform, benzol yoki petroley efrida yaxshi eriydi, suvda esa erimaydi. Lipidlar kimyoviy tabiatiga ko'ra bir necha guruhlarga bo'linadi:

I. Yog' kislotalari.

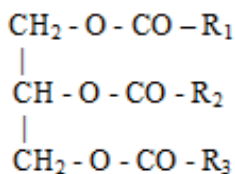
II. Glitserinli lipidlar: a) neytral yog'lar; b) fosfoglitsferidlar.

III. Glitserinsiz lipidlar: a) sfingolipidlar; b) alifatik spirtlar va mumlar; v) steroidlar.

IV. Boshqa sinf moddalari bilan bog'langan lipidlar: a) lipo-proteinlar; b) proteolipidlar; v) fosfotidpeptidlar; d) lipopolisaxaridlar.

Lipidlar to'qima va hujayralarda muhim funksiyalarni bajaradi. Yog'lar organizmda oksidlanganda energiya ajralib chiqadi (1 g yog' oksidlanganda 9,3 kkal). Lipidlar biologik membranalarning struktura elementi hisoblanadi. Organizmda lipidlar oqsillar bilan kompleks birikmalar -lipoproteinlar hosil qiladi.

Sterinlar qator biologik aktiv moddalar - vitaminlar, gormonlar, o't kislotalarining hosil bo'lishida ishtirok etadi. Yog'lar - uch atomli spirt glitserin va yuqori yog' kislotalarining murakkab efridar. Yog'lar quyidagi umumiy tuzilishga ega:



Bunda: R_1 , R_2 , R_3 - yog' kislotalarining radikallari.

Tabiiy yog'lar tarkibiga to'yingan va to'yinmagan yog' kislotalarining qoldiqlari kiradi (palmitin, sterin, olein, linolen va boshqalar). Tarkibida birdan ortiq qo'sh bog' bo'lgan to'yinmagan yog' kislotalar ko'pincha o'simlik moylarida, oz miqdorda hayvonlar yog'ida ham uchraydi. Yog'lar tarkibidagi to'yinmagan yog' kislotalari - linolenat, araxidonat - hujayradagi oksidlanish - qaytarilish jarayonlarining

borishi uchun va shuningdek, prostaglandinlarning biosintezi uchun muhim rol o'ynaydi.

Yog'larning erishi va emulsiya hosil qilishi

1) 5 ta probirkaga 10 tomchidan o'simlik moyi tomiziladi. Birinchi probirkaga 2 ml benzol, ikkinchi probirkaga 2 ml aseton, uchinchi probirkaga 2 ml benzin, to'rtinchi probirkaga 2 ml etil spirti va beshinchi probirkaga 2 ml suv quyiladi. Moylarni turli xil erituvchilarda erish darajasi aniqlanadi. 2) 4 ta probirka olib, birinchi probirkaga 1 ml suv, ikkinchi probirkaga 1 ml 1 % li oqsil eritmasidan, uchinchi probirkaga 1ml suyultirilgan sovun, to'rtinchi probirkaga 1ml natriy karbonatning 10 % li eritmasidan solinadi. Har bir probirkaga 5 tomchidan o'simlik moyidan qo'shiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Birinchi probirkadan boshqa hamma probirkalarda turg'un emulsiya hosil bo'ladi.

Reaktivlar: tozalangan o'simlik moyi, benzol, benzin, sirka kislota, etil spirti, oqsil eritmasining 1 % li eritmasi, suyultirilgan sovun, natriy karbonatning 10 % li eritmasi.

Yog'larni aniqlashda qo'llaniladigan sifat reaksiyalari

Yog'larni sifat analiz qilishda bir qator reaksiyalardan foydalaniladi. Bularga osmiy yordamidagi rangli reaksiya, moy dog'ini hosil qilish, sovunlanish reaksiyasi va galloidlar reaksiyasini misol qilib ko'rsatish mumkin.

Rangli reaksiya. Mikroskop oynasi ustiga 1 tomchi moy tomiziladi, uning ustiga osmiy kislotasining 1 % li eritmasidan 1 tomchi qo'shiladi. Moy qora rang beradi.

Moy dog'i. Kungaboqarning mag'zini olib qog'ozda ezilsa, moy dog'i hosil bo'ladi. Qog'oz qizdirilganda ham dog' yo'qolmaydi. Bu haqiqatda ham moy borligidan darak beradi.

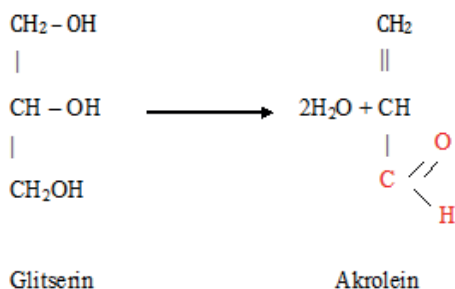
Galloidlar. Bu reaksiya ayniqsa to'ini mangan moy kislotalari ko'p bo'lgan moylarga xarakterlidir. Probirkaga 1-2 tomchi moy va 1-2 ml efir solinadi. Uning ustiga 1-2 tomchi bromli suv qo'shiladi va yax-

shilab aralastiriladi. Bromli suvning sariq rangining tez yo‘qolishi to‘yinmagan yog‘ kislotalari borligini ko‘rsatadi.

Reaktivlar: tozalangan paxta moyi, osmiy kislotasining 1% li eritmasi, efir, bromli suv.

Yog‘ tarkibidagi glitserinni aniqlash (akrolein reaksiyasi)

Akrolein moy tarkibidagi glitserindan hosil bo‘ladi. Bu suvsizlantiruvchi moddalar (kaliy gidrosulfit, borat kislota, magniy sulfat) yordamida amalga oshiriladi. Akrolein etilein qatorida eng oddiy aldegidir.



Akrolein reaksiyasi moy tarkibidagi glitserinni ochish uchun qo‘llaniladi.

Ish tartibi. Probirkaga 2-3 tomchi tozalangan paxta moyidan solinadi, uning ustiga 0,3 - 0,5 gramm kaliy gidrosulfat yoki boshqa suvsizlantiruvchi moddadan qo‘shiladi va qizdiriladi, quyuq oq tutun hosil bo‘ladi. Qo‘lansa hid (ehtiyotkorlik bilan xidlang) hosil bo‘lishi akrolein hosil bo‘lganligini bildiradi.

Reaktivlar: Paxta moyi, kaliy gidrosulfat tuzi.

Yog‘larning sifat ko‘rsatkichlarini aniqlash

Moylarning sifatini va olingan manbai ularning kimyoviy ko‘rsatkichlarini tekshirish yo‘li bilan aniqlanadi. O‘simlik moylarining

sifati urug'ning pishgan-pishmaganligiga va uni saqlash muddatiga bog'liq bo'ladi. Bu o'z navbatida ularning fizik, kimyoviy ko'rsatkichlarining o'zgarishiga olib keladi. Masalan moy uzoq vaqt saqlanganda parchalanib erkin moy kislotalar miqdorining ortishiga olib keladi. Kislotali sonning ortishi, moy sifatining ortishi moy sifatining pasayishidan darak beradi. To'yinmagan moy kislotalardagi qo'sh bog'larni osonlik bilan reaksiyaga kirib oksidlanishi tufayli ham moylarning sifati buziladi. Hozirgi paytda moy sifatini aniqlashda qo'llaniladigan bir qator usullar ishlab chiqilgan bo'lib, ulardan kislotali, yodli sonni aniqlash muhim ahamiyatga ega.

Yog'larning kislotali soni

1 gramm yog' tarkibidagi erkin yog' kislotalarni neytrallash uchun sarflangan kaliy gidroksidning milligramm miqdori bilan ifodalangan son moylarining kislotali soni deb ataladi. Bu son yog'larning sifatini belgilovchi muhim ko'rsatkichlardan biri hisoblanadi.

Ish tartibi. 2 ta kolba olib, birinчисiga 3- 5 g paxta moyi va 15-20 ml spirt-efir aralashmasi, ikkinچiga esa faqat 15-20 ml spirt-efir aralashmasi solinadi. Kolbalar yaxshilab chayqatilib, 2-3 tomchi fenolftalein tomiziladi. So'ngra kaliy gidroksidning spirtli eritmasi yordamida 0,5-1 minut davomida o'zgarmaydigan och pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi.

Kislotali son quyidagi formula bo'yicha aniqlanadi.

$$X = \frac{T(a-b)}{H}$$

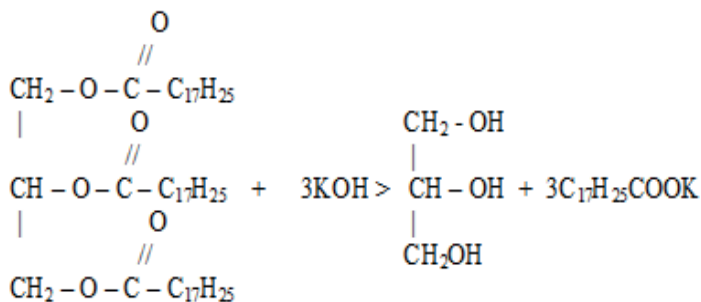
b-kontrol uchun sarflangan kaliy ishqoriy; T-tuzatma, a-tajriba uchun sarflangan ishqor miqdori; H - olingan moy miqdori.

Reaktivlar: tozalangan paxta moyi, etil spirtining 96% li eritmasi. Kaliy gidroksidining 0,1 N eritmasi. Fenolftaleinni 0,1% li spirtidagi eritmasi.

Yogʻlarning sovunlanish soni

Bir gramm yogʻ tarkibidagi erkin va bogʻlangan yogʻ kislotalarini neytrallash uchun sarflangan kaliy ishqori miqdori moylarning sovunlanish soni deb ataladi.

Yogʻlar kimyoviy jihatdan birmuncha turgʻun birikmalardir, lekin ishqor taʼsirida gidroliz qilinganda efir bogʻlari oson uzilib, natijada yogʻ kislotalar va glitserin hosil boʻladi.



Yogʻlar va moylarda sovunlanish soni quyidagicha boʻlishi mumkin: mol yogʻi-190-200, qoʻy moyi - 192-198, choʻchqa moyi -193-200, kanop moyi -187-195.

Oʻsimlik moylarining sovunlanish soni oʻsimlik turi, tashqi faktorlar taʼsirida oʻzgarishi mumkin. Masalan, tropik oʻsimliklardan kokos, palma va boshqa oʻsimliklar moyining sovunlanish soni ancha yuqori boʻladi.

Kerakli asboblari: 50 ml li kolba; havo sovutgichli probka; byuretka; 2, 1,5 ml li pipetkalar; suv hammomi.

Reaktivlar. 1.Oʻsimlik moyi va hayvon yogʻi. 2. 0,5 N kaliy gidroksidining spirtidagi eritmasi. 3. Xlorid kislotasining 0,5 N eritmasi. 4.Fenolftaleinning 0,1 N li spirtidagi eritmasi.

Ishning borishi. Birinchi kolbaga (tajriba namunasi) 0,5 g oʻsimlik moyi yoki hayvon yogʻi, ikkinchi kolbaga (kontrol namunasi) -0,5 ml distillangan suv va har bir kolbaga byuretka orqali 15 ml 0,5 N kaliy gidroksidini eritmasidan solinadi. Kolbani havo sovutgichli tiqin bilan berkitiladi va 30-40 minut qaynab turgan suv hammomiga qoʻyiladi. Soʻngra kolbalarga 4 tomchidan fenolfatein qoʻshiladi va

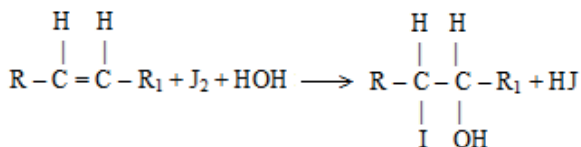
to pushti rang yo‘qolguncha 0,5 N xlorid kislotasining eritmasi bilan titrlanadi. Sovunlanish soni quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$X = \frac{(b-a) \cdot K \cdot 28,05}{C}$$

Bunda X-sovunlanish soni; b-kontrol namunani titrlash uchun sarf bo‘lgan 0,5 N xlorid kislotasi eritmasining hajmi, ml; a - tajriba namunasi titrlash uchun sarf bo‘lgan 0,5 N xlorid kislotasi eritmasining hajmi, ml; 28,05 - kaliy gidroksidining mg dagi miqdori bo‘lib, bu 1 ml 0,5 N xlorid kislotasining eritmasiga to‘g‘ri keladi; K - 0,5 N xlorid kislotasi eritmasining titrini to‘g‘rilash koeffitsienti; C - yog‘ning og‘irligi, g.

Yog‘larning yodli sonini aniqlash

100 g yog‘ni biriktirib olgan yodning gramm miqdori bilan ifodalanadigan son yog‘larning yodli soni deb ataladi. Bu son yog‘lar tarkibiga kiradigan moy kislotalarning to‘yinmaslik darajasini ifodalaydi. Yodni biriktirib olish reaksiyasi quyidagicha boradi:



Reaksiyaga kirishmay ortib qolgan yod natriy giposulfit bilan titrlanadi.

Yodli son qancha katta bo‘lsa, yog‘ shuncha suyuq 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‘sh bog‘ o‘rniga birika oladi.

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

Reaktivlar. 1. O‘simlik moyi. 2. 96 % li etil spirti. 3. 0,1 N yodning spirdagi eritmasi (tayyorlanishi: 12,691 g yod 1 l 96 % li etil spirtida eritiladi). 4. 0,1 N natriy giposulfitning eritmasi. 5. Kraxmalning 1 % li eritmasi.

Ish tartibi. Birinchi kolbaga (tajriba namunasi) 0,1-0,2 g o‘simlik moyidan o‘lchab olib, ikkinchi kolbaga (kontrol namunasi)- 0,1-0,2 ml suv solinadi va har ikkala kolbaga 5 ml dan spirt qo‘shiladi. Moy erigandan 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 bilan och sariq rang hosil bo‘lguncha titrlanadi, keyin 1 ml 1% kraxmal eritmasidan qo‘shib ko‘k rang yo‘q bo‘lguncha titrlanadi.

Yodli son (x,g) quyidagi formula yordamida aniqlanadi.

$$X = \frac{(b-a) \cdot K \cdot 0,01269 \cdot 100}{C}$$

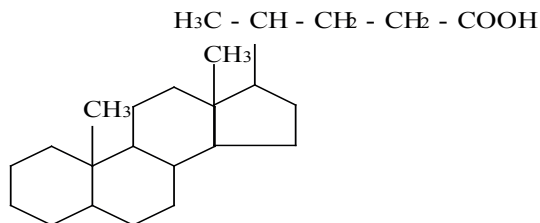
Bunda: *b*-kontrol namunani titrlash uchun sarf bo‘lgan 0,1 N natriy giposulfit eritmasining hajmi, ml; *a*-tajriba namunasi titrlash uchun sarf bo‘lgan natriy giposulfit eritmasining hajmi, ml; *K* - 0,1 N natriy giposulfit eritmasining titrini to‘g‘rilash koeffitsienti; 0,01269-yodning grammdagi miqdori, bu miqdor 1 ml 0,1 N giposulfit eritmasiga ekvivalentdir; 100-100 gramm yog‘ uchun hisoblash koeffitsienti; *C*-olingan yog‘ning og‘irligi, g.

O‘t kislotalarining sifat reaksiyasi

O‘t kislotalari steroid tuzilishga ega bo‘lib, to‘la to‘yingan steril halqasi va 5 ugleroddi yon shoxchadan tuzilgan. O‘t kislotalarining tuzilishi xolesteringa o‘xshash bo‘lib, xolanat kislotasining hosilalaridir.

Safro tarkibida asosan holat kislota, dezoksixolat kislota, mitoxolat kislota, xenodezoksixolanat kislotalari uchraydi. Bu o‘t kislotalar erkin holda bo‘lmay, glitsin yoki taurin bilan birikib, o‘sha kislotalar shaklida safro tarkibiga kiradi. Ularning eng muhimlari glikoxolat, glikodezoksixolat, tauroxolat va taurodezoksixolat

kislotalardir. Safro tarkibiga kiruvchi o‘t kislotalari yog‘larning hazm qilish jarayonlarida muhim funksiyalarni bajaradi. Ular emulgatorlar hisoblanadi, lipazani aktivlaydi va yog‘ kislotalarining so‘rilish jarayonida ishtirok etadi.



Xolanat kislota

O‘t kislotalarini ochishda oksimetilfurfurol qo‘llanilib, u o‘t kislotalar bilan qizil rang hosil qiladi. Oksimetilfurfurol fruktoza bilan konsentrlangan HCl yoki H_2SO_4 kislota ta‘sir etganda hosil bo‘ladi.

Kerakli asboblari: 1,2 ml li pipetkalar, probirkalari bilan shtativ.

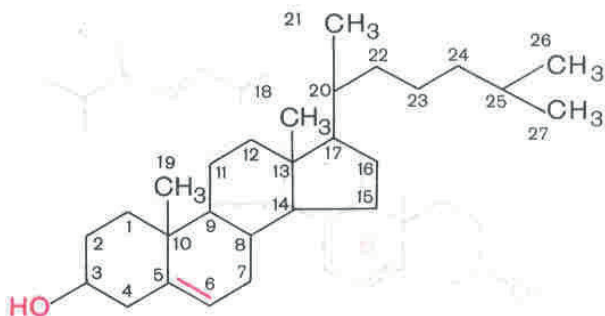
Reaktivlar. 1. O‘tning suvli eritmasi (1:2). 2.Saxarozaning 5% li eritmasi yoki fruktozaning 3 % li eritmasi. 3.Konsentrlangan sulfat kislota.

Ishning borishi. Quruq probirkaga 10 tomchi suyultirilgan safro suyug‘ligi solinadi va 1-2 tomchi saxaroza yoki fruktoza eritmasidan qo‘shib chayqaladi. Ehtayotkorlik bilan probirka devoridan teng hajmda konsentrlangan sulfat kislota quyiladi. Suyukliklar chegarasida purpur halqasi hosil bo‘ladi, keyin qizil binafsha rangni hosil qiladi.

Organ va to‘qimalarda xolesterin miqdorini aniqlash

Xolesterin - siklopentanopergidrofenantrenni hosilasi bo‘lib, tarkibida 27 uglerod atomi tutadigan ko‘p halqali to‘yimagan spirtidir. Xolesterin strukturasi dagi 3-uglerod atomida bitta gidroqsil, 5 hamda 6- uglerod atomlari orasida bitta qo‘shbog‘, 10 va 13 uglerodlarda CH_3 (metil guruhi) guruhlari, 17-uglerod atomida 8 ugleroddi

uglevodorodlar zanjiri bor. Xolesterinni empirik formulasi- $C_{23}H_{46}O$ (mol. og'irligi 386).



Xolesterin

Xolesterin-quritilgan hayvon organizmi og'irligining 0,25-0,30 % ni tashkil etadi. Xolesterin erkin yoki efirlar holdida normal sharoitda organizmda oz miqdorda uchraydi, patologik holatlarda esa xolesterinning miqdori ortadi va giperxolesterinemiya olib keladi.

Xolesterin miqdorining ortishi sariq, jigar sirrozi, nefroz va uremiya kasalliklarida uchraydi. Endokrin kasalliklarida miksedema, kretinizm va diabet, avitaminoz kasalliklarda ham xolesterinning miqdori ko'payadi.

Bazedov kasalligida, anemiyada gipoxolesterinemiya kuzatiladi. Xolesterin moddalar almashinuvini boshqarishda muhim ahamiyatga ega bo'lgan hujayra membranalarining tuzilishida ishtirok etadi.

Metodning prinsipi. Xolesterin miqdorini aniqlash Liberman-Bunxardni rangli reaksiyasiga asoslangan. Xolesterinning xloroformli eritmasi sirka angidridi va konsentrlangan sulfat kislotasi bilan yashil rang hosil qiladi, rang yshil bo'lishining intensivligi xolesterin konsentratsiyasiga proporsionaldir.

Kerakli asboblari: 25 ml li kolba; 1, 2, 5 va 10 ml li pipetkalar; silindr; suv hammomi.

Reaktivlar. 1.Etanol dietilefir aralashmasi 3:1 nisbatda. 2.Xlorofrom. 3.Sirka anhidridi va konsentrlangan sulfat kislotasi. 4.Xolesterinning standart eritmalari, bu eritmaning 1 ml da 0,1 mg xolesterin bor.

Ishning borishi. Mayda qilib qirqilgan jigar yoki buyrak to‘qimasidan 200-300 mg o‘lchab olib, hajmi 25 ml bo‘lgan qopqoqli kolbaga solinadi va 15 ml spirt efirli aralashmadan qo‘shiladi. Kolbadagi suyuqlik aralastirilgach, qaynatib olinadi. Aralashma qaynaguncha suv hammomida qoldiriladi. Aralashma sovugandan keyin kolbaga yana spirt-efirli aralashmadan kolba belgisigacha qo‘shiladi. Kolbadagi aralashma chayqatiladi, so‘ngra filtr qog‘oz orqali filtrlanadi va qaynab turgan suv hammomida quriguncha parlantiriladi.

Parlantirib bo‘lgandan keyin kolbadagi qoldiq 10 ml xlorofromda eritiladi. Rangli reaksiya qilib ko‘rish uchun probirkaga 5 ml xolesterinning xlorofromdagi eritmasidan solib, 1 ml sirka anhidrid va 4 tomchi H_2SO_4 qo‘shiladi. Yaxshilab aralastirilgan aralashma 30 minut qorong‘u joyda qoldiriladi. Hosil bo‘lgan rangning intensivligi optik zichlik kattaligiga qarab aniqlanadi. Optik zichligi spektrofotometrda 656 nm to‘lqin uzunligida o‘lchanadi. Xolesterin miqdori kalibrlangan grafikdan aniqlanadi, kalibrlangan grafikni tuzish uchun xolesterinning standart eritmasidan turli konsentratsiya olib, rangli reaksiyasi bajariladi va optik zichligi o‘lchanadi.

To‘qimadagi xolesterin (mg % da) quyidagi formula bilan hisoblanadi:

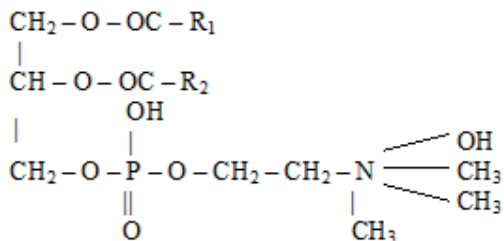
$$X = \frac{mV_2 \cdot 100}{PV_1V_3}$$

Bunda: m-namunadagi xolesterin miqdori, mg; V-spirt-efirli aralashmaning hajmi (25 ml), V_1 -aniqlash uchun olingan spirt-efirli ekstraktning hajmi (5 yoki 10 ml), V_2 -xolesterin xloroformdagi eritmasining umumiy hajmi (10 ml), V_3 -rangli reaksiya uchun olingan xolesterinning xloroformdagi eritmasi (5 ml), P-to‘qimaning og‘irligi, g.

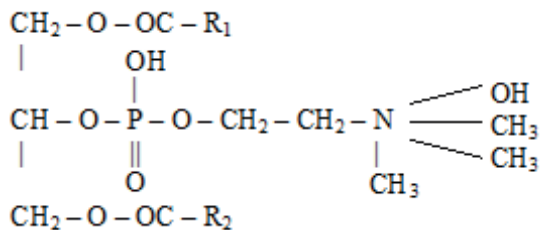
Bu metod bilan namunalardagi xolesterinning miqdorini 0,05 dan 0,5 mg gacha aniqlash mumkin.

Tovuq tuxumi sarig‘idan lesitinni ajratib olish

Lesitin fosfoglitsridlarga (fosfatidilxolinlarga) kiradi. Lesitin gidrolizlanganda glitserin molekulasini, ikki molekula yog‘ kislotasi, fosfat kislotasi molekulasini va azotli asos xolinga ajraladi. Xolinofosfat kislotasi qoldig‘ining hamda tarkibidagi kislotalarining birikishiga qarab α va β -lesitinlarga bo‘linadi.



α - lesitin



β - lesitin

Bunda: R_1 , R_2 - yog‘ kislotalarning qoldiqlari.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; pipetkalar; 100 ml li stakan, shisha tayoqcha.

Reaktivlar. 1. Tovuq tuxumining sarig‘i. 2. Etil spirti. 3. Aseton. 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.

Lesitinning shu spirtli filtrati bilan bir qator reaksiyalari bajariladi.

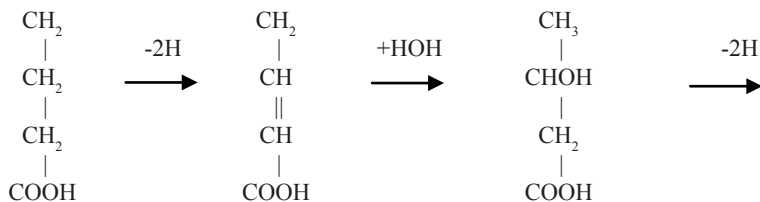
1. **Aseton bilan cho'ktirish.** Quruq probirkaga 2-3 ml aseton solingach, lesitinning spirdagi eritmasidan tomchilab qo'shiladi. Natijada cho'kma hosil bo'ladi, sababi lesitin asetonda erimaydi.

2. **Lesitinning emulsiya hosil qilishi.** Buning uchun probirkaga ml lesitinning spirdagi filfatdan solib, tomchilab distillangan suv qo'shiladi. Natijada lesitinning suvdagi turg'un emulsiyasi hosil bo'ladi.

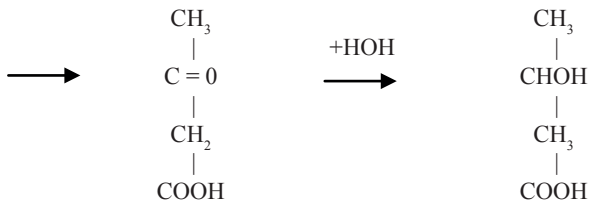
3. **Kadmiy xlorid bilan cho'ktirish.** Probirkaga 1 ml lesitinning spirdagi eritmasidan solib, tomchilab kadmiy xloridining eritmasidan qo'shiladi. Lesitin kadmiy xlorid bilan birikma hosil qilib, oq holida cho'kmaga tushadi.

Siydikdagi aseton tanachalarini aniqlash

Odam va hayvon to'qimalarining tarkibiga kiradigan oliy yog' kislotalarida uglerod atomlari juft sonda bo'ladi. To'qimalarda oliy yog' kislotalari parchalanganda yog' kislotasi avval kapron, so'ngra moy kislotasiga, u o'z navbatida ikki molekula sirka kislotasiga parchalanadi. Bu reaksiyalarni sxematik ravishda quyidagicha yozish mumkin.



Moy kislotasi Kapron kislotasi β - oksimoy kislotasi

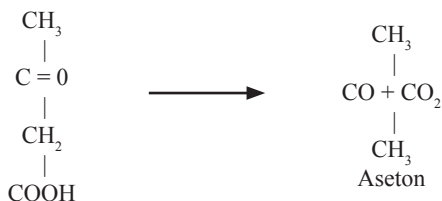


Sirka atsetat kislotasi

Sirka kislotasi

Sirka asetat kislotasi, β - oksimoy kislotasi va aseton dan iborat bu birikmalar kelib chiqadigan manba yog' kislotalardir. Normal organizm qon plazmasida kam miqdorda aseton (keton) tanachalari uchraydi. Bir qator kasalliklarda, masalan, qand kasalligida, ya'ni organizmda uglevodlar zaxirasi kamayganda yog'larning oksidlanishi tezlashib, keton tanalar miqdori ortib ketadi. Natijada to'qimalarda va qonda β - oksimoy kislotasi va sirka kislotani asetati yig'ila boshlaydi, bir qism sirka asetat kislotasi dekarboksillanib, aseton hosil qiladi.

Aseton sirkaasetat kislotasi va β - oksimoy kislotasi, aseton yoki keton tanachalari deb ataladi. Aseton tanachalarining qonda va siydikda ortib ketishi bioximiyaviy metod bilan aniqlanadi.

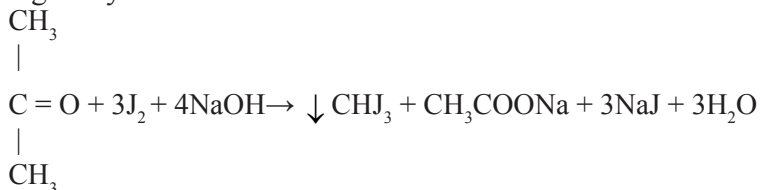


Sirka asetat kislotasi

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar.

Reaktivlar. 1. Natriy ishqorining 10% li eritmasi. 2. Yodning kaliy yoddagi eritmasi. 4. Tarkibida aseton bor siydik (0,5 l siydikka 5 ml aseton qo'shiladi).

Ishning borishi. Aseton ishqoriy sharoitda yod bilan o'zaro ta'sir etib, yodofor masini hosil qiladi, buni sariq rangli cho'kma hosil bo'lishidan va xarakterli hididan bilish mumkin. Reaksiyani quyidagicha yozish mumkin.



Probirkaga 1 ml tekshirilayotgan siydikdan solinadi va 1-2 tomchi natriy ishqorining eritmasidan va 3-4 tomchi yodni kaliy yoddagi eritmasidan solinadi. Reaksiya natijasida sariq choʻkma va yodoformaning xarakterli hidi hosil boʻladi.

Siydikda sirka asetat kislotasini aniqlash

Sirka asetat kislotasining enol formasi, temir xlorid bilan oʻzaro taʼsir qilib, kompleks birikma hosil qiladi, bu birikma olcha qizil rangni hosil qiladi.

Reaktivlar. 1. Temir xloridning 1% li eritmasi. 2. Siydik tarkibida sirka asetat kislotasi boʻlgan (0,5 l siydikka) 1 g salitsil kislotasi qoʻshiladi.

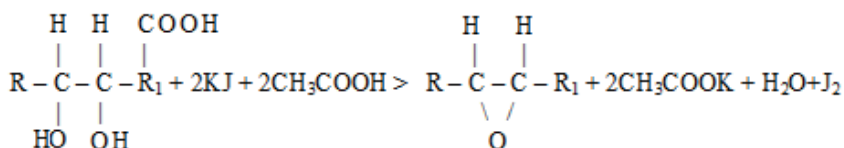
Ishning borishi. Probirkaga 1 ml tekshirilayotgan siydikdan solinadi va tomchilab temir xlorid eritmasidan qoʻshiladi. Natijada olcha qizil rang hosil boʻladi.

Yogʻlarning perekisli sonini aniqlash

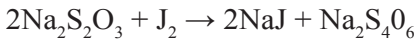
Yogʻlar tarkibidagi kislotalar lipooksidaza va havodagi kislorod, namlik, yorugʻlik ishtirokida qisman oksidlanadi.

Pereoksidli soni, 100 g yogʻdagi pereoksidlarning miqdorini koʻrsatib, u yodning gramm miqdori bilan belgilanadi.

Metodning prinsipi. Pereoksidli sonini aniqlash shunga asoslanganki, kislotali sharoitda **yogʻ kislotalarini** pereoksidiga kaliy yod taʼsir etib, reaksiya natijasida yod ajralib chiqadi. Bu reaksiyani quyidagicha ifodalash mumkin:



Ajralib chiqqan yod giposulfit bilan titrlanadi:



Kerakli asboblari: 150-200 ml li kolbalar; byuretkatitrlash uchun; 1 va 2 ml li pipetkalar.

Reaktivlar. 1. Sirka kislotasi. 2. Kaliy yodning to'yingan eritmasi; 3. Kraxmalning 1 % li eritmasi. 4. Giposulfitning 0,01 N eritmasi.

Ishning borishi. Analitik tarozida 1 g yog' 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 minut qoldiriladi. So'ngra ajralib chiqqan yodni 0,01 N giposulfit eritmasi bilan sariq rang hosil bo'lguncha titrlanadi, keyin kolbalarga 1 ml dan 1 % li kraxmal eritmasidan qo'shib, ko'k rang yo'qolguncha titrlanadi.

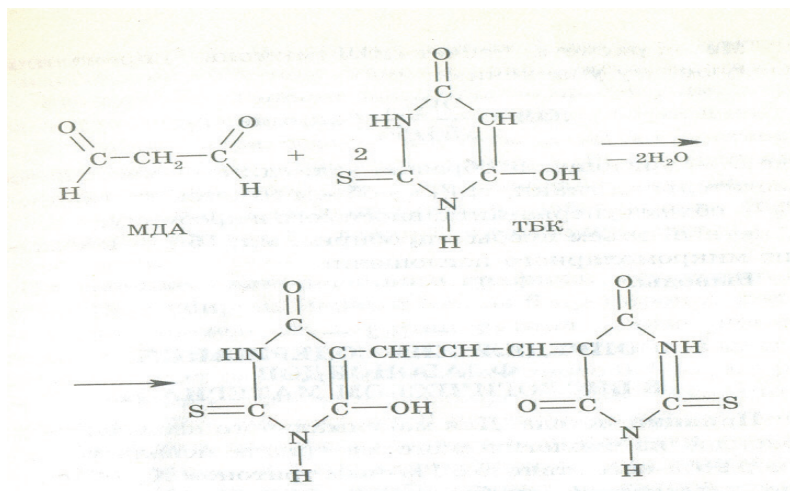
Pereoksidli soni quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$X = \frac{(a-b) \cdot T \cdot 0,001269 \cdot 100}{H}$$

Bunda: X-pereoksidli soni; a-tajriba namunasini titrlash uchun sarf bo'lgan 0,01 N giposulfit eritmasining miqdori, ml; b-kontrol namunasini titrlash uchun sarf bo'lgan giposulfitning miqdori, ml; T - giposulfit eritmasining titri; H - yog'ning ogirligi, g.

Lipidlarning perekisli oksidlanishini aniqlash

Lipidlarning perekisli oksidlanishini aniqlash malon dialdegidi va tiobarbitur kislotalar o'rtasidagi reaksiyaga asoslangan, ya'ni yuqori temperatura va kislotali pH muhitida rangli trimetin kompleksi hosil bo'ladi. Kompleks 532 nm da o'lchanadi



Trimetin kompleksi

Foydalanilgan asboblari: pH – metr, sfektometr, sentrifuga, suv hammomi, tarozilar, dozatorlar.

Kimyoviy idishlar: 0,1 ml hajmdagi 2 dona pipetka, 0,2 ml hajmdagi 1 dona pipetka, 5 ml hajmdagi 2 dona pipetka, 50ml hajmdagi kolbalar, 100ml hajmdagi kolbalar, 15 dona probirka.

Reativlar: Triton X-100 1 % li eritmasi; 0,6M HCl eritmasi; 0,06M TBK ishchi eritmasi; 96 % li spirt; o‘simlik supernatanti; 5mM Trilon B eritmasi.

Ishchi eritmalar quyidagicha tayyorlanadi

1. 1 % li triton X-100 eritmasini tayyorlash uchun 1ml konsentrlangan triton X-100ni 99ml 50%li etanolda eritiladi.

2. 0,6M HCl eritmasini tayyorlash uchun 94,9 ml distillangan suvga 5,1ml 36 % li HCl solinadi.

3. 0,06M TBK ni ishchi eritmasini tayyorlash uchun 864 mg tiobarbitur kislotasini 100 ml 1 % li triton X-100ni 50 % li etanoldagi eritmasida eritiladi.

4. 5mM trilon B ni eritmasini tayyorlash uchun 84 mg trilon B olib 50 ml distillangan suvda eritiladi.

Lipidlarning perikisli oksidlanishini aniqlash uchun quyidagi ishlar amalga oshiriladi

1. Probirkaga 0.5ml supernatantni olib, ketma – ketlikda quyidagi eritmalar solinadi:

2. 0,5 ml triton X-100 1 % li eritmasidan;

3. 0,2 ml 0,6M HCl eritmasidan;

4. 0,8 ml 0,06M TBK ishchi eritmasidan solindi.

5. Hosil bo‘lgan aralashmani qaynab turgan suv hammomiga 10minut qo‘yiladi.

6. 30 minut 15°C da sovutiladi. Hosil bo‘lgan rangni stabilizatsiya qilish uchun sovugandan keyin 0,2 ml trilon B eritmasidan solinadi.

7. 5-10ml 96 % li etanol solinadi.

8. Kontrol probirkaga hamma eritmalar solinadi (0,06M TBK ishchi eritmasidan tashqari) .

9. Lipidlarning perikisli oksidlanish mahsulotlarinig to‘planishi — malon dialdegidining — tiobarbitur kislotasi bilan reaksiyasi orqali kuzatiladi. 532 nm, $\epsilon = 155\text{mM}^{-1} \text{sm}^{-1}$.

Hisoblash

Lipidlarning perikisli oksidlanishi quyidagicha o‘lchanadi (mk mol/g):

$$LPO = \frac{DV_1V_3}{156 P V_2} \text{ (mk mol / g)}$$

Bu yerda:

D - Na'muna qaytarilishi (solishtirma og‘irlik);

P – O‘simlik to‘qimasining og‘irligi – g;

V₁- To‘qima gomogenatining hajmi – ml;

V₂- Probirkaga solingan gomogenatning hajmi – ml;

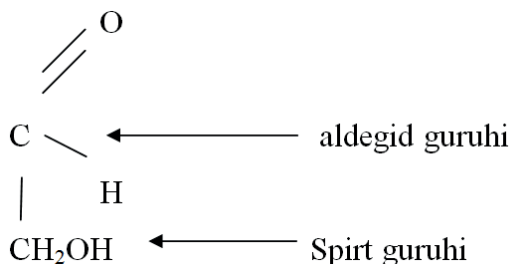
V₃- Probirkadagi na'munaning oxirgi hajmi – ml;

156 – Mikromolyar qaytarilish koeffisiyent.

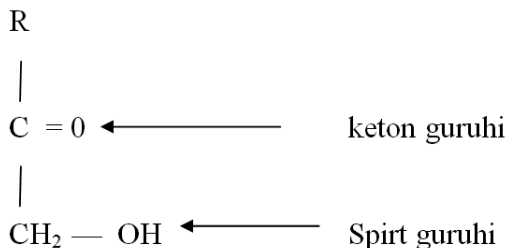
V BOB. UGLEVODLAR

Uglevodlar o‘simlik va hayvon organizmining muhim tarkibiy qismlaridan biri hisoblanadi. Odam va hayvonlar organizmida uglevodlar miqdori 2% bo‘lib, ular juda ko‘p funksiyalarni bajaradi: 1. Uglevodlar organizm uchun asosiy energiyadir. 1 g uglevodning parchalanishida 4,1 kkal energiya ajralib chiqadi. 2. Uglevodlar plastik funksiyasini bajaradi. Ular hujayralar membranasi, hujayra struktura komponentlari va nukleoproteinlar, glikoproteinlar, glikolipidlar, bir qator vitaminlar hamda kofermentlar tarkibiga kiradi. Uglevodlar o‘simliklarda asosan tayanch vazifasini o‘taydi. 3. Uglevodlar zahirasi oziq moddalar sifatida katta ahamiyatga ega. O‘simliklar kraxmal, hayvonlarda glikogen uglevodlarning zahira shakli hisoblanadi, zarur bo‘lganda sarf qilib turiladi. Jigar va muskullar asosan glikogen deposidir. 4. Himoya funksiyasi, bu funksiyani mukopolisaxaridlarning asosiy vakillari: gialuronat kislotasi, geparin bajaradi. Gialuronat kislotasi to‘qimalar va hujayralararo biriktiruvchi to‘qima tarkibiga kirib, ularni yopishtirib turadi. U to‘qimalarga turli xil shikast etakazuvchi moddalarning kirishiga to‘sqinlik qiladi. Geparin hayvon to‘qimalarida (jigar, taloq va boshqalar) qon ivishining kuchli ingibitoridir.

Uglevodlar kimyoviy tuzilishiga ko‘ra ko‘p atomli spirtlarning aldegid yoki ketoni hisoblanadi.



Ketonspirt tuzilishida keton va spirt guruhi bo‘ladi:



Uglevodlar tuzilishi va xususiyatiga qarab ikkita katta guruhga: oddiy uglevodlar - monosaxaridlar va murakkab uglevodlar - polisaxaridlarga bo‘linadi. Polisaxaridlar ikkita kichik guruhni tashkil qiladi. Bular molekulyar og‘irligi uncha katta bo‘lmagan oligosaxaridlar va haqiqiy polisaxaridlardir.

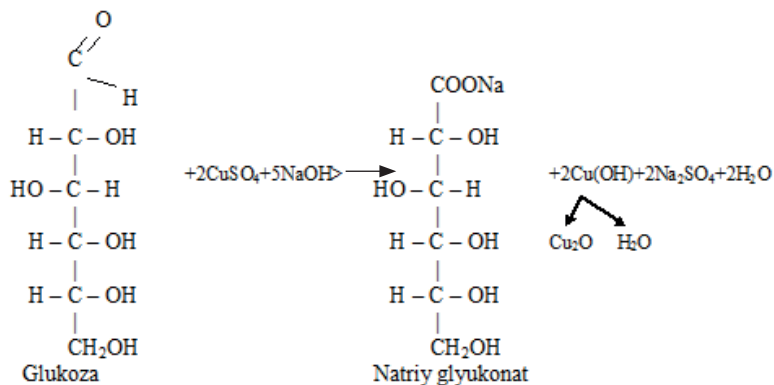
Monosaxaridlar

Monosaxaridlar tarkibidagi uglerod atomi soniga qarab, trioza, tetraza, pentoza, geksoza, geptoza va boshqalarga bo‘linadi. Bularning umumiy formulasi – $\text{C}_n\text{N}_{2n}\text{O}_n$. Monosaxaridlar qaytaruvchanlik xususiyatini namoyon qiladi, chunki ularning tarkibida karbonil guruhi bor.

Monosaxaridlarning qaytaruvchanlik xossalari

Hamma monosaxaridlar ishqoriy sharoitda mis, kumush va boshqa metall tuzlari ionlarini qaytarish xossalari namoyon qiladi. Bu reaksiya monosaxaridlar molekulasidagi aldegid guruhi hisobiga namoyon bo‘lib, bu guruh oson oksidlanib, karboksil guruhini hosil qiladi, metall ionlari esa qaytariladi.

1. Trommer reaksiyasi. Glyukoza ishqoriy sharoitda mis sulfat tuzi bilan reaksiyaga kirishib, mis oksidigacha qaytaradi va o‘zi glyukonat kislotasini hosil qiladi.

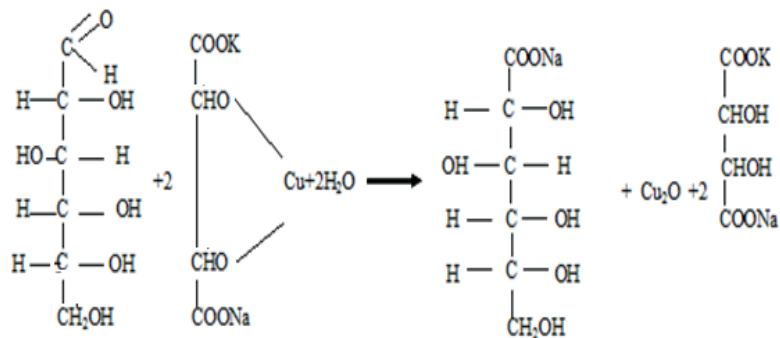


Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; 1 va 2 ml li pipetkalar, spirt lampasi.

Reaktivlar. 1. Glukozaning 1 % li eritmasi. 2. Natriy ishqorining 20 % li eritmasi. 3. Mis sulfatning 5 % li eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga glukozaning eritmasidan 3-4 ml solinadi va 1-2 ml 20 % li natriy ishqorining eritmasidan va 2-3 tomchi 5 % li mis sulfat eritmasidan qoʻshiladi. Probirka ehtiyotlik bilan chayqatiladi. Dastlab boshlanishida mis gidro oksidining CuOH choʻkmasi, soʻngra Cu₂O oksidining qizil choʻkmasi hosil boʻladi.

2. Feling reaktivi bilan reaksiyasi. Monosaxaridlar feling reaktivi bilan qaynatilganda, bu reaktiv mis oksidigacha qaytariladi va monosaxaridlar glyukonat kislotasiga oksidlanadi.



Reaktivlar. 1. Glukozaning 1 % li eritmasi. 2. Feling reaktivi: Bu reaktiv ikkita eritmada tayyorlanadi. 1. 500 ml kolbada 34,64 g mis sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) eritiladi va belgisigacha suv qo‘shiladi. 2. 500 ml kolbaga 173 g segnet tuzini solib, 200-250 ml suvda eritiladi va 100 ml 50 % li natriy ishqori qo‘shiladi, so‘ngra kolbaning belgisigacha suv qo‘shiladi. Reaktiv ishlatishdan oldin teng hajmda olib aralastiriladi.

Ishning borishi. Probirkaga 3-4 ml 1 % li glukoza eritmasidan solinadi va teng hajmda Feling reaktividan qo‘shib qaynatiladi, natijada mis oksidining qizil cho‘kmasi hosil bo‘ladi.

Monosaxaridlarni aniqlashda qo‘llaniladigan rangli reaksiyalar

Podobedov -Molish reaksiyasi.

Shakarlar α - naftol va timol bilan reaksiyaga kirishib rangli birikmalar hosil qiladi.

Reaktivlar. Glukozaning 1 % li eritmasi, α -naftolning 0,2 % li spirtidagi eritmasi, (0,5 g α -naftol 50 ml etil spirtida eritiladi. Ishlatishdan oldin 5 marta suyultiriladi). Timolning 1 % li spirtli eritmasi, konsentrlangan sulfat kislotasi.

Ishning borishi. 2 probirka olib, ularning har biriga 2 ml glukozaning 1 % li eritmasidan solinadi. 1-probirkaga 5 tomchi 0,2 % li α -naftol eritmasidan, 2-probirkaga 5 tomchi 1 % li timol eritmasidan qo‘shiladi. Ikkala probirkaga ehtiyotkorlik bilan probirka devori bo‘ylab 2 ml konsentrlangan sulfat kislotasi qo‘shiladi. Sulfat kislotasi va shakar eritmasi o‘rtasida birinchi probirkada binafsha rang, ikkinchi probirkada qizil rang hosil bo‘ladi.

Selevanov reaksiyasi. Ketogeksozalar, jumladan, fruktoza xlorid kislotasi va rezorsin bilan qizdirilgan to‘q-qizil rang beradi. Bu rang reaksiya mahsuloti bo‘lgan oksimetilfurfuroлга xosdir.

Reaktivlar. Selevanov reaktivi (100 ml 20 % li xlorid kislotada 0,05 g rezorsin eritiladi), glyukozaning 1 % li eritmasi, fruktozaning 1 % li eritmasi.

Ishning borishi. 2 ta probirka olib, 2 ml Selevanov reaktividan solinadi. Birinchi probirkaga 2 tomchi fruktoza eritmasidan, ikkinchi probirkaga 2 tomchi glukoza eritmasidan qo‘shiladi. Ikkala

probirkani qaynab turgan suv hammomiga 1 -2 minut qoldiriladi. Fruktosa bor probirkada qizil rang hosil bo'ladi, glukoza solingan probirkada esa rang hosil bo'lmaydi.

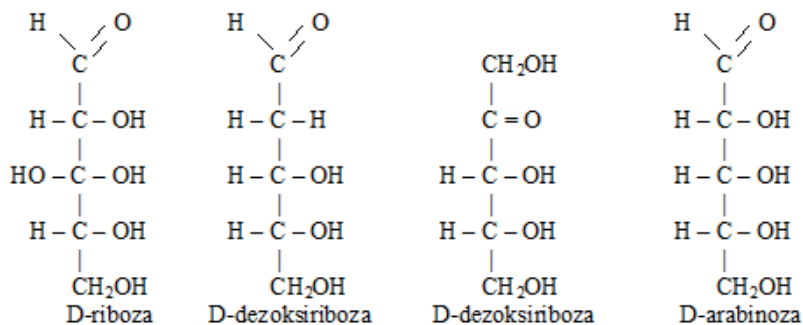
Difenilamin reaksiyasi. Ketozalar, jumladan fruktoza ham kislotali muhitda difenilamin bilan ko'k rang beradi. Bu reaksiya fruktozani miqdoriy jihatdan aniqlashda (Kolorometrik usul) ham qo'llaniladi.

Reaktivlar. Difenilaminning 20 % li eritmasi, (96 % li spirtida tayyorlanadi).

Xlorid kislotaning 20 %li eritmasi, fruktozaning 1 % li eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga 1 ml fruktozaning 1 % li eritmasidan olib, unga 0,5 ml difenilamin va 1 ml xlorid kislotaga qo'shiladi. Aralashma qaynab turgan suv hammomida 5 minut davomida ushlanadi. Reaksiya natijasida ko'k rang hosil bo'ladi.

Pentozalarga reaksiya. Pentozalar o'simlik va hayvon to'qimasida uchraydi. Ular DNK va RNK, ko'pgina kofermentlar (NAD, NADP, FAD) tarkibiga kiradi. Bu guruh uglevodlarga riboza va dezoksiriboza, ksiloza, arabinoza, ribuloza kiradi.



Pentozalar uchun xarakterli reaksiya shundan iboratki, ular konsentrlangan kislotalar bilan qizdirilganda suvni yo'qotadi va fur-furoлга aylanadi, u orsin bilan reaksiyaga kirishib, yashil rang, anilin bilan reaksiyaga kirishib, qizil rang beradi.

Pentozalarning anilin bilan reaksiyasi. Reaktivlar. 1.Riboza, arabinozaning 1-2% li eritmasi. 2. Anilin (C₆H₃ NH₂). 3.Sirka kislotasi. 4.Konsentrlangan xlorid kislotasi.

Ishning borishi. Probirkaga 2 ml pentoza eritmasi va shuncha hajmda konsentrlangan xlorid kislotasidan solinadi, soʻngra ehtiyotlik bilan qaynaguncha qizdiriladi. Sovugandan keyin unga 1 ml anilin va 1 ml sirka kislotasi qoʻshiladi. Eritma qizil rangga kiradi.

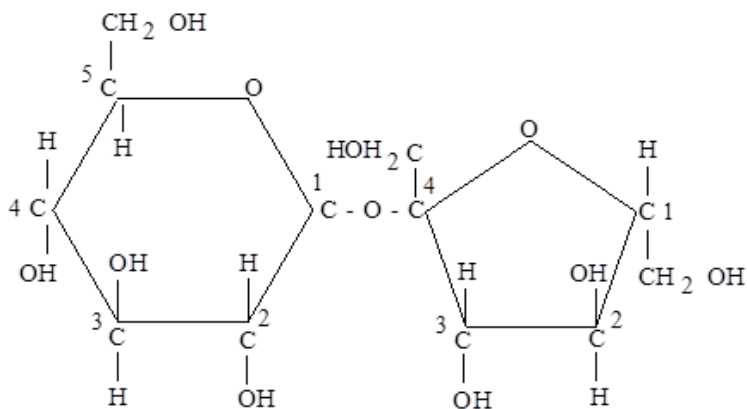
Pentozalarni orsin bilan reaksiyasi. Reaktivlar. 1. Pentozalarning 1-2% li eritmasi. Orsin reaktivi: 0,25 g orsinni 125 ml 30% xlorid kislotasida eritiladi va shu eritmaga 1 ml 10% li temir xlorid eritmasidan qoʻshiladi. Eritma qorongʻi oynali idishda saqlanadi.

Ishning borishi. Probirkaga 1-2 ml orsin reaktivi solib, qaynaguncha qizdiriladi va 4-5 tomchi pentoza eritmasi qoʻshiladi, natijada koʻk rang paydo boʻladi.

Disaxaridlar

Disaxaridlar ikkita monosaxarid molekulasidan bir molekula suv ajralib chiqishi natijasida hosil boʻladi. Disaxaridlarning umumiy formulasi – $C_{12}H_{22}O_{11}$. Disaxaridlarga: saxaroza, laktoza, maltoza, sellobioza kiradi.

Saxaroza molekulasining tashkil qilgan monosaxaridlar oʻzaro 1, 2 bogʻ orqali birikkan. Unda erkin glyukozid gidroqsil guruh yoʻq. Shuning uchun u Trommer reaksiyasini hosil qilmaydi.

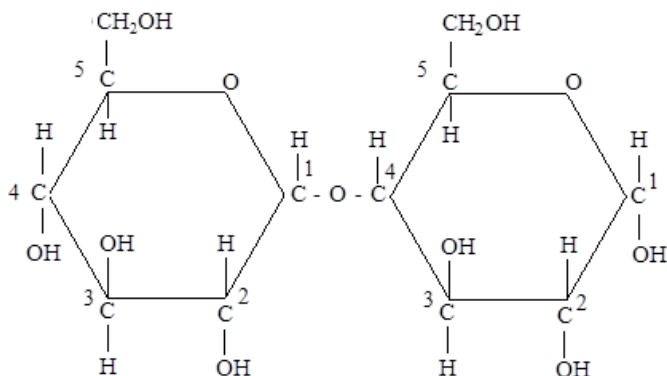


Saxaroza

Feling suyuqligini qaytarmaydi. Saxarozaga kislota bilan qizdirilsa yoki unga saxarozaga fermenti ta'sir ettirilsa, glyukoza va fruktozagacha parchalanadi.

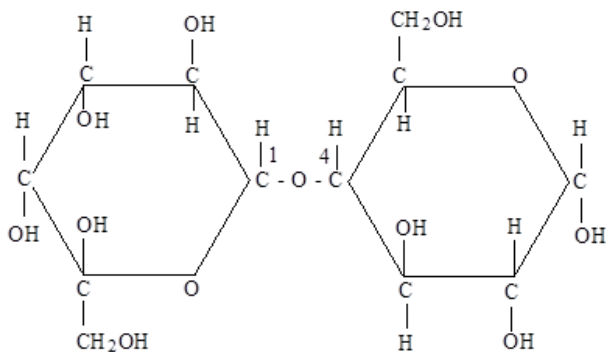
Maltoza. Parchalanganda ikki molekula α -D-glyukopiranoza hosil bo'ladi. Ular 1:4 bog' bilan birikkan bitta glyukoza qoldig'ida glyukozyd gidroqsil saqlagan bo'lgani uchun, maltoza qaytarish xususiyatiga ega. Maltoza tabiatda erkin holda bo'lmaydi, u kraxmal va glikogen tuzilishidagi asosiy element bo'lib,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

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



Maltoza

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



Laktoza

Disaxaridlarning qaytaruvchanlik xususiyatini tekshirish

Reaktivlar. 1.Maltozaning 2 % li eritmasi. 2.Laktozaning 2 % li eritmasi. 3.Saxarozaning 2 % li eritmasi. 4.Natriy ishqorining 30 % li eritmasi. 5.Mis sulfatning 5 % li eritmasi.

Ishning borishi. Uchta probirka olib, 3-4 ml maltoza, laktoza, saxaroza eritmasidan solinadi va Trommer reaksiyasi bajariladi. Maltoza va laktoza qaytaruvchanlik xususiyatini namoyon qiladi, bu probirkalarda qizil choʻkma hosil boʻladi. Saxaroza yuqorida aytib oʻtilgandek, bu hususiyatni namoyon qila olmaydi, shuning uchun Trommer reaksiyasini hosil qilmaydi.

Boshqa bir probirkaga 1 ml saxarozaning 1 % li eritmasidan olib, uning ustiga 3-4 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasidan qoʻshiladi. Probirkani qaynab turgan suv hammomiga 10-15 minut ushlanadi, soʻngra uning ustiga 1 ml 30 % li natriy gidroksid eritmasidan va 3-4 tomchi 5 % li mis sulfat eritmasidan qoʻshib qizdiriladi. Probirkada sariq yoki qizil rang hosil boʻladi. Chunki gidroliz natijasida hosil boʻlgan monosaxaridlar qaytaruvchanlik hususiyatiga ega boʻladi.

Polisaxaridlar

Polisaxaridlar yuqori molekulyar birikmalar boʻlib, kislotalar yoki fermentlar bilan gidrolizlanganda oligosaxaridlar bilan monosaxaridlarga parchalanadi. Har bir monosaxarid qoldigʻi yoni-

dagi monosaxarid bilan o'zaro glikozid bog'lar bilan birikkan. Shuning uchun ularni poliglikozidlar deb ham ataladi. Bir xil monosaxaridlardan tashkil toptan polisaxaridlar gomopolisaxaridlar deyiladi. Gomopolisaxaridlar tarkibidagi monosaxaridlar qoldiqlarining tabiatiga qarab har xil bo'ladi (kraxmal, glikogen, selluloza). Agar polisaxaridlar tarkibida turli monosaxaridlar bo'lsa, ular geteropolisaxaridlar deyiladi. Geteropolisaxaridlar tarkibida ba'zan boshqa moddalar (aminokislota, yog', oqsil va hokazo) ham uchraydi. Geteropolisaxaridlarga mukopolisaxaridlar, gemitsellulozalar va boshqalar kiradi.

Kraxmalning yod bilan reaksiyasi

Kraxmal uchun xarakterli reaksiya - yodni kaliy yoddagi 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. Amiloza molekulasini 1000-6000 - D=glyukoza qoldiqlaridan tuzilgan bo'lib, ularning 1,4-glyukozid bog' orqali bog'langan molekulasini tarmoqlanmagan formaga ega. To'la gidrolizlanganda D-glukoza molekulariga parchalanadi. Amiloza suvda eriydi va yod ta'sirida to'q ko'k rangni beradi. Amilopektin ham juda ko'p D-glukoza qoldiqlaridan tashkil toptan bo'lib, amilozaga o'xshab 1,4-glukozid 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'la gidrolizlanganda D-glukoza molekulariga parchalanadi. Amilopektin suvda erimaydi, u suvda shishadi va kleyster hosil qiladi. yod ta'sirida u binafsha rangni hosil qiladi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; 1,2 ml li pipetkalar.

Reaktivlar. 1.Kraxmalning 1 % li eritmasi. 2.Yodning kaliy yoddagi eritmasi: 500 ml suvda 20 g kaliy yod 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 kaliy yoddagi 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 haroratga nisbatan 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 kislotasi. 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 kislotasi, ikkinchi probirkaga esa shuncha miqdorda suv qo‘shiladi. Ikkala probirka 10-15 minut qaynab turgan suv hammomiga qo‘yiladi. Sovugandan keyin Trommer reaksiyasi bajariladi. Birinchi probirkada mis oksidining qizil cho‘kmasi hosil bo‘ladi, bu esa kraxmalni gidrolitik parchalanib, qaytaruvchanlik xususiyatiga ega glukoza hosil bo‘lganligini ko‘rsatadi. Ikkinchi probirkada esa Trommer reaksiyasi yuz bermaydi, chunki kraxmal gidrolizlanmagan, shuning uchun u qaytaruvchanlik xususiyatiga ega bo‘lgan glukoza hosil qilmagan.

Qaytaruvchanlik xususiyatiga ega bo‘lgan shakarlarni Bertran usulida aniqlash

Qaytaruvchanlik xususiyatiga ega bo‘lgan qandlar ishqoriy sharoitda mis ionlari bilan reaksiyaga kirishib mis (I)-oksidini hosil qiladi. Hosil bo‘lgan mis (I)-oksidini tegishli ravishda suv bilan yuvilgandan so‘ng sulfat kislotasi bilan nordonlashtirilgan temir (III) - sulfat tuzi eritmasi ta’sir ettiriladi. Bunda mis (I)-oksidini mis (II)-oksidiga aylanadi. Temir (III)-oksidini esa, temir (II)-oksidigacha qaytariladi.

Reaksiya quyidagicha boradi:

$\text{CuO} + \text{qaytaruvchan shakar} \rightarrow \text{Cu}_2\text{O} + \text{oksidlangan shakar}$

$\text{Cu}_2\text{O} + \text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + \text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow 2\text{CuSO}_4 + 2\text{FeSO}_4 + \text{H}_2\text{O}$

Qaytarilgan temir (II)-oksidining miqdori, permanganat eritmasi bilan titrlanib aniqlanadi.

$10\text{Fe}_2\text{SO}_4 + 2\text{K}_2\text{MnO}_4 + 8\text{H}_2\text{SO}_4 = 5\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 + \text{K}_2\text{SO}_4 + 2\text{MnSO}_4 + 8\text{H}_2\text{O}$

Bu tenglamadan 1 ml kaliy permanganat eritmasi 10,05 mg mis miqdoriga teng.

Ishning borishi. O'simlik materialidan 5-10 gramm (tarkibidagi uglevodlarning miqdoriga qarab) tortib olinib, chinni hovonchada shisha kukunlari yordamida bir xil massa hosil bo'lguncha eziladi. So'ngra 50 ml suvni 2-3 bo'lib hovonchaga quyiladi va massa 100 ml gacha belgilangan o'lchovli kolbaga o'tkaziladi. Suvning oxirgi hajmi bilan hovoncha yuviladi va u ham kolbaga quyiladi. Keyin kolbani harorati 70-80° bo'lgan suv hammomida 20-30 minut ushlanadi. Kolba sovigach aralashma tarkibidagi uglevodlarni aniqlashga to'sqinlik qiladigan oqsil va boshqa moddalar aralashma tiniq rangga kirguncha qo'rg'oshin asetat tuzidan oz-ozdan (0,5-1 ml) qo'shib cho'kmaga tushiriladi. Ortiqcha qo'rg'oshin esa to'yingan natriy sulfat yordamida yo'qotiladi. (Oq quyqum hosil bo'lish to'xtaguncha qo'shiladi). Keyin aralashma filtrlanadi va 1-2 marta issiq suv bilan yuviladi. Filtratning umumiy hajmi 100 ml ga etkaziladi. Filtrat tarkibidagi eruvchan shakarlar quyidagicha aniqlanadi. Kolbaga 5-20 ml (tekshirayotgan eritmadagi uglevodlarning oz-ko'pligiga qarab) filtrat quyiladi. Shakarlarni aniqlash usuli olinayotgan eritmalar ma'lum hajmda bo'lishini talab qiladi. Shuning uchun agar filtratdan 5 yoki 10 ml olinsa, tegishli ravishda 15 yoki 10 ml distillangan suv qo'shib, umumiy hajmni 20 ml ga etkazish kerak. Filtratga 20 ml A va B reaktividan qo'shiladi. Aralashma qizdiriladi va aniq 3 minut davomida qaynatiladi. Natijada qizil mis (I) oksidi cho'kmaga tushadi. Agar u rangsiz bo'lsa tekshirishga olinadigan filtratni kamaytirish kerak. Probirka sovigach eritma shisha filtrga asta - sekin quyiladi. Keyin kolbadagi cho'kma bilan shisha filtrdagi cho'kma sulfat kislotadagi temir sulfat tuzi yordamida eritiladi. Cho'kma eritilgandan so'ng kolba va shisha filtr distillangan sovuq suv bilan nordon reaksiya yo'qolguncha yuviladi. So'ngra kolbadagi suyuqlik kaliy permanganat yordamida

och pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi.

Titrlash uchun sarflangan 0,1N kaliy permanganat hajmini mis titriga ko'paytiriladi va jadvaldan shakarlar miqdori aniqlanadi. Shakarlar foizi quyidagi formula bo'yicha aniqlanadi.

$$x = \frac{a \cdot V \cdot 100}{V_1 \cdot H}$$

a -Bertran jadvali buyicha topilgan (olingan hajm tarkibidagi) shakar miqdori;

V -O'simlik materialidan olingan aralashma hajmi; V_1 -Shakarni aniqlash uchun olingan eritma hajmi;

H -O'simlik materiali gramm hisobida.

Jadval

Mis milligrammlariga teng bo'lgan eruvchan shakarlar miqdori (Bertran bo'yicha)

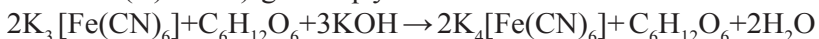
Glukoza	Mis	Glukoza	Mis	Glukoza	Mis
10	20,4	37	72,0	64	119,6
11	22,4	38	73,8	65	121,3
12	24,3	39	75,7	66	123,0
13	26,3	40	77,5	67	124,7
14	28,3	41	79,3	68	126,4
15	30,2	42	81,1	69	128,1
16	32,2	43	82,9	70	129,8
17	34,2	44	84,7	71	131,4
18	36,2	45	86,4	72	133,1
19	38,1	46	88,2	73	134,7
20	40,1	47	90,0	74	136,3
21	42,0	48	91,8	75	137,9
22	43,9	49	93,6	76	139,6

23	45,8	50	95,4	77	141,2
24	47,7	51	97,1	78	142,8
25	49,8	52	98,9	79	144,5
26	51,5	53	100,6	80	146,1
27	53,4	54	102,3	81	147,7
28	55,3	55	104,1	82	149,3
29	57,2	56	105,8	83	150,9
30	59,1	57	107,6	84	152,5
31	60,9	58	109,3	85	154,0
32	62,8	59	111,1	86	155,6
33	64,6	60	112,8	87	157,2
34	66,5	61	114,5	88	158,8
35	68,3	62	116,2	89	160,4
36	70,1	63	117,9	90	162,0

Reaktivlar: 1. A reaktivni-mis sulfat eritmasi, 40 g sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 1 L distillangan suvda eritiladi. 2.B reaktivni-Segnet tuzining ishqorli eritmasi. 200 g segnet tuzi ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \text{KNa} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) va 150 g NaOH 1Ldistillangan suvda eritiladi. 3.Permanganat eritmasi 5 g kaliy permanganat 1 L distillangan suvda eritiladi. Bunda 1 ml eritma 10 mg mis miqdoriga to'g'ri keladi. 0,1 N permanganat eritmasi ishlatilsa (3,16 g KMnO_4), 1 ml eritma 6,36 mg misga to'g'ri keladi. 4.50 g $\text{Fe}(\text{SO}_4)_3$ va 200g (108 ml) konsentrlangan sulfat kislotasi aralastirib, distillangan suv bilan 1 L ga etkaziladi.

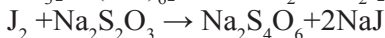
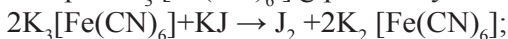
Biologik suyuqliklarda glyukoza miqdorini Xagedorn-Iensen metodi bilan aniqlash

Bu usul yordamida turli xil biologik ob'ektlar tarkibidagi glukoza va boshqa qaytaruvchanlik xususiyatiga ega bo'lgan shakarlarni aniqlash mumkin. Reaksiya natijasida shakarlar ishqoriy sharoitda oksidlanib, qizil qon tuzi (kaliy ferritsianid), sariq qon tuzi (kaliy geksatsiano-(II)-ferrat) gacha qaytariladi.



Hosil bo'lgan $K_4[Fe(CN)_6]$ esa rux sulfat yordamida cho'kmaga tushiriladi.

Ortiqcha $K_3[Fe(CN)_6]$ giposulfat yordamida titrlanadi.



Glukoza -qonning doimiy tarkibiy qismi hisoblanadi. Glukoza qonga ichak orqali kelib tushadi. Odam qonida normada 80 dan 120 mg % atrofida bo'ladi. Turli qishloq xo'jalik hayvonlari qoni tarkibida glukozani miqdori quyidagicha, mg %:

Otlarda.....90-100

Sigirlarda.....60-80

Qo'y va echkilarda.....40-65

Quyonlarda..... 100-200

Qushlarda.....130-260

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; 0, 1, 2, 5, 10 ml li pipetkalar; suv hammomi; diametri 3-4 sm li voronkalar; 1-2 ml li mikrobyuretka; filtr qog'oz.

Reaktivlar. Oqsillarni cho'ktirish uchun: rux sulfatning 0,45 % li eritmasi; natriy gidroksidining 0,1 N eritmasi - bu ikki reaktiv aralashmasi oqsillarni cho'ktirish uchun ishlatiladi; natriy oksalatning 5 % li eritmasi (mikropipetkalar yuvish uchun ishlatiladi).

Glukozani aniqlash uchun. 1. Geksatsian = (III)-ferrat eritmasi: bu eritmani tayyorlash uchun 1,65 g perekristallangan $K_3[Fe(CN)_6]$ va 10,6 g suvsiz natriy karbonatni 1 litrli kolbada eritiladi va kolbani belgisigacha suv qo'shiladi. Eritma qorongi oynali idishda sovuq joyda saqlanadi. 2. Xlor = rux = yod eritmasi: bu eritmani tayyorlash uchun 10 g rux sulfat, 50 g natriy xlorid va 5 g kaliy yodat 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. Quyvon qoni, qon ivib qolmasligi uchun 10 ml qonga 0,01 g natriy oksalat tuzidan qo‘shiladi.

Ishning borishi. Oqsillarni cho‘ktirish va ajratish. Qon oqsillari rux gidroksidi bilan qaynatilib cho‘kmaga tushiriladi.

Buning uchun avval rux gidroksidi tayyorlab olinadi. To‘rtta belgilangan probirkalarga 5 ml rux sulfat eritmasidan va 1 ml natriy gidroksidi eritmasidan solinadi, bunda probirkalarda rux gidroksidining cho‘kmasi hosil bo‘ladi. So‘ngra ikkita probirkaga mikropipetka yordamida (mikropipetkalar natriy oksalat eritmasi bilan yuvilgan bo‘lishi kerak) 0,1 ml dan qon solinadi. Qolgan ikkita probirkaga 0,1 ml dan distillangan suv quyiladi, bu namunalar kontrol hisoblanadi. Hamma probirkalar 3 minut qaynab turgan suv hammomiga qo‘yiladi. Natijada qon oqsillari cho‘kmaga tushadi. Probirkalardagi suyuqliklar filtrlanadi, cho‘kma 2 marta 3 ml distillangan suv bilan yuviladi. Hosil bo‘lgan filtrat tiniq rangda bo‘lishi kerak.

Glukozani aniqlash. Qonni oqsilsiz filtratlarga va kontrol namunalarga 2 ml dan kaliy geksatsian (111) ferratning sodali eritmasidan qo‘shiladi, so‘ngra qaynab turgan suv hammomida 15 minut qizdiriladi. Sovugandan keyin har bir stakanga 3 ml dan xlor-rux-yodli eritmasi va 2 ml dan sirka kislotasining eritmasi qo‘shiladi. Probirkadagi suyuqlik ajralib chiqqan yod ta‘sirida sariq rangga kiradi. Hamma probirkalarga 2 tomchidan kraxmal eritmasi qo‘shiladi va natriy tiosulfat eritmasi bilan ko‘k rang yo‘qolguncha titrlanadi. Titrlanish uchun sarf bo‘lgan natriy tiosulfatning hajmi ma‘lum bo‘lgach, jadval yordamida glyukoza miqdori aniqlanadi.

Tajriba bo‘yicha topilgan sondan kontrol bo‘yicha topilgan sonning ayirmasi tekshirilayotgan eritma tarkibidagi qaytaruvchanlik xususiyatiga ega bo‘lgan uglevodlar miqdorini beradi. Tekshirish uchun olingan eritmaning umumiy hajmidagi uglevodlar miqdori hisoblanadi. Uglevodlarning foiz miqdori quyidagicha topiladi.

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

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

Qaytaruvchan shakarlarni Berr usulida aniqlash

Bu usul yordamida tekshirilayotgan o‘simlik materialida juda kam miqdordagi (0,1-0,9 mg) shakarni ham aniqlash mumkin. Berr usulida ham Bertran usulida qo‘llaniladigan reaktivlardan foydalaniladi.

Ishning borishi. Tekshirilayotgan eritmadan 3 ml olib, sentrifuga probirkasiga quyiladi, uning ustiga yangi tayyorlangan Feleng suyuqligidan qo‘shiladi. Probirka qaynab turgan suv hammomiga tushiriladi va 6 minut davomida qaynatiladi. Vaqt tugagach tezda sovuq suv yordamida probirkalar uy haroratigacha sovitiladi. Bunda probirka tagiga qizil cho‘kma tushadi. Hosil bo‘lgan cho‘kma minutiga 2000 ayl/min 2-3 minut sentrifugalanadi, cho‘kma ajratib olinadi. Cho‘kma 3-5 ml temir (II)-sulfat eritmasi bilan eritiladi. So‘ngra 0,01 N kaliy permanganat eritmasi bilan eritiladi. So‘ngra 0,01 N kaliy permanganat eritmasi yordamida titrlanib eruvchan shakarlar miqdori jadval bo‘yicha aniqlanadi. Sarflangan kaliy permanganat eritmasining 1 ml misning 1 mg ga to‘g‘ri keladi. Shu yo‘l bilan topilgan mis miqdoriga qarab jadvaldan qaytaruvchan shakar miqdori topiladi (jadval).

0,1 ml qondagi glukoza miqdori, mg (Xagedorn bo‘yicha)

Giposulfit, ml	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,009
0,0	0,385	0,382	0,379	0,376	0,373	0,370	0,367	0,364	0,361	0,358
0,1	0,355	0,352	0,350	0,348	0,345	0,348	0,341	0,338	0,336	0,333
0,2	0,331	0,329	0,327	0,325	0,323	0,321	0,318	0,316	0,314	0,312
0,3	0,310	0,308	0,306	0,304	0,302	0,300	0,298	0,296	0,294	0,292
0,4	0,290	0,288	0,286	0,284	0,282	0,280	0,278	0,276	0,274	0,272
0,5	0,270	0,268	0,266	0,264	0,262	0,260	0,259	0,257	0,255	0,253
0,6	0,251	0,249	0,247	0,245	0,243	0,241	0,240	0,238	0,236	0,234
0,7	0,232	0,230	0,228	0,226	0,224	0,222	0,221	0,219	0,217	0,215
0,8	0,213	0,211	0,209	0,208	0,206	0,204	0,202	0,200	0,199	0,197
0,9	0,195	0,193	0,191	0,190	0,188	0,186	0,184	0,182	0,181	0,179
1,0	0,177	0,175	0,173	0,172	0,170	0,168	0,166	0,164	0,163	0,161
1,1	0,159	0,157	0,155	0,154	0,152	0,150	0,148	0,146	0,145	0,143
1,2	0,141	0,139	0,138	0,136	0,134	0,132	0,131	0,129	0,127	0,125
1,3	0,124	0,122	0,120	0,119	0,117	0,115	0,113	0,111	0,110	0,108
1,4	0,106	0,104	0,102	0,101	0,099	0,097	0,095	0,093	0,092	0,090

1,5	0,088	0,086	0,084	0,083	0,081	0,079	0,077	0,075	0,074	0,072
1,6	0,070	0,068	0,066	0,065	0,063	0,061	0,059	0,057	0,056	0,054
1,7	0,052	0,050	0,048	0,047	0,045	0,043	0,041	0,039	0,038	0,036
1,8	0,043	0,032	0,031	0,029	0,027	0,025	0,024	0,022	0,020	0,019
1,9	0,017	0,015	0,014	0,012	0,010	0,008	0,007	0,005	0,003	0,002

Mis miqdoriga teng bo'lgan glukoza miqdori (mg da) (Berr bo'yicha)

Glukoza	Mis	Glukoza	Mis	Glukoza	Mis	Glukoza	Mis
0,1	0,55	1,0	2,60	2,00	4,30	5,50	10,80
0,2	0,80	1,20	2,80	2,25	5,00	6,00	11,90
0,3	1,00	1,30	3,00	2,50	5,30	6,50	12,80
0,4	1,15	1,40	3,20	2,75	5,95	7,00	13,90
0,5	1,35	1,50	3,40	3,00	6,25	7,50	14,90
0,6	1,60	1,60	3,60	3,50	7,10	8,00	15,90
0,7	1,80	1,70	3,80	4,00	8,00	9,00	16,90
0,8	2,00	1,80	4,00	4,50	8,50	9,00	17,80
1,0	2,40	1,90	4,15	5,00	8,95		

Fruktozani aniqlash

Fruktoza ko'pchilik mevalarning tarkibida uchraydi. Fruktoza nordon sharoitda rezorsin bilan reaksiyaga kirishib rangli birikma hosil qiladi.

Reaktivlar: rezorsinning spirtli eritmasi (1g rezorsin 1 L 25 % li etil spirtida eritiladi). Xlorid kislotaning 30 % li eritmasi. Fruktozaning standart eritmasi. 100 mg fruktoza 100 ml benzoat kislotaning suvda to'ingangan eritmasida eritiladi va sovitgichda saqlanadi. Shu eritmadan 10 ml olib 100 ml suvda suyultiriladi.

Ishning borishi. 5-20 g o'simlik materialidan olib, chinni hovonchada bir xil massa hosil bo'lguncha shisha kukunlari yordamida 10-20 ml suv bilan eziladi. So'ngra hajmi 200 ml li kolbaga quyiladi.

Kolbani harorati 80-90°C boʻlgan suv hammomiga tushiriladi va 1 soat davomida ekstraksiya qilinadi. Soʻngra kolbani sovitiib, qoʻrgʻoshin asetatning 10 % li eritmasidan 5-6 ml qoʻshiladi. Bunda fruktozani aniqlashga xalaqit beradigan boshqa moddalar choʻkmaga tushadi.

Kolbadagi suyuqlikni yaxshilab aralashtirib suv bilan chiziqqacha toʻldiriladi va filtrlanadi.

Filtirdan 50 ml li kolbaga 5 ml olib, ustiga 5 ml rezorsinning spirtli eritmasidan va 15 ml xlorid kislotaning 30% li eritmasidan qoʻshiladi. Kolbadagi suyuqlikni yaxshilab aralashtirib, 80°C haroratli suv hammomiga 20 minutga qoʻyiladi. Soʻngra kolbani sovitiib rang intensivligini FEK da koʻriladi. Bunda yashil yorugʻlik filtdan (540 nm) foydalaniladi. Fruktoza miqdorini aniqlash uchun standart eritmalar yordamida kalibrovka chizigʻi grafik sifatida chiziladi. Standart eritmada hajmi 50 ml li kolbalarga 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0 ml dan quyiladi. Ularning ustiga tegishli ravishda 4,5; 4,0; 3,0; 2,0; 1,0; 0,1 ml distillangan suv quyiladi. Soʻngra barcha kolbalarga 5 ml rezorsin eritmasi va 15 ml xlorid kislotaning 30 % li eritmasidan qoʻshib, harorati 80-50°C boʻlgan suv hammomida 20 min. davomida saqlanadi. Vaqt tugagach kolbalar sovitiilib hosil boʻlgan rang intensivligi FEK da oʻlchanadi.

Saxaroza miqdorini aniqlash

Saxaroza oʻsimliklarda keng tarqalgan shakarlardan hisoblanadi. U qaytaruvchanlik xususiyatiga ega emas. Saxarozani kimyoviy usulda aniqlash uchun turli xil gidroliz usullaridan foydalaniladi. Saxaroza odatda fermentativ yoki kislotali gidroliz yoʻli bilan fruktoza va glukozagacha parchalanadi. Gidroliz mahsuloti hisoblangan monosaxaridlarning qaytaruvchanlik xususiyatiga qarab saxarozaning miqdori aniqlanadi.

Saxarozani suvli ekstraktlarda aniqlash birmuncha qiyin, chunki bunday ekstrakt tarkibida boshqa yuqori molekulyar polisaxaridlar ham boʻlib, ularning gidrolizlanishi natijasida ham qaytaruvchan shakarlar hosil boʻladi. Bunday suvli ekstraktlarni filtrlash birmuncha qiyindir. Shu sababli saxarozani aniqlashda spirtli ekstraktlardan

foydalanish tavsiya qilinadi.

Reaktivlar: Bertran usuli bo'yicha shakarlarni aniqlashda qo'llaniladigan barcha reaktivlar. Natriy ishqorining 4 % li eritmasi, xlorid kislotasi (zichligi 1,19). Metil qizil.

Ishning borishi. Tekshirilayotgan o'simlik materialidan 10-25g olib, chinni hovonchada shisha kukunlari bilan bir xil massa hosil bo'lguncha 5-10 ml 96 % li etil spirti yordamida eziladi. So'ngra ezilgan massa hajmi 200 ml li kolbaga quyiladi. Chinni hovoncha yana 10-15 ml spirt bilan yuviladi va u ham kolbaga quyiladi. Ekstraksiya uchun olingan spirtning konsentratsiyasi 75-80 % dan oshmasligi kerak. Kolbadagi ekstrakt 75-80°C haroratli suv hammomida 30 minut davomida ushlab turiladi. Keyin u boshqa kolbaga filtrlanadi. Qolgan material yana 1-2 marta spirt yordamida ekstraksiya qilinadi va hamma ekstraktlar birlashtiriladi. Ekstraktlar tarkibidagi spirt maxsus sovitgich va suv hammomi yordamida haydaladi (vakuum ostida). Kolba tagida qolgan spirtli ekstrakt suv bilan chiziqqacha to'ldiriladi. Tayyorlangan ekstraktdan 25 ml olib hajmi 50 ml o'lchov kolbaga quyiladi va 67-70°C haroratli suv hammomida 10 minut ushlanadi. So'ngra kolbaga 1,5 ml xlorid kislotasi (zichligi 1,19) qo'shiladi. Bunda kolbadagi kislotasi konsentratsiyasi taxminan 2% ga yaqin bo'ladi. Hidroliz 67-70°C haroratda 6-7 minut davom etadi. Hidroliz tamom bo'lgach kolba tezda sovuq suv yordamida uy haroratigacha sovutiladi va 4-5 tomchi metil qizil qo'shiladi. So'ngra kolbadagi suyuqlik 4% li o'yuvchi natriy bilan to'qsariq rang hosil bo'lguncha neytrallanadi. Bunda ishqorni asta-sekin tomchilab qo'shish kerak. Neytrallangan eritma suv yordamida chiziqqacha to'ldiriladi. Shakar miqdori Bertran usulida aniqlanadi. Bunda ekstrakt tarkibidagi umumiy shakarlar yig'indisi (qaytaruvchan shakarlar saxaroza) topiladi. Saxaroza miqdorini aniqlash uchun qaytaruvchan xususiyatiga ega bo'lgan shakar miqdoridan umumiy shakar ayirib tashlanadi.

$$X = 2(A - B) \cdot 0,95;$$

X - saxaroza miqdori, mg;

A - umumiy shakar, mg;

B - qaytaruvchan xususiyatiga ega bo'lgan shakar, mg.

Kraxmalni aniqlash

Kraxmal o‘simliklar tanasida eng ko‘p to‘planadigan va eng muhim polisaxaridlardan hisoblanadi. U ayniqsa, o‘simliklar donida ko‘p bo‘ladi. Ko‘p yillik o‘t o‘simliklarda esa er ostki organlarida to‘planadi.

Hamma o‘simliklarda - suv o‘tlardan yuksak o‘simliklargacha fotosintez jarayonida xloroplastlarda hosil bo‘ladigan uglevodlar bevosita kraxmalga aylanadi. Kraxmal ikki xil birikmadan, ya’ni amiloza va amilopektindan tashkil toptan. Amilopektin yod ta’sirida binafsha hamda qizg‘ishbinafsha rangga kiradi.

Amiloza esa yod ta’sirida ko‘karadi. Kraxmalni aniqlash usulari uning yod bilan hosil qilgan rangining intensivligini aniqlash yoki kislotali va fermentativ gidroliz natijasida hosil bo‘lgan glukoza miqdorini aniqlashga asoslangandir. Yuqoridagi usullardan har birining o‘ziga xos salbiy tomonlari mavjud. Masalan, kraxmalni yod ta’sir qilib aniqlashning yaxshi natija bermasligiga sabab amiloza bilan amilopektin yod ta’sirida har xil rang beradi. Amiloza bilan amilopektinning kraxmal tarkibidagi miqdori o‘simlik navi organlariga qarab har xil bo‘lishi mumkin.

Kraxmalni kislotali gidroliz yo‘li bilan aniqlashda o‘simlik materialidan boshqa polisaxaridlarning gidrolizga uchrash xavfi mavjud. Kraxmal miqdorini aniqlashda Pochinka usuli yaxshi natija beradi.

Kraxmal miqdorini Pochinka usulida aniqlash

Bu usul kraxmalni yod bilan kompleks hosil qilishiga asoslangan. Hosil bo‘lgan kompleks kaliy bixromat yordamida nordon sharoitda CO_2 va H_2O ga oksidlanadi. Reaksiya natijasida yod erkin holda ajraladi. Bu yod giposulfit bilan titrlanib, sarflangan giposulfit miqdoriga qarab kraxmal miqdori aniqlanadi.

Reaktivlar: 1. 0,25 N kaliy bixromat eritmasi (12,3 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ikki litrli kolbada 250 ml suv bilan eritiladi va sovigach 800 ml konsentrlangan H_2SO_4 qo‘shiladi. Eritma sovigach rangli sklyankaga quyiladi). 2. Kalsiy nitratning 80 % li eritmasi 200 gramm $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 250 ml suvda eritiladi. Bu eritmadan 20 %

li va 5 % li eritmalar tayyorlanadi 3. 0,5% yod eritmasi (10 g KI va 5 g I_2) avval hovonchada yaxshilab maydalanadi, soʻngra 10 ml distillangan suv bilan oʻlchovli 1 L kolbaga quyiladi va distillangan suv bilan chiziqqacha toʻldiriladi. 4. 0,1 N giposulfit eritmasi.

Ishning borishi. Tekshirilayotgan oʻsimlik materiali (1 g kartoshka, 3 g barg) chinni hovonchada 5 ml 80 % li kalsiy nitrat eritmasi yordamida gomogen holigacha yaxshilab maydalanadi. Soʻngra hajmi 200 ml li kolbaga ekstrakt quyiladi. Kalsiy nitratning 80 % li eritmasi bilan hovoncha 2-3 marta yuviladi. Kolbadagi suyuqlikning umumiy hajmi 30 ml dan oshmasligi kerak. Kolba ustini voronka bilan berkitib elektr plitka ustida 3 minut davomida asta-sekin qaynatiladi. Bunda kraxmal eritmaga oʻtadi. Kolbani sovutib voronka yaxshilab yuviladi va eritma boshqa hajmi 100 ml li oʻlchov kolbaga quyiladi. Soʻngra distillangan suv bilan chiziqqacha toʻldiriladi va stakanga filtrlanadi. Shu filtratdan 5 ml sentrifuga probirkasiga solinadi. Uning ustiga 2 ml yod eritmasi qoʻshiladi, yaxshilab aralashtirib 30 minutga qoldiriladi.

Natijada kraxmalning yodli kompleksi choʻkmaga tushadi. Choʻkmadagi yodning miqdori 15 % ga yaqin boʻladi. Vaqt tugagach probirka minutiga 4000-5000 tezlikda 5-10 minut sentrifugalanadi. Choʻkma yana 5 % li kalsiy nitrat eritmasi yordamida 2-3 marta yuviladi. Har gal eritma qoʻyilganida kolbadagi choʻkma yaxshilab aralashtiriladi. Soʻngra choʻkma 200 ml li kolbaga 0,2 - 0,3 ml suv bilan oʻtkaziladi. Probirka esa 3-4 marta distillangan suv bilan yuviladi (suvning umumiy hajmi 3 ml dan oshmasligi kerak). Kolbaga 10 ml 0,25 N kaliy bixromatning 85 % li sulfat kislotada tayyorlangan eritmasidan qoʻshiladi, yaxshilab aralashtirib 15 minut qaynab turgan suv hammomiga quyiladi. Bunda kraxmal bixromat yordamida karbonat angidrid va suvgacha parchalanadi. Kolba sovigach unga 5 ml 20 % li kaliy yodid eritmasidan va 120 ml suv qoʻshiladi. Bunda kaliy bixromat yodni ajratadi. Ajralgan yod 0,1 N giposulfit eritmasi bilan titrlanadi. Titrlash sariq rang hosil boʻlguncha davom ettiriladi, keyin kolbaga 1 ml 0,5 % li kraxmal eritmasidan qoʻshib, eritma rangi och-havo rang boʻlguncha titrlash davom ettiriladi. 1 ml 0,1 N giposulfit eritmasi 0,675 ml kraxmalga toʻgʻri keladi (Reaksiya boshlanishidan kraxmal tomonidan adsorbsiya qilingan yod reaksiya natijasiga taʼsir qilmaydi).

Alohida kontrol titrlash ham o'tkaziladi. Buning uchun hajmi 20 ml kolbaga 10 ml kaliy bixromatning 0,25N eritmasidan, 120 ml suv, 5 ml kaliy yodidning 20% li eritmasidan solinadi va 0,1 N giposulfit eritmasi bilan titrlanadi. Kraxmal miqdori quyidagicha aniqlanadi.

$$X = \frac{0,675 \cdot b \cdot T \cdot (a - b_1)}{H}$$

X-kraxmal miqdori, % hisobida; b_1 - 0,1 N giposulfit eritmasining kontrol titrlash uchun sarflangan miqdori, ml; a - 0,1 N giposulfit eritmasining tajribadagi kraxmalni titrlash uchun sarflangan miqdori ml; b-kraxmalni cho'kmaga tushirish uchun olingan hajm (5 ml); T-0,1 N giposulfit eritmasining titriga tuzatma; H-tajriba uchun olingan o'simlik materialining vazni, gramm hisobida.

Kletchatka miqdorini aniqlash

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

Reaktivlar: O'simlik material, sirka va nitrat kislotalarning aralashmasi, nitrat kislota (zichligi 1,4) bilan sirka kislotalarning 80 % li eritmasi 1:10 nisbatda (hajmi bo'yicha) aralashiriladi. 0,2 M o'yuvchi kaliyni spirtli eritmasi, etil spirti.

Ishning borishi. O'simlik materialidan 1 g olib chinni hovonchada yaxshilab, bir xil massa hosil bo'lguncha eziladi. Uni 100-200 ml li kolbaga o'tkazib, ustiga sirka va nitrat kislota aralashmasidan 40 ml quyiladi. Kolbaga sovitkichni ulab, bir soat davomida qum hammomiga quyiladi. So'gnra sovitib sentrifugalanadi. Chunki bir necha marta qaynoq 0,2 M o'yuvchi kaliyning spirtli eritmasida va distillangan suv bilan oxirida esa 10 ml etil spirti yordamida yuviladi. So'ngra cho'kma bir xil og'irlikkacha 105°C da termostatda quritiladi. Cho'kmani og'irlikkacha qarab kletchatkaning % miqdori aniqlanadi.

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

X- kletchatkaning miqdori, % hisobida, *a*-tajribada aniqlangan choʻkma ogʻirligi, *H*-oʻsimlik materiali ogʻirligi, g.

Glikogen miqdorini aniqlash

Turli xil sut emizuvchilarning jigarida 2 dan 8 % gacha glikogen boʻladi. Jigar glikogenining miqdori oziqaning tarkibi va hazm boʻlgan ovqatlarning miqdoriga bogʻliq. Agar hayvonlar ratsionida uglevod kam boʻlsa, glikogen kamroq yigʻiladi, aksincha ratsionida koʻp uglevod boʻlsa, glikogen miqdori koʻp boʻladi. Fizik ish jigar glikogenining kamayishiga olib keladi. Jigar glikogenining miqdori endokrin sistemalari orqali boshqarib turiladi.

Kerakli asboblari: 50, 200 ml li kolbalar; suv hammomi; 1,2, 5 ml li pipetkalar.

Reaktivlar. 1. 2,5 % li xlorid kislotasi. 2. 10 % li natriy ishqori. 3. Quyoning jigari.

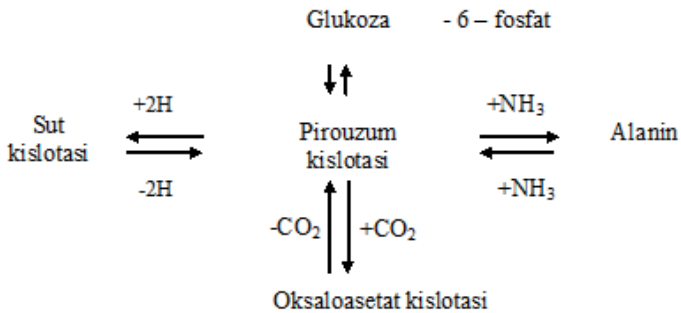
Ishning borishi. 1 g jigarni oʻlchab olib, 10 ml suvda eziladi. Hosil boʻlgan aralashma 200 ml kolbaga solinadi va kolba belgisigacha distillangan suv quyilib, aralashtiriladi, soʻngra 5 ml suyuqlik olinib, qandlar aniqlanadi. Yana 1 g jigarga 15 ml 2,5 % li xlorid kislota qoʻshib eziladi. Aralashma 50 ml li kolbaga solinadi hamda qaynab turgan suv hammomida 1 soat qaynatiladi. Sovigandan keyin suyuqlik 200 ml li kolbaga solinadi va belgisigacha suv quyilib aralashtiriladi. Keyin esa undan 2 ml olib, 1-2 tomchi 10 % li natriy gidroksididan qoʻshib neytrallanadi va qandlar miqdori Xagedorn-lensen metodi bilan aniqlanadi.

Glikogen miqdorini hisoblash. Gidrolizlangan 1 g jigardagi aniqlangan glyukozaning mg sonidan, gidrolizdan avval aniqlangan 1 g jigardagi glyukozaning milligramm miqdori ayirib tashlanadi. Natijada olingan glyukozaning mg dagi ifodasi 0,9 koeffitsientiga koʻpaytirilib glikogenning miqdori aniqlanadi, yaʼni glikogen va glyukozaning ogʻirligi ekvivalent munosabatda boʻladi. Jigarda glikogen 5-6 % atrofida boʻladi.

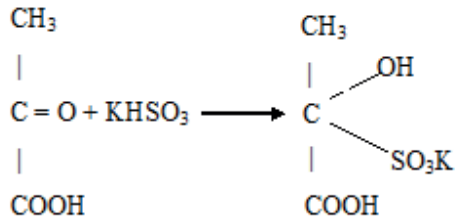
Pirouzum kislota miqdorini aniqlash

Pirouzum kislotalari metabolik reaksiyalarda juda muhim rol o'ynaydi.

Pirouzum kislota oqsil, lipid va uglevodlar almashinuvida muhim ahamiyatga ega. Pirouzum kislotalari qon plazmasi va jigarda 0,8-1,5 mg%, muskul to'qimasida 3,0-3,5 % bo'ladi. B₁ vitamin etishmaganda organizmda pirouzum kislotalari oksidlanishi va kislorod yutilish jarayonlari pasayadi. Natijada miyada va boshqa to'qimalarda piruvat kislota to'planadi. Pirouzum kislotalari siydik bilan ajralib chiqadi (sog'lom odamlarda -1 sutkada 200 mg). Sutka davomida siydikdagi pirouzum kislotalari miqdorini aniqlab, uglevodlar almashinuvi jarayonini bilish mumkin.



Pirouzum kislotalari kislotali muhitda kaliy yoki natriy bisulfit bilan bisulfitli birikmalar hosil qiladi:



Ortiqcha kaliy bisulfit yod bilan bog'lanadi.



Pirouzum kislotasining bisulfitli birikmasiga ishqor ta'sir ettirilsa, pirouzum kislotasiga ekvivalent miqdorida bisulfit ajralib chiqadi. Ajralib chikkan bisulfat miqdori yod bilan titrlab aniqlanadi.

Kerakli asboblari: 25 ml li kolba; 1, 2, 10 ml li pipetkalar; mikrobyuretkalar.

Reaktivlar. 1.Yodning 0,1 va 0,01 N eritmasi. 2.Kaliy yoki natriy bisulfatning 1 % li eritmasi. 3.Natriy bikarbonat yoki gidrokarbonatning to'yingan eritmasi. 4.Natriy giposulfitning 0,1 N eritmasi. 5. Kraxmalning 1 % li eritmasi, bu natriy xloridning to'yingan eritmasida tayyorlanadi. 6.Oksaloasetat kislotasining 0,1 N eritmasi. 7.Siydik.

Ishning borishi. 25 ml li kolbaga pipetka bilan 1 ml siydik solinadi, so'ng unta 9 ml suv va 1 ml oksaloasetatning 0,1 N eritmasidan qo'shilgach, yaxshilab aralastiriladi, natijada kalsiy tuzlari cho'kmaga tushadi. Kaliy yoki natriy bisulfat eritmasidan 10 tomchi qo'shib, aralashma chayqatiladi va kolba 15 minut qorong'i joyga quyiladi. Shundan keyin 10 tomchi kraxmal eritmasidan qo'shib, ortiqcha bisulfatni yodning 0,1 N eritmasidan ko'k rang hosil bo'lguncha tomchilab qo'shib bog'lanadi. Ortiqcha yodni bartaraf qilish uchun natriy giposulfitning 0,1 N eritmasidan, to ko'k rang yo'qolguncha tomchilab qo'shiladi, shundan so'ng yodning 0,01 N eritmasidan (ortiqcha giposulfitni bog'lash uchun) yana ko'k rang hosil bo'lguncha qo'shiladi. Keyin 10 tomchi natriy bikarbonatning to'yingan eritmasidan solinadi (ko'k rang yo'qoladi) va kolbadagi suyuqlikni yodning 0,01 N eritmasi bilan mikrobyuretkalar orqali qaytadan ko'k rang hosil bo'lguncha titrlanadi.

Sutka davomidagi siydik tarkibidagi pirouzum kislotasining miqdori quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$X = \frac{E \cdot A \cdot 0,01 \cdot B}{I}$$

Bunda: E-pirouzum kislotasining gramm ekvivalenti; A-titrlash uchun sarf bo'lgan 0,01 N yod eritmasining miqdori, ml;

0,01 - yod eritmasining normalligi;

E sutka davomidagi siydikning miqdori, ml;

I -tekshirish uchun olingan siydikning miqdori, ml.

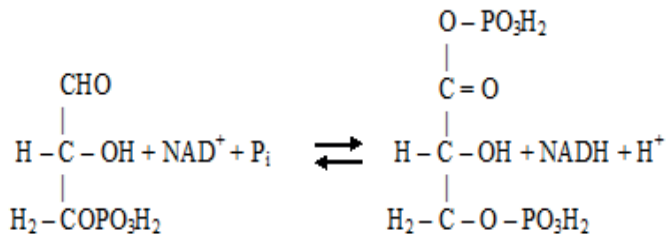
Glikoliz jarayonini aniqlash

Glyukoza ning anaerob yo‘l bilan parchalanishining mohiyati, glukoza 2 molekula sut kislotasiga parchalanishi va energiya ajralib chiqishidan iborat bulib, umumiy natijani quyidagicha yozish mumkin:



Agar bu jarayon glyukozadan boshlansa, birinchi bosqichda glukoza bilan ATF geksokinaza fermenti ishtirokida o‘zaro ta’sir etib, glukoza - 6 - fosfatni hosil qiladi. Glikogenning parchalanishi fosforilizdan boshlanadi, bu reaksiya anorganik fosfor va fosforilaza fermenti ishtirokida boradi. Reaksiya natijasida glukoza - 6 - fosfat hosil bo‘ladi, bunga fosfoglukomutaza fermenti ta’sir etib, glukoza - 6 - fosfatni hosil qiladi. Glukoza va glikogendan glukoza - 6 - fosfat hosil bo‘lgandan keyingi parchalanish bosqichlari bir xil bo‘ladi.

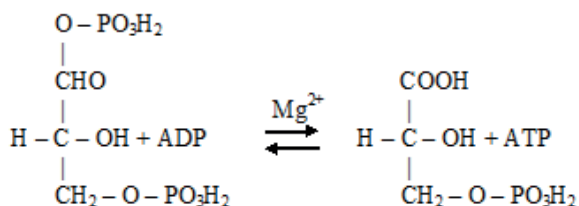
Glikolizning asosiy reaksiyalaridan biri fosfoglitseraldegidning oksidlanish reaksiyasi bo‘lib, reaksiya glitseraldegid - 3 -fosfatdehidrogenaza fermenti ishtirokida boradi. Bu ferment murakkab oqsil bo‘lib, koferment qismi nikotinamidadeninindukleotiddan (NAD⁺) iborat. Bunda fosfoglitserat - 3 - aldegid NAD⁺ va anorganik fosfor ishtirokida o‘ziga xos oksidlanish reaksiyasi orqali 1,3 - difosfogliserat hosil bo‘ladi.



1,3 - difosfoglitserat kislota fosfoglitseratkinaza fermenti ishtirokida ATF bilan perefosforlanish reaksiyasiga kirishadi, reaksiya natijasida 3-fosfoglitserat kislota va ATF hosil bo‘ladi.

Shunday qilib, bu reaksiyalar natijasida fosfoglitseraldegidning oksidlanish energiyasi bitta ATF molekulasining makroergik fosfat bog‘i shaklida to‘planadi.

Glitserataldegid - 3 - fosfatdegidrokinaza fermentiga monoyodasetat yoki monobromasetat ta'sir ettirilsa, ferment aktivligini yo'qotadi. Inkubatsion aralashmaga monoyodasetat qo'shilsa uglevodlarning parchalanish reaksiyasi aldolaza bosqichida to'xtaydi, chunki to'plangan 3-fosfoglitseraldegid reaksiyani fruktoza 1, 6 - difosfat hosil bo'lishi tomon borishini ta'minlaydi.



Oldingi reaksiyada, ya'ni fosfofruktokinaza ta'sirida fruktoza - 6 - fosfatdan fruktoza - 1,6 - difosfatni hosil bo'lish reaksiyasi qaytmasdir, shuning uchun oksidoreduktazalarning glikolitik reaksiyasini ingibrlantirilganda fruktoza - 1,6 - difosfat to'planadi.

Namunalarda glikoliz jarayoni qanday borganligini, inkubatsion aralashmaga monoyodasetat ishtirokida va uni qo'shmasdan turib, fruktoza 1,6 - difosfatning rezorsin bilan hosil qilgan rangning intensivligi solishtirib ko'riladi.

Reaktivlar. 1.Fosfat buferi, 0,1 M, pH-7,6. 2.Glikogenning 0,5 % li eritmasi, fosfatli buferda tayyorlanadi. 3. CH₃JCOOH ning 0,5 M eritmasi, pH-7,6 gacha neytrallanadi. 4. CC₁₃COOH ning 6 % li eritmasi.

Ishning borishi. Glikoliz jarayonida ishtirok etadigan fermentning manbai sifatida muskul gomogenati qo'llaniladi.

Muskul gomogenatini tayyorlash uchun kalamush so'yiladi. Muskulni biriktiruvchi yog' to'qimalaridan ajratiladi va chinni idishga solib, muz hammomiga qo'yiladi. So'ng qaychi bilan maydalanadi va hosil bo'lgan massa tortiladi. Tortib olingan muskul bo'tqasini gomogenizatsiya qilish uchun gomogenizatorning stakaniga solinadi, 6-7 hajmda (1 g muskul bo'tkasiga 6-7 ml) sovutilgan fosfat buferidan qo'shiladi. 1-2 minut gomogenizatsiya qilinadi. Gomogenizatsiya + 2° + 4° da olib boriladi. Hosil bo'lgan muskul gomogenati 4 qavatli doka orqali filtrlanadi va tajriba uchun ishlatiladi.

Tajriba uchun uchta probirka olinadi. Birinchi probirkaga muskul gomogenati qo‘shmasdan oldin 2 ml trixlorisirka kislotasidan solinadi va inkubatsiya qilinmaydi.

Tajriba olib borish uchun quyidagi sxema tayyorlanadi

Probirkalar Raqami	Glikogen, ml	CH ₂ JCOOH, ml	H ₂ O, ml	Muskul gomogenati, ml
1.	0,9	-	0,1	1
2.	0,9	0,1	-	1
3.	0,9	-	0,1	1

Ikkinchi va uchinchi probirkalar 90 minut 37°C da termostatda inkubatsiya qilinadi.

Inkubatsiyadan keyin ikkinchi va uchinchi probirkalarga ham 2 ml dan trixlorisirka kislotasidan qo‘shiladi hamda shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi. 10-15 minutdan keyin uchala namuna filtrlanadi. Hamma filtratlar fruktoza - 1,6 - difosfatni aniqlash uchun ishlatiladi.

Fruktozadifosfatni aniqlash fruktoza bilan rezotsinni hosil qilgan rangli reaksiyaga asoslangan. Buning uchun uchta probirka raqamlar bilan belgilanadi. Birinchi probirkaga 1-nomerli filtratdan, ikkinchi probirkaga 2- raqamli filtratdan, uchinchi probirkaga 3-raqamli filtratdan 1 ml solinadi. Hamma probirkalarga 0,1 % li rezorsinning 95 % li spirdagi eritmasidan 1 ml va 3 ml konsentrlangan xlorid kislota (solishtirma ogirligi 1,15) qo‘shiladi. So‘ngra shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi va 80° suv hammomiga 10 minut quyiladi. Namunalardagi paydo bo‘lgan rangning intensivligiga qarab fruktozadifosfat hosil bo‘lganligini bilish mumkin.

Hosil bo‘lgan fruktozadifosfatning miqdorini aniqlash uchun kalibrlangan grafik tuziladi. Grafik tuzish uchun turli miqdordagi fruktoza tutuvchi standart eritmalar tayyorlanadi. Asosiy eritmaning 1 ml 100 mkg fruktoza saqlaydi. Shu asosiy eritmadan 6 ta probirkalarga turli konsentratsiyadagi fruktoza eritmasi tayyorlanadi. Bu quyidagi ko‘rsatilgan sxema bo‘yicha tayyorlanadi.

Namunalardagi rang hosil bo‘lgandan keyin, spektrofotometrda 390 nm to‘lqin uzunligida ko‘riladi.

Probirkalar Raqami	Fruktoza, ml	H ₂ O, ml	Rezorsin, ml	HCl, ml
1.	0,2	0,8	1,0	3,0
2.	0,4	0,6	1,0	3,0
3.	0,6	0,4	1,0	3,0
4.	0,8	0,2	1,0	3,0
5.	1,0	-	1,0	3,0
6.	-	1,0	1,0	3,0

Grafik tuzish uchun namunalarning optik zichligi kattaligini ordinat o'qiga, abssis o'qiga fruktozaning miqdori quyiladi. Tekshirilayotgan namunalarning optik zichligiga qarab, grafikdan qancha miqdor fruktoza borligi aniqlanadi.

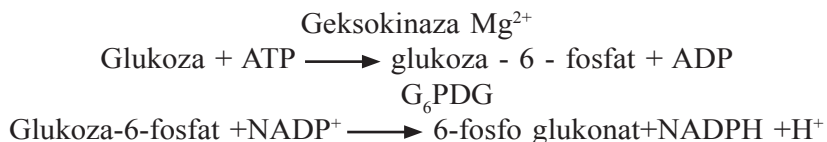
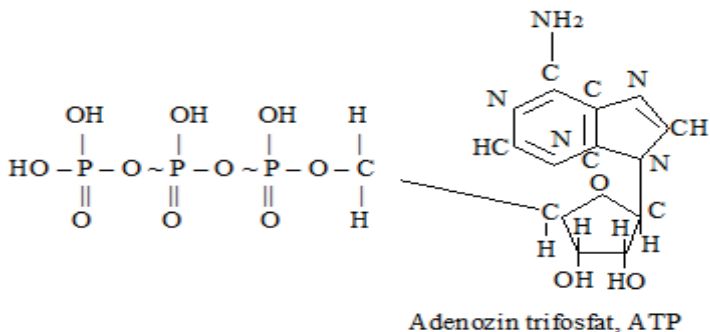
Namunalardagi fruktoza miqdorini aniqlash uchun, fruktozadifosfatning optik zichligi 1,9 koeffitsientiga ko'paytiriladi. Shundan keyin grafikdan tajriba namunalariidagi fruktoza miqdori hisoblab topiladi va namunalardagi glikoliz reaksiyasi qanday borganligi haqida xulosa yoziladi.

To'qimalardagi ATP miqdorini aniqlash

ATP energiyaga boy bo'lgan muhim komponentdir. Makroergik bog'lari, ya'ni ortofosfat orasidagi pirofosfat bog'lari uzilganda har biri 1 mol hisobiga 7000-8000 kal energiya ajratadi.

Hujayradagi ATP juda ko'p metabolik jarayonlarda ishtirok etadi. Masalan, juda ko'p fermentativ reaksiyalar ATP ishtirokida boradi: fosfofruktokinaza, sitratsinteaza, NAD-izotsitratdehidrogenaza va boshqalar. ATP shuningdek, oksidlanish, fosforlanish jarayonlarida ham ishtirok etadi.

Metodning mohiyati. ATP miqdorini to'qimalarda aniqlash Lamprext va Tratshold (1965) metodiga asoslangan. ATP geksokinaza ishtirokida glukozani fosforlaydi. Reaksiya natijasida glukoza - 6 - fosfat hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan glukoza - 6 - fosfat glyukoza - 6 - fosfatdehidrogenaza (G₆PDG) uchun substrat hisoblanadi.



Reaksiya tenglamasidan ko‘rinib turibdiki, reaksiya uchun sarf bo‘lgan ATP ning miqdori, glukoza - 6 - fosfatdehidrogenaza fermenti ta‘sirida hosil bo‘lgan NADPH miqdoriga ekvivalent, ya‘ni ekvimolyardir. U spektrofotometr bilan 340 nm to‘lqin uzunligida o‘lchanadi. Bu metod bilan yana reaksiyaning oraliq mahsuloti, glukoza -6 - fosfatni ham o‘lchash mumkin.

Kerakli asboblari: sentrifuga; spektrofotometr; suyuq azot; muz hammomi; hovoncha; 0,1 va 2 ml li pipetkalar.

Reaktivlar. 1. HClO₄ kislotasining 6% li eritmasi. 2. K₂CO₃ ning 5 M eritmasi. 3. Uchetanolamin buferi 0,05 M (pH 7,5). 4. MgCl₂ ning 0,1 M eritmasi. 5. NADP ning 7,5 M eritmasi. 6. Glukozaning 0,5 M eritmasi. 7. Geksokinaza (KF. 2.7.1.1.): 10-15 mg geksokinazani kristallidan olib, 1 ml distillangan suvda eritiladi. 8. Glyukoza - 6 - fosfatdehidrogenaza (KF 1.1.1.49) 3,3 M ammoniy sulfatdagi ferment suspenziyasini ishlatishdan olin distillangan suv bilan 5-10 marta suyultiriladi. 9. To‘qima.

Ishning borishi. To‘qima suyuq azotda muzlatiladi va hovonchada eziladi. Ezilgan to‘qimadan 500 mg olib, oldindan 1 ml 6% li HClO₄ kislotasidan solingan sentrifuga probirkalariga solinadi va muz hammomiga qo‘yiladi. Namunalardagi to‘qima: kislota -1:3,35 nisbatda bo‘lishi kerak. Probirkalardagi suyakliklar aralastiriladi va reaksiyalarning metabolitlari yaxshi ekstraksiya bo‘lishi uchun

10 minut muz hammomiga qo'yiladi. Shundan keyin 3000 ayl/tezligida 10 minut sentrifuga qilib, oqsillar cho'kmaga tushiriladi.

Oqsilsiz ekstrakt sentrifuga probirkasiga qo'yiladi. Ortiqcha HClO_4 kislotasini ajratish uchun, 1 ml kislotali ekstraktga 0,05 ml 0,5 M K_2CO_3 eritmasidan quyiladi, so'ngra namuna 10 minut muz hammomiga qo'yiladi, hosil bo'lgan cho'kma 5 minut 3000 ayl/tezligida sentrifuga qilib ajratiladi. Neytralizatsiya qilingan to'qima ekstrakti xona haroratida saqlanadi va fermentativ reaksiya uchun ishlatiladi.

Fermentativ analiz qilish uchun spektrofotometr kyuvetasiga (1 sm) 2,5 ml uchetanolamin buferidan, 0,05 ml NADP eritmasidan va 0,35 ml MgCl_2 eritmasidan solinadi, so'ngra 0,1 ml to'qima ekstraktidan qo'shib aralastiriladi va 3 minut keyin dastlabki optik zichligining kattaligi o'lchanadi (E_1). So'ngra namunaga 0,05 ml glyukoza - 6 - fosfatdegidrogenaza suspenziyasidan qo'shiladi hamda 5 minut keyin optik zichligi (E_2) o'lchanadi. Glukoza - 6 - fosfatdegidrogenaza qo'shilgandan keyin namuna optik zichligining ortishi to'qima ekstrakti tarkibidagi glukoza - 6 - fosfat oksidlanishiga bog'liq.

Kyuvetaga 0,4 ml glyukoza eritmasidan qo'shiladi va 30 sekunddan keyin optik zichligi o'lchanadi, optik zichligi kamayadi, chunki glukoza eritmasi qo'shilganda namuna suyuladi. 0,05 ml geksokinaza suspenziyasidan qo'shiladi va reaksiya tamom bo'lgandan (12-15 minutdan) keyin optik zichligi o'lchanadi (E_4). Namunaga geksokinaza qo'shilganda optik zichligining ortishi ekstrakt tarkibidagi ATP miqdori fermentativ reaksiyaga jalb qilinganligidan darak beradi.

Namunadagi ATP miqdori quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$X = \frac{\Delta\varepsilon V K}{6,22}$$

Formuladagi $\Delta\varepsilon$ -namuna optik zichligining o'zgarishi, fermentativ reaksiya sistemasida ATP sarflanishi bilan optik zichlik o'zgaradi, ya'ni $\Delta\varepsilon = E_4 - E_3$ ga teng, V-kyuvetadagi namunaning oxirgi hajmi (3,5). K namunaning 1 g to'qimaga nisbatan suyultirish koeffitsenti, bu holatda suyultirish koeffitsenti 41,6 tent. Suyultirish koeffitsenti quyidagicha hisoblanadi. 1g to'qimadagi oqsillarni cho'ktirish uchun 9 ml HClO_4 kislotasi qo'shiladi. To'qimadagi

suvning o'rtacha miqdori ham hisobga olinadi. 6,22-340 nm to'liq uzunligida piridin nukleotidlarini qaytarilgan formalarini mikromolyar ekstinksiya koeffitsenti. Kyuvetani kenglik qavati 1 sm. Ekstinksiyalarning farqiga qarab $\Delta\varepsilon = E_2 - E_1$, namunadagi glyukoza-6-fosfatning miqdorini hisoblash mumkin. Quyida kalamush to'qimalari tarkibidagi ATP ning miqdori mkmol bilan hisoblanadi.

Bosh miya.....2,65± 0,19

Jigar.....2,51± 0,31

Yurak.....2,31± 0,30

VI BOB. NUKLEIN KISLOTALAR

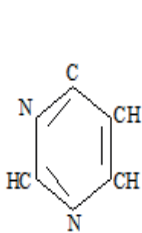
Nuklein kislotalar - DNK (dezoksiribonuklein) va RNK (ribonuklein) kislotalar organizmda hamma irsiy belgilarni saqlashda va oqsillar sintezida asosiy rol o'ynaydi. Dezoksiribonuklein kislota eukariotlarda (hayvonlar va o'simliklarda) asosan yadroda joylashgan.

Mitoxondriyalarda ham ozroq DNK mavjud. Euakriotlarning yadrosida bir necha pikogramm (pg) DNK bor: sut emuzuvchilarda 6 pg, qushlarda 2 pg.

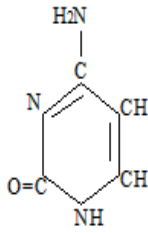
Ribonuklein kislotalarning uch turi bor: informatsion RNK (i-RNK), transport RNK (t-RNK), ribosomal RNK (r-RNK). Bular bir-biridan tarkibi, razmeri, funksional xossalari va hujayradagi joylanishiga qarab farq qiladi. RNK asosan hujayra sitoplazmasida, kamroq miqdorda yadroda uchraydi. Hujayrada RNKning bajaradigan funksiyasi oqsil molekullari sintezida qatnashishdan iborat.

Nuklein kislotalar (polinukleotidlar) - nukleotidlardan tuzilgan polimerlardir. Nukleotidlar uch komponentdan: azot asoslari (purin yoki pirimidin), uglevod komponentlari - pentoza (riboza yoki dezoksiriboza) va fosfor kislota qoldig'idan tuzilgan.

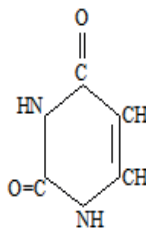
Pirimidin asoslari:



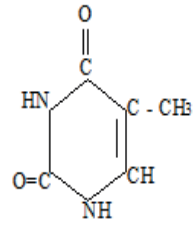
Pirimidin



Sitozin

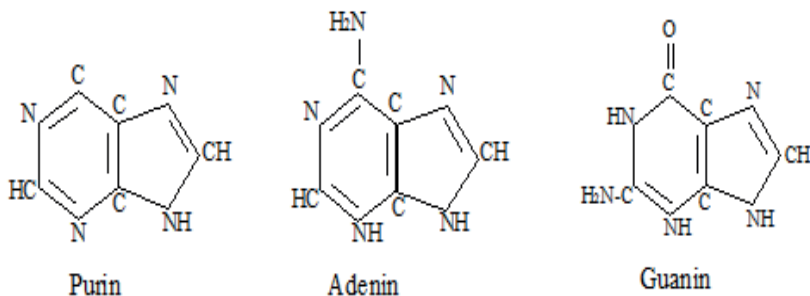


Uratsil

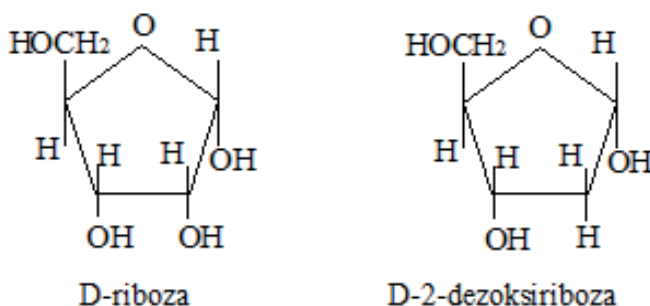


Timin

Purin asoslari:



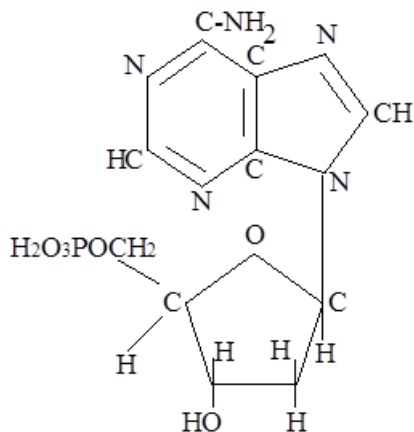
Tarkibida qanday pentoza borligiga qarab, nuklein kislotalar ikkita guruhga: RNK va DNK ga bo'linadi. RNK molekulasida riboza, DNK molekulasida esa dezoksiriboza bor.



RNK tarkibidagi azot asoslaridan adenin, guanin, sitozin va uratsil, uglevod komponentlaridan riboza mavjud. DNK tarkibida esa azot asoslaridan-adenin, guanin, sitozin va timin, uglevod komponentlaridan dezoksiriboza uchraydi. DNK - ikki spiral zanjirli polinukleotidlardan, RNK - bir spiralli zanjirdan iborat.

Nukleotidlar tarkibida adenin bo'lsa, adenilat, guanin bo'lsa guanilat, sitozin -sitodilat kislotasi deb ataladi.

Nuklein kislotalarining o'zi girolizlanganda birin-ketin nukleotidlarga, nukleotidlar esa o'z navbatida nukleozidlarga va fosfat kislotaga, nukleozidlar -azot asoslariga va uglevodlarga (riboza, dezoksiriboza) parchalanadi.



DNK ning sifat reaksiyasi

Dezoksiribozaga xos xarakterli sifat reaksiyasi natijasida DNK aniqlanadi. Bu reaksiya uchun ko‘pincha difenilamin ($C_6H_5-NH-C_6H_5$) qo‘llaniladi. Difenilamin dezoksiriboza va DNK bilan ko‘k rangli birikma hosil qiladi. Riboza va RNK difenilamin bilan yashil rangga kirishadi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar; suv hammomi.

Reaktivlar. 1. Difenilamin reaktivi: 1 g difenilamin 100 ml sirka kislotasida eritiladi, eritmaga 2,75 ml konsentrlangan sulfat kislotasi solinadi. 2. Natriy ishqorining 0,4 % li eritmasi.

Ishning borishi. DNK ning cho‘kmasidan ozgina probirkaga solinadi (DNK cho‘kmasini olish yuqorida izoxlangan) va 1 ml natriy ishqori eritmasidan qo‘shib eritiladi. Teng hajmda difenilamin reaktividan to cho‘kma eriguncha qo‘shiladi va 15-20 minut qaynab turgan suv hammomiga qo‘yiladi. Natijada ko‘k rang hosil bo‘ladi. Nuklein kislotalarining gidrolizi va gidroliz mahsulotlarining rangli reaksiyalari nukleoproteinlar bo‘limida to‘la ko‘rsatilgan.

Hayvon to'qimasidagi nuklein kislotalarining umumiy miqdorini aniqlash

Metod purin va pirimidin asoslari ultrabinafsha nurlarining 260-280 nm to'liq uzunligidagi qismini yutishga asoslangan. Hayvon to'qimasidagi umumiy nuklein kislotalarining miqdorini aniqlash metodini A.S.Spirin yaratgan bo'lib, kislotada eruvchi nukleotidlar sovutilgan 0,2 N perxlorat 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'liq uzunligida aniqlanadi va formula bo'yicha hisoblanadi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar; sentrifuga; spektrofotometr; suv hammomi.

Reaktivlar. 1. Perxlorat kislotasining 0,2 N va 0,5 N eritmasi.

Ishning borishi. 100-200 mg to'qima tortib, maydalanadi va sentrifuga stakaniga solib, o'nta 5-10 ml sovutilgan 0,2 N perxlorat kislotasi eritmasidan qo'shiladi. Stakanlardagi suyuqlik yaxshilab aralastiriladi, so'ngra 3000 ayl/min tezligida 5 minut sentrifuga qilinadi. Sentrifugat tashlab yuboriladi, cho'kmaga esa 5-10 ml 0,5 N HClO_4 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'liq uzunligida kontrol 0,5 N HClO_4 eritmasiga nisbatan o'lanadi, optik zichligi aniqlanadi. 1 ml tekshirilayotgan eritmaning nuklein kislotasidagi fosfor miqdori mkg da hisoblanadi.

$$C_{mkg} P_i = \frac{D_{270} - D_{290}}{0,19}$$

Bunda 0,19 -1 ml eritma nuklein kislota tarkibidagi fosforning (1 mkg) optik zichlik ko'rsatkichi.

Nuklein kislotalarning miqdori ularning tarkibidagi fosforga qarab hisoblanadi va bunda o'rtacha hisoblash koeffitsienti 10,3 qo'llanadi.

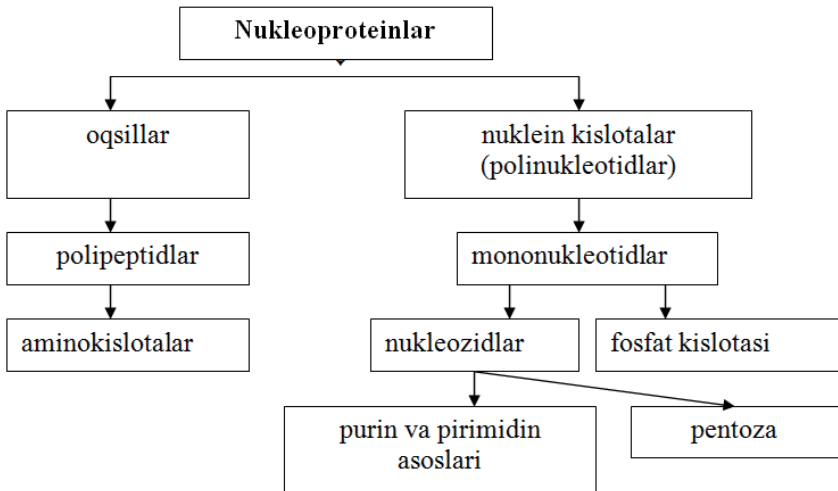
$$C_{mkg} NK = C_{mkg} P_i \cdot 10,3$$

10,3 - o'rtacha hisoblash koeffitsienti.

Nukleoproteinlar

Nukleoproteinlar prostetik guruhlarini nuklein kislotalar boʻlib, DNK yoki RNK dan iborat. Nukleoproteinlar ishqoriy sharoitda yaxshi eriydi va kislotalar taʼsirida choʻkmaga tushadi. Dezoksiribonukleoproteinlar kichik konsentratsiyali tuz eritmasida choʻkadi, yuqori konsentratsiyali tuzlar eritmasida esa eriydi.

Nukleoproteinlar suyultirilgan kislotalar bilan chala gidroliz qilinganda ulardan oqsil va nuklein kislota ajralib chiqadi. Nuklein kislotalarning oʻzi gidrolizlanganda birin-ketin quyidagi parchalanish mahsulotlari hosil boʻladi:



Dezoksiribonukleoproteinlarni jigar va taloqdan ajratib olish

Nukleoproteinlarning bu turi hujayra yadrosining eng muhim tarkibiy qismi hisoblanadi. Shuningdek, ular yadroning oqsillari deb ham ataladi. Jigar, taloq, oshqozonosti bezi, buyrak nukleoproteinlarga boydir. Yadro oqsillarining xarakterli xossasi - tuzlarning kuchli eritmalarda (natriy xlorid va boshqalar) yaxshi eriydi va kislotali eritmalarda esa choʻkmaga tushadi.

Kerakli asboblari: sentrifuga; qaychi; havoncha; 300 va 400 ml li stakan; 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. 4.Yog‘och tayoqcha.

Ishning borishi. 2-2,5 g jigar yoki taloq olib, qaychi bilan yaxshilab maydalanadi, so‘ngra havonchaga 5 % li natriy xlorid eritmasidan ozgina solib eziladi. Shundan keyin havonchaga ozozdan 70-80 ml osh tuzi eritmasidan solib, 10-15 minut davomida eziladi. Havonchadagi 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. Dezoksiribonukleoproteinlar 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.

DNK uchun rangli reaksiya

DNK uchun rangli reaksiya difenilamin bilan olib boriladi.

DNK bilan difenilamin ko‘k rangli birikmani hosil qiladi.

Kerakli reaktivlar: 1. Ajratib olingan DNK. 2. Difenilamin reaktivi: 1 g difenilaminga 100 ml sirka kislotasi solinadi. Shu eritmaga 2,75 g konsentrlangan sulfat kislotaga qo‘shiladi. 3. 0.4 % natriy ishqorining eritmasi.

Ishning borishi. Ajratib olingan 1 ml natriy ishqoridan qo‘shiladi. Shu eritmaga teng hajmda difenilamin eritmasidan qo‘shiladi. Cho‘kma hosil bo‘ladi va 15-20 minut qaynab turgan suv qatlamiga qo‘yiladi. Natijada ko‘k rang hosil bo‘ladi.

Nukleoproteinlarni achitqidan ajratib olish va ularni gidrolizlash

Nukleoproteinlarni o‘rganish uchun ko‘pincha achitqi zamburug‘laridan foydalaniladi. Qisqa muddat davomida achitqi zamburug‘lari kislotali gidroliz qilinsa, ular polipeptidlar, purin va pirimidin asoslari hamda riboza, dezoksiriboza va fosfor kislotasiga parchalanadi.

Natijada hosil bo'lgan mahsulotlar maxsus reaksiyalar yordamida aniqlanadi.

Ishning borishi. 2 g achitqi zamburug'ini chinni hovonchaga solib, 3-4 tomchi efir va 2-4 ml distillangan suv qo'shib eziladi. Yaxshi ezilishi uchun bir oz shisha kukunlaridan qo'shish mumkin. Achitqi bir xil massa hosil bo'lgunicha 1-2 minut davomida eziladi. Natriy gidroksidining 0,4 % li eritmasidan 8 ml qo'shib, 10-15 minut davomida eziladi. So'ngra hovonchadagi aralashma filtrdan o'tkazilib, filtratga 2-3 ml 5 % li asetat qo'shiladi. Bunda nukleoproteinlar cho'kmaga tushadi. Cho'kmani sentrifugalash yoki filtrlash usuli bilan ajratib olinadi va gidroliz qilinadi. Cho'kmani keng probirkaga solib, ustiga 6-10 ml sulfat kislotaning 10 % li eritmasidan qo'shiladi. Sovitkich sifatida uzunligi 25-30 sm shisha naycha o'rnatilgan probka bilan berkitib, qaynab turgan suvda 1 soat davomida gidrolizlanadi. Gidrolizatdan quyidagi ishlarni bajarishda foydalaniladi.

Eslatma. Nukleoproteinlarni achitqilardan ajratib olmasdan, ularni gidrolitik parchalash mumkin. Buning uchun 1 g presslangan achitqi kolbaga solinib, unga 30-40 ml 5 % li sulfat kislotasi eritmasidan qo'shiladi va kolba shisha trubka o'rnatilgan tikin bilan berkitilib, 1-1,5 soat qaynatiladi. Shundan so'ng kolba sovutilib filtrlanadi. Filtrat bilan ko'rsatilgan reaksiyalar bajariladi.

1. Polipeptidlar uchun filtrat bilan biuret reaksiyasi bajarib ko'riladi. Probirkaga 1-2 ml filtrat, 1-2 ml natriy ishqorining 10 % li eritmasi solinadi va 3-4 tomchi 1 % CuSO_4 qo'shib aralastiriladi, natijada oqsillar tarkibidagi peptid bog'i uchun xos binafsha rang hosil bo'ladi.

2. Purin asoslarini bilish uchun probirkaga 2 ml filtratdan solinadi, 5-6 tomchi konsentrlangan ammiak tomiziladi, so'ngra 0,5 ml kumush nitratning ammiakli eritmasidan qo'shiladi. Bir necha minutdan so'ng purin asoslari kumushli tuzining cho'kmasi hosil bo'ladi.

3. Pentozalar uchun Trommer reaksiyasi bajariladi. Riboza ishqoriy sharoitda mis sulfatni mis gidroksidigacha (CuOH) qaytaradi. Probirkaga 1-2 ml filtratdan va shunga teng hajmda natriy ishqoridan solib aralastiriladi, 2-3 tomchi mis sulfatdan qo'shib qizdiriladi.

Reaksiya natijasida mis gidroksidining (CuOH) qizil cho'kmasi

hosil bo‘ladi.

4. Fosfat kislotasi uchun reaksiya. Fosfat kislota molibdat reaktivi bilan sariq kristall fosfomolibdat kislotasining ammoniyli tuzini hosil qiladi:



Probirkaga 1-2 ml filtratdan solib, teng hajmda molibdat reaktividan qo‘shiladi va 2-3 minut qaynatiladi. Natijada fosfomolibdat kislotasining ammoniy tuzi sariq cho‘kma hosil bo‘ladi.

VII BOB. FERMENTLAR

Fermentlar tirik organizmlarning hamma hujayralari va to'qimalarning tarkibiga kirib, biologik katalizatorlik vazifasini bajaradigan spesifik oqsillardir. 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 aminokislotalardan tashkil topgan fermentlar bir komponentli fermentlar deyiladi. Masalan, ribonukleaza, tripsin, papain 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, spesifligi, muhit pHining 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 birikmaga ko'chirilishini ta'minlaydi.

3. Hidrolazalar-murakkab organik birikmalarning suv yordamida parchalanish reaksiyalarini katalizlaydi.

4. Liazalar-substardan 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-ATP yoki shunga o'xshash nukleozid trifosfatlar energiyasini hisobiga oddiy molekulalardan murakkab birikmalar hosil bo'lishi reaksiyalarni katalizlaydi.

Fermentlarning aktivligini aniqlashda kimyoviy usullar bilan bir qatorda spektrofotometrik, FEK, xromatografik va boshqa usullardan keng foydalanilmoqda.

Amilazaning kraxmalga ta'siri

Amilaza fermenti kraxmalni qandgacha parchalaydi. Amilaza fermenti soʻlakda, oshqozon osti bezining shirasida, qonda, jigarda uchraydi. Don oʻsimliklar amilaza fermentining eng muhim manbalaridan biri hisoblanadi.

Amilaza fermentining muhim manbalaridan biri don oʻsimliklari hisoblanadi. Ular quruq donda va ayniqsa unayotgan donlarning tarkibida koʻp miqdorda toʻplanadi. Unayotgan donlar tarkibidagi fermentlar eng yuqori aktivlikka ega boʻladi.

Kraxmal yod bilan koʻk rang beradi, uning parchalanishi natijasida hosil boʻlgan dekstrin zarrachalar katta-kichikligiga qarab yod bilan binafsha, qoʻngʻir - qizil, sargʻish va sariq ranggacha (yodning suvdagi rangi) oʻzgaradi. Shuning uchun agar kraxmal eritmasiga amilaza fermentidan qoʻshilsa, maʼlum vaqt ichida yod taʼsirida aralashma avval koʻk, keyin esa binafsha, qizil-sargʻish va sariq ranggacha oʻzgaradi.

Ishning borishi. 9 ta probirka olib har biriga 2-3 ml distillangan suv va bir tomchidan 1 % li yod eritmasidan quyiladi. Aloxida 10-probirkaga 2-3 ml kraxmalning 0,5 % li eritmasidan olib uning ustiga 1 ml ferment quyiladi. 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-probirkadagi aralashmadan solib chiqiladi. Probirkalardagi suyuqliklar yaxshilab aralastiriladi 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. Bordiyu ikkinchi probirkada binafsha yoki qizgish rang hosil boʻlsa, unda vaqtini tezlatish kerak, yaʼni har 15 sekundda solish kerak boʻladi. Probirkalardan biridagi sariq rang oʻzgarmay

qolsa, bu kraxmal gidrolizining tugaganligini bildiradi. Tajriba natijasi quyidagi jadvalga yoziladi.

Reaktivlar: So‘lak (so‘lakning distillangan suv bilan 10 marta suyultirilgani); ferment shirasi (5-10 gramm ungan yoki 5 kunlik don maysalari yaxshilab maydalanadi va kolbaga solinib ustiga 100 ml distillangan suv quyiladi. Yaxshilab aralashtirilib 30 minut davomida qoldiriladi, so‘ngra filtrlanadi. Filtrdan o‘tgan suyuqlik ferment shirasi hisoblanadi. Yodning 1 % li eritmasi, kraxmalning 0,5 % li eritmasi.

Amilaza fermentining kraxmalga ta’siri

Probirkalar	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Suyuqlik rangi hosil bo‘lgan mahsulot nomi									

α -Amilaza faolligini aniqlash

Metodning mohiyati α -amilaza (α -1,4D-glyukon-glyukano-gidraza, K F 3,2,1,1) kraxmaldagi 2-1,4- glikozid bog‘larni gidrolizlanish reaksiyasini katalizlaydi. Kraxmalning gidrolizlanish reaksiyasining oxirgi mahsuloti maltoza va maltotriozadan iborat.

Tavsiya qilinuvchi uslub asosida α -amilaza ta’sirida erimaydigan holatdagi, rangli kraxmalli substratning gidrolitik parchalanishi reaksiyasidan foydalaniladi, bu reaksiya suvda eruvchan xususiyatga ega bo‘lgan, erkin holatdagi, ko‘k tusli bo‘yoq ajralishi bilan birgalikda kechadi. Vaqt birligi davomida ajralib chiquvchi bo‘yoqning miqdori ferment faolligiga proporsional hisoblanadi.

Ishning borishi: α -amilazaning aktivligiga quyidagicha aniqlanadi. Tajriba avval nazorat probirkalariga 1 mldan substrat suspenziyasidan solinadi. Probirkalar 37° da 5 min davomida qizdiriladi, so‘ngra tajriba probirkalariga to‘qima supernatidan qo‘shilgach, nazorat probirkalariga 1 mldan distillangan suv qo‘shiladi. So‘ngra probirkalardagi moddalarni aralashtiriladi va va 15 minut 37° suv hammomiga inkubatsiyaga quyiladi, shundan keyin hamma probirkalarga 2 ml cho‘ktiruvchi eritmadan qo‘shib, 15 minut xona haroratida qoldiriladi.

Supernatadni ajratish uchun 3000 ayl/min 5-10 min davomida

sentrifuga qilinadi. Sentrifuga qilingan supernatant spektrofotometr kyuvetasiga optik zichligini oʻlchash uchun solinadi. Optik zichlik 590 nm nazoratga nisbatan oʻlchanadi.

Amilaza aktivligi quyidagi formula bilan hisoblanadi:

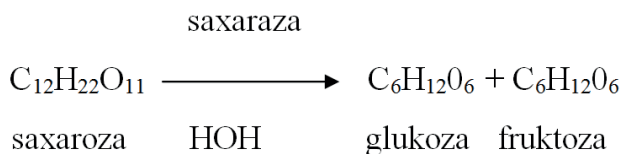
$$A = D \cdot 1083 (E/l).$$

A –aktivlik

D –tajriba probirkasidagi eritmaning yutish qiymati.

Saxaraza fermentining aktivligini aniqlash

Saxaraza (invertaza) fermenti saxarozani gidrolizlab glyukoza va fruktozagacha parchalaydi.



Saxaraza fermenti koʻpchilik oʻsimliklar tarkibida uchraydi. Ayniqsa u achitqi zamburugʻlarida koʻp boʻladi. Ferment aktivligining aniqlashda bir qator usullardan foydalaniladi. Bulardan biri yuqoridagi reaksiya mahsulotlarining qaytaruvchanlik xususiyatlariga asoslangan boʻlib, glyukoza va fruktoza tegishli kislotalargacha oksidlanadi, mis ionlari esa qaytariladi.

Ishning borishi. 2 ta probirkaga 1 ml dan 0,5 % li saxaroza eritmasidan solinadi. 1 probirkaga 1 ml suv, ikkinchisiga esa 1 ml saxaraza fermenti shirasidan qoʻshiladi va 15 minut 35°C inkubatsiyaga qoʻyiladi. Belgilangan vaqt tugagach, har ikkala probirkaga 2 ml natriy gidroksidning 20 % li eritmasidan va 5-6 tomchi mis sulfatning 2 % li eritmasidan qoʻshib qizdiriladi. Ferment taʼsir qilgan probirkada qizil choʻkma hosil boʻladi.

Reaktivlar: Saxaraza fermenti shirasi, shira achitqi zamburugʻlaridan olinadi. Buning uchun 5 gramm achitqi chinni hovonchada eziladi, soʻngra unga 5 ml distillangan suv qoʻshib ezish davom ettiriladi. Hovonchaga yana 10 ml issiq (60°) suv qoʻshiladi va 10 minut davomida eziladi. Bunda saxaraza fermenti eritmaga oʻtadi.

Aralashma filtdan o'tkaziladi, fitiratdan ferment shirasi sifatida foydalaniladi. Saxarozaning 0,5 % li eritmasi natriy gidroksidning 20 % li eritmasi, mis sulfatning 2 % li eritmasi.

Fermentlarning termolabilligi

Fermentlar oqsil tabiatiga ega bo'lgani uchun, ularning muhim xarakterli xossasi termolabilligi, ya'ni yuqori haroratga sezgirligidir. Fermentativ jarayonlar 70°C dan yuqori haroratda davom eta olmaydi.

80-100°C da fermentlar o'zining katalitik xossalarini butunlay yo'qotib qo'yadi, oqsil qismi denaturatsiyaga uchraydi. Hamma fermentlar uchun muayyan bir harorat bo'lib, bunda ferment yuqori aktivlikka ega bo'ladi. Issiq qonli hayvonlarning hujayra va to'qimalaridan ajratib olingan ko'pchilik fermentlar uchun eng qulay harorat 37-40°C dir.

O'simlik tarkibidagi fermentlarning harorat optimumi 40°-60° ga teng bo'ladi. Past (0° dan past) haroratlarda fermentlarning aktivligi pasayadi yoki butunlay to'xtaydi. Biroq bunda ular denaturatsiyaga uchramaydi.

Metodning prinsipi. Amilaza fermentining aktivligiga turli sharoitdagi haroratning ta'siri tekshiriladi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar; 50 ml li stakan; spirtovka; termostat; muz hammomi.

Reaktivlar. 1. Suyultirilgan so'lak (og'iz distillangan suv bilan chayib tashlanadi, keyin og'izga 10-15 ml suv solib 2-3 minut ushlab turiladi va stakanga solinadi). Amilaza fermenti shirasi. 2. 1 % li kraxmalning 0,3 % li natriy xloriddagi eritmasi. 3. Yodning kaliy yoddagi eritmasi (1 ml distillangan suvda 1 g kaliy yod eritiladi, eritma hajmini 300 ml gacha suv bilan olib boriladi). 4. Mis sulfatning ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 5 % li eritmasi.

Ishning borishi. Uchta probirkaga 1-2 ml dan suyultirilgan so'lak (amilaza) solinadi. Birinchi probirkadagi so'lak 2-3 minut qaynatiladi. So'ngra hamma probirkalarga 3-4 ml dan kraxmal solinadi. Birinchi va ikkinchi probirka 15-20 minut 37°C li termostatga inkubatsiyaga quyiladi. Uchinchi probirka 15-20 minut muz hammomiga quyiladi.

Inkubatsiyadan keyin har bir probirkadagi suyuqlik ikkiga bo‘linib, probirkalarga solinadi va A hamda B qatordagi probirkalar deb belgilanadi. A qatordagi probirkalarga bir necha tomchi yodning kaliy yoddagi eritmasidan solinadi, B qatordagi probirkalarga esa 20 % li natriy ishqoridan 2-3 ml va 3-4 tomchi 5 % li mis sulfat eritmasidan solib qizdiriladi, ya’ni Trommer reaksiyasi bajariladi. Tajribadan olingan natijalar jadvalga yoziladi va fermentlarning termobilligi haqida xulosa qilinadi.

Probirlarining raqami	Ferment	Tajriba sharoiti	Substrat	Inkubatsiya	A qator	B qator
					probirkalari	
1	Amilaza	Denaturatsiyaga uchragan fermentlar	Kraxmal	15-20 minut 37°C		
2	Amilaza	Nativ holatdagi ferment	Kraxmal	15-20 minut 37°C		
3	Amilaza		Kraxmal	15-20 minut 0°C muz hammomiga qo‘yiladi		

Fermentlar aktivligiga muhit pH ning ta’siri

Fermentlarning xarakterli xususiyatlariga ularning muhit pH ning o‘zgarishiga sezgirligi kiradi. Fermentlarning aktivligi pH qiymatiga qarab keskin o‘zgarib turadi. pH ning optimal qiymati turli fermentlar uchun bir xil emas. Masalan: pH ning optimal qiymati pepsin uchun 1,5-2,0; so‘lak amilazasi - 6,8-7,0; tripsin 7,8 ga teng. Ko‘pchilik fermentlar neytral yoki kuchsiz ishqorli yoki kuchsiz kislotali reaksiyada hammadan ko‘p aktivlikka ega bo‘ladi. Fermentlar izoelektrik holatda hammadan katta aktivlikka ega bo‘ladi. Optimal aktivlik zonasi doiralarda fermentlar zarrachalari elektr maydonida odatda katodga ham, anodga ham qarab harakatlanmaydi. pH ning o‘zgarishi ferment faoliyatini pasayishiga yoki butunlay to‘xtashiga olib keladi. Natijada fermentning aktiv markaz strukturasi buziladi.

Reaktivlar: 1.1% li yodning kaliy yoddagi eritmasi. 2. Kraxmalning 1% li eritmasi. 3. Xlorid kislotasining 0,2 N eritmasi.

Ishning borishi. 8 ta probirkaga 1 ml dan distillangan suv solinadi, so'ngra birinchi probirkaga 1 ml 0,2 N li xlorid kislotasi eritmasidan qo'shiladi va aralashtiriladi. So'ngra shu probirkadagi suyuqlidan 1 ml olinib, 2-probirkaga solinadi va aralashtirib, undan ham 1 ml olinadida, 3-probirkaga quyiladi va hokazo. 8-probirkadan 1 ml olinib to'g'rib tashlanadi. Shunday qilib, xlorid kislotaning har xil konsentratsiyasi hosil qilinadi, ular muhitning har xil pH qiymatiga to'g'ri keladi. Shundan keyin har bir probirkaga 2 ml dan 1% li kraxmal eritmasidan va 1 ml dan suyultirilgan so'lak eritmasidan qo'shiladi, probirkalar chayqatiladi va 20 minut 37°C da termostatga qyiladi. Sovutilgandan keyin hamma probirkalarga 1-2 tomchidan 1% li yodning kaliy yoddagi eritmasidan qo'shiladi. 5 va 6-probirkalarda kraxmalning to'la gidrolizi ro'y bergani belgilanadi, bu probirkalarda eritma muhitining pH 6,8-7,2 atrofida, shuning uchun amilaza optimal aktivlikka ega bo'ladi.

Fermentlarning o'ziga xosligi

Fermentlar biologik katalizator bo'lib, ular o'ziga xos ta'sir qilish xususiyatiga ega. Ularning bunday o'ziga xosligi tirik organizmlarga xos bo'lgan muhim xususiyatlardan biri hisoblanadi. Katalitik jarayonlarda ferment-substrat kompleksining hosil bo'lishi, fermentlarning oqsil molekulasini tuzilishiga, uning aktiv qismlari bilan substratning tegishli guruhlari o'rtasidagi kimyoviy bog'lar hosil bo'lishiga bog'liq. Har bir ferment ma'lum bir substratga yoki molekuladagi kimyoviy bog'ning ma'lum tipigagina ta'sir etadi. Shunday qilib, fermentlarning o'ziga xos xususiyati shundan iboratki, ferment substratga kalit qulfga tushganday mos kelishi zarur.

Metodning prinsipi. Amilaza va saxaraza fermentlarini turli substratga, ya'ni kraxmal va saxarozaga ta'siri tekshiriladi.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; pipetkalar; termostat, spirt lampasi.

Reaktivlar. 1.Kraxmalning 1 % li eritmasi. 2.Saxarozaning 2 % li eritmasi. 3.Suyultirilgan so‘lak; Amalaza fermenti shirasi. 4.Saxaraza (10 g achitqini 100 ml distillangan suvda gomogenezatsiya qilinadi). 5.Natriy ishqorining 20 % li eritmasi. 6.Mis sulfatning 5 % li eritmasi.

Ishning borishi. Birinchi va ikkinchi probirkalarga 2-4 ml kraxmal eritmasidan; uchinchi va to‘rtinchi probirkalarga 2-4 ml suyultirilgan so‘lak (amilaza), ikkinchi va to‘rtinchi probirkalarga 2-4 ml saxaraza fermenti solinadi, so‘ngra probirkalarni chayqatib, 20 minut 37°C li termostatga inkubatsiya qilish uchun qo‘yiladi. Inkubatsiyadan keyin 1 va 2-probirkalarga 1-2 tomchi yodning kaliy yoddagi eritmasidan tomiziladi. 3- va 4- probirkalarga 2-4 ml natriy ishqorining 20 % li eritmasidan, 2-4 tomchi mis sulfatning 5 % li eritmasidan solib qizdiriladi. Reaksiya natijalari jadvalga yozib, xulosa qilinadi.

Probirkalar raqami	Substrat	Ferment	Inkubatsiya	Yod bilan hosil bo‘lgan rang	Trommer reaksiyasi natijasi
1	Kraxmal	Amilaza	20 min. 37°C		
2	Kraxmal	Saxaraza	20 min. 37°C		
3	Saxaroza	Amilaza	20 min. 37°C		
4	Saxaroza	Saxaraza	20 min. 37°C		

Fermentlarning aktivligiga ta’sir qiluvchi moddalar (ingibitorlar va aktivatorlar)

Fermentlarning aktivligiga reaksiyon muhitda ishtirok etayotgan bir qator kimyoviy moddalar ham ta’sir ko‘rsatadi. Reaksiyon muhitda ba’zi bir ionlarning ishtirok etishi fermentativ reaksiya tezligini orttiradi. Bunday moddalar aktivatorlar deb ataladi. Aktivatorlik vazifasini ko‘pincha Na^+ , K^+ , Mg^{++} , Ca^{2+} kabi metall kationlari bajaradi. Fermentativ reaksiya aktivligini pasaytiruvchi moddalar ingibitorlar deyiladi. Ingibitorlarga sianidlar, og‘ir metall tuzlari misol bo‘la oladi.

Reaktivlar: so‘lak yoki amilaza fermentining shirasi (solod), natriy xloridning 0,04 % li eritmasi, mis sulfatning 0,1 % li eritmasi, kraxmalning 1 % li eritmasi, yodning 1 % li eritmasi.

Ishning borishi. Uch qagor (xar bir qatorda 6 tadan) probirka tayyorlab, hammasiga 1 ml dan suv quyiladi. Keyin har bir qatorning birinchi probirkasiga 1 ml dan amilaza fermenti shirasidan quyiladi. Pipetka yordamida 1-probirkadagi suyuqlik aralastirilib, aralashma 2-probirkaga olinadi va yana bir marta aralastirib 2-probirkadan 3-probirkaga solinadi va hokazo. Oxirgi 6-probirkadan 1 ml ortiqcha aralashma olib tashlanadi. Qolgan qatorlarda ham xuddi shunday qilinadi.

Birinchi qator probirkalariga 1 ml suv, ikkinchi qator probirkalariga natriy xlorid tuzining 0,04 % li eritmasidan, 1 ml uchinchi qator probirkalariga mis sulfat tuzining 0,1 % li eritmasidan 1 ml quyiladi. Keyin hamma probirkalarga 2 ml dan kraxmal solinadi va 10 minutga 40°C inkubatsiyaga quyiladi. Vaqt tamom bo'lgach hamma probirkalarga 2-3 tomchidan yod tomiziladi va aktivator hamda ingibitorlar ta'siri aniqlanadi.

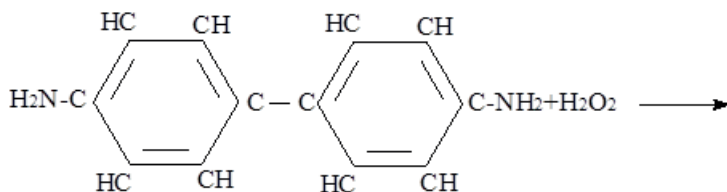
Peroksidaza aktivligini aniqlash

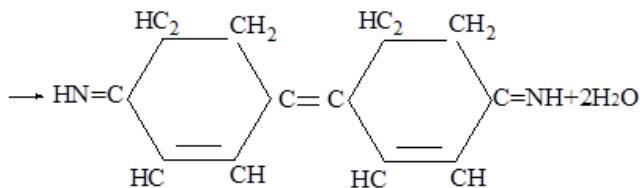
Peroksidaza hayvon va o'simlik to'qimalarida keng tarqalgan, kimyoviy tabiatiga ko'ra gemoprotein bo'lib, prostetik guruhining tarkibi temirporfirindan iborat. Ferment bir qator organik birikmalarni (fenollar, polifenollar, aromatik aminlar) vodorod peroksid ishtirokida oksidaanish reaksiyalarini katalizlaydi.

Metodning pitsipi. Peroksidaza benzidinni difenoxinondimigacha oksidlanish reaksiyalarini katalizlaydi:

Kerakli asboblari: 25 ml li kolbalar; pipetkalar; spektrofotometr.

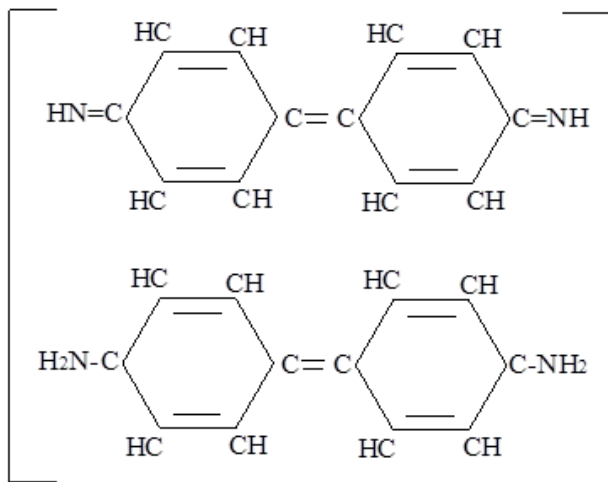
Reaktivlar. 1. Yangi qon. 1:1000 suyultiriladi. 2. 1 % li benzidinning sirka kislotadagi eritmasi.





Defenoxinondiimin

Difenoxinondiimin molekulasi benzidinning molekulasi bilan kondensiyalanib, ko'k rangli birikma hosil qiladi.



Benzidin ko'ki

3. Vodorod peroksidining 3 % li eritmasi. 4. Natriy ishqorining 30 % li eritmasi. 5. Etil spirti. 6. 0,01 N kaliy permanganatning eritmasi. 7. Standart eritma, 25 ml li kolbaga 2 ml 1 % li benzidin eritmasi, 3 ml 0,01 N kaliy permanganatning eritmasidan qo'shiladi va 10 minut qoldiriladi, shundan keyin 10 ml 30 % natriy ishqorini eritmasidan solinadi hamda kolba belgisigacha spirt quyiladi. Bu eritma ferment aktivligini aniqlashdan oldin tayyorlanadi.

Ishning borishi. 25 ml kolbaga 2 ml benzidin eritmasi, 2 ml 3 % li vodorod peroksidi va 1 ml suyultirilgan qon solinadi. Kolba chayqatilgach, 3 minutdan keyin 10 ml 30 % li natriy ishqori eritmasidan qo‘shiladi va kolba yana chayqatiladi. Bo‘yalgan cho‘kma hosil bo‘ladi, uni spirtda eritilgach kolba belgisigacha spirt qo‘shiladi. Tekshirilayotgan va standart eritmalardagi rangning intensivligi spektrofotometrda o‘lchanadi.

Fermentning aktivligi quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$X = \frac{h_2 \cdot 25}{h_1 \cdot 5}$$

Bunda h_1 - standart eritmaning optik zichligining ektenksiyasi;
 h_2 - tekshirilayotgan eritmaning optik zichligining ektenksiyasi;
25 - kolbadagi eritmaning hajmi, ml; 5 - kolbadagi benzidin, vodorod peroksidi va qonning hajmi, ml.

Peroksidaza aktivligini ferrosianid kaliy bilan aniqlash

Peroksidaza fermentining faolligini aniqlash uchun vodorod peroksidning oksidlanishi sharoitida rangli mahsulotlar hosil bo‘lishida anorganik va organik moddalardan foydalaniladi. Ushbu tadqiqot ishi davomida peroksidaza fermentining substrati sifatida o – dianizidin va kaliy ferrosianid tanlab olingan bo‘lib, peroksidaza tavsifidagi oksidlanish mahsulotlarining yutilishi maksimum qiymati 460 va 420 nm ga teng hisoblanadi, bunda mos ravishda mollyar yutilish koeffitsiyenti qiymati – 30 va 1mM-1sm-1 ni tashkil qiladi.

Foydalanilgan buyumlar: pH – metr, fotoelektrokolorimetr yoki sfektrofotometr, sentrifuga. Kimyoviy idishlar: 0,1ml hajmdagi 3 dona pipetka, 0,2 ml hajmdagi 1 dona pipetka, 5ml hajmdagi 1 dona pipetka; 50ml hajmdagi 2 dona kolba, 500ml hajmdagi 3dona kolba, 1 dona probirka. Reaktivlar: 0,1 M natriy – fosfatli bufer; pH 7,0; 4,3mM o – dianizidin; 25mM kaliy ferrosianid, 15,4 mM vodorod peroksidi; supernatant.

Reaktivlarni tayyorlash tartibi: Bufer eritma tayyor holatdagi 0,1M Na_2HPO_4 va 0.1M NaH_2PO_4 eritmalarini pH – metr yordamida pH qiymati 6 ga kelgunga qadar aralashtirish usulida tayyorlanadi.

O – dianizidin eritmasi (1,05 mg/ml) quruq holatdagi 52,5 mg modda torozida tortib olinib, 50ml hajmdagi 96%li etanolda eritish yo‘li bilan tayyorlanadi. Bunda modda isitilganda yaxshi eriydi. Teyyorlangan eritma rangsiz va yengil tarzda pushti tusga ega bo‘lishi talab qilinadi. Kaliy ferrosianid eritmasi (9,2mg/ml) quruq holatdagi moddani 460 mg miqdorini tarozida tortib olib, 50ml hajmdagi distillangan suvda eritish yo‘li bilan tayyorlanadi. Vodород peroksid eritmasi – 15,4 – 15,8 mM suvli eritmani sfektrometr yordamida yutilish qiymati 1,12 – 1,15 birlikda bo‘lishi asosida, 230 nm (ye = 72,7 M – 1sm - 1) to‘lqin uzunligi sharoitida tayyorlandi.

Supernatant tayyorlash

1gramm barg yoki ildizni olib, gomogen massa hosil bo‘lguncha maydalanadi va 50% spirt 1:20 nisbatda aralashtiriladi. Ekstraktni 24 soat +40 ga qoldiriladi, so‘ngra maydalanmagan hujayra, yadro va boshqalardan ajratish uchun filtrlanadi yoki 7000 aborotda 20 – 15 minut +4C°ga sentrifuga qilinadi. Hosil bo‘lgan filtrat bilan tadqiqot olib boriladi .

Ishning borishi:spektrofotometr kvetasiga ketma – ketlikda 2,6ml 0,1M natriy fosfat buferi pH – 6,0; 0,1ml supernatant; 0,1 ml 25mM ferrosianid eritmasi solinadi va aralashtiriladi. So‘ngra kyvetaga reaksiyani boshlash uchun 0,1ml 15,4mM periks vodorod qo‘shiladi va yana aralashtiriladi, 2 minut davomida har 15 – 20 sekunda spektrofotometrda 420 nm da o‘lchanadi. Va quyidagi formula asosida topiladi:

$$A_0 = \frac{dDV_1V_2}{dtPV_3l}$$

Bu yerda:

dD – optik zichligi;

dt – reaksiyaning vaqti;

P – olingan obyektning massasi – g;

V₁ – ekstraktning hajmi – ml;

V₂ – kvetaning eritmasining hajmi – ml;

V₃ – kvetaga solingan supernatantning hajmi;

l – kvetaning kengligi – sm .

Glutamatdegidrogenaza fermentining aktivligini aniqlash

Glutamatdegidrogenaza (α -glutamat: NADP-oksidoreduktaza, K.F.1.4.1.3.) mitoxondriyaning ichki membranasiga va matriksiga joylashgan. Bu ferment - substratning oksidlanishi, vodorod ajratilishi bilan boradigan reaksiyalarni katalizlaydi. Donordan ajralib chiqadigan vodorod turli akseptorlarga ko'chiriladi. Ferment aktivligini aniqlash NADPH ni oksidlanish yoki NADP⁺ qaytarilish tezligi bilan o'lchanadi.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; sentrifuga; gomogenizator; muz hammomi; spektrofotometr; pipetkalar.

Reaktivlar. 1. 0,25 M saxaroza eritmasi. 2. 0,05 M Na, K - fosfatli bufer, pH 8,2. 3. 0,5% li triton X-100 eritmasi, Na₂ K fosfatli buferda tayyorlanadi. 4. 0,25 M saxaroza tris -HCl buferi, pH 8,2. 5. 10⁻³ M EDTA eritmasi. 6. 18X10⁻⁴ M NADP eritmasi. 7. 0,75 M glutamin kislotasining eritmasi. 8. To'qima.

Ishning borishi. Glutamatdegidrogenazaning aktivligi mitoxondriya fraksiyalarida aniqlanadi. Mitoxondriyani ajratish uchun 0,5 g to'qima olinadi va qaychi bilan maydalanadi. To'qimani gomogenizatsiya qilish uchun 0,25 M saxarozaning 0,1 M EDTA dagi eritmasi ishlatiladi. To'qimaning 1:10 nisbatidagi gomogenati tayyorlanib, 12000 ayl/min. da 10 minut sentrifuga qilinadi. Cho'kmani tashlab yuboriladi, suyuqlik qismini 12000 ayl/min. da 10 minut sentrifuga qilinadi. Olingan cho'kma ikki marta 0,25 M saxaroza eritmasi bilan yuviladi, shundan keyin triton X-100 eritmasi bilan mitoxondriyaning membranasini buziladi, buning uchun 1 ml triton X-100 eritmasidan va 1 ml mitoxondriya fraksiyasidan olinib gomogenizatsiya qilinadi, so'ngra 20 minut muzga qo'yiladi. Mitoxondriya suspenziyasini 30 minut 12000 ayl/min. sentrifuga qilinadi. Cho'kma tashlab yuboriladi, suyuqlik bilan glutamatdegidrogenazaning aktivligi aniqlanadi.

Ferment aktivligini aniqlash uchun qo'yidagicha inkubatsion aralashma tayyorlanadi (bitta namunaga ml hisobida):

0,25 M saxaroza, tris HCl bufer	0,6
EDTA	0,3
Suv	1,7
NADP	0,1

Spektrofotometr kyuvetasiga 2,7 ml inkubatsion aralashma va 0,1 ml mitoxondriyaning ekstraktidan solinadi. Reaksiya inkubatsion aralashmaga 0,2 ml 0,75 M glutamin kislotasini qo‘shish bilan boshlanadi. Namunaning optik zichligi har 15 sekundda 1,5-2 minut vaqt davomida o‘lchanadi.

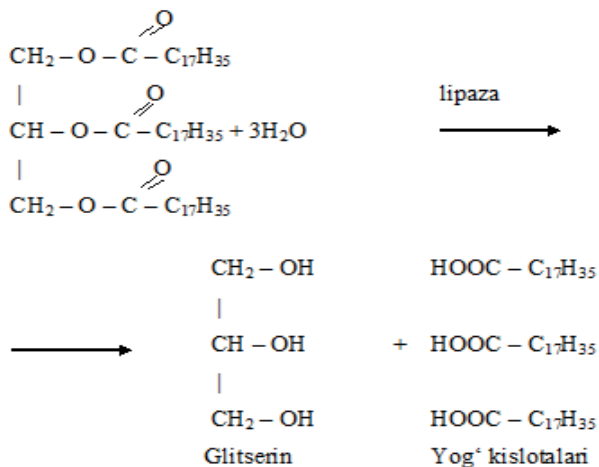
Glutamat degidrogenaza aktivligi (mk mol. NADP /min./ 1 mg oqsil) quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$X = \frac{\Delta E \cdot V \cdot 1000}{6,2 \cdot a}$$

Bunda ΔE -1 minut davomidagi eritmaning optik zichligining o‘zgarishi; V -namunaning umumiy hajmi (3 ml); a-namunadaga oqsilning miqdori, mg; 6,22 -qaytarilgan piridinnukleotidlar formasining 340 nm to‘lqin uzunligidagi mikromolyarlik ekstinksiya koefitsienti.

Lipaza aktivligiga safroni ta’siri

Sutga ozroq lipaza qo‘shiladi va fenolftalein ishtirokida aralashma pushti rang hosil qilguncha ishqor qo‘shiladi, keyin 37° li suv hammomiga qo‘yilganda suyuqlik asta-sekin rangsizlanadi. Safro qo‘shilganda rangsizlanish tezlashadi. Bu shundan dalolat beradiki, lipaza o‘t kislotalarining tuzlari ta’sirida aktivlashadi.



Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; suv hammomi.

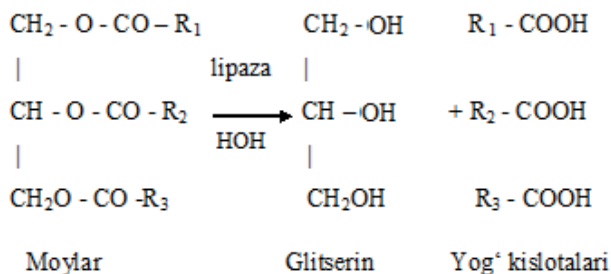
Reaktivlar. 1. Qaynatilgan sut suvda suyultiriladi. 2. Natriy karbonatning 10 % li eritmasi. 3. Fenolftaleinning 0,5 % li eritmasi spirtida tayyorlanadi. 4. Safro. 5. Lipaza ekstrakti -ya'ni oshqozon osti bezining ekstrakti - oshqozon osti bezi yog'laridan tozalanadi, mayda qilib qirqiladi va 5 marta ko'p suv qo'shib hovonchada eziladi. Hosil bo'lgan ekstrakt doka orqali filtrlanadi.

Ishning borishi. Ikkita probirkaga 1 ml sut solinadi va 1-2 tomchidan fenolftalein eritmasidan qo'shiladi. Har bir probirkaga to pushti rang hosil bo'lguncha natriy karbonat eritmasidan tomchilab qo'shiladi va ayni paytda 2-4 tomchi lipaza ekstraktidan solinadi. Birinchi probirkaga bundan tashqari 1-2 tomchi safro qo'shiladi. Probirkalardagi suyuqliklar chayqatilib, 37°C suv hammomiga quyiladi, fenolftaleinni safroli va safrosiz tajribalar rangsizlanish vaqti kuzatiladi.

Lipaza fermentining aktivligini aniqlash

Lipaza fermenti o'simliklarda keng tarkalgan bo'lib, ayniqsa ular moyli o'simliklar urug'ida ko'p bo'ladi. Unayotgan chigit tarkibida ham lipaza fermentining aktivligi eng yuqori bo'ladi.

Lipaza fermenti moylarni yog' kislotalari va glitseringacha parchalaydi.



Lipaza fermenti ta'sirida yog' kislotalarining miqdori ortadi, shuning uchun ferment aktivligi reaksiyon muhitning nordonligini titrlash usuli bilan topiladi.

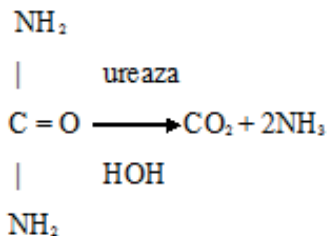
Ishning borishi. Lipaza fermentini olish uchun 2-3 kunlik boʻrtgan kanakunjut magzidan 2 gramm olib, chinni xovonchada bir xil massa hosil boʻlguncha maydalangan shisha yordamida eziladi va 5 ml 0,2 M asetat bufer (pH - 4,8) qoʻshib hajmi 100 ml boʻlgan kolbaga qoʻyiladi. Kolbaga 2 ml toza paxta moyi qoʻshib 2 soatga 40°C inkubatsiyaga qoʻyiladi. Bu vaqt davomida kolbani 3-4 marta yaxshilab chayqatib turiladi. Vaqt tugagach, kolbaga 20 ml 96 % li etil spirti va 20 ml efir solinadi. 2-3 tomchi fenolftalein qoʻshib, 0,1 N kaliy gidroksidi yordamida titrlanadi.

Kontrol xam xuddi tajribaga oʻxshash tayyorlanadi, faqat inkubatsiyaga qoʻymasdan darhol titrlanadi.

Reaktivlar: 2-3 kunlik boʻrtgan chigit magʻzi, asetat bufer, 0,2M eritmasi (pH-4,8) paxta moyi, etil spirtining 96 % li eritmasi, efir, fenolftalein, kaliy gidroksidining 0,1 N eritmasi.

Ureazani aktivligini aniqlash

Ureaza fermenti mochevinani karbonat angidrid va ammiakgacha parchalaydi.



Mochevina

Ishning borishi. Soya yoki tarvuz urugʻining magʻzidan 5 gramm olib, chinni hovonchada yaxshilab un hosil boʻlguncha eziladi. Soʻngra 2 ta probirka olib, har biriga 1 g soya yoki tarvuz urugʻining unidan solinadi. 1-probirkaga 1 ml suv, 2-probirkaga 1 ml mochevinaning 1 % li eritmasi quyiladi. Probirkalar 40°C da 15 minut davomida inkubatsiyaga qoʻyiladi.

Keyin har ikkala probirkaga 1-2 tomchidan fenolftalein tomi-ziladi. 2-probirkadagi muhit ferment ta'sirida hosil bo'lgan ammiak hisobiga ishqoriy muhit bo'lib, pushti rangga ega bo'ladi.

Reaktivlar: soya va tarvuz urug'lari, mochevinaning 1 % li eritmasi, fenolftalein.

Pepsin fermenti ta'sirida oqsillarning parchalanishi

Pepsin - oqsillarning me'dada o'zgarishiga sabab bo'ladigan eng muhim proteolitik ferment bo'lib, me'da shirasida uchraydi. Me'da shilliq pardasining hujayralari pepsinogen ishlab chiqaradi, pepsinogen me'da shirasidagi xlorid kislota ta'sirida aktiv proteolitik ferment - pepsinga aylanadi. Pepsin uchun optimal vodorod ionlari konsentratsiyasi pH -1,5-2,5 ga teng bo'ladi. Kislotali muhitda (pH-1,5-2,5) u oqsillarni gidrolitik peptonlargacha parchalaydi. Pepsin oqsil molekulasining ichida, o'rtalaridagi peptid bog'larini uzadi. Pepsin, asosan aromatik aminokislotalarning aminoguruhdari hosil qilgan bog'larni va Ala-Ala, Ala-Ser kabi peptid bog'larni uzadi.

Me'da shilliq pardasining hujayralari pepsinogen ishlab chiqaradi, pepsinogenning fiziologik sharoitlarda pepsinga aylanishi avtokatalik jarayondir. Pepsinogenning molekula ogirligi 42500 ga, pepsinniki esa 34500 ga teng. Aktivlanish jarayonida pepsinogendan 6 ta polipeptid ajralib chiqadi.

Shunday qilib, xlorid kislota pepsinni ta'sir qilishi uchun optimal sharoit yaratadi. Undan tashqari bu kislota ta'sirida oqsillar shishib, denaturatsiyaga uchraydi, natijada ularning hazm bo'lishi osonlashadi. Oqsillarning pepsin ta'sirida hazm bo'lishi fibrin misolida ko'riladi, ya'ni pepsin ta'sirida suvda eriydigan pepton hosil bo'ladi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; suv hammomi; 5 ml li pipetka.

Reaktivlar. 1.Fibrin. 2. 0,1 % li pepsinning 0,2 % li xlorid kislotadagi eritmasi. 3. 0,25 % li xlorid kislotasi eritmasi. 4. 10% li natriy karbonat eritmasi. 5. Mis sulfatning 1% li eritmasi. 6. 10 % li natriy ishqorining eritmasi.

Ishning borishi. To'rtta probirka olib, birinchisiga 4 ml xlorid kislota eritmasidan, ikkinchisiga 4 ml pepsinni xlorid kislotadagi

eritmasidan, uchinchi probirkaga soda bilan neytrallangan pepsinning xlorid kislotasidagi eritmasidan 4 ml, to'rtinchi probirkaga esa pepsinning xlorid kislotadagi eritmasini qaynatilib sovutilgan eritmasidan 4 ml solinadi.

Har bir probirkaga fibrinning kichik-kichik bo'laklaridan solinadi, so'ngra hamma probirkalar bir vaqtda 37-40°C li suv hammomiga qo'yiladi. 30 minutdan keyin reaksiyalar natijasi tekshiriladi. birinchi probirkada fibrin xlorid kislota ta'sirida shishib ketganligi kuzatiladi, ikkinchi probirkada pepsinning xlorid kislotasidagi eritmasi ta'sirida fibrin inkubatsiyadan keyin erib ketganligini ko'rish mumkin. Uchinchi probirkadagi fibrin o'zgarishsiz qoladi, chunki pepsin neytral muhitda aktiv holatda bo'lmaydi. To'rtinchi probirkadagi fibrin xlorid kislota ta'sirida bo'kib qoladi, chunki qaynatilganda pepsin o'z biologik holatini yo'qotadi.

Hamma probirkalardagi suyuqliklar filtrlanadi, har bir filtrat bilan biuret reaksiyasi bajariladi va olingan ma'lumotlardan xulosa yoziladi.

Tirozinaza fermnetining aktivligini aniqlash

Tirozinaza fermenti oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini analiz qiluvchi fermentlarga mansub bo'lib, o'simliklar tarkibida keng tarqalgan. Ular o'simlik mahsulotlarida rangli moddalar melaninlarni hosil bo'lishida muhim ahaiyatga ega.

Reaktivlar: kartoshka, tirozinning 0,1 % li eritmasi (0,1 g tirozin 100 ml 0,01 N Na_2CO_3 eritmasida kuchsiz qizdirilib eritiladi).

Ishning borishi. Kartoshka qirg'ich yordamida maydalanib, 2-3 qavat doka orqali siqib shirasi olinadi. Ikkita probirkaga 1 ml dan kartoshka shirasi solinadi. 1-probirkaga 2-3 tomchi suv, 2-probirkaga 2-3 tomchi tirozinning 0,5 % li eritmasi qo'shiladi. Probirkadagi suyuqlik yaxshilab aralashtirilib, 60 minut davomida 40°C inkubatsiyaga qo'yiladi. Vaqti-vaqti bilan 3-4 marta probirkalar yaxshilab aralashtirilib turiladi. Vaqt o'tgach tirozin qo'shilgan probirkada qora rang hosil bo'ladi. Bu rang tirozinaza fermenti ta'sirida tirozindan hosil bo'lgan melaninga xosdir.

Fosfotaza fermentining aktivligini o'simliklarda aniqlash

Fosfotaza fermenti o'simlik dunyosida keng tarqalgan bo'lib, moddalar almashinuvi jarayonida katta ahamiyatga ega. Bu ferment gidrolazalar sinfiga mansub bo'lib, fosfor kislotasining murakkab efitrlarini gidroliz qilishda ishtrok etadi.

G'o'zaning turli qismlarida uchraydigan fosfotaza fermentlari har xil muhitda ko'rsatadigan ta'siriga qarab, «ishqoriy fosfotazalar» (pH optimumi 8 dan yuqori) va «Nordon fosfotazalar»ga (pH optimumi 6 dan past) bo'linadi.

Reaktivlar: tris-bufer eritmasi (ilovaqa qarang), natriy glitserofosfatning 0,05% li eritmasi, uchxlorasetat kislotaning 10 % li eritmasi.

Ishning borishi. Undirilgan (3-5 kunlik) chigit o'simtalaridan 1-3 gramm tortib olinadi va chinni hovonchada 1-5 ml, tris - bufer yordamida (pH-5,5 yoki pH-9,0) bir xil massa hosil bo'lguncha eziladi. Hosil bo'lgan gomogenat minutiga 1500-3000 tezlikda 10 minut davomida sentrifugalanadi. So'ngra sentrifugatni hajmi 10 ml ga etkaziladi. Bu eritma fosfotaza fermentining manbai hisoblanadi.

2 ta probirka olib, har biriga 1 ml bufer eritmasidan va natriy glitserofosfatning 0,05 % li eritmasidan 1 ml dan solinadi. Birinchi probirkaga ferment eritmasidan 2 ml qo'shib 37°C ga suv hammomiga 30 minut davomida qo'yiladi. Ikkinchi probirkaga esa uchxlorasetat kislotasining 10 % li eritmasidan 2 ml solinadi va uning ustiga 2 ml ferment eritmasidan qo'shiladi. Ikkinchi probirka ham suv hammomiga qo'yiladi. Vaqt tugagach birinchi probirkaga ham uchxlorasetat kislotasining 10 % li eritmasidan 2 ml qo'shiladi. So'ngra har ikkala probirka 10 minut davomida minutiga 3000 tezlikda sentrifugalanadi. Sentrifugatda fosfor miqdori kolorimetrik usulda aniqlanadi. Tajriba va kontrol probirkadagi fosfor miqdorining farqi fermentning aktivligini ko'rsatuvchi belgi hisoblanadi.

VIII BOB. VITAMINLAR

Vitaminlar - kichik molekulyar og'irligidagi moddalar bo'lib, organik birikmalarning turli sinflariga kiradi. Vitaminlar - hayvonlar, mikroorganizmlar, o'simliklarning eng muhim fiziologik va biokimyoviy jarayonlarida ishtirok etadi. Ularning ko'pchiligi ikki komponentli fermentlarning prostetik guruhlari - kofermentlar tarkibiga kiradi.

Organizmدا qandaydir vitaminlarning butunlay bo'lmasligi avitaminozga, ya'ni butun organizmning ma'lum vitaminning yo'qligiga xarakterli belgilar bilan kasalligiga sabab bo'ladi. Ko'pincha vitaminlarning qisman etishmovchiligi hollari - gipovitaminozlar uchraydi, ular birlamchi va ikkilamchi bo'lishi mumkin. Vitaminlar haddan tashqari ko'p iste'mol qilinganda organizmning intoksikatsiyasi ro'y beradi, bu gipervitaminozlar deb ataladi.

Hozirgi vaqtda ayrim vitaminlar va ularning xillari o'ttizga yaqin. Vitaminlar ovqatning turli komponentlariga bog'lig bo'lishiga qarab, faqat eruvchanligi asosida, ikkita katta guruhga; suvda eriydigan va yog'da eriydigan vitaminlarga bo'linadi.

Yog'da eriydigan vitaminlar guruhiga A, D, B va K vitaminlar kiradi.

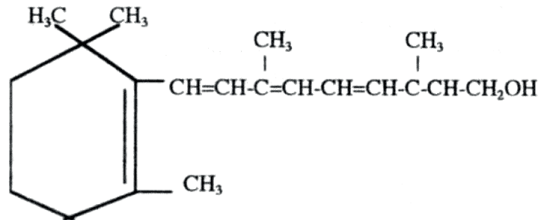
Suvda eriydigan vitaminlar guruhiga B - vitaminlar guruhi: B₁ -tiamin, B₂ -riboflavin, PP -nikotinamid, B₆ -piridoksin, H - biotin, pantotinat va paraminobenzoat kislota, xolin, inozit, folat kislota, B₁₂ -siankobalamin, B₁₅ -pangamat kislotasi: C vitamin (askorbat kislota); P vitaminlar kiradi.

Yog'da eriydigan vitaminlar. Bu guruh vitaminlarga A, D, B, K guruhidagi vitaminlar va boshqalar kiradi. Vitaminlar, har bir guruhiga ximiyaviy tuzilishi yaqin bo'lgan o'xshash biologik ta'sir ko'rsatuvchi qator birikmalar kiradi. Masalan, A vitamin guruhida A₁, A₂ vitaminlar va boshqalar; E vitamin guruhida 4 ta vitamin bo'ladi: D vitamin guruhida ularning soni 10 ga yaqin.

A 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 hayvonlar ichagining shilimshiq pardasida parchalanib, A vitaminiga 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 emirilishi - keratomalyatsiya paydo bo'lganligini kuzatish mumkin. A vitamin biologik membranalarning struktura komponentlari hisoblanadi, jigarda oqsil biosintezini stimulyatsiya qiladi, mukopolisaxaridlarning sintezida ishtirok etadi, suyak to'qimalarining taraqqiyotida va yorug'likni sezish jarayonlarida ishtirok etadi.



A vitamin (retinol)

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar.

Reaktivlar. 1. Baliq yog'i. 2. Xloroform. 3. SbCl₃ to'yingan (33% li) eritmasi. 4. Konsentrlangan sulfat kislotasi.

Ishning borishi. 1. Surma (III) - xloridi 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 baliq yog'idan solinadi, 20-25 tomchi xloroformda eritiladi va 1 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi qo'shib chayqatiladi. Natijada ko'k va binafsha rang hosil bo'ladi.

Umumiy karotinoidlarni aniqlash

Umumiy karotinoidlar Rachevskiy metodi bilan aniqlanadi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ, pipetkalar; chinni idish; 40°C suv hammomi, byuretka.

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

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

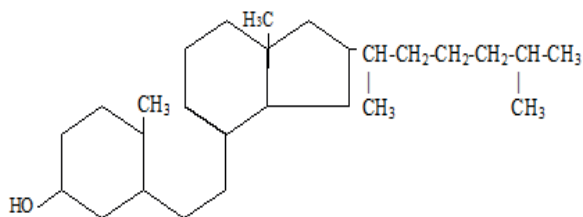
$$\frac{0,05 \cdot 2 \cdot 100}{0,5 \cdot 1,0} = 200 \text{ мкг} (0,2 \text{ мкг} \%)$$

D guruh vitaminlari

D guruh vitaminlari (Kalsiferollar) kimyoviy tuzilishiga ko'ra, steroidlarga o'xshash birikmalar bo'lib, tabiatda ko'p tarqalgan, biologik aktivligi eng yuqori bo'lgan vitaminlar (D₂ va D₃)dar.

Ergosterol va xolesterol D₂ va D₃ vitaminlarning provitami hisoblanadi. Hayvon organizmidagi vitaminlar ultrabinafsha nurlari ta'sirida sterollardan sintezlanadi. Organizmda D vitamini etishmasa raxit kasalligi paydo bo'ladi. Chunki suyak to'qimalarida fosfor va kalsiy almashinuvi buziladi. Bunda oshqozon-ichak yo'llarida kalsiy va fosforning so'rilishi buziladi. Natijada suyakda anorganik tuzlar etishmaganligidan 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.



D₃ vitamin (Xolekalsiferol)

D guruh vitaminlarining rangli reaksiyalari

Reaktivlar. 1. Anilin. 2. Konsentrlangan xlorid kislotasi. 3. SbCl₃ ning 21-23 % li xloroformdagi eritmasi. 4. Sirka anhidridi. 5. Vitaminlashtirilgan baliq moyining 10 % li xloroformdagi eritmasi. b. 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, qizdariladi va u qizil rangga kiradi.

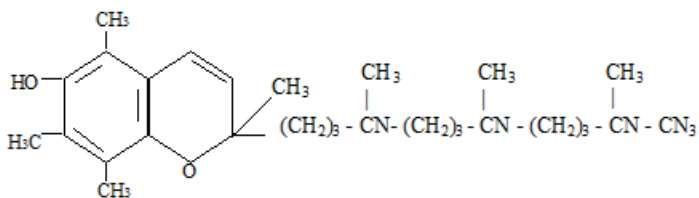
Surma (III)- xlorid bilan reaksiyasi. Quruq probirkaga 3-6 ml baliq yog‘ining xloroformdagi eritmasidan solib, 8-10 tomchi sirka anhidridi va shuncha miqdorda SbCl₃ ning xloroformdagi eritmasidan qo‘shiladi. Suyuqlik sariq yoki to‘q sariq rangni hosil qiladi.

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

E vitamini (Tokoferol)

Tabiatda tokoferollar (E vitamini) ko‘p bo‘lib, biologik ahamiyatga ega bo‘lganlari α , β va γ tokoferollardir.

Ularning hammasi xroman tuzilishining benzol xalqasida metil va gidroksil guruhdari hamda yon shox-fitol guruhini saqlaydi.



α - tokoferol

E vitamini o‘simliklar tarkibida, ayniqsa makkajo‘xori, g‘o‘za, bug‘doy, namatakda uchraydi, ularning yashil qismlarida hamda urug‘ kurtagida ko‘p bo‘ladi. E vitamini ko‘payish vitamini deb ataladi. E vitamini suvda erimaydi. U issiqqa ayniqsa, chidamli, shuningdek, kislotalar ta‘siriga ham chidamli, oson aniqlanadi va ultrabinafsha nurlar ta‘sirida buziladi. Bu o‘z navbatida erkak va urg‘ochi hayvonlarniyag jinsiy a‘zolarida turli patologik o‘zgarishlarga sabab bo‘ladi. Hayvonlar organizmida E vitamini etishmasa, oqsil, yog‘ va uglevodlar almashinuvi buziladi. E avitaminozining xarakterli belgilaridan biri targ‘il ‘chiziqli muskullarda kuzatiladigan distrofiya hodisasidir. Bunda muskullarning chiziqlari yo‘qoladi, tolalari ingichkalashadi, emiriladi va nobud bo‘ladi, natijada ulardagi moddalar almashinuvida ham ma‘lum buzilishlar ro‘y beradi. E-vitamini ko‘pgina birikmalarni oksidlanib ketishdan saqlaydi va antioksidantlar sifatida ishlatiladi.

Vitamin E ning miqdorini aniqlash

Kerakli asboblari, tadqiqot materiallari:

FK, suv hammomi, ajratuvchi varonka 200ml; yumaloq shakldagi kolbalar 100 va 250ml, qaytar havoli xolodilnik bilan; o‘lchovli kolbalar - 25ml (2 dona); o‘lchovli slindrlar qopqoqli - 25ml (4dona); turli hajmdagi pipetkalar– 1, 2 va 5ml.

Tadqiqot materiallari:

1. Kaliy ishqori 60% li – 100ml tayyorlash uchun 60g kaliy ishqori olib 100ml gacha H₂O bilan etkaziladi;

2. Etil spirti 96%li;
3. Dietil efiri;
4. Natriy sulfat (kuydirilgani);
5. Etil spirti (absolut);
6. Azot kislotasi (d – 1,4)
7. α – tokoferolning spirtidagi standart eritmasi 100dan to 400mg gacha 1ml da (1ml).

Ishning borishi:

1. Qaytar xolodilnik o‘rnatilgan yumaloq kolbaga 100ml tadqiqot materialidan solinadi.

2. Unga 25ml 60% li kaliy gidroksidining eritmasidan va 20ml 96 % li etil spirtidan qo‘shiladi va 2 soat qaynab suv hammomiga qo‘yiladi.

3. Olingan gidrolizat sovutiladi va unga 20ml suv quyiladi va ajratuvchi varonkaga qo‘yiladi. Ajratilgan α – tokofel uch marta (1 marta 50 ml; 2 marta 25ml efir bilan) yuviladi.

4. Birikmani so‘ngra 3 – 4 marta distillangan suv bilan ajratuvchi varonkadan ishqor to‘liq chiqib ketguncha (fenolftalin) yuviladi va kuydirilgan natriy sulfat bilan (6-7g) to‘tiniq eritma hosil bo‘lguncha qshiladi.

5. Hosil bo‘lgan ekstraktni 100ml kolbaga filtrlanadi, cho‘kmani filtradagini kichik miqdordagi efir bilan yuviladi, uni ham asosiy ekstraktga qo‘shiladi. Efirni suv hammomida bug‘lantiriladi, hosil bo‘lgan quruq cho‘kmani 5ml absolut spirt da eritiladi va 1ml konsentrlangan azot kislotada eritiladi.

6. Kolbani qaytar xolodilnik bilan berkitiladi va 3 minut α – tokoferolni oksidlanguncha qizdiriladi.

7. Kontrol sifatida absolut spirt qo‘llaniladi, ya‘ni 5ml spirt va 1ml azot kislotani qo‘shib, 3 minut davomida qaynab turgan suv hammomida qizdiriladi.

8. Ikkila kolbani sovutiladi va 15 minut qorong‘i joyga qo‘yiladi, so‘ngra tajriba va kontrol reaksiyalar aralashmasini 25ml o‘lchovli kolbalarga solinadi va absolut spirt bilan 25ml hajmga etkaziladi. Optik zichligi 470nm li spektrofotometrda kontrolga nisbatan o‘lchanadi va vitamin E ning miqdorini kalibrlangan grafikdan aniqlanadi.

9. Kalibrlangan grafik tuzish uchun har bir seriya uchun standart eritmadan ma‘lum konsentratsiya olinadi (5ml uchun hisoblab)

va 1ml konsentrlangan nitrat kislotadan qo'shib, qaynab turgan suv hammomiga 3minut qo'yiladi. Kontrolga nisbatan o'lchanadi va kalibrlangan grafik tuziladi.

10. Vitamin E ni quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$C = \frac{x \cdot v \cdot d}{a \cdot 1000}$$

Bu yerda:

C – vitamin E miqdori 1g tekshirilayotgan materialdagi (mg);

x – kalibrlangan grafikdagi topilgan 1ml eritmadagi vitamin E ning miqdori (mkg) ;

v – tekshirilayotgan eritmaning umumiy hajmi (ml), barcha suyultirilganlar inobatga olinadi;

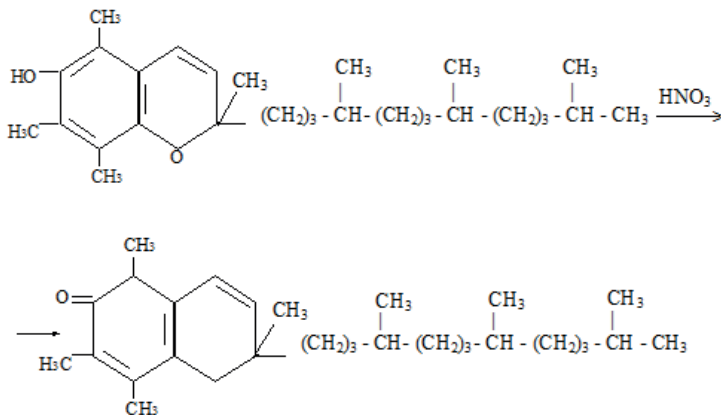
a – materianing massasi (g);

1000 – mikrogramming milligramga o'tkazish koeffisienti.

E vitaminining rangli reaksiyalari

1. Nitrat kislotasi bilan reaksiyasi.

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



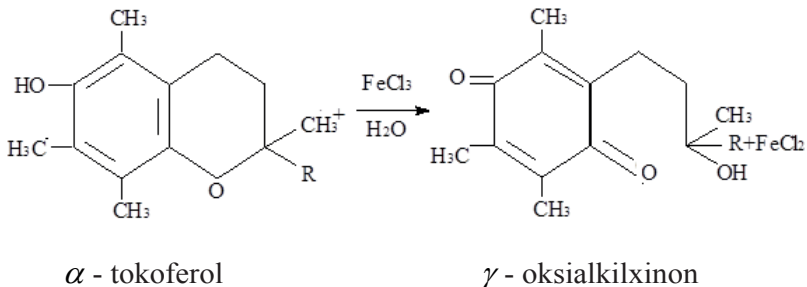
O-tokoferilxinon

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar; suv hammomi.

Reaktivlar. 1. Konsentrlangan nitrat kislotasi. 2. E vitaminining yog'dagi eritmasi. 3. Distillangan suv.

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, yani temir -III - xloridi temir -II -xloridgacha qaytariladi, temirni II valentli ioni bilan ortofenantrolin kompleks $Fe(C_{12}H_{13}N_2)_3^{2+}$ ionni hosil qiladi, shuning natijasida eritma qizil rangga bo'yaladi. Tokoferollar temir xlorid bilan oksidlanganda piran halqasi uzilib γ -oksialkilxinon hosil bo'ladi.

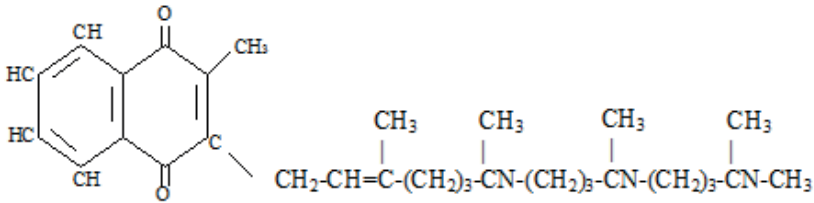


Reaktivlar. 1. E vitaminining yog'dagi eritmasi. 2. 0,2 % li temir xloridning spirtidagi eritmasi. 3. 0,5 % li ortofenantrolin spirtidagi eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga 1-2 ml E vitaminining yog'dagi eritmasidan solib, 1 ml ortofenantrolin eritmasidan va tomchilab temir xloridning eritmasidan qizil rang hosil bo'lguncha qo'shiladi.

K vitamini

Organizmida K vitamini etishmasa, teri ostita va muskullar orasiga qon quyuladi (gemorragiyalar) va qonning ivish tezligi pasayadi. K vitaminining etishmasligi 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. K vitaminlar hayvon organizmida sintezlanmaydi. Mikroorganizmlar va o'simliklarda sintezlanadi. Ular ayniqsa, beda, ismaloq, karam barglarida ko'p bo'ladi.



K₁ vitamin (2 metil-3 fitil-1,4-naftaxinon)

K guruhga kiradigan vitaminlar 2 metil-1,4 neftoxinonlar hosilasidir.

K vitaminining sifat reaksiyalari

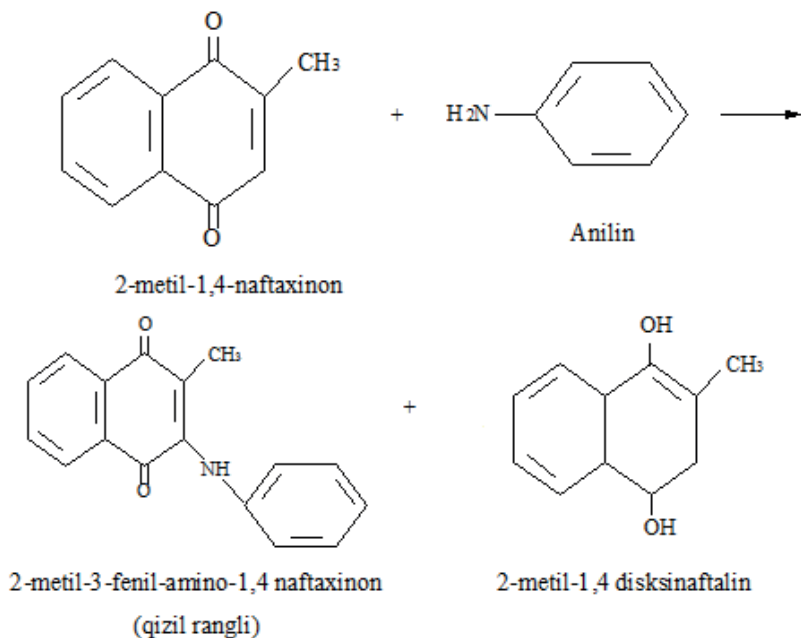
Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; pipetkalar.

Reaktivlar. 1. 0,1% li vikasolning spirtidagi eritmasi. 2. K vitaminining sintetik analoglari. 3. Sisteinning 0,025 % li eritmasi. 4. 10 % li natriy ishqorining eritmasi. 5. Dietilmelon efrining 1 % li eritmasi. 6. Kaliy gidroksidining 1 %li eritmasi. 7. Anilin.

1) Sistein bilan reaksiyasi. Probirkaga 1 ml 0,1 % li vikasolning spirtidagi eritmasi solinadi. So'ngra 2 tomchi 0,025 % 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 dietilmalon efridan va 0,1 ml 1 % li kaliy gidroksididan aralashiriladi. 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 aralashiriladi. Aralashma qizil rangga kiradi.



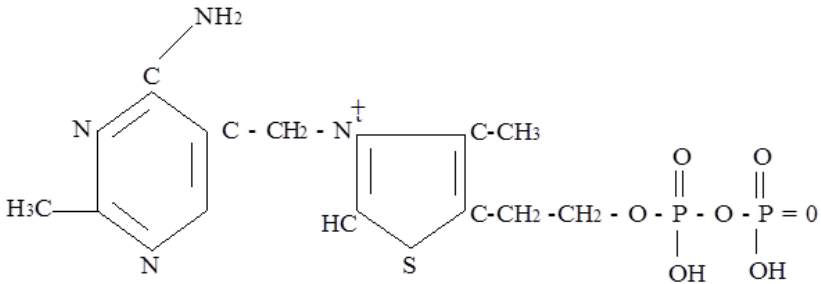
Suvda eriydigan vitaminlar

Suvda eriydigan vitaminlar guruhiga B vitaminlar kompleksi, C va P vitaminlari kiradi. Bu birikmalarning tarkibi va xossalari har xil bo'lib, ularning umumiy biologik roli o'xshashdir, ular moddalar almashinuvi fermentlari sistemalarida koferment vazifasini bajaradi.

B₁ vitamin

Bu vitamin (Tiamin) tarkibida oltingugurt (grekcha tio) va aminoguruhni 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.

B₁ vitamini hayvon to'qimalarida asosan erkin holda bo'lmay, balki tiamin pirofosfat ko'rinishida uchraydi. Ichakdan so'rilib o'tgan erkin vitamin to'qimalarda fosforlanib, tiaminpirofosfat shaklini hosil qilib, pirouzum kislotaning dekarboksillanishini kataliz qiluvchi karboksilaza fermentining kofermenti-kokarboksilazani tashkil qiladi.



Tiaminpirofosfat (kokarboksilaza)

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 vitamining sifat reaksiyasi. Tiamin diazobenzol-sulfokislotasining ta'sirida birikma hosil qilib, bu birikma pushti yoki sariqpushti rangga ega bo'ladi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar.

Reaktivlar. 1. Sut. 2. B₁ vitamining 0,001 % li suvdagi erit-

masi. 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‘i idishda saqlanadi. 5. B - eritmasi (natriy nitratning 5 % li eritmasi). 6. Diazoreaktiv (bu reaktiv tajribadan oldin tayyorlanadi), 50 ml hajmdagi kolbani muzli hammomga o‘rnatiladi, 1,5 ml A - eritmasidan 7,5 ml hajmda B-eritmasidan tomchilab solinadi va 15 minutdan keyin ishlatish mumkin.

Ishning borishi. Probirkaga 2 ml natriy gidroksididan va 3 ml diazoreaktiv eritmasidan solinadi. Hosil bo‘lgan aralashmaga 24 ml sut qo‘shiladi. Natijada probirkada sariq-pushti rang hosidl bo‘ladi.

B₂ vitamini

B₂ vitamin (riboflavin) -organizmda oksidlanish-qaytarilish jarayonlarida ishtirok etadigan fermentlarning aktiv guruhlari tarkibiga kirib, substratlardan vodorod atomining

sitoxrom sistemaga yoki molekulyar kislorodga ko‘chirilishini ta‘minlaydi. Bu fermentlar organik kislotalar, aminokislotalar va boshqa birikmalarning oksidlanish reaksiyalarini katalizlashda ishtirok etadi.

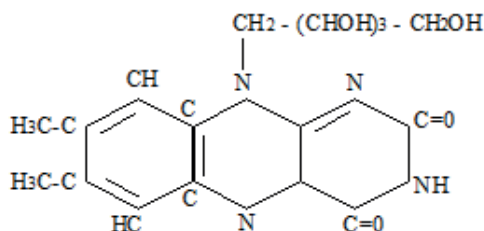
B₂ vitaminning asosini dimetilizoalloksazin tashkil etib, ribiotol spirtining qoldig‘i bilan bog‘langan, shuning uchun riboflavin yoki 6,7 - dimetil - 9 (1-d- ribitil) - izoalpoksazin deb atash mumkin.

Riboflavin o‘simlik va hayvon mahsulotlarida keng tarqalgan. Riboflavin avitaminozi bo‘yning o‘sishdan to‘xtashi, terining yallig‘lanishi-dermatit, ko‘z muguz pardasining vaskulyarizat-siyalanishi (ko‘z muguz pardasida qon tomirlarini o‘sib ketishi), soch to‘kilishi, tomir urishining siyraklanishi, nerv sistemasining falajlanishi bilan namoyon bo‘ladi.

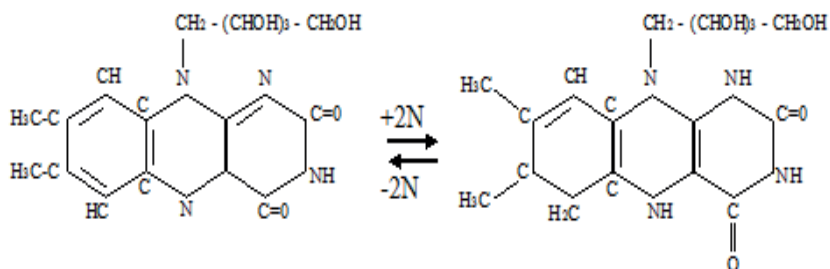
Riboflavinning sifat reaksiyalari

Riboflavinning qaytarilishi. Riboflavin oson oksidlanadi va qaytariladi. U vodorod bilan qaytarilganda rangsiz birikma -

leykoflavin hosil bo‘ladi, oksidlanganda esa riboflavinga aylanadi.



Riboflavin (B₂ vitamin)



Riboflavin

Leykoflavin

Reaktivlar. 1.Riboflavinning 0,015 % li eritmasi (qora rangga bo‘yalgan idishlarda saqlanadi). 2.Konsentrlangan xlorid kislotasi. 3.Rux metali.

Ishning borishi. Probirkaga 1 ml riboflavinning eritmasidan olinadi va 10 tomchi konsentrlangan xlorid kislotasi hamda rux metalining bo‘lakchasi qo‘shiladi, so‘ngra probirka tiqin bilan berkitiladi. Ajralib chiqqan vodorod vitamin bilan reaksiyaga kirishib, uni qaytaradi va eritmani rangini o‘zgartiradi (sariq, qizil va pushti), keyin rangsizlanadi.

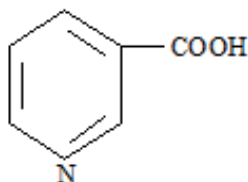
Kumush nitrat bilan reaksiyasi. Riboflavinning neytral yoki kuchsiz kislotali eritmasiga (pH 6,5-7,2) kumush nitrat ta‘sir ettirilsa, hosil bo‘lgan birikma pushti yoki qizil rangda bo‘ladi.

Reaktivlar. 1.Riboflavinning 0,015 % li eritmasi. 2.Kumush nitratning 0,1 % li eritmasi.

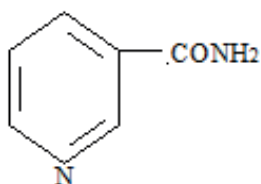
Ishning borishi. Probirkaga 1 ml riboflavinning eritmasidan so-
linadi va 0,5 ml kumush nitrat eritmasidan qo‘shiladi. Natijada pushti
yoki qizil rang hosil bo‘ladi.

B₅ vitamini

Nikotin kislota yoki uning amidi antipellagrik vitaminidir. Nikotin
kislota suv va spirtda yaxshi eriydigan kristallik oq moddadir.



Nikotin kislota



Nikotin kislota amidi

Organizmدا B₅ vitamini (PP vitamini, nikotinamid) etishmasa
dermatitlar, me‘da-ichak faoliyatining buzilishiga va og‘iz hamda
til shilliq pardalari yallig‘lanishiga, nerv faoliyatini izdan chiqishiga
olib keladi. Bu vitamin achitqilarda va bug‘doy kepagida, mol va
cho‘chqalarning jigarida ancha ko‘p bo‘ladi. O‘simliklar va ba‘zi
mikroblar, shuningdek, ba‘zi hayvonlar (kalamushlar) ham B₅
vitaminlarini sintezlay oladi.

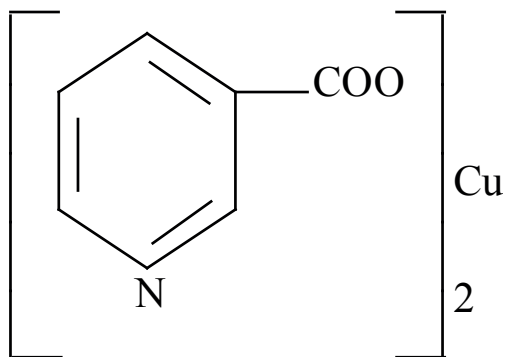
Nikotin kislota, uning amidi, moddalar almashinuvida muhim
rol o‘ynaydi. To‘qimaning nafas olishini katalizlaydigan bir qancha
koferment guruhlarining (NAD, NADP) tarkibiga nikotin kislota
amidi kiradi.

B₅ vitaminining sifat reaksiyalari

Mis asetati bilan reaksiyasi. Nikotin kislota, sirka kislotali
sharoitda mis tuzlarining ta‘sirida, ko‘k rangli nikotin kislotaning
misli tuzini hosil qiladi.

Rektivlar. 1.Nikotin kislotasining 0,75 % li eritmasi. 2.Sirka kislotasining 15 % li eritmasi. 3. Mis asetatning 5 % li eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga 2 ml nikotin kislotasining eritmasidan solib, unga 1 ml 15 % li sirka kislotasining eritmasidan qo‘shiladi va qaynaguncha qizdiriladi, shundan keyin 1,5 ml mis asetat eritmasidan solinadi. Probirkada avval havo rang loyqa, so‘ngra ko‘k cho‘kma nikotin kislotasining misli tuzi hosil bo‘ladi.



Mis nikotinati

Natriy gidrosulfit bilan reaksiyasi. Nikotinamidga gidrosulfit ta’sir etganda sariq rangli 1,4 digidropiridin nikotinamidli hosilasi paydo bo‘ladi.

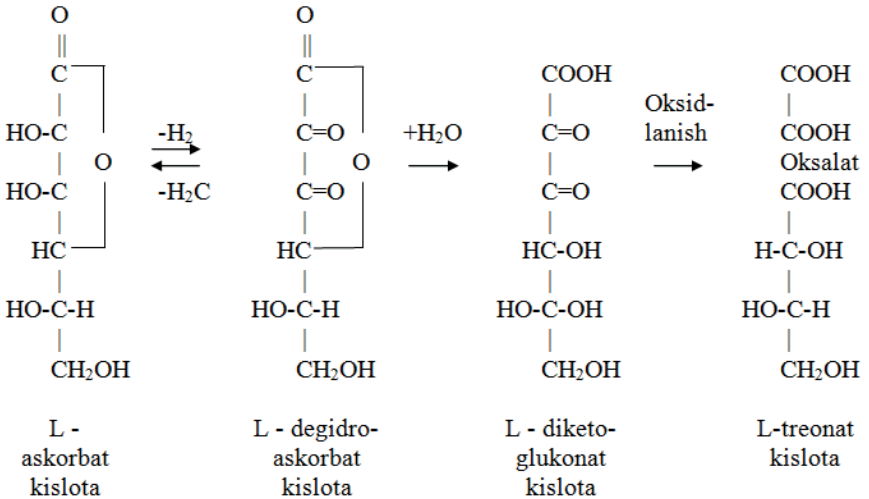
Reaktivlar. 1.Nikotin kislotasi yoki nikotin kislotasining amidi (kukun holatda). 2.Natriy gidrokarbonatning 10 % li eritmasi. 3. Natriy giposulfitning ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 5 % li eritmasi (ishlatish oldidan tayyorlanadi).

Ishning borishi. Probirkaga nikotin kislotasi yoki uning amidining kukunidan solinadi va 1-2 ml natriy gidrokarbonat eritmasidan aralastiriladi, keyin 1-2 ml natriy giposulfit eritmasidan qo‘shiladi. Probirkadagi suyuqlik sariq rangda bo‘ladi.

C vitamini

C vitamini L - askorbinat kislota deb ataladi. L - askorbinat kislota suvda yaxshi eriydi. L - askorbinat kislota va uning degidro shakli vodorod atomlarini, ya'ni elektronlar bilan protonlarni olishga ham, berishga ham qodir bo'lgan oksidlanish-qaytarilish sistemasini hosil qiladi.

Askorbinat kislotasining degidro shakli juda chidamsiz birikmalar diketoglyukonat kislotaga aylanishi qaytmas jarayon bo'lib, oksidlanib parchalanish bilan tugallanadi. C vitamin oksidlovchilar ishtirokida neytral yoki ishqoriy muhitda qizdirilganda juda tez parchalanadi.

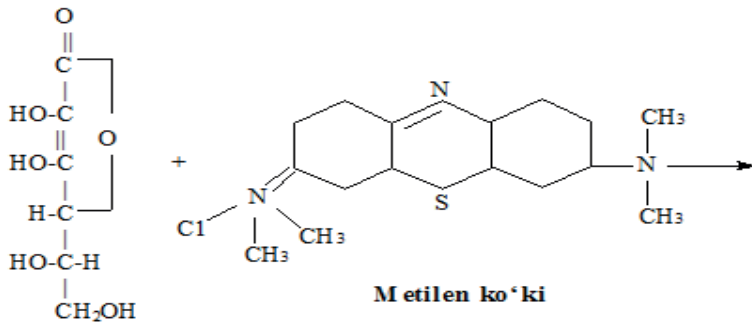


C vitamin o'simliklarda va ko'pchilik hayvonlar (odam, maymun va dengiz cho'chqasidan tashqari) da sintezlanadi. Sut emuzuvchilarning jigarida 25 mg % va buyraklarda 12 mg % C vitamini bo'ladi. Hayvon organizmida C vitamini etishmasa oqsillar almashinuvining buzilishi, oshqozon-ichak trakti va nafas olish yullarini turli kasalliklarga chidamsizligi, ichki organlarda qon talashlar va tishlarning tushib ketishi kabi hollari vujudga keladi.

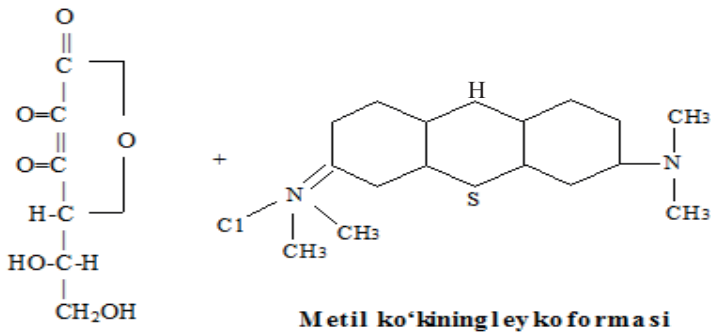
C vitaminning sifat reaksiyalari

Metilen ko'ki bilan reaksiyasi, Askorbat kislotasi metilen ko'kini rangsiz birikmagacha qaytaradi (leykoformasiga), o'zi oksidlanib degidroaskorbat kislotani hosil qiladi.

Reaktivlar. 1. Metilen ko'king 0,01 % li eritmasi. 2. Natriy karbonatning 5 % li eritmasi. 3. Kartoshka yoki karam sharbati.



**Askorbat
kislota**

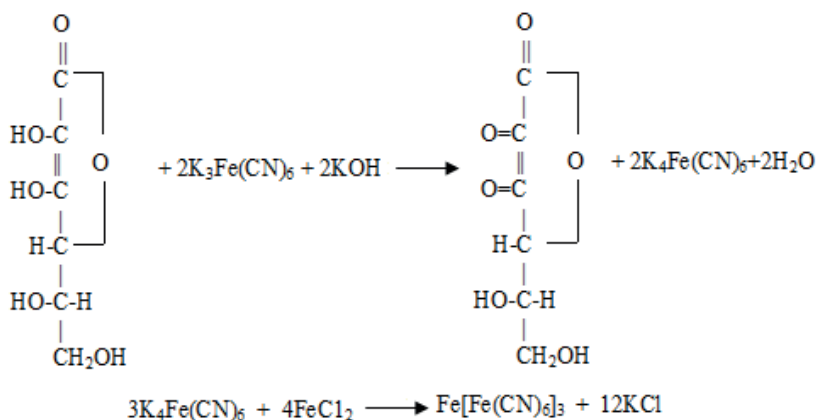


**Degidroaskorbat
kislota**

Ishning borishi. Probirkaga yangi tayyorlangan kartoshka yoki karam sharbatidan 1-2 ml solib, 1-2 tomchi metilen ko‘ki eritmasi hamda 2-3 tomchi natriy karbonat eritmasidan qo‘shib qizdiriladi. Natijada ko‘k rang intensivligi kamayadi.

Kaliy ferritsianid $K_3Fe(CN)_6$ bilan reaksiyasi. Askorbat kislotasi oksidlanib, kaliy ferritsianid $K_3Fe(CN)_6$ ni to kaliy ferrotsianid $K_4Fe(CN)_6$ gacha qaytaradi va uch valentli temir ioni bilan kislotali sharoitda temir -(III)-geksotsianoferroat $Fe [Fe(CN)_6]_3$ ni, ya’ni Berlin zangorisini hosil qiladi.

Reaktivlar. 1.Kartoshka yoki karam sharbati. 2.Kaliy ferratsianidning 5 % li eritmasi. 3. Kaliy ishqorining 5 % li eritmasi. 4. Temir-(III) xloridning 1 % li eritmasi.



Berlin zangorisi

Ishning borishi. Probirkaga 1 ml kartoshka yoki karam sharbatidan, 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‘k yoki ko‘k-yashil cho‘kma Berlin zangorisini hosil qiladi.

Oziqa mahsulotlarida C vitaminining miqdorini aniqlash

C vitamini - hayvon va odam ratsionining eng muhim tarkibiy qismi hisoblanadi. Quyida 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	Na'matak (mevasida)	3000

Oziqa mahsulotlarida 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.

Ekstraktidagi hamma askorbat kislotalar oksidlanib bo'lgandan keyin 2,6-dixlorfenolindofenol qaytarila olmaydi va eritma qizil rangga bo'yaladi (ya'ni, neytral sharoitda 2,6-dixlorfenolindofenol ko'k rangga, kislotali sharoitda esa qizil rangga ega). Titrlash uchun ketgan 2,6-dixlorfenolindofenolning miqdorini va uning normalligini aniqlab, mahsulotdagi askorbat kislotasining miqdori hisoblanadi.

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

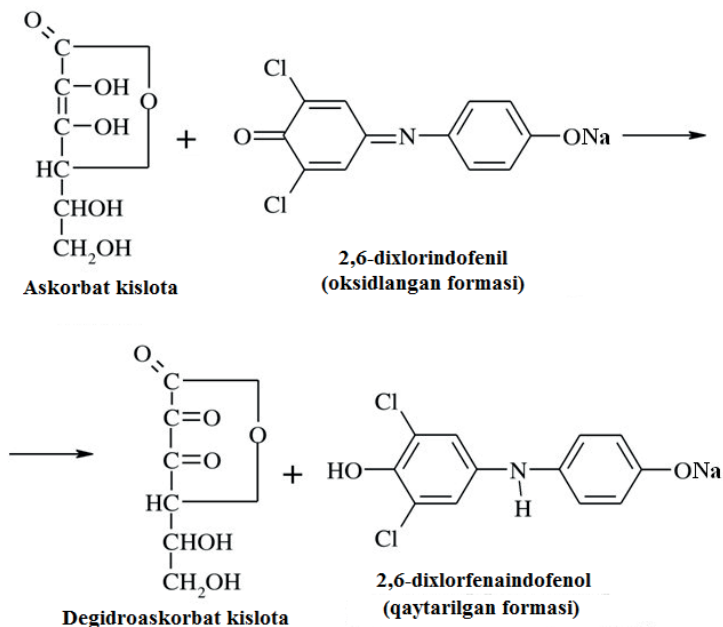
Reaktivlar. 1. Xlorid kislotasining 25 % li eritmasi. 2. 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 N eritmasi. 3. Kartoshka, karam.

Kartoshka tarkibida C vitaminini aniqlash. 5 g kartoshka hovonchada 16 ml xlorid kislotasidan qo'shib eziladi. Hovonchada hosil bo'lgan suyuqlik 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.

$$X = \frac{0,088 \cdot a \cdot 100}{5}$$

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.



Karamdagi C vitaminining miqdorini aniqlash. 2 g karam hov-onchada 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 vitamining miqdori (X) quyidagi formula bilan aniqlanadi:

$$X = \frac{0,088 \cdot a \cdot 100}{5}$$

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 boshqalar kiradi. Bular o'simlik gullari va mevalarida ko'p miqdorda uchraydi.

Ishning borishi. 2-5 gramm limon po'stlog'idan olib chinni hovonchada shisha kukunlari yordamida spirt bilan bir xil massa hosil bo'lguncha eziladi. Massa rangsiz bo'lguncha qadar spirtning oz-oz hajmi bilan yuviladi. Filtrat spirt yordamida 50 yoki 100 ml hajmga etkaziladi. 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.

IX BOB. ORGANIK KISLOTALAR

Organik kislotalar o‘simliklar tarkibida uchraydigan boshqa muhim birikmalar - uglevodlar va oqsillar kabi juda keng tarqalgan moddalar hisoblanadi. Ular o‘simliklarning urug‘i, bargi, ildizlari, guli va mevalarida uchraydi. Nordon mevalar tarkibida organik kislotalar erkin holda va qisman nordon tuzlar sifatida uchraydi. Ba’zi o‘simliklar masalan, rovoch, otquloqning barglarida va poyasida erkin organik kislotalar yoki ularning nordon tuzlari ko‘p to‘planadi. O‘simliklarning turli qismlarida organik kislotalar turli miqdorda uchraydi.

Urug‘da ular 0,5 % ga yaqinni tashkil qilsa, barg va mevalarda 8-12 % ni tashkil qiladi. Ular ayniqsa loviya, limon o‘simliklari tarkibida ko‘p to‘planadi.

O‘simliklar tarkibida uchraydigan organik kislotalar miqdori o‘simlik turi, tuproq-iqlim sharoiti va boshqa faktorlar ta’sirida o‘zgarib turadi. Masalan, mineral o‘g‘itlar, ayniqsa uning nitrat formalari o‘simlik tarkibidagi organik kislotalar miqdorining ortishiga sababchi bo‘ladi. Amaliy ahamiyatga ega bo‘lgan organik kislotalarga sitrat, malat, oksalat va suksinat kislotalarni misol qilib ko‘rsatish mumkin. Ko‘pchilik qishloq xo‘jalik mahsulotlarining sifati ularning tarkibidagi organik kislotalar miqdori bilan belgilanadi.

Organik kislotalarni o‘simliklar tarkibidan ajratib olish ularning suvda, spirtida va efirda erishiga asoslangan. Organik kislotalarni ajratib olishning eng qulay usuli mineral kislotalar bilan nordonlashtirilgan efirda ekstraksiya qilishdir.

O‘simliklarning umumiy kislotaliligini aniqlash

O‘simliklarning umumiy yoki titrlanuvchi kislotaliligini aniqlash, ulardan ajratib olingan suvli ekstraktlar tarkibidagi barcha erkin organik kislotalar va ular tuzlarini ishqor bilan titrlashga asoslangan. Bunga ma’lum indikatorlarni qo‘llash bilan erishiladi. Odatda, titrlash natijasi shu ob’ektda ko‘p uchraydigan asosiy organik kislotalarning foiz miqdori bilan ifodalanadi.

Ishning borishi. O‘simlik materialidan (barg, meva, urug‘ yoki boshqa organlar) 10-20 g tortib olinadi va chinni hovonchada 2-10 ml suv qo‘yib shisha kukunlari yordamida bir xil massa hosil bo‘lguncha eziladi. Hosil bo‘lgan massa 50 ml suv yordamida hajmi 200 ml li o‘lchov kolbaga quyiladi va distillangan suv bilan chiziqqacha to‘ldirib 1 soatga qoldiriladi. Vaqt tugagach ekstrakt filtridan 50 ml olib, hajmi 100 ml li kolbaga qo‘yiladi. Kolbaga bir necha tomchi fenolftaleinning spirtli eritmasidan qo‘shib, o‘yuvchi natriyning 0,1 N eritmasi bilan och pushti rang hosil bo‘lguncha titrlanadi. Agar filtrat rangli bo‘lsa timolftalein bilan titrlash yaxshi natija beradi. Bunda ko‘k rang hosil qilguncha titrlanadi. Rangli filtrlarni fenolftalein bilan ham titrlasa bo‘ladi, biroq pushti rang hosil bo‘lguncha emas, balki umuman rang o‘zgarguncha yashil yoki rangsiz bo‘lguncha titrlanadi. Neytrallash paytida rangning o‘zgarishi yaqol ko‘rinadi. Rangli ekstraktlarni xuddi shunday hajmda filtrat quyilgan va fenolftalein tomizilgan yonma-yon turgan kolba bilan taqqoslab titrlash tavsiya qilinadi.

Tekshirilayotgan o‘simlik materialining umumiy kislotaliligi (nordonligi) 100 g quruq o‘simlik materialini titrlash uchun sarflangan 0,1 N ishqorning miqdori bilan yoki shu mahsulot tarkibidagi ko‘p miqdorda uchraydigan organik kislotaning milligramm miqdori bilan ifodalanadi.

$$X = \frac{a \cdot T \cdot K \cdot 100}{H \cdot 50}$$

X-tekshirilayotgan o‘simlik materialining kislotaligi, % -hisobida, a-titrlash uchun sarflangan 0,1 N o‘yuvchi natriyning miqdori, ml; T- titrga tuzatma. V - umumiy ekstrakt hajmi, ml. 50 titrlash uchun olingan filtrat miqdori ml. H-o‘simlik materialining vazni, g. K-ko‘p uchraydigan organik kislota bo‘yicha hisoblash koeffitsienti.

Misol. 20 g o‘simlik materialining ekstrakti 200 ml ga etkazildi. Titrlash uchun 50 ml tiniq filtrat olindi. Bunga 3,5 ml ishqor sarflandi. Ishqorning titri 0,9900 ga teng. Kislotalik malat kislotasi bo‘yicha aniqlandi. Unda yuqoridagi formula quyidagi ko‘rinishga ega bo‘ladi.

$$X = \frac{3,50 \cdot 0,9900 \cdot 200 \cdot 0,0067 \cdot 100}{20,0 \cdot 50} = 0,469\%$$

Reaktivlar. O'yuvchi natriyning 0,1 N eritmasi, fenolftalein indikatorini (1 g fenolftalein 60 ml etil spirtida eritilib, suv bilan etkaziladi).

Sitrat kislotani aniqlash

Sitrat kislota o'simliklarda keng tarqalgan uchkarbon guruhli organik kislota hisoblanadi. Sitrat kislota o'simlik mevalari va barglarida to'planadi. U ayniqsa, g'o'za barglarida ko'p uchraydi. O'zbekistonda g'o'za barglaridan sitrat kislotani ajratib olish akademik O.Sodiqov tomonidan ishlab chiqilgan.

Ishning borishi. O'simlik materiallarida sitrat kislotali shiralarni quyidagicha ajratiladi. O'simlik materialidan 50-100 g (qurug'idan 5-10 g) olib chinni hovonchada bir xil massa hosil bo'lguncha eziladi va hajmi 250 ml bo'lgan kolbaga quyiladi, uning ustiga 100 ml distillangan suv qo'shiladi. So'ngra sulfat kislotaning 20 % li eritmasidan 10 ml (1:10) quyiladi va 15-30 minutga qoldirilib, umumiy hajmi distillangan suv bilan 200 ml ga etkaziladi. Kolbadagi aralashma yaxshilab chayqatiladi va 2 soatga qoldiriladi. Vaqt tamom bo'lgandan so'ng fosforvolfromat yoki metafosfat kislotaning 5%li eritmasidan 5-10 ml qo'shiladi, aralastirib sentrifugalanadi yoki filtdan quruq o'lchovli (250 ml li) kolbaga o'tkaziladi. Umumiy hajmi distillangan suv bilan chiziqqacha olib boriladi.

Sitrat kislota miqdorini aniqlash

Yuqoridagi ishda tayyorlangan filtrat yoki sentrifugatdan 50 ml olib, hajmi 200 ml li kolbaga quyiladi va 5 ml kaliy bromid tuzining 30 % li eritmasidan, 10 ml sulfat kislotaning suv bilan 1:1 nisbatida aralastirilgan eritmasidan qo'shiladi. Aralashma yaxshilab chayqatiladi va yana uni ustiga 20 ml kaliy permanganat tuzining 5 % li eritmasidan qo'shiladi. Kolba mo'rili shkafda 10

% minut qoldiriladi. Agar reaksiya natijasida hosil bo'lgan qo'ng'ir rangli marganes (II)-oksid cho'kmasining rangi yo'qola boshlasa, tajriba takrorlanib, kaliy permanganat eritmasidan ko'proq olish tavsiya qilinadi. Reaksiyaning oxirida ortiqcha oksidlovchi modda temir (II)-sulfat oksidning to'yingan eritmasidan 20 ml qo'shish bilan rangsiz holgacha qaytariladi. Reaksiya natijasida hosil bo'lgan pentobrom asetatni cho'kmaga tushirib olish uchun kolba 12-18 soatga sovitgichda qoldiriladi. So'ngra filtdan o'tkazilib, filtdagi cho'kma muzday suv bilan suv neytral holga kelguncha (metiloranj yordamida) 3-4 marta yuviladi. Yaxshi yuvilgan cho'kma oppoq yoki bir oz rangli ko'rinishga ega bo'ladi.

Pentabromasetat cho'kmasi oldindan massasi aniqlangan chinni tegelga solinadi va sulfat kislotaga qo'yilgan eksikatorida quritiladi. Quritilgan cho'kma tigelda tortilib, undan tigel og'irligi ayrilsa, cho'kma og'irligi ma'lum bo'ladi. Pentabromasetatning 1 mg mi 0,483 mg sitrat kislotaga to'g'ri keladi.

Reaktivlar. Kaliy bromidning 30 %li eritmasi, sulfat kislotaning 48 % li eritmasi, kaliy permanganatning 5 % li eritmasi, temir (II)-sulfatning to'yingan eritmasi.

Suksinat kislotani aniqlash

Bu kislotaga dastlab qahrabo tarkibidan ajratib olinganligi uchun unga shu nom berilgan, suksinat kislotaga ko'pchilik o'simliklar tarkibida uchraydi. U ayniqsa pishmagan mevalarda ko'p bo'ladi.

Ishning borishi. 5-10 g quruq o'simlik materiali chinni hovonchada maydalanadi va 4 ml sulfat kislotaning suv bilan aralashmasidan (1:4) qo'shiladi. 1,5-2 soat o'tgach hovonchaga suvsizlantirilgan natriy sulfatdan 4-5 gramm qo'shiladi va yaxshilab bir xil gomogen massa hosil bo'lguncha eziladi. Aralashma, hajmi 200 ml bo'lgan kolbaga quyiladi va una 100 ml efir qo'shiladi. Kolbani og'zi maxkam (germetik ravishda) berkitilib, 15-30 minut davomida mexanik tebratgich asbobida chayqatiladi. So'ngra efirli aralashma bo'luvchi voronkaga quyiladi va uni ustiga 100 ml suv qo'shiladi. Voronka vaqti-vaqti bilan chayqatilib turiladi. 30 minut o'tgach organik kislotalar o'tgan suvli faza ajratib olinadi. Suv

tarkibidagi efir qoldiqlari bug‘lantirish yo‘li bilan ajratiladi. Suvli aralashma uy haroratigacha sovitiladi va hajmi 200 ml bo‘lgan o‘lchov kolbaga quyiladi hamda distillangan suv bilan chiziqgacha etkaziladi, aralashmadan 100 ml olib, hajmi 200 ml li kolbaga qo‘yiladi va 1N bariy ishqori eritmasi bilan neytrallanadi hamda 1 ml bariy xloridning 10% li eritmasidan qo‘shiladi. Keyin kolba qaynab turgan suv hammomida 10 minut davomida qizdiriladi. Bunda kolbaga havo sovitgichi ulangan bo‘lishi kerak. So‘ngra kolbadagi aralashma chinni kosachaga quyiladi va suv hammomida qaynoq holatgacha bug‘lantiriladi. Chinni kosachada qolgan quyuc aralashma 20 ml suv yordamida eritiladi va 80 ml etil spirti qo‘shib 1-2 soatga qoldiriladi. Vaqt tugagach Buxner voronkasi orqali spirt ajratiladi. Filtrda qolgan cho‘kma esa suv bilan yuvilib kolbaga quyiladi. Aralashma qaynab turgan suv hammomida qizdirilib qolgan spirtidan tozalanadi, so‘ngra kolbani qizdirishni davom ettirib, asta-sekin kaliy permanganat tuzining 5 % li eritmasidan turg‘un qizil rang hosil bo‘lguncha qo‘shiladi.

Aralashma qaynab turgan suv hammomida qizdirilib qolgan spirtidan tozalanadi, so‘ngra kolbani qizdirishni davom ettirib, asta-sekin kaliy permanganat tuzining 5 % li eritmasidan turg‘un qizil rang hosil bo‘lguncha qo‘shiladi.

Aralashma sulfat kislota yordamida nordonlashtirilib ortiqcha permanganat vodorod peroksidi yordamida yo‘qotiladi.

Hosil bo‘lgan eritma chinni kosachaga quyiladi va suv hammomida 10-15 ml qolguncha bug‘lantiriladi. So‘ngra 5 g suvsizlantirilgan natriy sulfat tuzidan qo‘shib 1-2 soatga qoldiriladi. Keyin qog‘oz paketlarga solinib sokslet apparatda yoki kolbada dietil efir bilan 1 soat davomida ekstraktsiya qilinadi. Keyin efir haydaladi va 20 ml distillangan suv qo‘shib 0,1 N o‘yuvchi kaliy bilan fenolftalein yordamida titrlanadi. Bunda 1 ml sarflangan ishqor 5,9 mg suksinat kislotaga teng bo‘ladi. Suksinat kislota miqdori quyidagicha aniqlanadi.

$$X = \frac{a \cdot 5,9 \cdot V \cdot 100}{c \cdot V_1}$$

X-suksinat kislota miqdori, mg % da: *a*-titrlash uchun sarflangan o‘yuvchi kaliyning miqdori, ml; V- tekshirilayotgan materialdan ajratib olingan aralashma hajmi, ml; V₁-analiz uchun olingan aralashma, ml; c-tekshirilayotgan material massasi, g.

Reaktivlar: sulfat kislolaning suv bilan aralashmasi (1:4); suvsizlantirilgan natriy sulfat tuzi, dietil efir, bariy ishqorining 1N eritmasi, bariy xloridning 10 %li eritmasi, etil spirtining 96 % li eritmasi, kaliy permanganat tuzining 5 %li eritmasi, sulfat kislota (zichligi 1,84) vodorod peroksidi, o‘yuvchi kaliyning 0,1 N eritmasi.

X BOB. GORMONLAR

Gormonlar biologik aktiv organik moddalar qatoriga kirib, ular asosan maxsus chiqarish yo'llari bo'lmagan endokrin bezlar yoki ichki sekresiya bezlarida (grekcha endo - ichki va krinen ajrataman degan so'zlardan olingan) ishlab chiqarilib, gumoral yo'l bilan boshqa to'qimalar etkaziladi.

Gormonlarning ba'zi vakillari modda almashinuvini boshqarib tursa ham, xayvon gormonlarining ko'pchiligi avtonom hujayra sistemalarining ishini kimyoviy aloqa yo'li bilan bir butun organizm faoliyati sifatida boshqaradi.

Ichki sekresiya bezlariga: qalqonsimon bez; qalqonsimon oldi bezlari yoki paratireoid bezlar; buyrak usti bezlari; me'da osta bezi - uning ma'lum qismlari; jinsiy bezlar; urug'don va tuxumdonlar; gipofiz yoki miya ortig'i; bo'qoq bezi kiradi.

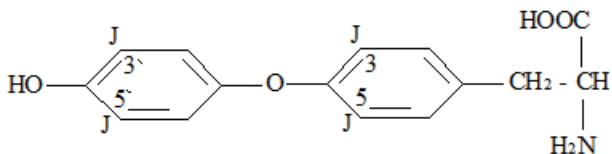
Ichki sekresiya bezlari funksiyasi buzilganda turli kasalliklar paydo bo'ladi. Ular ayrim bezlar funksiyasining zo'rayib ketishi natijasida gormonni ortiqcha ishlab chiqarish (giperfunksiya) yoki aktivligi susayishi natijasida kam ajratishiga (gipofunksiya) ga bog'liq.

Kimyoviy tuzilishi, tabiati va ta'sir usuliga qarab gormonlarni quyidagi uch guruhga bo'lish mumkin.

1. Steroid gormonlar. 2. Aminokislotalar hosilasi bo'lgan gormonlar. 3. Peptid va oqsil tabiatli gormonlar.

Qalqonsimon bez gormonida yodni ochish reaksiyasi

Qalqonsimon bez eng muhim endokrin bezlarining biridir. Odamda qalqonsimon bezning og'irligi - 25-30 g atrofida bo'ladi. Qalqonsimon bez, asosan, tiroksin gormoni ishlab chiqarib, u tarkibida to'rtta yod atomini tutadi.



Tiroksin, 3,5',5',5, - tetrayoditironin

Qalqonsimon bezga xarakterli bo'lgan oqsil tireoglobulin bo'lib, bu oqsilning molekulyar og'irligi 600000 ga teng bo'lib, gormon xossalariga ega.

Qalqonsimon bezda gormon ishlab chiqarilishining buzilishi natijasida bir qator kasalliklar kelib chiqadi. Bezning funksiyasi pasayganda gormon kam miqdorda ishlab chiqarilib, organizmda gipotireoz holati paydo bo'ladi. Bunday hollarda organizmda miksedema va kretinizm kasalliklari kelib chiqadi. Qalqonsimon bezning keng tarqalgan endemik formasi - bo'qoq bo'lib, bu kasallikning asosiy belgisi qalqonsimon bezning haddan tashqari kattalashib ketishidir (gipertrofiya). Bo'qoq paydo bo'lishi tashqi muhitda (tuproqda, suvda, o'simliklarda, oziq-ovqatlarda) yod etishmasligi bilan bog'liq. Agar qalqonsimon bezning funksiyasi ortib ketsa, gipertireoz holati ro'y beradi. Tireotoksikoz kasalliklarida moddalar almashinuvi tezlashganidan organizmning ozib ketish hollari ro'y beradi, tebranuvchan bo'lib qoladi, yuragi tez-tez uradi. Tireotoksikoz holatida qalqonsimon bezda yod almashinuvi tezlashib, bezning qondan yoditni yutish kuchayadi.

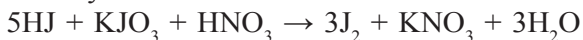
Qalqonsimon bez gormonlari moddalar almashinuvining hamma turlariga ta'sir ko'rsatadi. Qondagi tiroksin miqdori gipofizning tireotrop gormoni tomonidan qat'iy tartibga solib turadi. Qondagi tiroksin miqdori bilan gipofizning tireotrop funksiyasi teskari (resiprok) aloqada bo'ladi. Unda tiroksin miqdori ko'payib ketsa, tireotrop gormoni chiqarilishi kamayadi, aksincha, tiroksinning miqdori kamaysa, gipofiz gormoni ko'proq hosil bo'lib, qalqonsimon bezni stimulyatsiyalaydi, natijada tiroksin anchagina sarf bo'ladi va uning qondagi miqdori ortadi. Bu jarayonlarga markaziy nerv sistemasi gipotalamus orqali o'zining regulyatsiyalovchi ta'sirini ko'rsatadi.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shtativ; pipetkalar; stakan;

suv hammomi.

Reaktivlar. 1) Tireoidin tabletkasi (bitta tabletkadagi 0,1 g massa tarkibida 0,17-0,23 mkg yod mavjud). 2) Suyultirilgan nitrat kislova (1:1). 3) Kaliy yodatning (KIO_3) 10 % li eritmasi. 4) Xloroform.

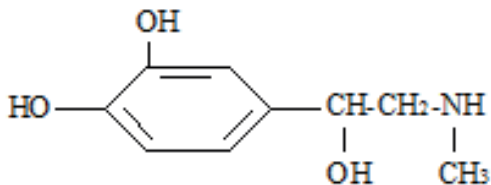
Ishning borishi. Tireoidin tabletkasi maydalanadi va hosil bo'lgan kukuni probirkalarga solinadi. Shundan keyin 2 ml nitrat kislotasidan qo'shib, qaynab turgan suv hammomida 3-4 minut qizdiriladi. Keyin probirkani sovutib, 2 ml kaliy yodat eritmasidan qo'shib, bir necha marta chayqatiladi va probirka stakandagi suvga solib sovutiladi. Bir necha minutdan keyin 1-1,5 ml xloroformli pastki qavatni pushtibinafsha rang egallaydi. Bu rang hosil bo'lishining sababi gidroliz natijasida paydo bo'lgan yodit kislotani kaliy yodat erkin holdagi yodgacha oksidlaydi:



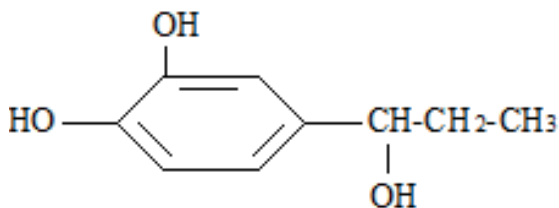
Xloroform qavatidagi yod pushtibinafsha rang hosil qiladi.

Buyrak usti bezining miya qavati gormonlari

Buyrak usti bezining miya qavati adrenalin va noradrenalin gormonlarini ishlab chiqadi.



Adrenalin



Noradrenalin

Adrenalin va noradrenalin bir xil biologik ta'sirga ega, ularning ta'siri faqat miqdor jihatdan farqlanadi. Bu gormonlarning eng muhim biologik funksiyasi qon bosimini oshirishdan iborat. Noradrenalinning bu ta'siri adrenalinnikiga qaraganda kuchliroq.

Adrenalin organizmda uglevodlar almashinuviga kuchli ta'sir ko'rsatadi va moddalar almashinuvini kuchaytiradi. Adrenalin jigar glikogenining parchalanishini kuchaytirib, qonda glukoza miqdorini ko'paytiradi.

Adrenalin - juda chidamsiz modda, u oson oksidlanib, qaytaruvchanlik xususiyatini namoyon qiladi. Masalan, u kumush nitrat eritmasidan kumush metalligacha qaytarish xususiyatga ega. Adrenalin neytral va ishqoriy sharoitda oson oksidlanadi. Adrenalinning oksidlanish natijasida hosil bo'lgan mahsulotlar (degidroadrenalin, adrenoxrom va boshqalar) organizmdagi oksidlanish jarayonlarida ishtirok etadi.

Adrenalinning sifat reaksiyalari

1. Temir-III-xlorid bilan reaksiyasi: adrenalina temir xlorid eritmasidan qo'shilganda, yashil rang hosil bo'ladi, bunda adrenalinning pirokatexin xalqasi temir xloridi bilan yashil rangli kompleks birikma hosil qiladi. Pirokatexin ham shunday reaksiya beradi.

Kerakli asboblari: probirkalar bilan shativ; 1,2 ml li pipetkalar.

Reaktivlar. 1. Adrenalinning 0,01 % li eritmasi (ampulada)
2. Temir- III -xloridning 3 % li eritmasi. 3. Pirokatexinning 0,05 % li eritmasi.

Ishning borishi. Birinchi probirkaga 1-2 ml suv, ikkinchi probirkaga 1-2 ml adrenalin eritmasi, uchinchi probirkaga 1-2 ml pirokatexin eritmasidan solinadi. So'ngra hamma probirkalarga 2 tomchidan temir xloridning eritmasidan qo'shiladi. Adrenalin, pirokatexinli probirkalarda yashil rang hosil bo'ladi.

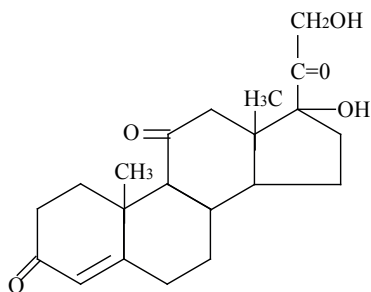
2. Kaliy yodat (KIO_3) bilan reaksiyasi. 1. Adrenalinning 0,01 % li eritmasi. 2. Kaliy yodatning 1 % li eritmasi. 3. Sirka kislotasining 10 % li eritmasi.

Ishning borishi. Probirkaga 0,5 ml adrenalinning eritmasidan

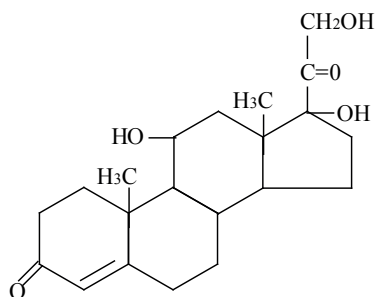
olib unga 1 ml 1 % li kaliy yodat hamda 10 tomchi 10 % li sirka kislotasining eritmasidan qo‘shiladi. Natijada qizil-yashil rang hosil bo‘ladi.

Buyrak usti bezlari po‘stloq qavatining gormonlari

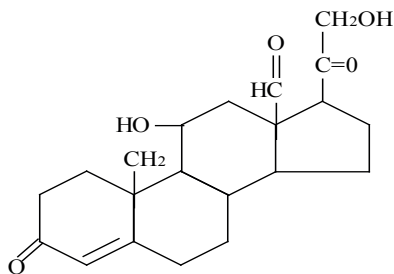
Buyrak usti bezlarining po‘stloq qavati yog‘larda eriydigan bir qancha muhim gormonlarni ishlab chiqaradi. Po‘stloq qavatidan olingan ekstrakt tarkibida 34 dan ortiq steroid aniqlanib, shulardan bir nechitasi gormon aktivligiga ega, qolganlari gormonlar sintezida ishtirok etadigan oraliq birikmalar, bazilari esa ta’sir etuvchi moddalarning parchalanish mahsulotlaridir. Bular asosan siklopentanopergidrofenantrenning tetrasiklik strukturasi ega bo‘lib, ya’ni steroidlar xolesterin, o‘t kislotalari, provitaminlar, jinsiy gormonlar uchun ham umumiydir, shuning uchun bunday moddalar kortikosteroidlar deb ataladi. Mineral kortikoidlar elektrolit va suv balansiga javob beradi, bunga asosan dezoksikortikosteron kiradi. Uglevod va oqsil almashinuvi regulyatsiyasiga javob beruvchi glyukokortikoidlarga aldosteron, kortizon, kortizol gormonlari kiradi. Bu bezning funksiyasi pasayganda, qon zardobida Na^+ , Cl^- , bikarbonat va glyukozaning kamayishi, muskulda Na^+ ni kamayishi, K^+ va suv miqdorining ortishi, zardobda K^+ va azotning ortishi hollari kuzatiladi. Jigar va muskulda glikogen miqdori kamayadi. Siydik bilan Na^+ , Cl^- va bikarbonat chiqarilishi ko‘payib K^+ va umumiy azot chiqarilishi kamayadi.



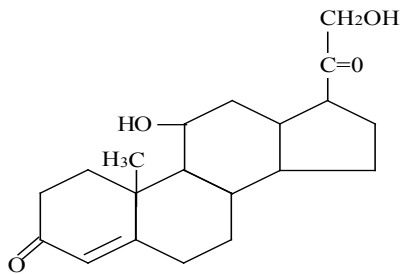
Kortizon



Kortizol (gidrokortizon)



Aldosteron



Kortikosteron

Kortizonning sifat reaksiyalari

1. Fenilgidrazin sulfat bilan reaksiyasi.

Kortizon karbonil guruhi hisobiga fenilgidrazin bilan gidrazon va ozazonni hosil qiladi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; 1,10 ml li pipetkalar, suv hammomi.

Reaktivlar. 1. Fenilgidrazin sulfat eritmasi: 0,1 g fenilgidrazin 100 ml 50 % li sulfat kislotasi eritmasida eritiladi. 2. «Kortizon-asetat» preparati. 3. Metil spirti.

Ishning borishi. 1 mg kortizon-asetat 1 ml metil spirtida eritilib, 5 ml fenilgidrazin eritmasidan qoʻshiladi va suv hammomida qizdiriladi. Bir necha minutdan soʻng sariq rang hosil boʻladi.

2. Feling reaktivi bilan reaksiyasi. Kortizon mis tuzlarini mis oksidigacha qaytarish xususiyatiga ega.

Reaktivlar. 1. Kortizon-asetat preparati. 2. Feling reaktivi. 1. 500 ml kolbada 34,64 g mis sulfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) eritiladi va kolba belgisigacha distillangan suv qoʻshiladi. 2. 500 ml kolbaga 173 g segnet tuzini solib 200-250 ml distillangan suvda eritiladi, soʻng unga 100 ml 50 % li natriy ishqori eritmasidan solib, hajmi suv bilan kolba belgisigacha etkaziladi. Reaktivni qoʻllanishdan oldin teng hajmda birinchi va ikkinchi eritmalardan olib aralashtiriladi.

Ishning borishi. Probirkaga 10 mg kortizon-asetati solib, 1 ml metil spirtida eritiladi va 1 ml Feling reaktividan qoʻshiladi, soʻngra suv hammomida qizdiriladi. Natijada qizil choʻkma -mis oksidi hosil boʻladi.

Oshqozon osti bezi gormoni – insulin

Oshqozon osti bezi gormoni - insulin - Langergans orolchalarining β - hujayralarida ishlab chiqarilada. Organizmda insulin yetishmay qolganda, qonda qand miqdori kamayadi (giperglikemiya) va organizmdan qandni siydik bilan birga chiqib ketishi ortadi, bu hodisa glyukozuriya deb ataladi, oqibatda diabet deb ataladigan kasallik kelib chiqadi.

Kristall holdagi insulinning molekulyar ogirligi 36000 ga teng bo‘lib, ikkita polipeptid zanjiridan iborat: A (21 ta aminokislota qoldag‘i) va B (30 ta aminokislota qoldig‘i bor). Bu polipeptid zanjirlari disulfid bog‘lari orqali bog‘langan. Insulinni 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 reaksiyasini 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‘oshin asetatning 0,5 % li eritmasi.

1. Biuret reaksiya. Probirkaga 1-2 ml insulin eritmasidan solinadi. Keyin teng hajmda natriy ishqori eritmasi va 1-2 tomchi mis sulfatning eritmasidan qo‘shiladi. Natijada binafsha rang hosil bo‘ladi.

2. Oltingugurt tutuvchi aminokislotalar uchun reaksiya. Probirkaga 1-2 ml insulin eritmasi va teng hajmda natriy ishqori eritmasidan solib qaynaguncha qizdiriladi. So‘ngra 2-3 tomchi qo‘rg‘oshin asetat eritmasidan qo‘shib qizdiriladi. Natijada probirkada qora cho‘kma hosil bo‘ladi.

XI BOB. QON

Qon arteriyalar, venalar va kapellyarda doimo aylanib turadigan suyuqlik bo'lib, turli murakkab fiziologik funksiyalarni bajaradi: 1. Organlar va to'qimalarni kislorod bilan ta'minlaydi va ajralib chiqqan karbonat angidridni olib ketadi. 2. Oziq moddalarini ichakdan to'qimalarga va organlarga etkazadi. 3. Moddalar almashinuvidagi oxirgi mahsulotlarni chiqarish organlariga, (o'pka, buyrak, ichak, teri) tashiydi. 4. Qonning regulyator funksiyasi-nihoyatda muhim bo'lib, u osmotik bosimni, muhitning pH doimiyliigi, kislota-ishqor muvozanatini saqlab turish, gormonlar, vitaminlar, mineral moddalar transporti, suv hamda issiqlik almashinuvi jarayonlarini tartibga solib turadi. 5. Himoya funksiyasini bajaradi.

Qon hayvon organizmining umumiy massasini taxminan 8-10 %ini tashkil qiladi. Qon-plazma va shakliy elementlaridan: eritrotsitlar, leykotsitlar va trombotsitlardan tuzilgan.

Qon tarkibiga oqsillar, yog'lar, uglevodlar, moddalar almashinuvining turli oraliq mahsulotlari, gormonlar, vitaminlar, va mineral tuzlar kiradi. To'qimadagi moddalar almashinuvining buzilishi qonning tarkibini o'zgarishiga olib keladi. Shuning uchun organizmning sog'lomligi qonning tarkibiy qismlarini miqdoriy analiz qilib bilinadi.

Qon zardobining oqsil fraksiyalarini aniqlash

Qon zardobi oqsil fraksiyalarini ekspress-metod bilan aniqlash, oqsillarni turli konsentratsiyadagi fosfatli eritmalar bilan cho'ktirishga asoslangan. Ma'lum oqsil fraksiyalari eritmalarining optik zichligi fotoelektrokolorimetr va spektrofotometr bilan aniqlanadi.

Oqsil fraksiyalarini aniqlashning ekspress-metodi, ma'lum sharoitda oziqlanayotgan tirik organizmlarning oqsil almashinuvidagi o'zgarishini bilish uchun ishlatiladi.

Kerakli asboblari: byuretkasi; pipetkalar, probirkalari bilan shtativ, silindrlar; kolbalar, fotoelektrokolorimetr yoki spektrofotometr.

Reaktivlar. 1. Asosiy eritma: - bu eritmani tayyorlash uchun 226,8g KH_2P_0_4 olib, 400 ml 33,5q NaOH tutgan eritmada to'liq eritiladi.

Keyin eritma xona haroratigacha sovutilib, hajmi dastillanqan suv bilan 500 ml ga etkaziladi.

2. Birinchi eritmani tayyorlash uchun asosiy eritmadan 92,6 ml (yoki 123,5 g) olib, 100 ml li kolbaga solinadi va distillangan suv bilan kolba belgisigacha etkaziladi. 3. Ikkinchi, uchinchi, to'rtinchi eritmani tayyorlash uchun asosiy eritmadan 100 ml kolbalarga 75,0 ml (100 g), 50,8 ml (78,5g) va 48,7 ml solib, hajmi suv bilan kolbaning belgisigacha etkaziladi.

Ishning borishi. 1. Oltita probirka olib, ularni 0,1,2,3,4,5 raqamlari bilan belgilanadi. 2. 0 raqamli probirkaga 10 ml distillangan suv, 1, 2, 3, 4 nomerli probirkalarga 5 ml dan suyultirilgan fosfat eritmalaridan (1,2,3,4 - eritmalardan), 5- probirkaga 0,5 ml qon zardobi, 0,75 ml distillangan suv va 3,75 ml asosiy fosfat eritmasidan solinadi. 3. 5-probirkadagi suyuqlik aralashtiriladi, so'ngra shu probirkadan 1,2,3,4 probirkalarga 0,5 ml dan, 0 raqamli probirkaga 1 ml aralashmadan solinadi va probirkalar chayqatiladi. 4. 15 minutdan keyin 1,2,3,4 probirkalardagi eritmalarning optik zichligi fotoelektrokolorimetrda - qizil yorug'lik filtri bilan aniqlanadi. 0 raqamli probirkadagi eritma kontrol sifatida ishlatiladi. 5. 1,2,3,4-probirkalaridagi aralashmalarning optik zichligi aniqlangandan keyin, oqsil fraksiyalari hisoblanadi. Birinchi probirkadagi aralashmaning optik zichligidan ikkinchi probirkadagi aralashmaning optik zichligini ayirib tashlanadi. Optik zichliklarning farqi, albuminning optik zichligiga to'g'ri keladi. Ikkinchi probirkadagi aralashmaning optik zichligidan uchinchi probirkadagi aralashmaning optik zichligi ayirib tashlanadi. Bu farq alfa globulinlarning optik zichligini ko'rsatadi. Uchinchi probirkadagi aralashmaning optik zichligidan to'rtinchi probirkadagi aralashma optik zichligi ayirib tashlanadi. Bu optik zichliklarning farqi

K - globulinlarning optik zichligini ko'rsatadi. So'ngra 1 va 4-probirkalardagi aralashmalarning optik zichligining farqlari qo'shiladi va yig'indisini 100 % deb olib, har bir oqsil fraksiyasini nisbiy foizi hisoblanadi. Har bir fraksiyalarning gramm-foizi hisoblanadi. Buning uchun umumiy oqsillarning miqdori refraktometriya metodi bilan topiladi. Oqsillarni umumiy miqdorini 100 % deb olib, har bir oqsil fraksiyalarni nisbiy foizidan, fraksiyalarni absolyut foizi hisoblab topiladi.

Sigir qoni zardobidagi oqsil fraksiyalarining taxminiy hisobi

Oqsil fraksiyalari	Probirkalar raqami	Optik zichlik	Optik zichliklarning farsi	Nisbiy, %	Absolyut, %	Qon zardobidagi umumiy oqsillarning miqdori, %
Albuminlar α -globulin	1	0,685	0,364	53,14	4,65	
	2	0,321	0,049	7,15	0,65	
β -globulinlar	3	0,272	0,082	11,97	1,05	
γ -globulinlar	4	0,190	0,190	27,74	2,48	
Yig'indisi		1,468				8,76

Qon, siydikda glyukoza miqdorining ortotoluidin reaktivi bilan aniqlash

Metodning prinsipi. Kislotali muhitda yuqori harorat ta'sirida glyukoza bilan 0-toluidin ko'k-yashil kompleks hosil qiladi, bu rangning intensivligi glyukozaning konsentratsiyasiga bog'liq, optik zichligi spektrofotometr bilan o'lchanadi.

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

Reaktivlar. 1.Ortotoluidin reaktivi: 0,15 g tiomochevinani 94 ml sirka kislotasida eritiladi va 6 ml ortotoluidin qo'shiladi. Bu reaktiv xolodilnikda saqlanadi. 2. Uchxlorsirka (5 %li) kislotasining eritmasi. 3.Glukozaning standart eritmasi, 100 mg %; bu eritmani tayyorlash uchun, 100 mg glyukozani 100 ml kolbaga solib, 0,2 % benzoy kislotasining eritmasida eritiladi. Bu reaktiv xolodilnikda saqlanadi.

Ishning borishi. Sentrifuga probirkasiga 0,9 ml 5 % li uchxlorsirka kislotasi solinadi va 0,1 ml qon yoki siydik qo'shiladi. Probirka chayqatiladi va 2500 ayl/minutda 10 minut sentrifuga qilinadi. So'ngra tiniq suyuqlikdan 0,5 ml olib probirkaga solinadi hamda 4,5 ml ortotoluidin reaktividan qo'shiladi. Probirkalar tiqin bilan berkitiladi va 8 minut qaynab turgan suv hammomida olib turiladi.

Shundan keyin probirkalar sovutiladi va spektrsfotometrda 630 nm to'liq uzunligida o'lchanadi. Bu bilan bir vaqtda kontrol va standart namunalar bilan ham shunday ish olib boriladi. Kontrol namunani tayyorlash uchun 0,5 uchxlorsirka kislota va 4,5 ml ortotoluidin reaktividan qo'shiladi. Standart namuna tayyorlash uchun qonning o'rniga 0,1 ml glyukozani standart eritmasi olinadi va tajriba namunasiga o'xshab ish olib boriladi. Kontrol va standart namunalar sentrifuga qilinmaydi.

Glyukozaning konsentratsiyasi yuqori bo'lgan hollarda, ayniqsa siydikning analizida, namunani 2 yoki 10 martagacha distillangan suvda suyultiriladi. Olingan natijani suyultirish soniga ko'paytiriladi.

Glyukozaning miqdori quyidagi formula bilan hisoblanadi.

$$C_{on} = C_{cm} \frac{E_{on}}{E_{cm}} \text{ mg \% glukoza.}$$

C_{on} - probirkadagi glyukozaning konsentratsiyasi, mg % da;

C_{cm} - standart namunadagi glyukozaning konsentratsiyasi, mg % da;

E_{on} - namuna optik zichligi;

E_{cm} - standart namunaning zichligi.

Qon zardobidagi kalsiy miqdorini aniqlash

Kalsiy organizmda juda muhim rol o'ynaydi. U ko'proq suyak to'qimalarida fosforli, karbonatli, fluorli birikmalar holida uchraydi. Suyak to'qimalarida uning konsentratsiyasi kamayib ketsa, qon orqali yana ta'minlanib turiladi. Qon zardobidagi kalsiyning taxminan 40 foizi albuminlar bilan bog'langan murakkab kompleks birikmalar holida uchraydi. Kalsiy ikki valentli kation bo'lib, nerv sistemasining qo'zg'aluvchanligini kamaytiradi. Aktomiozinni, ATF azani, lesitinazani aktivlashtiradi hamda degidrotaza, depeptidaza va boshqa fermentlarni tormozlaydi, qonning ivishiga ham ta'sir etadi.

Qon zardobidagi kalsiyning miqdori muhim ko'rsatkich hisoblanib, qon zardobi orqali organizm kation bilan ta'minlanib turiladi. Shuning uchun hayvon qoni zardobidagi kalsiyning miqdori doim tekshirilib turiladi.

Odam va har xil turdagi hayvonlarning qon zardobidagi oʻrtacha kalsiyning miqdori (mg %).

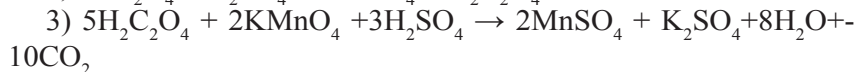
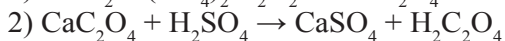
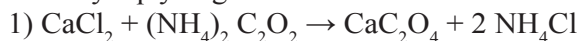
Odam	5-7		
Ot	12-14	Choʻchqa	12-14
Sigar	10-13	It	10-12
Tuya	II - 12,5	Tovuq	12-22
Echki	23 - 26		

Organizmda kalsiy almashinuvi bir qator omillarga bogʻliq. Uning almashinuvi oziqalardagi kalsiy va fosforning nisbatiga, D vitaminining va qalqon oldi bezi, buyrak usti bezlarining fiziologik holatiga bogʻliq. Bir qator kasalliklarda qon zardobidagi kalsiyning miqdori oʻzgaradi. Qondagi kalsiy miqdorining kamayishi (gipokalsemiya) yaxshi ovqatlanmaslikda, raxit, tugma shol kabi kasalliklarda kuzatiladi.

Giperparatireoz, suyak toʻqimasini shishlarida D vitamini katta dozada qoʻllanilganda qonda kalsiyning miqdori koʻpayadi.

Metodning prinsipi. Qon zardobidagi kalsiy oksalatlar holida choʻktiriladi. Choʻkma yuviladi, soʻngra sulfat kislotada eritiladi va ajralib chiqqan oksalat kislotasi kaliy permanganat eritmasi bilan titrlanadi.

Reaksiya quyidagi holda boradi:



Yuqoridagi reaksiyadan koʻrinib turibdiki, oksalat kislotasining oksidlanishiga ketgan kaliy permanganati miqdori, kalsiy miqdoriga ekvivalentdar.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; sentrifuga, 2 va 10 ml li pipetkalar; shisha tayoqcha; mikrobyuretka; suv hammomi.

Reaktivlar. Oksalat kislotasining ammoniy tuzini 4 % li eritmasi. Ammiakning 2% li eritmasi. Sulfat kislotasining 5,0% li eritmasi. Kaliy permanganatning 0,01 N eritmasi.

Ishning borishi. 1. 2 ta sentrifuga probirkalariga 2 ml dan distillangan suv solinadi.

2. Shu probirkalarga 1 ml dan qoʻn zardobi solib, yaxshilab aralashtiriladi.

3. Probirkalarga pipetka bilan 0,5 ml dan oksalat kislotaning ammoniy tuzining to‘yingan eritmasidan solinadi. Probirkalardagi suyuqliklar yaxshilab aralashtiriladi va kalsiyni to‘liq cho‘ktirish uchun 15 minutga qoldiriladi.

4. So‘ngra probirkalar sentrifugaga joylashtiriladi va 10-15 minut davomida 3000 ayl/min sentrifuga qilinadi.

5. Sentrifugadan probirkalar olinadi, probirkalardagi suyuqlik ehtiyotkorlik bilan to‘kiladi, kalsiy cho‘kmasi probirkaning tagida qoladi.

6. Probirkalardagi kalsiy cho‘kmasining ustiga byuretkka bilan 4 ml dan distillangan suv yoki 4 ml 2 % li ammiak eritmasidan solib aralashtiriladi va 10-15 minut davomida 3000 ayl/min sentrifuga qilinadi.

7. Cho‘kmani qoldirib suyuqlik to‘kib yuboriladi, kalsiy oksalat cho‘kmasiga 1 ml 50% li sulfat kislotasidan solib, cho‘kma shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi va probirka 2-3 minut qaynab turgan suv hammomiga qo‘yiladi.

8. Issiq eritma 0,01N kaliy permanganatning eritmasi bilan ochpushti rang hosil bo‘lguncha titrlanadi (hosil bo‘lgan rang 30 sekund va 1 min. vaqt oralig‘ida yo‘qolmasligi kerak).

9. Qon zardobidagi kalsiyni aniqlash bilan bir vaqtda kontrol tajriba ham o‘tkaziladi, ya‘ni distillangan suv va reaktivlardagi kalsiyning miqdori aniqlanadi. Buning uchun sentrifuga probirkasiga 3 ml distillangan suv va 0,5 ml dan oksalat kislotaning ammoniyli tuzi eritmasidan solib aralashtiriladi, 15 minutdan keyin sentrifugalanadi, ammiak bilan yuviladi, ya‘ni qon zardobida qanday ish olib borilgan bo‘lsa, kontrol tajribada ham shunday ish amalga oshiriladi.

Tajriba namunasini (qon zardobi) titrlash uchun sarf bo‘lgan kaliy permanganatning miqdoridan, kontrol namunasini titrlash uchun sarf bo‘lgan kaliy permanganatning miqdori ayirib tashlanadi (1 ml 0,01 K MnO₄ eritmasi 0,2 mg kalsiyga to‘g‘ri keladi).

Kalsiy miqdorini hisoblash uchun misol. Kalsiy miqdori quyidagi formula bilan hisoblanadi: $X = 0,2 (a-b) 100$.

Bu yerda: X - kalsiyning miqdori, mg % da, 0,2 mg dagi kalsiyning miqdori bo‘lib, bu 1 ml 0,001 N kaliy permanganatga to‘g‘ri keladi; a-tajriba namunasini titrlash uchun sarf bo‘lgan permanganatning miqdori, b - kontrol namunasini titrlash uchun sarf

bo'lgan permanganatning miqdori; 100 - mg % hisoblash uchun.

Qon zardobini titrlash uchun 0,01 N KMnO_4 eritmasidan 0,95 ml sarf bo'ldi, kontrol namunasini titrlash uchun 0,3 ml 0,01 N KMnO_4 eritmasi sarf bo'ldi. Qon zardobidagi kalsiyning miqdori quyidagiga teng bo'ladi:

$$(0,95 - 0,3) \times 0,2 \times 100 = 13 \text{ mg \%}$$

Qon zardobidagi fosfor miqdorini aniqlash

Fosfor to'qimalarning tuzilishida eng muhim struktura elementi hisoblanadi. Organizmdagi suyak to'qimalari tarkibining 85 foiziga yaqinini fosfor tashkil qiladi. Fosfor nuklein kislotalar, nukleoproteinlar, fosfoproteinlar, bir qator kofermentlar NAD, NADP, FMN, FAD, piridoksalfosfat, TPF va fosforli efirlar, uglevodlarni sintezi uchun eng kerakli komponent hisoblanadi.

Fosforli birikmalar - glikoliz, glikogenoliz, oksidlanish-fosforlanish va boshqa qator moddalar almashinuvi jarayonlarida ishtirok etadi. Fosfat kislotasining tuzlari bufer sistemalar tarkibiga kirib, qonning pH ni nisbiy doimiylikda ushlab turadi.

Hayvon qoni zardobidagi anorganik fosfor miqdorining o'zgarishi organizmning fiziologik holatiga, yoshiga, oziqalarning xarakteriga bog'liq. Hayvon qoni zardobidagi anorganik fosforning miqdori normada quyidagicha bo'ladi, (mg % hisobida):

Sigirlarda	4,6-5 ,5
Buzoqlarda	6 -7,0
Cho'chqalarda	3,0-4,0

Qon zardobidagi anorganik fosfor miqdorini kamayishi odatda oziqa ratsionining tarkibida fosfor, D vitamini etishmasligi (gipovitamin D), shuningdek, kalsiy va fosforning nisbati buzilganda ko'rish mumkin.

Hayvonlar oziqa ratsionidagi kalsiyning fosforgia eng maqbul nisbat quyidagicha bo'ladi: 1,5:1; 2:1, yoz davrida 2,5:1. Bu nisbat hayvonlarning turiga, yoshiga, mahsuldorligiga va ularning fiziologik holatiga bog'liq. Qon zardobidagi anorganik fosforning kamayishi, organizmda fosfor almashinuvi buzilganligidan dalolat beradi.

Metodning mohiyati shundan iboratki, qon zardobidagi anor-

ganik fosfor bilan molibdat kislotasi, molibdat kislotasining fosforli komplekslarini hosil qiladi, bu mahsulot reaksiya natijasida qaytarilganda ko'k rangni hosil qiladi. Rang hosil bo'lishi tezligi tekshirilayotgan ob'ektdagi fosforning miqdoriga bog'liq.

Qaytaruvchi sifatida eykonogen, gidroxinon, askorbin kislotasi va boshqalarni ishlatish mumkin.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; 1, 2, 5 va 10 ml li pipetkalar; filtr qog'ozi; voronka; 25 ml li Keldal kolbasi; suv hammomi; fotokolorimetr yoki spektrofotometr.

Reaktivlar. 1.Uchxlorasetat kislotasining 20 % li eritmasi. 2.Ammoniy molibdatning 2,5% li eritmasi, 5 N sulfat kislotaning eritmasida tayyorlanadi. 3. KH_2PO_4 ning standart eritmasi, 1 ml eritmasida 0,04 mg fosfor saqlaydi. Eritmani tayyorlash: 0,1757 g KH_2PO_4 ni distillangan suvda eritiladi va umumiy hajmi 1 L ga etkaziladi. 4. Konsentrlangan sulfat kislota. 5. Pergidrol.

Ishning borishi. 1. Quruq toza probirkaga 2 ml qon zardobi; 6 ml distillangan suv va 2 ml 20 % li uchxlorsirka kislotasidan solinadi va yaxshilab aralashiriladi.

2. 5-10 minutdan keyin filtr qog'ozi orqali filtrlanadi. Tiniq filtrat anorganik fosforni aniqlash uchun ishlatiladi.

3. 5 ml filtratdan olib probirkaga solinadi, 1 ml ammoniy molibdat va 0,5 ml askorbin kislotasidan solinadi, so'ngra probirkadagi solingan moddalarning hajmi suv bilan 10 ml ga etkaziladi va 5 minut 37° dagi suv hammomiga qo'yiladi.

4. 30 minutdan keyin spektrofotometrda 750 nm to'liq uzunligida ko'riladi.

Umumiy fosforni aniqlash. Mikrokeldal kolbasiga 0,05 ml qon olib 0,2 ml 5 N sulfat kislotasidan qo'shiladi va to'liq rangsizlanguncha mineralizatsiya qilinadi. Fosfor miqdorini aniqlash yuqorida yozilgan sharoitda olib boriladi.

Kislotada eruvchi fosforni anqlash. 0,25-0,5 ml uchxlorsirka kislotali filtratdan olib, yuqorida anorganik fosforni aniqlash uchun tayyorlanganidan mikrokeldal kolbasiga solib mineralizatsiya qilinadi, yuqorida yozilgan anorganik fosforni aniqlash metodi bilan fosfor aniqlanadi.

Fosfor miqdorini hisoblash uchun kalibrlangan grafik tuziladi. Buning uchun KH_2PO_4 ning asosiy standart eritmasi tayyorlanadi,

bu eritmaning 1 ml tarkibida 0,04 mg fosfor saqlaydi. Oltita probirka olib, probirkalarga quyidagi jadvalda ko'rsatilgan reaktivlardan qo'shiladi.

Reaktivlar	Probirka nomeri					
	1	2	3	4	5	6
Fosforning standart eritmasi, ml	1	2	3	4	5	6
Distillangan suv, ml	2,95	2,9	2,8	2,7	2,6	3
Molibdat reaktivi, ml	1	1	1	1	1	1
Askorbin kislotasi, ml	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

30 minutdan keyin spektrofotometrda 750 nm to'liq uzunligida ko'riladi.

Grafik chizish uchun ordinat o'qiga optik zichlik kattaligi, absiss o'qiga esa fosfor miqdori mg hisobida ko'rsatiladi. Analiz qilinayotgan 1 ml qon zardobidagi fosforning miqdorini topish uchun quyidagi formuladan foydalaniladi:

$$X = \frac{C \cdot 100}{V}$$

Bu yerda:

X - anorganik fosforning miqdori (mg %);

C - kalibrlangan grafikdan topilgan fosforning miqdori (mg);

100 - natijalarni mg % da hisoblash uchun koeffitsient;

V- filtrat tarkibidagi qon zardobining, hajmi.

Qon zardobidagi umumiy fosforning miqdoriga qarab umumiy fosfolipidlarni aniqlash

Metodning prinsipi. Uchxlorasetat kislotasi ta'sirida qon oqsillari bilan birgalikda fosfolipidlar cho'kmaga tushadi. Hosil bo'lgan cho'kmadagi fosforning miqdori spektrofotometrik metod bilan aniqlanadi.

Reaktivlar. 1.Uchxlorasetat kislotasining 10 % li eritmasi. 2.Perxlorat kislotasining 57% li eritmasi. 3.Ammoniy molibdatning 4 % li eritmasi. 4.Aminonaftolsulfon kislotasining asosiy eritmasi (eykonogen eritmasi), 30 g natriy bisulfit yoki natriy metabisulfit, 6

g natriy sulfit va 0,5 g eykonogendan tayyorlanadi. Natriy bisulfit 100-150 ml distillangan suvda eritiladi, soʻng eritmaga eykonogen qoʻshiladi. Eykonogen shisha tayoqcha bilan aralashtirilib eritiladi, ozroq hajmda suv olib, natriy sulfit eritiladi. Keyin ikkala reaktiv aralashtiriladi va hajmi 250 ml ga (suv solib etkaziladi). 2-3 soatdan keyin filtrlanadi va eritmani qorongʻi idishga solib, sovuq xonada saqlanadi. Ishlatishdan oldin asosiy eritmani 1:2,5 marta suyultiriladi. 5. Asosiy standart eritmani tayyorlash. Bu eritmani tayyorlash uchun KH_2PO_4 dan 4,39 g olib, 1 L distillangan suvda eritiladi. Bu eritmaning 1 ml tarkibida 1 mg fosfor saqlaydi.

Ishlatish uchun shu standart eritma 100 marta suyultiriladi, bu 1 ml eritma tarkibida 0,01 mg fosfor saqlaydi. Shu eritmadan standart eritmalar (namunalar) tayyorlanadi.

Kerakli asboblari: 1000 va 250 ml li kolbalar; 1,2,10 ml li pipetkalar; qumli hammom; shisha tayoqcha, filtr qogʻozi, voronka; spektrofotometr.

Ishning borishi. Tajriba namunasini tayyorlash.

Probirkaga 0,2 ml qon zardobi solinadi va unqa 2,8 ml distillangan suv qoʻshiladi. Soʻngra 3 ml 10 % li trixlorosirka kislotasi eritmasidan qoʻshib chayqatiladi, 5 minutdan keyin minutiga 2500 aylana tezlikda 15 minut sentrifuga qilinadi. Suyuqlik toʻkib yuboriladi va choʻkmasiga 1 ml perxlorat kislotasining 57 % li eritmasidan solinadi. Probirka 20-30 minut 180°C qumli hammomga qoʻyiladi va aralashma rangsizlanguncha qoldiriladi. Sovugandan keyin tajriba namunasining hajmini distillangan suv bilan 7 ml. ga etkaziladi.

Kontrol namunasini tayyorlash uchun 0,8 ml perxlorat kislotasining 57 % li eritmasidan olib, hajmi suv bilan 7 ml. ga koʻpaytiriladi.

Standart namunalar tayyorlash. Uchta standart namuna tayyorlanadi. Buning uchun probirkalarga 2 ml dan standart eritma va 0,8 ml perxlorat kislotasining 57 % li eritmasidan solinadi. Har bir standart namunaning hajmi suv bilan 7 ml ga etkaziladi. Har bir probirkaga 1 ml dan ammoniy molibdatning 4 % li eritmasidan qoʻshiladi va aralashtiriladi, 1 ml dan aminonaftolsulfon kislotasidan qoʻshib, hajmi suv bilan 10 ml ga koʻpaytiriladi. Soʻngra probirkalardagi suyuqliklar yaxshilab aralashtiriladi va 20 minutga qoldiriladi. Spektrofotometrda 630-690 nm toʻqin uzunligida kontrolga nisbatan oʻlchanadi.

Fosforning miqdori quyidagi formula bilan hisoblanadi:

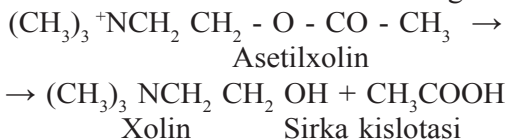
$$\frac{E_{on}}{E_{cm}} \cdot \frac{0,02 \cdot 100}{0,2} = \frac{E_{on}}{E_{cm}}$$

Bu yerda: 0,02— 2 ml standart eritmadagi fosforning miqdori (mg). 0,2 - tajriba namunasidaga qon zardobining hajmi. E - tajriba namunasidagi qon zardobining hajmi. E_t -tajriba namunasining (qon zardobining) optik zichligi. E_s - standart eritmaning optik zichligi.

Lipoidli fosfor fosfolipidlar molekulasining 4 % ini tashkil qiladi, fosfolipidlarning umumiy konsentratsiyasini hisoblash uchun esa lipoidli fosfor konsentratsiyasi 25 ga ko‘paytariladi.

Xolinesteraza fermentining aktivligini aniqlash

Asetilxolin nerv impulsini o‘tkazishda mediatorlik rolini bajaradi. Xolinesteraza asetilxolinni xolin va sirka kislotasigacha parchalaydi:



Bu reaksiya natijasida sirka kislotasining to‘planishi hisobiga kislotali muhit hosil bo‘ladi, buni indikator yordamida aniqlash mumkin. Bu ishda sharoitga qarab, rang hosil qiluvchi bromtimol ko‘k indikator qo‘llaniladi. Ranging o‘zgarish zonasi pH 7,6-6,0 orasida bo‘ladi. Kislotali muhitda sariq, ishqoriy muhitda ko‘k oraliqda yashil rangni hosil qiladi.

Ferment bilan substrat turli haroratda inkubatsiya qilinadi. Asetilxolinning fermentativ gidrolizlanishi inkubatsion aralashma hosil qilgan rangiga qarab aniqlanadi.

Ko‘pgina hayvon to‘qimalaridan ajratib olingan fermentlar uchun eng maqbul harorat 37-40° hisoblanadi. Harorat pasayganda fermentativ kataliz sekinlashadi, 0°C da esa reaksiya bormaydi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar, suv hammomi; muz hammomi.

Reaktivlar. 1. Asetilxolinning 0,5 % li eritmasi, qon zardobixolinesteraza fermenti manbai. 1:50 marta suyultirilgan bromtimol ko‘kning 0,2 % li eritmasi (2,5 g bromtimol indikator 4,5 ml 0,1 N

natriy ishqori eritiladi, hosil boʻlgan eritma 50 ml li kolbaga solinadi va unga 12,5 ml 0,1 N bor kislotasining eritmasidan qoʻshiladi, soʻngra eritma hajmi 0,1 M KCl eritmasi bilan kolbaning belgisshacha etkaziladi. Ishlatishdan oldin eritma 2,5 marta suyultiriladi).

Ishning borishi. Uchta probirka olinadi, har biriga 2,5 ml qon zardobi va 0,5 ml bromtimol koʻk indikatoridan solinadi. Birinchi probirka 40°C li suv hammomiga, ikkinchisini - xona haroratidagi suv hammomiga, uchinchisini muzli hammomga quyiladi. 10 minutdan keyin hamma probirkalarga 0,5 ml asetilxolin eritmasidan solib suyuqliklar aralashtiriladi va yana oʻsha haroratlarda saqlanadi. 10-15 minutdan keyin probirkalarda hosil boʻlgan ranglar belgilanadi va fermentativ haroratga bogʻliq ekanligi aniqlanadi.

XII BOB. SUT

Sut - -tiniq bo‘lmagan suyuqlik bo‘lib, mazasi shirinroq va kuchsizroq o‘ziga xos xidga ega. Sutning rangi ma’lum darajada uning tarkibidagi A provitaminning miqdoriga bog‘liq bo‘lib, karotin unga sariqroq tus beradi.

Sut - sut plazmasidan va yog‘dan iborat. Quyidagi turli hayvonlar sutining tarkibi keltirilgan (%):

Hayvonlar	Suv	Oqsil	Yog‘lar	Laktoza	Mineral moddalar
Sigar	87,3	3,4	3,6	5,0	0,7
Echki	87,0	3,7	4,0	4,5	0,9
Qo‘y	84,0	5,1	6,1	4,2	1,0
Cho‘chqa	82,0	6,1	6,4	4,0	1,1
It	77,0	9,7	9,3	3,1	0,9
Quyovon	70,0	15,5	1,9	2,9	
Kiyik	66,0	14-20	17,0	2,8	1,5

Sutning tarkibida asosan quyidagi oqsillar bor: kazeinogen, laktoalbuminlar, laktoglobulinlar, lipoproteinlar, fermentlar va boshqalar. Eng muhim sut oqsillariga - kazeinogen kiradi. Fosfat kislota oqsil tarkibidagi oksiaminokislotalar - serin va treonin qoldig‘i bilan bog‘lanadi. Kazeinogen to‘liq qiymatli oqsil bo‘lib, ya’ni tarkibida hamma aminokislotalar yig‘indisi bor. Tarkibida etarli miqdorda kalsiy va fosfor borligi uchun organizmda yaxshi hazm bo‘ladi. Boshqa sut oqsillari ham biologik to‘liq qiymatlidir. Ular qaynatilganda kagulyatsiyaga uchramaydi. Kazeinogen - sut achiganda denaturatsiyaga uchraydi, uning izoelektrik nuqtasi (IET)-4,7. Lipidlarning asosiy qismi - triglitseridlardir. Yog‘lar sutda emulsiya holatda uchraydi. Sut tarkibidagi uglevodlarning 99,9 % ni laktoza va 0,1 % glukoza tashkil kiladi. Laktoza (1,4 - galaktozidglyukoza) - disaxarid va sut bezlari uchun xosdir. Organizmda laktoza kalsiy, magniy, fosforning hazm bo‘lishida va B guruhdagi vitaminlarning sintezida ishtirok etadi.

Sutning tarkibi karotin va A vitaminlarga boy, shuningdek yana C, D, B₁, B₂, B₅, B₆ vitaminlar ham uchraydi. Sutning tarkibida fermentlar (amilaza, katalaza, ksantinoksidaza, degidraza va boshqalar); pigmentlar (ksantofill, karotin, laktooksidaza, degidraza

va boshqalar); gormonlar (prolaktin, oksitotsin va boshqalar) hamda immunomodallar bor.

Sutning tarkibida mineral moddalardan kalsiy - 140 mg%, fosfor - 80-100 mg%, kaliy - 140 mg% hamda kamroq nisbatda temir uchraydi. Sutning tarkibi hayvonlarning individual xususiyatlariga, zotiga, laktatsiya davrining vaqtiga va oziqaning xarakteriga bog'liqdir. Organizmning fiziologik va patologik holati ham sutning miqdoriga va tarkibiga ta'sir qiladi.

Sutning sifat reaksiyalari

1. Kazeinni cho'ktirish va ajratib olish. Sutga kislotalar (masalan, sirka, sut, xlorid) yoki ammoniy sulfatning, natriy xloridning to'yingan eritmalarini ta'sir ettirib, kazein ajratib olish mumkin. Kazein suvda erimaydi, ishqoriy eritmalarda tez erib ketadi. Sutdan kazeinni ajratib olinganda, uning zardobi qoladi. Sut zardobi tarkibida laktoalbuminlar va laktoglobulinlar, laktoza va mineral tuzlar bor. Yog'lar ham kazein cho'kmasi bilan birgalikda cho'kadi.

Kerakli asboblari: kolbalar; stakanlar; silindr 100 ml li pipetka; shisha tayoqcha; filtr qog'oz, voronka.

Reaktivlar. 1. Sirka kislotasining 0,1 % li eritmasi 2. Natriy ishqorining 1 % li eritmasi. 3. Natriy gidrokarbonatining 5 % li eritmasi. 4. Sut.

Ishning borishi. Stakandagi 20-30 ml sut unga nisbatan 3-4 hajmdagi ko'p suv bilan suyultirilib yaxshilab aralashtiriladi va unga tomchilab sirka kislotaning 0,1 % li eritmasidan to kazeinning oq cho'kmasi hosil bo'lishi tamom bo'lguncha qo'shiladi, yog'lar ham kazein bilan birgalikda cho'kadi. Kislotada kerakli miqdorda qo'shiladi, chunki ortiqcha kislotada kazein yaxshi eriydi. Cho'kma filtrlangach 2-3 marta distillangan suv bilan yuviladi. Cho'kma va filtrat keyingi ishlar uchun ishlatishga olib qo'yiladi.

Cho'kmaning ozgina qismiqa (kazein, yog) natriy gidroksidining eritmasidan yoki natriy gidrokarbonatidan ta'sir ettirilsa kazein eriydi, yog' esa muallaq holatda qoladi. Suyuqlik ho'l filtr qog'oz orqali filtrlanadi. Yog' filtr qog'ozda qoladi. Filtrat bilan oqsil uchun reaksiyalar bajarib ko'riladi (rangli va cho'ktirish reaksiyalari).

2. Laktoalbuminlar va laktoglobulinlarni ajratib olish. Kerakli asboblari: 50 ml li kolba; probirkalari bilan shtativ; filtr qog'oz; voronka.

Reaktivlar. 1. Filtrat. 2. Natriy xloridning to'yingan eritmasi.

Ishning borishi. Kazeinning sirka kislotasi ta'sirida cho'ktirib olingan filtratidan olib, natriy xloridning to'yingan eritmasi bilan aralastiriladi (1:1) va qaynatiladi. Natajada laktoalbuminlar va laktoglobulinlar cho'kmaga tushadi va filtrlanadi. Cho'kma yuvilgach distillangan suvda eritiladi. Hosil bo'lgan eritma bilan oqsillar uchun rangli reaksiyalar qilib ko'riladi.

3. Kazein miqdorini aniqlash.

Kerakli asboblari: 50 ml li kolba; termometri bilan suv hammomi; byuretkalar.

Reaktivlar. 1. Natriy salitsilatning 5 % li suvdagi eritmasi. 2. Fenolftaleinni 2% li eritmasi. 3. Natriy gidroksidining 0,02 N eritmasi.

Ishning borishi. Kazein filtratidan (1. kazeinni cho'ktirish va ajratib olish) kolbaga solinadi va unga 10 ml issiq (60-70°C) natriy salitsilatning eritmasidan qo'shiladi. Kolba suv hammomiga (75-80°C) qo'yilgach, kazein eriguncha chayqatib turiladi. Shundan so'ng eritma sovutiladi, 2-3 tomchi fenolftalein eritmasidan qo'shiladi va 0,02 N natriy gidroksidi bilan pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi. Sarf bo'lgan ishqorning oz-ko'pligiga qarab kazeinning miqdori aniqlanadi. 0,1 g toza kazeinni neytrallash uchun 4,1 ml 0,02 N natriy gidroksidining eritmasi sarf bo'ladi:

$$X = \frac{a \cdot 0,1}{4,1}$$

Bu yerda: X - tekshirilayotgan ma'lum hajmdagi kazeinning miqdori, a- titrlash uchun sarf bo'lgan 0,02 N natriy ishqorining miqdori.

4. Sut oqsillariga og'ir metall tuzlarning ta'siri.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ, pipetkalar.

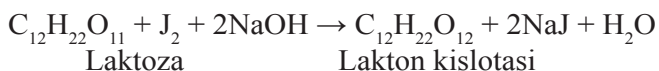
Reaktivlar. 1. Qo'rg'oshin asetatining 0,5 % li eritmasi. 2. Mis sulfatning 5 % li eritmasi. 3. Sut.

Ishning borishi. Ikkita probirka olib, birinchisiga 3-4 ml qo'rg'oshin asetatidan, ikkinchisiga 3-4 ml li mis sulfatning eritmasidan

solinadi. Ikkala probirkalarga 1-2 ml sut qo‘shiladi, natijada oqsillar cho‘kmaga tushadi.

Sut shakarining sifat reaksiyalari

Metodning prinsipi shundan iboratki, laktoza tarkibidagi erkin aldegid guruhi ishqoriy sharoitda yod bilan oksidlanadi, natijada lakton kislotasi hosil bo‘ladi.



Kerakli asboblari: 50, 100 ml li kolbalar; 5, 10 va 20 ml li pipetkalar; byuretka; voronka; filtr qog‘oz.

Reaktivlar: 1.Sut. 2.Mis sulfatning 7% li eritmasi. 3.Natriy gidroksidning 2% li eritmasi. 4.Natriy ftoritning 5% li eritmasi. 5.Xlorid kislotaning 5% li eritmasi. 6.Natriy tiosulfatning 0,1 N eritmasi. 7.Kraxmalning 5% li eritmasi. 8.Yodning 0,1 N eritmasi.

Ishning borishi. Ikkita 50 ml kolbaga 5 ml dan mis sulfat eritmasidan, 5 ml dan natriy gidroksidning eritmasidan va 2,5 ml natriy ftoritning eritmasidan solinadi. So‘ngra birinchi kolbaga (tajriba) 5 ml sut, ikkinchisiga (kontrol) - 5 ml distillangan suv qo‘shiladi. Kolbalar chayqatiladi va 30 minutdan keyin filtrlanadi.

20 ml filtratdan olib, 100 ml li kolbalarga solinadi va 20 ml dan yodning eritmasidan qo‘shiladi, so‘ngra to‘xtovsiz aralashtirib turib 10 ml natriy ishqorining eritmasidan tomiziladi. Ikkala kolba tiqin bilan berkitilgach, 20 minutdan keyin 10 ml xlorid kislotasining eritmasidan, 5 tomchi kraxmal eritmasidan qo‘shiladi va natriy tiosulfatning eritmasi bilan eritma rangsizlanguncha titrlanadi. 1 ml 0,1 N natriy tiosulfatning eritmasi 18,01 mg laktoza to‘g‘ri keladi. Hisoblash.

$$X = \frac{(a - b) \cdot K \cdot 18,01 \cdot 50 \cdot 100}{20 \cdot 5}$$

Bu yerda: X-100 ml sutdagi laktozaning miqdori, mg, %.

a - kontrol namunani titrlash uchun sarf bo‘lgan natriy tiosulfat eritmasining hajmi, ml;

b - tajriba namunasi titrlash uchun sarf bo‘lgan natriy tiosulfat eritmasining miqdori, ml;

K - 0,1 N natriy tiosulfat eritmasi titrini tuzatish koeffitsenti.
Sigir sutida o'rtacha laktozaning miqdori 4,6 %.

Sutdagi C vitamini miqdorini aniqlash

Kerakli asboblari: 50 va 100 ml li kolbalar; pipetkalar; byuretka.

Reaktivlar. 1.Xlorid kislotasining 2 % li eritmasi. 2.0,001 N 2,6 -dixlorfenolindofenolning eritmasi. 3.Sut.

Ishning borishi. 10 ml sutga uch hajm distillangan suv qo'shib suyultiriladi. 50-100 ml kolbaga 1 ml xlorid kislotasi eritmasidan va 5 ml suyultirilgan sut solinadi, so'ngra hajmi suv bilan 15 ml ga etkaziladi. Kontrol namuna uchun kolbaga 1 ml xlorid kislotasining eritmasi va 14 ml suv solinadi. Kolbalardagi suyuqliklar chayqatiladi, so'ngra 2,6 - dixlorfenolindofenol eritmasi bilan och pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi. Kontrol namunani titrlash uchun ketgan 2,6 - dixlorfenolindofenolning miqdoridan tajriba namunasi titrlash uchun ketgan miqdorini ayirib tashlab, 2,6 - dixlorfenolindofenolning miqdori aniqlanadi. Hisoblash:

$$X = \frac{b \cdot K \cdot C \cdot 0,088 \cdot 100}{5}$$

Bu yerda: X - sutdagi C vitaminining miqdori, mg %,

b- 2,6 - dixlorfenolindofenol eritmasi titrini to'g'rilash koeffitsienti;

C - sutning suyultirish darajasini ifodalovchi son;

0,088 - askorbin kislotasining soni (mg), ya'ni bu son 1 ml titrlash uchun sarf bo'lgan 0,001 N 2,6 - dixlorfenolindofenolning eritmasiga to'g'ri keladi;

5 - titrlash uchun olingan sutning miqdori, ml;

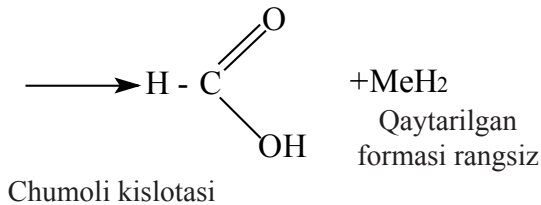
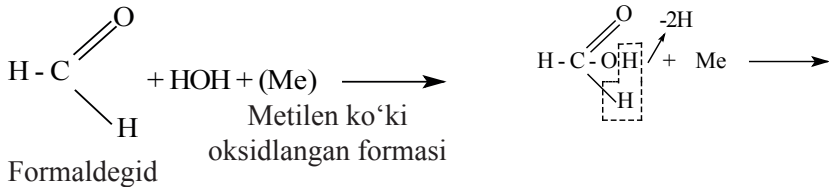
100 - mg % da hisoblash uchun.

Sutning fermentlari

Sutning tarkibida juda ko'p fermentlar bo'lib, ular sutga sut bezlari va mikrofloralar orqali keladi. Turli hayvonlar sutining

tarkibida gidrolaza (amilaza, lipaza, fosfotaza, laktaza va boshqalar), oksidoreduktaza (peroksidaza, anaerobli degidrogenazalar, katalaza va boshqalar) fermentlari bor.

Aldegiddegadrogenaza fermentini aniqlash. Sutga qo‘shilgan metilen ko‘ki eritmasining rangsizlanishidan aldegiddegadrogenaza fermenti borligini bilish mumkin. Bu ferment ta‘sirida metilen ko‘kinging qaytarilgan rangsiz leykoformasiga aylanadi:



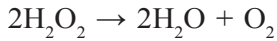
Sutga aldegiddegidrogenaza sut bezlari orqali juda oz miqdorda kiradi. Sutda mikrofloralar ko‘payganda ferment ham ko‘plab yig‘iladi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; suv hammomi, termometr; pipetkalar.

Reaktivlar: 1. Formaldegidning 0,5 % li eritmasi. 2. Metelin ko‘kinging eritmasi (0,001 % li). 3. Sut.

Ishning borishi. Bitta probirkaga 2-3 ml qaynatilgan sut (kontrol), boshqasiga 2-3 ml yangi sog‘ilgan sutdan (tajriba) solinadi. Ikkala probirkaga 1 ml dan formaldegid eritmasidan va 1 ml metilen ko‘ki eritmasidan solib 70° li suv hammomiga qo‘yiladi - reaksiyaning borishi kuzatiladi. Yangi sut solingan probirkadagi aralashma rangsizlanadi, qaynatilgan sut solingan probirkadagi aralashma esa rangsizlanmaydi, chunki qaynatilgan sutda bu ferment o‘z aktivligini yo‘qotadi.

Katalaza fermentini aniqlash. Katalaza fermenti ta‘sirida pergidrol suvga va molekulyar kislorodga parchalanadi:



Sutga pergidrol qo‘shilsa kislorod ajralib chiqadi, bu katalaza fermenti borligidan dalolat beradi.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar.

Reaktivlar. 1.Sut. 2.Pergidrolning 1 % li eritmasi.

Ishning borishi. Bitta probirkaga 2-3 ml 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. Qaynatilgan sutda ferment yuqori harorat ta‘sirida denaturatsiyaga uchragan, shuning uchun bu probirkada fermentativ reaksiya bormaydi.

Sut tarkibidagi kalsiy miqdorini aniqlash

Sutdagi umumiy mineral moddalarning taxminan 1/6 qismini kalsiyli birikmalar tashkil qiladi. Hayvonlar sutida kalsiyning o‘rtacha miqdori quyidagicha: sigirlarda 140 mg %; echkilarda 142 mg %, otlarda 83 mg %.

Sut - kalsiy va fosforgia boy bo‘lgan ovqat hisoblanadi. Sutdagi 78 % kalsiy anorganik tuzlar holatida, 22 % kalsiy kazein oqsili bilan birikkan holatda uchraydi.

Sutdagi kalsiyning miqdori -Vaard metodi bilan aniqlashga asoslangan.

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ; pipetkalar; sentrifuga; suv hammomi; 20, 25 ml li silindrlar.

Reaktivlar. 1.Sut - 10 marta suyultirilgan, 25 ml li silindrga 1 ml sut va 9 ml suv qo‘shib aralashtiriladi. 2.Oksalat kislotasining 4% li eritmasi. 3.Ammiakning 2 % li eritmasi. 4.Sulfat kislotasining 1 N eritmasi. 6.Kaliy permanganatning (KMnO_4) 0,01 N eritmasi.

Ishning borishi. Bitta sentrifuga probirkasiga 1 ml suyultirilgan sut, ikkinchi probirkaga 1 ml suv solinadi, so‘ng ikkala probirkaga 0,5 ml ammoniy oksalatning eritmasidan qo‘shib aralashtiriladi va 30 minutga qoldiriladi. Keyin esa 10-15 minut sentrifuga (2500 ayl/min) qilinadi. Filtrat to‘kib yuborilgach ikkala probirkadagi cho‘kmaga 4 ml dan ammiakning 2 % li eritmasidan solinadi va yana 8-10 minut sentrifuga qilinadi. Kalsiy oksalat cho‘kmasi ishqoriy sharoitda erimaydi, mineral kislotalarda esa yaxshi eriydi.

Ikkala probirkaga 1 ml dan sulfat kislotasining 1 N eritmasidan solinadi va shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtiriladi. Soʻngra probirkalar (tayoqlari bilan) 3-4 minut qaynatilgan suv hammomiga qoʻyiladi. Issiq eritmalarni 0,01 N KMnO_4 eritmasi bilan pushti rang hosil boʻlguncha titrlanadi.

Sutdagi kalsiy miqdori (mg %) quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$X = \frac{0,2 \cdot (0 - K) \cdot 100}{0,1}$$

Bu yerda: 0 - tajriba namunasini titrlash uchun sarf boʻlgan 0,01N KMnO_4 eritmasining miqdori;

K -Kontrol namunani titrlash uchun sarf boʻlgan 0,01N KMnO_4 eritmasining miqdori;

0,2 - kalsiy miqdorini, yani 1 ml 0,01 N KMnO_4 eritmasiga toʻgʻri keladi, mg;

100- mg % hisoblash uchun;

0,1- suyultirilgan sutning tarkibidagi sutning miqdori, ml.

Sutning kislotaliligini aniqlash

Sutning kislotaliligini aniqlash, uni aynib qolmasligini bilishda katta amaliy ahamiyatga ega. Sut uzoq muddat saqlanganda achiydi va natijada sut kislotasi yigʻiladi. Sutning kislotaliligi graduslarda ifodalanadi. 100 ml tekshirilayotgan sutni neytrallash uchun sarf boʻlgan 0,1 N ishqorning ml dagi miqdori 1° ga toʻgʻri keladi. Yangi sigir suti $15-18^\circ$, turib qolgan sut - $20-22^\circ$, qaynatilganda ivib qolgan sut - $24-27^\circ$ ga ega.

Kerakli asboblari: 50-100 ml li kolbalar; pipetkalar; byuretka.

Reaktivlar. 1.Natriy gidroksidining: 0,1 N eritmasi. 2.0,1 % li fenolftaleinning spirtidagi eritmasi. 3.Sut.

Ishning borishi. Kolbaga 10 ml tekshirilayotgan sut, 20 ml distillangan suv va 2-3 tomchi fenolftaleinning eritmasidan solinadi, soʻngra kolba chayqatiladi hamda 0,1 N natriy gidroksidining eritmasi bilan pushti rang hosil boʻlguncha titrlanadi.

Hisoblash: titrlash uchun sarf boʻlgan ishqor miqdori 10 ga koʻpaytiriladi (100 ml da hisoblash uchun). Bu son sutning kislotaliligini gradusda koʻrsatadi.

XIII BOB. MUSKUL TO‘QIMASI

Muskul to‘qimasi - go‘shning muhim komponenti hisoblanib uchga bo‘linadi: targ‘il chiziqli, silliq yoki chiziqsiz va yurak muskuli. Muskullar masalan, qon aylanishida, nafas olishda, tomirlardagi tonuslarni bir xilda ushlab turish va boshqa jarayonlarda juda muhim fiziologik funksiyalarni bajaradi. Muskul tarkibi quyidagicha tuzilgan (% hisobida): suv -72-82; oqsillar 16,5-20,9; lipidlar (lipidlarning miqdori o‘zgarib turadi, chunki bu narsa emishga bog‘liq); azotli moddalar (taxminan 1 % ATP, ADP, AMP, inozit kislotasi, erkin aminokislotalar, kreatin, kreatinin, fosfokreatinin, karnozin, anserin va boshqalar), azotsiz moddalar(glikogen - 0,3-0,4; glyukoza, glikoliz mahsulotlari, glikogenoliz va trikarbon kislotalar sikli), vitaminlar makro va mikroelementlar (- 1, -1,5).

Oqsillar - muskul to‘qimasining eng muhim tarkibiy qismlaridan biri bo‘lib, ular sarkoplazmatik, miofibrillyar va stroma oqsillariga bo‘linadi. Sarkoplazmatik oqsillarga miogenlar, mioalbuminlar, mioglobulinlar va mioglobinlar kiradi. Miogenlar-oqsillarni, ya‘ni muskul oqsillarining 30 % ini tashkil etadi. Miogenlar ikkiga bo‘linadi: A va B miogenlar. A miogenlar aldolaza fermentining tarkibiga kiradi, B miogenlar katalitik ta‘sir qila olmaydi.

Mioglobulinlar suvda erimaydi, tuzli eritmalar bilan ajratib olinadi. Ular xromoproteinlarga kirib, oqsil va gemdan tashkil topgan. Molekulyar og‘irligi 17000. Mioglobin, gemoglobinga o‘xshab, molekulyar kislorodni bog‘lab olish va berish xususiyatiga ega.

Miofibrillyar oqsillarga miozin, aktin tropomiozin va troponin kiradi. Oqsillar muskullarni qisqarishida ishtirok etib hamma oqsillarning 50 % ini tashkil qiladi. Miozin - ATP ni parchalash hususiyatiga ega. U aktin bilan birikadi va qisqaruvchi kompleks -aktiomiozinni qisqarishi kimyoviy energiya hisobiga sodir bo‘lib, bunda magniy ioni ishtirokida miozin ta‘sirida ATP parchalanib, ADP va anorganik fosfat kislotani hosil qiladi.

Aktin oqsili suvda eriydi, miozin bilan kompleks hosil qiladi va hamma oqsillarning 15 % ini tashkil qiladi. Stroma oqsillari muskul oqsillarining 10% ini tashkil qiladi, suvda va tuzli eritmalarda erimaydi. Bu guruh oqsillariga kollagen va elastinlar kiradi.

Maydalangan muskulni ekstraksiya qilinganda oqsilsiz moddalar oson suvli eritmaga o'tadi.

Muskul to'qimasining tarkibida turli xil fermentlar: masalan, katepsinlar, lipazalar, oksidoreduktazalar bor.

Miozinni ajratish

Miozin (aktimiozin) - muskul oqsili bo'lib, muskul to'qimasidan tuzli eritmalar yordamida ekstraksiya qilinadi. Hosil bo'lgan ekstraktlar suv bilan suyultirib yoki dializ qilib, cho'kmaga tushiriladi. Miozin muskul oqsillarining 55 % ini tashkil etadi. Bu oqsilning izoelektrik nuqtasi pH 5,5 da namoyon bo'ladi.

Kerakli asboblari: muz hammomi; qaychi; 1000 ml li kolbalar; sentrifuga; doka.

Reaktivlar. 1. 0,15 M fosfat buferi-0,3 M KCl eritmasida tayyorlanadi-pH 6,5. 2. 0°C gacha sovitilgan distillangan suv.

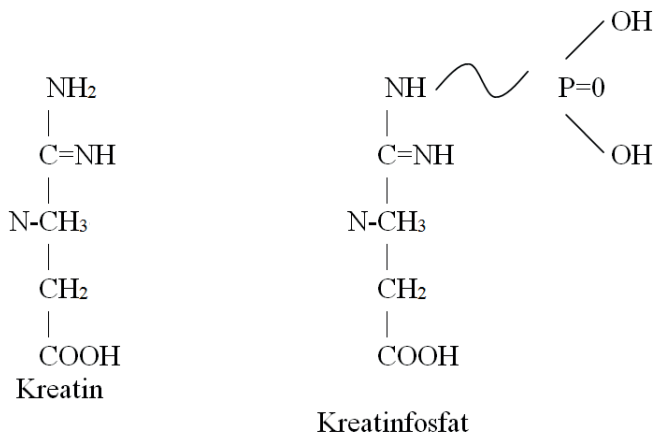
Ishning borishi. Yangi so'yilgan hayvon muskuli to'qimasidan olib maydalanadi. Bu jarayon -2°C da olib boriladi. 100 g maydalangan muskulga 300 ml 0,15 M fosfat buferining 0,3 M KCl dagi eritmasidan solib ekstraksiya qilinadi. Ekstraksiya - 1°C da 10 minut davomida aralastirib olib boriladi. So'ngra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

Muskul 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 tuqimasida 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



Muskul to'qimasidagi erkin kreatin va kreatinfosfatning miqdori to'qimaning fiziologik holatiga bog'liq.

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

Kerakli asboblari: probirkalari bilan shtativ, muz hammomi, sentrifuga; termostat.

Reaktivlar. 1.HClO₄ - 0,5 M eritmasi, 2.KOH - 2 M eritmasi. 3.Diasetilning 0,05 % li eritmasi; bu reaktivni tayyorlash uchun 1,6 g dimetilglioksim olib, 200 ml sulfat kislotasining 5 N eritmasidan qo'shib, kolba qumli hammomda qizdiriladi. To'liq erigandan keyin suyuqlik 100 ml li kolbaga solinadi va hajmi distillangan suv bilan

100 ml ga etkaziladi. 1 % li diasetil eritmasi muzxonada saqlanadi, ishlatishdan oldin suv bilan suyultiriladi.

Oqsilsiz ekstraktni (olish) tayyorlash. Fosforli birikmalarni aniqlash 0-4°C olib boriladi. 1-2 g muskul to‘qimasidan olib, suyuq azotda muzlatiladi. So‘ngra hovonchada ezilib, 200-300 mg kolbaga solinadi. Oldindan sovutilgan HClO_4 0,5 M eritmasi bilan hajmi 10 ml ga etkaziladi, yaxshilab aralashtirilgach, oqsillarni cho‘ktirish uchun sentrifuga qilinadi. 7-8 ml oqsilsiz eritmada olib, 2 M KOH eritmasi bilan neytrallanadi (neytrallash uchun ketgan KOH miqdori hisobiga olinadi). Keyin eritma sovutilib, cho‘kmaga tushgan HClO_4 filtrlab ajratiladi. 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 mkmol kreatinni bor standart eritmada 1 ml dan solinadi: 1 ml dan 1 % *a*-naftolning ishqordagi eritmasidan va 0,5 ml 0,05 % li diasetil eritmasidan solinadi. Namunalarning hajmi distillangan suv bilan 5 ml ga etkaziladi, so‘ngra yaxshilab aralashtiriladi va 30 minut xona haroratida qorong‘i 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 tartibdagidek ish olib boriladi. Namunaning optik zichligi belgilangandan so‘ng, grafikdan qancha miqdorda kreatin borligi aniqlanadi.

Kreatinfosfatni kreatinga qarab aniqlash

Kreatinfosfatni aniqlash shunga asoslanganki, u ammoniy molibdatning kislotadagi eritmasi ta’sirida anorganik fosfat kislotasi va kreatinga parchalanadi. Ishqoriy muhitda pikrin kislotasi bilan hosil qilgan rangning optik zichligi spektrofotometrda o‘lchab aniqlanadi.

Reaktivlar. 1.1,4% li ammoniy molibdatning 2 N sulfat kislotasidagi eritmasi. 2.0,7 % li ammoniy molibdatning 1 N sulfat kislotasidagi eritmasi. 3.Natriy ishqorining 2 N eritmasi. 4.Pikrin

kislotasining to‘yingan eritmasi. 5.Kreatinning standart eritmasi (bu eritmaning 1 ml da 5 mkmol kreatin bor). 6.Universal indikator.

Ishning borishi. Neytrallangan oqsilsiz eritmada 1-2 ml olib probirkaga solinadi va teng hajmda 1,4 % li ammoniy molibdatning 2 N sulfat kislotasidagi eritmasidan qo‘shiladi. Probirka chayqatilgach, 40 minut 37°C haroratda termostatda qoldiriladi. Shundan keyin filtrlanadi, filtratdan 1,5-3 ml olib, 2 N natriy ishqorining eritmasi bilan nentrallanadi. Eritmaga 0,15 ml 2 N natriy ishqorining eritmasidan va 0,25 ml pikrin kislotasining to‘yingan eritmasidan qo‘shib, hajmi distillangan suv bilan 5 ml ga etkaziladi. Endi uni aralashtirish va 10-15 minut rang hosil bo‘lishi uchun qoldirish kerak. Shundan so‘ng spektrofotometrda 540 nm to‘lqin uzunligida optik zichligi o‘lchanadi. Namunaning optik zichligiga qarab, kalibrlangan grafikdan qancha miqdorda kreatin borligini aniqlash mumkin. Kalibrlangan garfik tuzish uchun esa probirkalarga 1 ml dan 0,1-0,5 mkmol kreatinning standart eritmasidan solib, yuqorida yozilgan sharoitda ish olib boriladi.

Muskuldagi kreatinfosfatning (X mg %) konsentratsiyasi quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$X = \frac{a \cdot 10 \cdot 100}{2 \cdot C}$$

Bu yerda: a - kalibrlangan grafikdan topilgan tajriba namunasidagi kreatin miqdori, mg;

10- to‘qima gomogenatining hajmi;

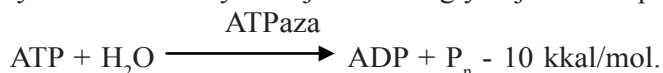
100 - foizda hisoblash koeffitsienti;

2 - aniqlash uchun olingan filtratning hajmi;

C - muskul to‘qimasining og‘irligi, mg.

Musku to‘qimasida adenozi trifosfatazaning aktivligini aniqlash

Mg²⁺ -ATPaza fermenti ATP ning gidrolitik parchalanishini katalizlaydi va bu reaksiya natijasida energiya ajralib chiqadi:



Bu fermentning aktivligi to'qimalarda sarflangan ATP ning miqdorini ko'rsatadi.

Metodning prinsini. Fermentativ reaksiyaning aktivligi, ATPpaza ta'sirida ATPning parchalanishidan hosil bo'lgan anorganik fosfat kislotaning miqdoriga qarab aniqlanadi.

Kerakli asboblari: gomogenizator, analitik tarozi, qaychi 1 va 2 ml li pipetkalar, probirkalari bilan shtativ, voronkalar, filtr qog'oz, termostat, spektrofotometr; sentrifuga.

Reaktivlar. 1. Muskel to'qimasi. 2. 0,25 M saxarozaning tris-HCl eritmasi (pH-7,4). 3. Trixlorosirka kislotasining 20 % li eritmasi. 4. Inkubatsion aralashma: Tris-HCl (pH-7,5.) -0,2 M, KCl- 0,05 M, NaCl -0,58 M, EDTA - 0,01 M, MgCl₂- 0,02 M, ATP -0,02 M. 5. Bufer aralashma, pH - 4 – bu bufer aralashma: 0,2 M sirka kislotasi va 0,4 M CH₃COONa x 3H₂O eritmasidan tayyorlanadi. 6. Ammoniy molibdatning 1 % li eritmasi. 7. 1 % li askorbin kislotasining 1 M mis sulfatdagi eritmasi.

Ishning borishi. 100 mg muskul to'qimasi maydalanadi va 5 ml 0,025 M saxarozaning Tris - HCl (pH-7,4) eritmasi bilan gomogenizatsiya qilinadi. Hosil bo'lgan gomogenat doka orqali filtrlanadi. Ikkita probirkaga 2 ml dan gomogenat solinadi. Birinchi probirka kontrol namunasi hisoblanib, unga 1 ml 20 % li trixlorosirka kislotasi eritmasidan qo'shiladi. Shundan keyin ikkala probirkaga 2 ml dan inkubatsion aralashmadan qo'shiladi va 30 minut 37°C termostatga - inkubatsiyaga qo'yiladi. Inkubatsiya davri tugagach, tajriba namunasi 1 ml 20 % li sirka kislotasining eritmasidan qo'shiladi. So'ngra probirkalardagi suyuqlikning hajmi 0,25 M saxarozaning eritmasi bilan 10 ml ga etkaziladi hamda 10 minut 2500 ayl/minut tezlikda sentrifuga qilinadi. Cho'kma to'kib yuboriladi, suyuqlik qismi bilan esa rangli reaksiya olib boriladi.

Buning uchun 1 ml sentrifugatdan olib, unga 2 ml ammoniy molibdat eritmasi, 1 ml askorbin kislotasining mis sulfatdagi eritmasi va 6 ml asetat buferidan qo'shiladi. Eritmalar aralastirilgach, 30 minutga qoldiriladi. Shundan keyin hosil bo'lgan rangning intensivligi spektrofotometrda 750 nm to'lqin uzunligida o'lchanadi.

ATPpaza fermentining aktivligi mikromol miqdori bilan belgilanadi va bu 1 g to'qima tarkibidagi ferment 1 minutda qancha

ATP ni parchalay olishini ko'rsatadi. ATPaza fermentining aktivligi quyidagicha hisoblanadi (mkmol/Pi /g/min).

$$E = \frac{(a-b) \cdot 5}{0,031 \cdot C \cdot 30}$$

Bu yerda: a - tajriba namunasidagi fosforning miqdori (bu miqdor kalibrlangan grafikdan topiladi), mg;

b- kontrol namunasidagi fosforning miqdori (bu miqdor ham kalibrlangan grafikdan topiladi), mg;

0,031-P_i ning miqdori (mg) bo'lib, bu bir mkmol ATP ni ATPaza ta'sirida parchalanishidan hosil bo'ladi, 5 - gomogenatning hajmi, ml; C - to'qimaning og'irligi, g; 30 - inkubatsiya vaqti.

Kalibrlangan grafikni tuzish. Buning uchun standart eritma tayyorlanadi, bu eritmaning 1 ml da 0,025 mg fosfor bor. Shu eritmadan fosforning turli konsentratsiyasi tayyorlanadi: 0,0123 mg; 0,025 mg, 0,0373 mg, 0,050 mg; 0,0623 mg; 0,0746 mg; 0,0869 mg, 0,0982 mg; 1,105 mg.

Buning uchun probirkalarga 0,5, 1,0; 1,5, 2,0; 2,5; 3,0, 3,5; 4,0; 4,5 ml standart eritmalaridan solinadi. So'ngra yuqorida yozilgan rangli reaksiya bajarib ko'riladi va 30 minutdan keyin optik zichligi spektrofotometrda 750 nm to'lqin uzunligida o'lchanadi. So'ngra natijalardan kalibrlangan grafik tuziladi. Shu grafikdan tajriba va kontrol namunalardagi fosforning miqdori topiladi.

XIV BOB. BIOLOGIK OB'EKTLARDA FOSFORNI ANIQLASH

O'simliklar tarkibida turli-tuman fosforli birikmalar uchrab, ular asosan anorganik va organik fosfordan iborat bo'ladi. Anorganik fosfatlar o'simlik to'qimalari va hujayralarida buferlik vazifasini bajarish bilan bir qatorda, o'simliklar tomonidan o'zlashtiriladigan va uni tanasi bo'ylab harakat qiladigan asosiy transport shakli hamdir. Shu bilan birga ular organik fosfatlarni hosil qiluvchi manba ham hisoblanadi.

Organik fosfor kislotada eruvchi va kislotada erimaydigan ikki xil shaklda uchraydi. Kislotada eruvchi fosforli birikmalarga nukleotidlar, shakarlarning fosforli efirlari: kislotada erimaydigan fosfor birikmalarga esa fosfolipidlar, nuklein kislotalar va boshqalar kiradi. Fosforli birikmalarning har birini alohida-alohida yoki ularning umumiy miqdorini aniqlash mumkin.

Umumiy fosforni kolorimetrik usulda aniqlashda bir qator birikmalardan; eykenogen, amidol, askorbat kislotasi va boshqalardan foydalanish mumkin.

Ishning borishi. Quruq o'simlik materialidan 50-200 mg tortib olinadi va kichik hajmli K'eldal kolbasida kuydiriladi. Buning uchun kolbaga 2-3 ml konsentrlangan sulfat kislotasi quyiladi va 1-2 minut davomida yaxshilab aralashtiriladi. So'ngra 0,2-0,3 ml vodorod peroksidi qo'shib, asta-sekin qizdiriladi. Agar kolbadagi suyuqlik tez qizdirilsa, fosfor qisman yo'qolishi mumkin. Eritma jigar rang tus olgandan so'ng yana 2-5 tomchi vodorod peroksidi qo'shib, qizdirish davom ettiriladi. Kolbadagi suyuqlik rangsizlanishi bilan reaksiya to'xtatiladi. Shundan so'ng yana bir marta 15-20 minut davomida qattiq qizdiriladi. Kolbadagi suyuqlik rangining o'zgarishligi, reaksiyasini tamom bo'lganidan darak beradi. So'ngra kolba sovutilib, undagi suyuqlik cheklangan 100 ml li kolbaga quyiladi va dastillangan suv bilan chiziqgacha to'ldiriladi. Aralashmadagi umumiy fosfor kolorimetrik usulda aniqlanadi.

Reaktivlar: o'simlik materiali, sulfat kislotaning konsentrlangan eritmasi, vodorod peroksidi.

Fosfor miqdorini eykonogen yordamida aniqlash

Bu usul Fiske va Subbarou tomonidan taklif qilingan bo‘lib, fosfat kislotaning nordon muhitda molibdat ammoniy ishtirokida fosfomolibdat ammoniy hosil qilishga asoslangan. Bu kompleks birikma eykonogen bilan birga ko‘k rang hosil qiladi. Rangni intensivligi fosfor kislota miqdoriga proporsionaldar.

Ishning borishi. Yuqoridagi usul bilan tayyorlangan aralashmadan 1 ml olib birinchi probirkaga solinadi. Neytrallashtirish uchun 2 tomchi fenoltalein qo‘shib, o‘yuvchi natriyning 20 % li eritmasidan pushti rang hosil bo‘lguncha solinadi. So‘ngra ortiqcha ishqor 1 N sulfat kislotasi bilan rang yo‘qolguncha neytrallashtiriladi. Probirkadagi suyuqlikning hajmi 3,5 ml ga etguncha distillangan suv quyiladi. Ikkinchi (kontrol) probirkaga esa 3,5 ml distillangan suv quyiladi. Har ikkala probirkaga molibdat ammoniyning 2,5 N sulfat kislotadagi 1,25% li eritmasidan 1,25 ml, eykonogen eritmasidan 0,25 ml qo‘shiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Xona haroratida 30 minut qoldiriladi. Reaksiya natijasida hosil bo‘lgan eritma rangi FEK da o‘lchanadi. Fosfor miqdori kalibrovka chizig‘i bo‘yicha aniqlanadi.

Reaktivlar: fenoltaleinning 1%li eritmasi, sulfat kislotaning 1 N eritmasi, molibdat ammoniyning 2,5 N sulfat kislotadagi 1,25 % li eritmasi. Eykonogen eritmasi. 15 g natriy gidrosulfid va 0,5 g natriy sulfid 70 ml distillangan suvda eritiladi va filtrlanadi. Sovitilgandan so‘ng filtrlanib, suv bilan 100 ml ga etkaziladi. Eykonogen (1,2,4-amino-naftolsulfonat kislotasi).

Fosfor miqdorini askorbat kislotasi yordamida aniqlash

Fosforni askorbat kislotasi yordamida aniqlash Skulachev tomonidan taklif qilingan bo‘lib, juda oz miqdordagi fosforni aniqlashga imkon beradi. Bu usul ayniqsa anorganik fosfor bilan birga labil organik fosfor birikmalari bo‘lgan materiallarni tekshirishda muhim ahamiyatga ega. Chunki bu usul sharoitida labil organik birikmalar ancha turg‘un bo‘ladi.

Ishning borishi. Yuqoridagi usulda tayyorlangan aralashmadan 0,1 ml olib, B reaktividan 1,4 ml qo‘shiladi, aralashtirib 20 minut 45°C

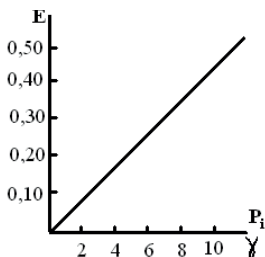
da inkubatsiyaga qo'yiladi. Vaqt tugagach, probirka sovutiladi va FEK da (qizil yorug'likdagi filtrda) o'lchanadi. Kontrol probirkaga tekshirilayotgan aralashma o'rniga 0,1 ml suv olinadi. Fosfor miqdori kalibrovka chizig'i bo'yicha aniqlanadi.

Reaktivlar: A reaktivi, askorbat kislotaning 10% li eritmasi. B reaktivi, molibdat ammoniyning 1 N sulfat kislotadagi 0,42 % li eritmasi.

B reaktivi har vaqt yangidan tayyorlanishi kerak. Kaliy digidrofosfat tuzi.

Kalibrovka chizig'ini tuzish. Tekshirilayotgan materialdagi fosforni aniqlash uchun avvalo kalibrovka chizig'i tuziladi. Buning uchun fosfor konsentratsiyasi ma'lum bo'lgan standart eritmalardan foydalaniladi.

Standart eritma kristallangan kaliy digidrofosfat tuzidan tayyorlanadi. Asosiy eritmani tayyorlash uchun KH_2PO_4 tuzidan 0,1756 g tortib olinadi va 1 l suvda eritiladi. Asosiy eritmadan 25 ml olib, yana 1 l li o'lchov kolbaga quyiladi va chizig'igacha distillangan suv bilan to'ldiriladi. Shu yo'l bilan tayyorlangan eritmaning 1 ml da 0,0001 mg fosfor bo'ladi. 5 ta probirkaga 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 ml dan tayyorlangan standart eritma solinadi, ulardagi fosfor konsentratsiyasi 0,00002; 0,00006; 0,00008; 0,0001 mg ga to'g'ri keladi. Probirkalar o'yuvchi natriy bilan fenoltalein bo'yicha neytrallanadi va yuqoridagi usullarning qaysi biri bilan ishlansa o'sha usul reaktivlari ishlatiladi. So'ngra 30 minutga xona haroratida qoldarilib, FEK da optik zichligi aniqlanadi. Odatda 5 mm li yoki 10 mm li kyuvetalardan foydalaniladi. Kalibrovka chizig'ini chizganda absissa o'qiga fosfor miqdori, ordinataga esa eritma rangining intensivligi (ekstinksiyasi) qo'iladi. Fosforni aniqlash uchun tuzilgan kalibrovka chizig'i.



Fosforli birikmalarning ayrim fraksiyalarini aniqlash

O‘simliklar tarkibidagi turli-tuman fosforli birikmalarni fraksiyalarga ajratish usullari xilma-xildir. Lekin ularning hammasi ham bir prinsipda, fosforli birikmalarning turli xil erituvchilar yordamida ketma-ket ajratish, ularning ayrim guruhlarini gidrolizlash va fosfat miqdorini yuqorida ko‘rsatgan usullarning biri bilan aniqlashdan iboratdir.

Kislotada eriydigan fosforni ajratish

Bu guruhga kiruvchi fosforni aniqlash sovuq sharoitda 0, +2 °C da olib boriladi. Yaxshilab maydalangan va bir xil massa hosil bo‘lguncha ezilgan o‘simlik materialini (2 g yangi uzilgan barg, 0,5 - 1 g urug‘) hajmi 50 ml bo‘lgan sentrifuga probirkasiga quyiladi va uning ustiga sovitilgan xlorat kislotaning 5% li eritmasidan 15 ml qo‘shiladi. Probirka po‘kak bilan mahkam berkitilib, muzli idishga quyiladi va 20 minut davomida maxsus tebratuvchi asbob yordamida chayqatiladi. So‘ngra sentrifugada minutiga 4000-5000 tezlik bilan 10 minut davomida sentrifugalanadi. Suyuqlik hajmi 50 ml li kolbaga quyiladi, cho‘kma esa yana sovitilgan xlorat kislotaning 5% li eritmasi bilan aralashtirilib, yuqoridagi jarayon yana takrorlanadi va suyuqlik 50 ml li kolbaga quyiladi. Bu jarayon yana bir marta takrorlanib, kolbadagi kislotali suyuqlikning umumiy hajmi distillangan suv bilan 50 ml li chiziqqa etkaziladi.

Shu yo‘l bilan ajratib olingan kislotada eruvchi fraksiyada anorganik fosforlar, osonlik bilan gidrolizlanuvchi fosforli organik birikmalar (karboksilfosfatlar, labil pirofosfatlar, aminofosfatlar, glukoza - 1-fosfat) va fosfat kislotaning turg‘un efirlari (inozitgeksofosfatlar, geksoza - 6 - fosfat, triozafofosfatlar va boshqalar) kiradi. Olingan ekstraktda kislotada eruvchi anorganik fosfor (ekstrakt kuydirilmasdan) va 10 minutli kislotali gidrolizdan so‘ng ajraladigan va osonlik bilan gidrolizlanuvchi kislotada eriydigan fosfor aniqlanadi.

Kislotada eruvchi umumiy fosforni aniqlash

Hajmi 50 ml li Keldal kolbasiga 10 ml kislotali ekstrakt qo‘yib, 3 ml konsentrlangan sulfat va 2 ml 57 % xlorat kislotadan qo‘shib kuydiriladi. Ekstrakt to‘liq kuyib bo‘lgach, hajmi 25 ml chiziqli kolbaga quyiladi va distillangan suv bilan chiziqqacha to‘ldiriladi. Hajmi 10 ml li probirka yoki silindirga eritmadan 2 ml olib neytrallanadi va yuqoridagi usullarning biri yordamida fosfor aniqlanadi.

Fosfor miqdori quyidagicha hisoblanadi. Yangi uzilgan o‘simlik bargidan 2 g olinadi. Ekstraktning umumiy hajmi 50 ml. Kuydirish uchun 10 ml ekstrakt olinadi. Ekstraktning hajmi 25 ml ga etkazildi.

Bundan fosforni aniqlash uchun 2 ml namuna olinadi. Kalibrovka chizig‘i bo‘yicha olingan namunada 0,010 mg fosfor aniqlanadi. Kislotada eruvchi umumiy fosfor miqdori quyidagicha topiladi.

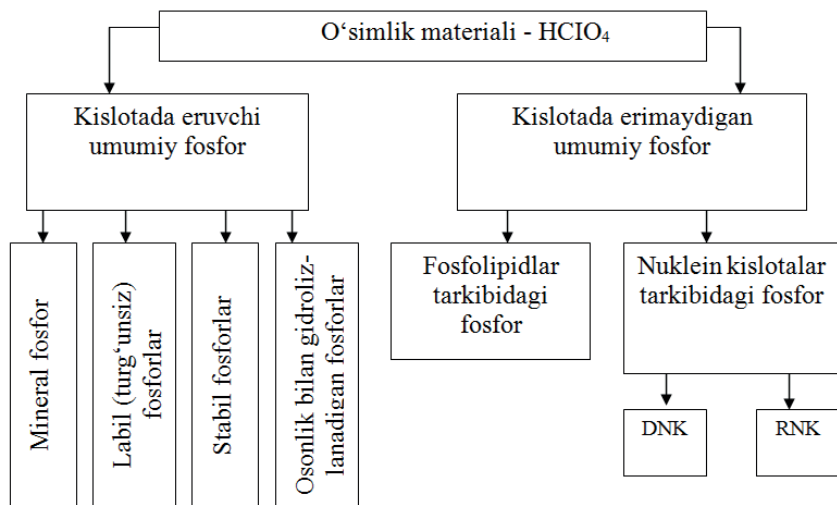
$$X = \frac{0,010 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100}{2 \cdot 10 \cdot 2} = 31,25 \text{mg}$$

Demak, 100 g ho‘l bargda 31,25 mg kislotada eruvchi umumiy fosfor mavjud.

Kislotada eruvchi anorganik fosforni aniqlash

Asosiy ekstraktidan (analiz qilinayotgan materialni xlorat kislota bilan ishlangandan so‘ng) 5 ml olib, hajmi 10 ml li o‘lchov kolbaga quyiladi. Uning ustiga fosforni kolorimetrik usulda aniqlash uchun zarur bo‘lgan reaktivlardan qo‘shiladi (fosfor miqdorini aniqlash metodlariga qarang). So‘ngra fosfor miqdori kalibrovka chizig‘iga qarab aniqlanadi.

Fosforli birikmalarning ayrim fraksiyalarini aniqlash sxemasi



Osonlik bilan gidrolizlanuvchi kislotada eruvchi anorganik fosforni aniqlash

Asosiy ekstraktidan 5 ml olib, hajmi 50 ml li kolbaga quyiladi va uning ustiga xlorid kislotaning 2 N eritmasidan 5 ml qo'shiladi. Kolbani suv sovutgichga o'rnatilib, probka bilan berkitiladi va qaynab turgan suv hammomida 10 minut ushlanadi. Keyin kolba sovuq suv yordamida tezda sovutiladi. Shu yo'l bilan tayyorlangan gidrolizatdan 5 ml olib, hajmi 10 ml li o'lchov kolbaga quyiladi. Uning ustiga fosforni aniqlash uchun zarur bo'lgan reaktivlardan qo'shib, kolorimetr yordamida fosfor aniqlanadi.

Osonlik bilan gidrolizlanuvchi fosfor bilan anorganik fosforning farqi labil fosfor miqdoriga teng bo'ladi. Labil fosforlarga nukleotid va trifosfatlar, glyukoza 1-fosfat va boshqa birikmalar kiradi.

Umumiy kislotada eruvchi fosfordan osonlik bilan gidrolizlanuvchi fosfor farqi fosforning turg'un efilari (stabil fosfor) miqdoriga teng bo'ladi. Bularga triozafosfatlar, geksoza 6-fosfat, inozitgeksofosfat (fitin) va boshqalar kiradi.

Umumiy kislotada eruvchi fosfor bilan anorganik fosfor o'rtasidagi farq kislotada eruvchi organik fosfor miqdoriga tengdir.

Fosfolipid fraksiyasini ajratish

Kislotada eruvchi fosforni ajratib olgandan soʻng, sentrifuga probirkasida qolgan choʻkmani 5-10 ml etil spirtining 80% li eritmasi bilan yuviladi, soʻngra koʻp marta spirt efir (3:1) aralashmasi bilan 36-40 soat davomida ekstraksiya qilinadi. Soʻngra tarkibida fosforlipid tutuvchi ekstraktlar kolbaga yigʻiladi. Uning umumiy hajmi 35 ml ga teng boʻlishi kerak. Ekstrakt 10 minut davomida 3000 tezlik bilan sentrifugalanadi. Eritma Kʻeldal kolbasiga quyiladi va sekinlik bilan qizdirilib erituvchilardan tozalanadi. Kolbadagi qoldiqqa 5 ml sulfat va xlorat (3:2) kislotaga aralashmasidan qoʻshib kuydiriladi. Kuydirish ehtiyotkorlik bilan bajarilishi kerak, chunki dastlabki minutlarda kolbadagi eritma kuchli ravishda koʻpiklanadi. Kuydirish tamom boʻlgach, kolbadagi rangsiz suyuqlik hajmi 25 ml li oʻlchov kolbaga quyiladi va distillangan suv bilan chiziqqacha toʻldiriladi. Ana shu eritmadan 2 ml olib, kerakli reaktivlardan qoʻshiladi va fosfor miqdori aniqlanadi.

Nuklein kislota tarkibidagi fosforni aniqlash

Kislotada eruvchi fosfor va fosfolipidlarni ajratib olgandan soʻng, probirkada qolgan choʻkma 20 ml oʻyuvchi natriyning 1 H eritmasi bilan yaxshilab aralastiriladi va 18 soat davomida 37° S da termostatda saqlanadi. Soʻngra 20 minut davomida 4000 tezlik bilan sentrifugalanadi. Supernatantdan ishqoriy eritmadan umumiy fosfor aniqlanadi. Keyingi ishlar sovuq sharoitda bajarilishi kerak.

DNK ni choʻktirish uchun sentrifuga probirkasiga eritmadan 5ml quyiladi va sovitiladi. Sovitilgan eritmaga xlorid kislotaning 6 N eritmasidan tomchilab pH 6,6-6,8 ga etguncha qoʻshiladi. Soʻngra DNK ni choʻktirish uchun 5 ml xlorat kislotaning 1 N eritmasidan (sovitilgan) qoʻshiladi va 3 soat davomida DNK toʻliq choʻkmaga tushguncha sovuqxonada saqlanadi. Choʻkmani 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 choʻkmasi 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 qoʻshilib, undagi umumiy va anorganik fosfor aniqlanadi. Ishqoriy eritmadagi umumiy fosfor (P_1) va DNK ni choʻktirgandan keyin eritmadagi umumiy fosfor (P_2) ni aniqlash bilan nuklein kislota tarkibidagi umumiy fosfor (P_1 - P_2) topiladi.

Nuklein kislotalarning ishqoriy eritmasida DNK oʻzgarmaydi biroq RNK qisman mononukleotidlarga parchalanadi. DNKni choʻktirgandan keyingi eritmadagi umumiy fosfor (P_2) va shu eritmadagi anorganik fosfor (P_3) ni aniqlash bilan RNK tarkibidagi fosfor (P_2 - P_3) topiladi.

DNK tarkibidagi fosfor esa DNK komponentlari ekstraksiya qilingandan keyin qolgan eritmadagi umumiy fosfor (P_4) bilan shu eritmadagi anorganik fosforning ayirmasiga (P_4 - P_5) teng boʻladi.

Reaktivlar: $KClO_4$ 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 spirt ning 80% li va 96 % li eritmasi, efir.

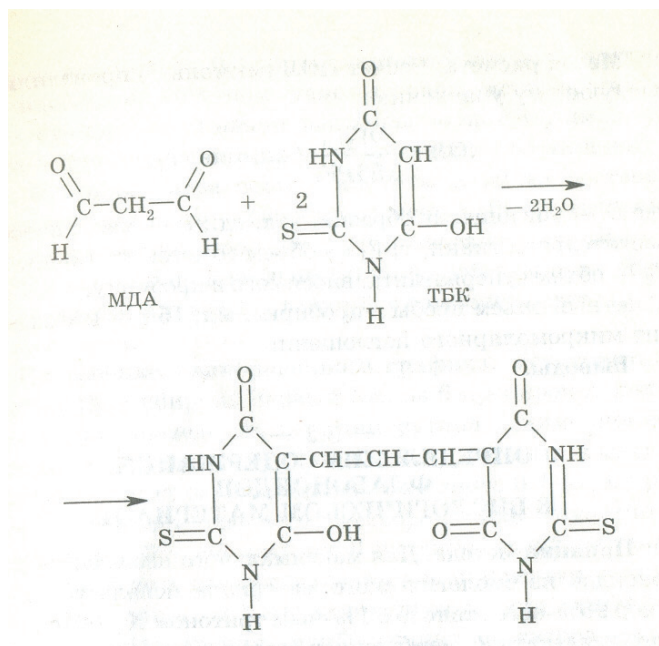
XV BOB. Funktsional sistemalarda antioksidlanish aktivligini aniqlash metodlari

Tirik organizmlarda moddalar almashinuvi natijasida oksidlangan mahsulotlar-, „erkin radikallar“ va organik, anorganik tabiatli moddalarning perekisli birikmalari hosil boʻladi. Noqulay faktorlar taʼsiri bu jarayonni tez rivojlantirib boradi. Erkin radikallar hujayrani zararlab, immun tizimning funksiyasini ishdan chiqaradi, bu esa turli yuqumli kasalliklar va degenerativ kasalliklar, jumladan saraton va yurak-qon tomir kasalliklariga olib keladi. Organizmدا oqsil tabiatiga ega boʻlgan erkin radikallarning quyidagi guruhleri maʼlum:- peroksidlar;-gidrooksidlar;-turli lipidli peroksidlar, gidroxloridlar radikallari va boshqalar. Hujayrada oksidlanishga qarshi bir necha maxsus mexanizmlari mavjud boʻlib, bularga superoksidismutaza,

katalaza, peroksidaza, glutationreduktazalar kiradi. Bu antioksidant sistemalar organizmlardagi erkin radikallarning miqdorini neytrallab turadi, ya'ni kislorodning aktiv formalari; 1O_2 , O_2^- , H_2O_2 , $HO\cdot$ bog'lab turadi. Shuning uchun har kunlik oziqa ratsionini tabiiy antioksidantlar bilan ta'minlash lozim, ular erkin radikallardan organizmni himoya qilib, uni turli noqulay tashqi ta'siriga qarshi chidamliligini oshiradi va qarishni sekinlashtiradi.

Lipidlarning perikisli oksidlanishini aniqlash

Lipidlarning perikisli oksidlanishini aniqlash malon dialdegidi va tiobarbitur kislotalar o'rtasidagi reaksiyaga asoslangan, ya'ni yuqori temperatura va kislotali pH muhitida rangli trimetin kompleksi hosil bo'ladi. Kompleks 532 nm da o'lchanadi.



Trimetin kompleksi

Foydalanilgan asboblari: pH – metr, spektrofotometr, sentrifuga, suv hammomi, tarozilar, dozatorlar.

Kimyoviy idishlar: 0,1 ml hajmdagi 2 dona pipetka, 0,2 ml hajmdagi 1 dona pipetka, 5 ml hajmdagi 2 dona pipetka, 50ml hajmdagi kolbalar, 100ml hajmdagi kolbalar, 15 dona probirka.

Reativlar: Triton X-100 1%li eritmasi; 0,6M HCl eritmasi; 0,06M TBK ishchi eritmasi; 96%li spirt; o‘simlik supernatanti; 5mM Trilon B eritmasi.

Ishchi eritmalar quyidagicha tayyorlanadi

1. 1% li triton X-100 eritmasini tayyorlash uchun 1ml konsentrlangan triton X-100 ni 99 ml 50% li etanolda eritiladi.

2. 0,6 M HCl eritmasini tayyorlash uchun 94,9ml distillangan suvga 5,1ml 36% li HCl solinadi.

3. 0,06 M TBK ni ishchi eritmasini tayyorlash uchun 864 mg tiobarbitur kislotasini 100 ml 1% li triton X-100ni 50% li etanoldagi eritmasida eritiladi.

4. 5 mM trilon B ni eritmasini tayyorlash uchun 84 mg trilon B olib 50ml distillangan suvda eritiladi.

Lipidlarning perikisli oksidlanishini aniqlash uchun quyidagi ishlar amalga oshiriladi

1. Probirkaga 0.5ml supernatantni olib, ketma – ketlikda quyidagi eritmalar solinadi:

2. 0,5ml triton X-100 1%li eritmasidan;

3. 0,2ml 0,6 M HCl eritmasidan;

4. 0,8ml 0,06 M TBK ishchi eritmasidan solindi.

5. Hosil bo‘lgan aralashmani qaynab turgan suv hammomiga 10minut qo‘yiladi.

6. 30 minut 15°C da sovutiladi. Hosil bo‘lgan rangni turg‘in qilish uchun sovugandan keyin 0,2ml trilon B eritmasidan solinadi.

7. 5-10ml 96%li etanol solinadi.

8. Kontrol probirkaga hamma eritmalar solinadi (0,06M TBK ishchi eritmasidan tashqari) .

9. Lipidlarning perikisli oksidlanish mahsulotlarinig to‘plani-shi — melon dialdegidining — tiobarbitur kislotasi bilan reaksiyasi orqali kuzatiladi. 532 nm, $\epsilon = 155\text{mM}^{-1} \text{sm}^{-1}$.

Hisoblash

Lipidlarning perikisli oksidlanishi quyidagicha o‘lchanadi (mk

mol/g) :

$$LPO = \frac{DV_1V_3}{156 P V_2} (\text{mk mol /g})$$

Bu yerda:

D - Na'muna qaytarilishi (solishtirma og'irlik);

P - O'simlik to'qimasining og'irligi - g;

V₁- To'qima gomogenatining hajmi - ml;

V₂- Probirkaga solingan gomogenatning hajmi - ml;

V₃- Probirkadagi na'munaning oxirgi hajmi - ml;

156 - Mikromolyar qaytarilish koeffitsiyent.

Biologik materiallarda flavonoidlar miqdorini aniqlash

Metodning mohiyati. Biologik materiallardan to'liq flavonoidlarni ajratib olishda triton X-100 ni 96 % li etanoldagi eritmasidan foydalaniladi, ya'ni ushbu eritma bilan membrana strukturalardagi suvda erimaydigan birikmalarni ajratib olish mumkin. Hosil bo'lgan mitsellyar strukturalardagi gidrofobli birikmalar triton X-100 da erishi mumkin.

Reaksiya o'simlik to'qimasidan ajratib olingan flavonoidlarning limon kislotasining borli eritmasi ta'sirida turg'un rangli kompleks hosil bo'lishiga asoslangan. Hosil bo'lgan kompleks 420 nm da o'lchanadi.

Kerakli asboblari. Spektrofotometr (SF), tarozilar.

Idishlar: kolbalar 50 ml - 2 dona; 100 ml - 2 dona; pipetkalar 0,2 ml - 2 dona; 5 ml - 1 dona.

Reaktivlar: 1% li triton X-100 ni 96%-li etil spirtida tayyorlanadi (**1-ishchi eritma**).

Buning uchun (1- ishchi eritma)

1. 1 ml konsentrlangan triton X-100 dan olib, 99 ml 96% li etil spirtida eritiladi.

2. 20% li limon kislotasining eritmasi va 5% li bor kislotasining eritmasi birinchi ishchi eritmada suv hammomida eritiladi.

a) 20% li limon kislotasining eritmasini tayyorlash uchun 20 gramm olinadi;

b) 5% li bor kislotasining eritmasini tayyorlash uchun 5 gramm olinadi.

3. Kalibrlangan grafik tuzish uchun rutinning 0,1 mg/ml eritmasi 96% li etanolda tayyorlanadi. (ya'ni 1 ml eritmada 0,1 mg rutin bo'lishi kerak. Tajriba uchun qancha sarf bo'lishi hisoblanadi).

4. Bor kislotasini va limon kislotasining eritmalarini tajriba oldidan 1:1 (50 ml bor kislotasining va 50 ml limon kislotasining eritmaları aralastiriladi – bu *ikkinchi ishchi eritma (2 – ishchi eritma)* hisoblanadi.

5. Flavonoidlarni ekstraksiya qilish uchun o'simlik va hayvon to'qimasini 1- ishchi eritmada 1:5 (1 gramm to'qima 5 ml ishchi eritmada 24 soatga qoldiriladi).

Kalibrlangan grafikni tuzish.

Grafik tuzish uchun quyidagi ishlarni bajarish kerak:

1. Shtativga 12 dona probirkalar joylashtiriladi, ikki qator qilib;

a) birinchi qatordagi 6 ta probirkalarda rutinning limon kislotasining borli reaktivi bilan reaksiya o'tkaziladi; buning uchun ketma-ketlikda har bir probirkaga turli hajmda rutinning 0,1 mg/ml eritmasidan va 2chi ishchi eritmasidan jadvalda ko'rsatilgan hajmda solinadi.

b) ikkinchi qatordagi 6ta probirka nazorat vazifasini bajaradi, bu probirkalarga turli hajmda rutinning 0,1 mg/ml 1chi eritmasidagi eritmasidan solinadi.

O'lchash (ya'ni kalibrlangan eritmalarda) nazorat eritmalarga nisbatan olib boriladi. O'lchash 15 min keyin 420 nm FEK da olib boriladi. Kalibrlangan grafik millimetrovka qog'ozga chiziladi, koordinatalarga kerakli kattaliklar qo'yiladi (D, C).

Jadval

Flavonoidlarni aniqlash uchun tuzilgan kalibrlangan grafikda qo'llanilgan eritmalarning hajmi va konsentratsiyasi

№ probirkalar	Kalibrlangan eritmalar		Nazorat namunalari		Probirkalardagi rutinning konsentratsiyasi mkg/ml	D optik zichlik
	Rutinning hajmi, ml	2-ishchi eritmaning hajmi, ml	Rutinning hajmi, ml	1-ishchi eritmaning hajmi, ml		
1	0,2	4,80	0,2	4,80	4,0	
2	0,4	4,60	0,4	4,60	8,0	
3	0,6	4,40	0,6	4,40	12,0	
4	0,8	4,20	0,8	4,20	16,0	

5	1,0	4,00	1,0	4,00	20,0	
6	1,2	3,80	1,2	3,80	24,0	

Ishning borishi. Tajriba probirkasiga ketma-ketlikda 0,6 ml supernatant (solinayotgan na'munaning hajmining 0,05–0,6 ml atrofida flavonoidlarning saqlashiga ko'ra o'zgartirish mumkin) solinadi, so'ngra hajmini 3 mlga tajriba eritmasi bilan etkaziladi. Aralashtirilgandan keyin 15 daqiqa o'tgandan so'ng 420 nm o'lchanadi.

Kontrol probirkaga 0,6ml birinchi ishchi eritmadagi supernatant, 2,6ml ikkinchi ishchi eritmasidan solinadi.

Hisoblash. Tekshirilayotgan namunadagi flavonoidlarning miqdori quyidagi formula bilan topiladi

$$AO = \frac{CV1, V3}{PV2} (mg/g),$$

Bu yerda:

C- flavonoidlar konsentratsiyasi, kalibrlangan grafikdan topilgan mg/ml,

P- o'simlik to'qimasining miqdori (grammda),

V₁ - ekstraktning umumiy hajmi (ml),

V₂ – probirkaga solingan ekstraktning hajmi (ml),

V₃ – probirkadagi namunaning oxirgi hajmi (ml)

Suvda eriydigan antioksidantlar miqdorini aniqlash

Metodning mohiyati: Metod antioksidantlarni temir-III-xloridning oksidlashiga asoslangan. Bunda temir-III to temir-II xloridgacha qaytariladi, uning miqdori o-fenantrolin qo'shilishi bilan hosil bo'lgan rangning intensivligi bilan aniqlanadi.

Reaktivlar: 500 ml 50%-etanol; 20 ml 25 mM o-fenantrolinning eritmasi (4,95 mg/ml); 50 ml 12,3 mM FeCl₃ eritmasi (2 mg/ml); 100 ml digidrokskversetinining (o'rniga askorbin kislotasi ishlatish mumkin) 0,2 mg/ml supernatanti yoki o'simlik ekstrakti (o'simlik ekstraktini ishlatishdan oldin 200-100 marta suyultirish kerak oksidlashiga asoslangan. Bunda temir-III to temir-II xloridgacha qaytariladi, uning miqdori o-fenantrolin qo'shilishi bilan hosil bo'lgan

rangning intensivligi bilan aniqlanadi.

Ekstrakt tayyorlash uchun, 1 gramm o‘simlikni olib yaxshilab gomogenizatsiya (eziladi) qilinadi (Bu jarayon 50% li spirtida olib boriladi) va 20 ml 50%li spirt qo‘shiladi. Ekstraktni 24 soat sovutgichga qo‘yiladi. 4°C haroratda olib boriladi, so‘ng filtrlanadi yoki 10-15 min 7000 g da sentrafuga qilinadi. So‘ngra supernatant bilan tajriba olib boriladi.

Ishchi eritmalarni tayyorlash:

1. 25 mM o-fenantrolinning eritmasini tayyorlash uchun, 99 mg o-fenantrolindan tortib olinib, 20 ml 96% li etanolda eritiladi.
2. 12,3 mM FeCl₃ eritmasi tayyorlash uchun (suvsiz) , 100 mg FeCl₃ ni 50 ml 50% li etanolda eritiladi.
3. Askorbin kislotasini tayyorlash, 20 mg askorbin kislotasini 100 ml 50% li etanolda eritiladi.
4. 0,4 M HCl kislota eritmasi tayyorlash uchun 3,4 ml 11,73 M HCl ni 96,6 ml distirlangan suvda eritiladi.

Kalibrlangan grafik tuzish

Kalibrlangan grafik tuzish uchun 5 tadan 2 qator probirkalar olinadi.

Birinchi qatorga askorbin kislotasini dastlabki konsentratsiyasini 200 mkg/ml ni jadvalda ko‘rsatilganidek suyultiriladi.

Ikkinchi qator probirkalarida rangli reaksiyalar o‘tkaziladi. Suyultirilgandan keyin birinchi qator probirkalaridan har birini qarama-qarshi probirkalarga 0,2 ml dan kalibrlangan eritmadan solinadi va ikkinchi qator probirkalariga ketma-ketlikda 0,2 ml 25mM o-fenantrolin, 2,4 ml 96% li etanol va tomchilab 0,2 ml 12,3 mM FeCl₃ eritmasidan solinadi. Shundan so‘ng, ikkinchi qatordagi probirkalarni 10 minut qorong‘i joyga qo‘yiladi. Reaksiyani to‘xtatish uchun 0,4 M HCl eritmasidan 1 ml dan qo‘shiladi.

Kontrol probirkaga 0,2 ml 25 mM o-fenantrolin eritmasidan, 2,6 ml 96% li etil spirt, 0,2 ml 12,3 mM FeCl₃ va 1 ml 0,4 M HCl eritmasidan solinadi.

O‘lchashni SF-46 da 505 nm to‘lqin uzunligida olib boriladi va jadvalga yoziladi. Grafik tuziladi. Grafikdagi D-optik zichligi; C-konsentratsiya.

Jadval

Kalibrlangan grafik tuzish uchun askorbin kislotasining

eritmalarini tayyorlash.

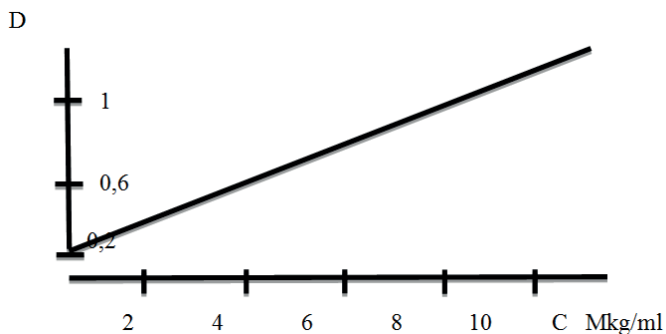
Probirkalar	Askorbin kislotasining dastlabki eritmasi, ml	50% etil spirtining eritmasi, ml	Probirkalardagi askorbin kislotasining konsentratsiyasi, mkg/ml	Optik zichligi (D)
1	0,5	2	2	
2	1	1,5	4	
3	1,5	1	6	
4	2	0,5	8	
5	2,5	-	10	
6	kontrol	3	-	

Ishning borishi: Tajriba probirkasiga 0,2 ml ekstrakt dan (antioksidant miqdoriga qarab 0,05-0,5 ml hajmda solish mumkin), 0,2 ml 25 mM o-fenantrolinning eritmasidan va tomchilab 0,2 ml 12,3 FeCl₃ solinadi. So'ngra hajmini 3 ml gacha 96% li etanol solinadi, aralashtirib, 10 minut qorong'i joyga qo'yiladi. Reaksiyani 0,4 M HCl eritmasidan 1 ml solib to'xtatiladi.

Kontrol probirkaga, 0,2 ml 25 mM o-fenantrolinning eritmasidan, 2,6 ml 96% li etanol, 0,2 ml 12,3 mM FeCl₃ eritmasidan va 1 ml 0,4 M HCl eritmasidan solinadi.

Agar ekstrakt rangli bo'lsa, probirkadagi hajmni 4 ml ga 96% li etanol bilan etkaziladi.

Kalibrlangan grafik tuzish. O'lchashni SF-46 da 505 nm to'lqin uzunligida olib boriladi.



Ekstratni o'lchaganda nurni yutilishida 96% li spirtni eritmasiga qarshi o'lchanadi, yani ayirib tashlanadi. Ma'lum kattalikdagi ek-

straktning yutilishidan tajriba probirkasi olib tashlanadi.

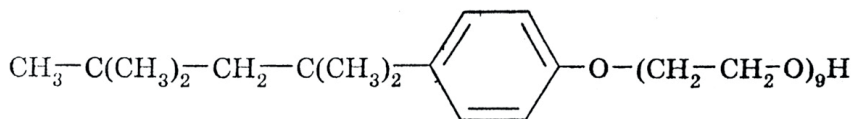
Hisoblash metodi. Antioksidantlar miqdorini quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$AO = \frac{CV_1, V_3}{PV_2} (mg/g),$$

Bu yerda C-kalibrlangan grafikdan topilgan antioksidantlarning konsentratsiyasi, mkg/ml; P-oligan o‘simlik to‘qimasining massasi, g; V_1 - ekstraktsiya uchun olingan hajm, ml; V_2 - probirkaga olingan hajm ekstraktning hajmi ml; V_3 - probirkadagi namunaning oxirgi hajmi, ml.

Umumiy antioksidantlar miqdorini aniqlash

Metodning mohiyati: Bu metod detergent triton X-100 ni qo‘llashga asoslangan bo‘lib, membrananing strukturalaridan suvda erimaydigan birikmalarni uning ta‘sirida ajratib olinadi. Hidrofob birikmalarni triton-100 eritish mumkin.



Тритон X-100

Triton X-100 ni gidrofob birikmalarni eritish konsentratsiyasi 250mM.

Kerakli asboblar: Fotoelektrokolorimetr, sentrifuga.

Idishlar: spektrofotometr, klyuvetalar, kolbalar – 50ml 2 dona, 500ml-1 dona, pipetkalar 0.2ml – 3 dona, 1ml – 1 dona, 5 ml – 3 dona.

Reaktivlar:

1. 500 ml 50 % li etanoldagi 1 % li triton X – 100 ning eritmasi. (ishchi eritma); 260 ml 96 % li etanol va 5 ml triton X – 100 ni 235 ml distillangan suvda eritiladi;
2. 100 ml 50 % etanol;
3. 20 ml 25 mM O – fenantrolin eritmasi; 99 mg O – fenantrolinni 20 ml ishchi eritmada eritiladi;
4. 12,3 mM FeCl₃ (suvsiz) eritmasi, 100 mg FeCl₃ ni 50 ml 50 % etanolda eritiladi;
5. α – tokoferolni eritmasini tayyorlash uchun 20 mg α – tokoferolni 100 ml ishchi eritmada eritiladi;
6. 0,4 M HCl eritmasi tayyorlash uchun 3,4 ml 11,73 M HCl eritmasini 96,6 ml distillangan suvning ustiga tomchilab quyiladi;
7. Antioksidantlarni ekstraksiya qilish uchun o`simlik to`qimasini ezilib, 1:5 da ishchi eritmada (1g to`qima 5ml ishchi eritma) 24 soatga qoldiriladi. Tekshirish oldidan ekstraktni 100 – 200 marta suyultiriladi.

Kalibrlangan grafik tuzish:

Kalibrlangan grafik tuzish uchun 2 qator 5 tadan probirka olinadi.

Birinchi qatorga α – tokoferolning dastlabki konsentratsiyasi 0,2 mg/ml eritmasini jadvalda ko`rsatilgandek solinadi. 6- probirka kontrol probirka bo`lib, unda faqat 3 ml ishchi eritma bo`ladi.

Ikkinchi qator probirkalarda sifat reaksiyalari o`tkaziladi.

Kalibrlangan grafik tuzish uchun α – tokoferolning eritmalarini tayyorlash:

Pro bir kalar	α -tokoferolning dastlabki eritmasi, ml	Ishchi eritma, ml	Probirkadagi α -tokoferolning konsentratsiyasi mkg/ml	D optik zichligi
1	0.5	2.0	2	
2	1.0	1.5	4	
3	1.5	1.0	6	
4	2.0	0.5	8	
5	2.5	-	10	
6	kontrol	3.0	-	

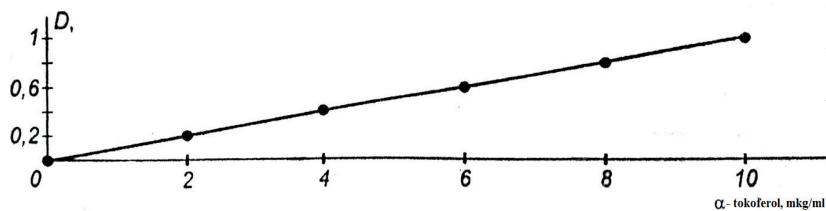
Birinchi qator probirkalardagi suyultirilgan eritmalaridan 0,2 ml dan olib, ikkinchi qatordagi qarama – qarshi turgan probirkalarga

solinadi. So`ngra ikkinchi qatordagi hamma probirkalarga 0,2 ml 25 mM o – fenantrolinning eritmasidan, 3,4 ml ishchi eritmadan va tomchilab 0,2 ml 12,3 mM FeCl₃ eritmasidan solinadi, aralashtirib, 10 minut qorong`i joyda saqlanadi (reaksiyani borishi uchun). Reaksiyani to`xtatish uchun 1ml 0,4 M HCl eritmasidan quyiladi.

Kontrol probirkaga 0,2 ml 25 mM o – fenantrolinning eritmasidan, 2,6 ml ishchi eritma, 0,2 ml 12,3 mM FeCl₃ eritmasidan va 1 ml 0,4 M HCl eritmasidan solinadi.

So`ngra 505 nm to`lqin uzunligida o`lchanadi va jadvalga yozib boriladi.

Millimetr qog`ozga koordinataga optik zichligi (D) ordnataga α – tokoferolning konsentratsiyasi qo`yiladi va grafik chiziladi.



Ishning borishi:

1. Probirkaga 0,2 ml ekstraktdan (hajmi 0,05 – 0,5 ml gacha antioksidant saqlashiga ko`ra) solinadi, 0,2 ml 25 mM o– fenantrolinning eritmasidan va tomchilab 0,2 ml 12,3 mM FeCl₃ eritmasidan solinadi. So`ngra hajmini 3 ml ga ishchi eritma bilan etkaziladi. So`ngra probirkalardagi eritmalar yaxshilab aralashtirib, 10 daqiqa qorong`u joyga qo`yiladi. Reaksiyani 1 ml 0,4 M HCl qo`shib to`xtatiladi.

2. Kontrol probirkalarga 0,2 ml 25 mM o– fenantrolinning, 0,2 ml 12,3 mM FeCl₃ eritmasidan, 1 ml 0,4 M HCl eritmasidan va to hajmi 4 ml ga etguncha ishchi eritmadan quyiladi.

Agar ekstrakt rangli bo`lsa, teng hajmda shuncha ml ishchi eritmadan qo`shiladi.

Ekstraktning optik zichligidan ishchi eritmaning optik zichligi ayirib tashlanadi.

Ekstrakt kontrolga nisbatan 505 nm to`lqin uzunligida o`lchanadi.

Hisoblash:

Antioksidantlar quyidagi formula bilan hisoblanadi:

$$AO = \frac{CV_1 V_3}{PV_2} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}} \right)$$

Bu yerda;

C - kalibrangan grafikdan aniqlangan antioksidantning konsentratsiya mkg/ml; P – o`simlik to`qimasining og`irligi – g;

V_1 – ekstraktning hajmi, ml;

V_2 – probirkaga solingan ekstraktning hajmi, ml;

V_3 – probirkadagi namunaning hajmi

Superoksiddismutaza aktivligini aniqlash

Superoksid dismutaza (SOD, EC 1.15.1.1) antioksidant fermentlar guruhiga kiradi. Katalaza va boshqa antioksidant fermentlar bilan birgalikda inson tanasini doimiy ravishda juda zaharli kislorodli radikallar hosil bo'lishidan himoya qiladi. Superoksid dismutaza superoksidning kislorod va vodorod peroksidga bo'linishini kataliz qiladi. Shunday qilib, u deyarli barcha hujayralarni antioksidant himoyasida bu yoki boshqa usul bilan kislorod bilan aloqa qilishda hal qiluvchi rol o'ynaydi.

Supperoksiddismutaza aktivligi nitratetrazol ko'kinging ishqoriy muhitida qaytarilishga asoslangan.

Reaktivlar:

0.1M li fosfat buferi pH-8.3

a) 3,4 gr KH_2PO_4 250 ml H_2O da eritiladi.

b) 3,6 gr Na_2HPO_4 250ml H_2O da eritiladi.

Tajriba oldidan 49 ml Na_2HPO_4 va 1ml KH_2PO_4 (pH 8.3) bo'lishi kerak.

2. 0,1 M li fosfat buferi pH-7.4. Tayyorlash uchun 42 ml Na_2HPO_4 va 8ml KH_2PO_4 qo'shilib, pH-7.4 ga tayyorlanadi.

3. Nitratetrazol ko'ki 200 mkg/ml. Tayyorlash uchun 20 mg nitratetrazol ko'kini 100 ml H_2O da eritish kerak.

4. FMC – N-metilpenazoniymetil sulfat 69 mgk/ml. 6,9 mg FMC 100 ml H_2O da eritiladi.

5. $\text{NADH}\cdot\text{H}_2$ 0.0002 M (molekular massasi 70)li eritmasi. 6 mg $\text{NADH}\cdot\text{H}_2$ 40 ml H_2O da eritiladi.

Ishning borishi.

a) Supperoksiddismutaza aktivligini aniqlash uchun 1 ml tekshirilayotgan obyekt va 0,3 ml etanol hamda 0,15 ml xloroform qo'shiladi. Aralashma yaxshilab chayqatilib, 15 daqiqa 4^o C da 12 ming aylanish tezligida sentrifuga qilinadi.

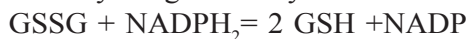
	Tajriba	Kontrol	Etalon
1. Bufer pH-8.3	1.5 ml	1.7 ml	3.7 ml
2. NADH ₂	2.0 ml	2.0 ml	-
3. FMC	0.3 ml	0.3 ml	0.3 ml
4. Nitrazol ko'ki	1.0 ml	1 ml	1.0 ml
5. Gomogenat	0.2 ml	-	-

Mitoxondriya yoki mikrosomadan 0,1 ml olib, unga 0,9 ml tris xlor va 0,45 ml aralashma qo'shib, bir sutkaga qoldiriladi. So'ngra 3 ming aylanish tezligida 10 daqiqa sentrafuga qilinadi va qorong'uga qo'yiladi.

Spektrofotometrda 535-545 nm to'lqin uzunligida etalonga qarshi o'lchanadi. Etalon NADPH₂ siz , gomogenat, mikrosomasiz.

Glutationreduktaza fermentini aniqlash

Glutationreduktaza, glutation-disulfid reduktaza sifatida ham ma'lum, odamdagi GSR geni orqali kodalanadigan keng tarqalgan flavinli enzimdir. Glutationreduktaza fermentni oksidlangan glutation(GSSG)ni "oksidativ stress"ga qarshi kurashda muhim bo'lgan glutationing sulfogidril(GSH) shakliga qaytarilishini katalizlaydi. Glutationreduktaza dimerik disulfid oksidoreduktaza sifatida faoliyat yuritadi va FAD prostetik guruhi hamda NADPH₂ lardan bir ekvivalent mol GSSGni ikki ekvivalent mol GSH ga aylanish reaksiyasida foydalanadi. Glutationreduktaza katalizlaydigan reaksiyaning umumiy fo'rmulasi:



Kerakali reaktivlar:

1) Fasfat buferi- Na₂HPO₄•KH₂PO₄ 0,1 ml

- 2) Glutation reduktaza 2,9 ml
- 3) NADP•H₂ 0,02 ml/mol

Ishning borishi:

Glutation reduktaza fermentini aniqlash uchun 0,1 ml supernatant-dan spektrofotometr kyuvetasiga solinadi. Kyuvetaga 0,1 ml 0,067 M li fosfat buferidan (pH = 6.6) bo‘lgan tarkibida 0,0027 ml/mol oksidlangan glutatondan 2,9 ml solinadi va 0,02 ml/molli NADP•H₂ dan qoshiladi. Undan so‘ng esa spektrofotometrda 340 nm to‘lqin uzunligida supernatant solingandan keyin optik zichligi o‘lchanadi. So‘ngra qorong‘uda 5 daqiqa inkubatsiya qilinadi va aktivligi o‘lchanadi. Spektrofotometrning ko‘rsatkichlari bir-biridan farqi ayriladi va mk/mol NADP•H₂ 1ml aniqlanadi.

Katalaza fermentini aktivligini aniqlash

Katalaza (yun. katalysis — buzilish) — oksidoreduktazalar sinfiga mansub ferment. Vodorod peroksid (H₂ O₂) ning suv (H₂O) bilan kislorod (O₂) ga parchalanishini katalizlaydi: 2H₂O₂=2H₂O+O₂. Suvning quyi konsentratsiyalarida katalaza quyi spirtlar, polifenollar va boshqalarni oksidlab peroksidazaga xos faollikni namoyon qiladi. Katalaza barcha hayvon va o‘simliklar to‘qimalarida, asosan, sut emizuvchilar jigari va eritrotsidlarida hamda aerob mikroorganizmlarda ham mavjud. Mol. M.225000—248000. Katalaza ingibitorlariga ko‘pchilik tuzlar (sulfidlar, sianidlar, azidlar, ftoridlar) kiradi.

Kerakli reaktivlar va asboblari: 4% Ammoniy molibdat eritmasi, 0,03% vodorod peroksidi, triton X-100, distirllangan suv, EDTA

Ishni borish tartibi:

Metodning mohiyati shundan iboratki vodorod peroksidi, ammoniy molibdat tuzlari bilan turg‘un rang hosil qiladi.

Reaktivlar	Tajriba	kontrol
H ₂ O ₂	2ml	2.0ml H ₂ O
Tekshirilayotgan ob'ekt	0.1 ml	0.1ml H ₂ O
10 minutdan keyin		
Ammoniy molibdat	1ml	1.0 ml

Kyuvetaga 1ml tris HCl eritmasidan pH- 7.8, 0.1ml, 100 marta mitoxondriya suyultirib olib tekshirilayotgan ob'ektdan qo'shiladi. 2ml 0.03% H₂O₂ solinadi, reaksiya 10 minutdan keyin 1ml 4% ammoniy molibdat reaktiv qo'shib to'xtatiladi va hosil bo'lgan rang intensivligi 410 nm to'lqin uzunligida kontrolga nisbatan o'lchanadi. Kontrol namunada faqat 2ml H₂O bo'ladi.

Ferment aktivligi quydagi formula bilan aniqlanadi.

$$E = (A_{\text{control}} - A_{\text{tajriba}}) \cdot V \cdot t \cdot K$$

Bu yerda: E-katalaza aktivligi mikroatom-l /mikroatom-katalaza ml

A_{control} –namuna ekstinsiya ko'rsatkichi

V-tekshirilayotgan ob'ekt hajmi

t-inkubatsiya vaqti 600 s

K-koeffisient ekstensiyasi $22,2 \cdot 10^3 \text{ mMol}^{-1} \text{ sm}^{-1}$

Sitoxrom-C-oksidaza aktivligini aniqlash

Sitoxrom-C-oksidaza (sitoxrom oksidaza) yoki sitoxrom c - kislorodli oksidoreduktaza, shuningdek aa₃ sitoxrom va murakkab elektron uzatish aerob nafas olish zanjirining kompleks terminal oksidazasi, bu elektronni sitoxromdan kislorodga o'tkazilishini katalizlaydi. Sitoxrom oksidaza barcha eukaryotlarning ichki mitoxondriyal membranasi mavjud bo'lib, u odatda murakkab IV kompleks deb ataladi, shuningdek ko'plab aerob bakteriyalarning hujayra membranasi uchraydi.

Sitoxrom-c-oksidaza fermentini aktivligini ditionit bilan qaytarilgan sitoxrom c ni oksidlanish tezligini spektrofotometrik metod bilan 550 nm da optik zichligi orqali aniqlanadi.

Hajmi 3 ml bo'lgan kyuvetaga 0,25 M saxaroza (yoki TKM) buferidan pH 7.4 2.5 ml va $2 \cdot 10^{-5}$ M qaytarilgan sitoxrom C 0.2 ml solinadi.

Reaksiyani 0.25 M saxarozada suspenziya qilingan mitoxondriyani quyishdan boshlanadi. 2 N kontrol kyuvetaga 3 ml saxarozali bufer solinadi. O'lchashni spektrofotometrda optik zichligi 550 nm da o'lchanadi.

Sitoxrom C oksidaza aktivligini quyidagi formula orqali hisobladik:

$$A=E/B \cdot 12.8$$

Bu yerda:

E - 550 nm da minutdagi ekstinksiyaning o'zgarishi.

B - tekshirilayotgan materialdagi oqsilning miqdori.

12.8 - sitoxrom c uchun ekstinsiya koeffisienti.

ILOVA

Bufar eritmalar tayyorlash

Fosfat-sitrat buferi, pH 2,2 - 8,0.

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, nisbiy molekulyar massasi 178, 05; 0,2 M eritma tayyorlash uchun 35,61 g tuz 1 L suvda eritiladi.

Sitrat kislota H_2O , nisbiy molekulyar massasi 210, 14, 0,1 M eritma tayyorlash uchun 21,018 g kislota 1 L suvda eritiladi.

pH	0,2 M Na_2HPO_4 , ml	0,1 M sitrat kislota, ml	pH	0,2 M $\text{Na}_2\text{H-PO}_4$, ml	0,1 M sitrat kislota ml
2,2	0,40	19,60	5,2	10,72	9,28
2,4	1,24	18,76	5,4	11,15	8,85
2,6	2,18	17,82	5,6	11,60	8,40
2,8	3,17	16,83	5,8	12,09	7,91
3,0	4,11	15,89	6,0	12,63	7,37
3,2	4,94	15,06	6,2	13,22	6,78
3,4	5,70	14,30	6,4	13,85	6,15
3,6	6,44	13,56	6,6	14,55	5,45
3,8	7,10	12,90	6,8	15,45	4,55
4,0	7,71	12,29	7,0	16,47	3,53
4,2	8,82	11,72	7,2	17,39	2,61
4,4	8,82	11,18	7,4	18,17	1,83
4,6	9,35	10,65	7,6	18,73	1,27
4,8	9,86	10,14	7,8	19,15	0,85
5,0	10,30	9,70	8,0	19,45	0,55

Borat buferi (0,2 M), pH 7,4-9,0.

Natriy tetraborat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot x\text{H}_2\text{O}$). Mol massasi - 381,43. 19,072 g natriy tetraborat tuzi 1 L suvda eritiladi. Borat kislota molekulyar massasi 61,84° 12,37 g borat kislota 1 L suvda eritiladi.

pH	Na ₂ B ₄ O ₇ ·x10H ₂ O 0,05 M, ml	Borat kislotasi 0,2 M, ml	pH	Na ₂ B ₄ O ₇ ·x10H ₂ O 0,05 M, ml	Borat kislotasi 0,2 M, ml
7,4	1,0	9,0	8,2	3,5	6,5
7,6	1,5	8,5	8,4	4,5	5,5
7,8	2,0	8,0	8,7	6,0	4,0
8,0	3,0	7,0	9,0	8,0	2,0

Asetat buferi (0,2 M), pH 3,6-5,8 Natriy asetat, nisbiy molekulyar massasi =136,09

pH	Natriy asetat 0,2 M, ml	Asetat kislotasi 0,2 M, ml	pH	Natriy asetat 0,2 M, ml	Asetat kislotasi 0,2 M, ml
3,6	0,75	7,25	4,8	5,90	4,10
3,8	1,12	8,80	5,0	7,00	3,00
4,0	1,80	8,20	5,2	7,90	2,10
4,2	2,65	7,35	5,4	8,60	1,40
4,4	3,70	6,30	5,6	9,10	0,90
4,6	4,90	5,10	5,8	9,40	0,60

Tris- buferi (0,05 M), pH 7,2-9,1.

Tris nisbiy molekulyar massasi 121,14, eritma hajmini distillangan suv bilan 100 ml ga etkaziladi.

pH		Tris 0,2 M, ml	Xlorid kislotasi, 0,1 M, ml	H ₂ O, ml
23°C	37°C			
7,20	7,05	25	45,0	100ml gacha
7,36	7,22	25	42,5	--''--
7,54	7,40	25	40,0	--''--
7,66	7,52	25	37,5	--''--
7,77	7,63	25	35,0	--''--
7,87	7,73	25	32,5	--''--
7,96	7,82	25	30,0	--''--
8,05	7,90	25	27,5	--''--
8,14	8,00	25	25,0	--''--
8,23	8,10	25	22,5	--''--
8,32	8,18	25	20,0	--''--
8,40	8,27	25	17,5	--''--
8,50	8,37	25	15,0	--''--
8,62	8,48	25	12,5	--''--
8,74	8,60	25	10,0	--''--
8,92	8,78	25	7,5	--''--
9,10	8,95	25	5,0	--''--

Aminokislotalarning yupqa qavatli va qog‘oz xromatografiyasi yordamida ajratish koeffitsenti

Aminokislotalar	Turli xil eritmalardagi qiymati			
	1	2	3	4
Glitsin	0,40	0,26	0,17	0,08
Alanii	0,59	0,38	0,24	0,13
Serin	0,31	0,27	0,16	0,08
Sistein		0,07	0,08	0,02
Sistin	0,22	0,08	0,05	-
Meteonin	0,79	0,55	0,44	0,25
Treonin	0,49	0,35	0,17	0,13
Valin	0,79	0,60	0,45	0,24
Leysin	0,82	0,73	0,61	0,41
Izoleysin	0,83	0,72	0,59	0,37
Arginin	0,54	0,20	0,10	0,05
Lizin	0,46	0,14	0,08	0,03
Glutamat kislota	0,29	0,30	0,17	0,03
Aspartat kislota	0,13	0,24	0,16	0,02
Fenil alanin	0,84	0,68	0,53	0,34
Tirozin	0,58	0,45	0,24	0,24
Gistidin	0,66	0,20	0,10	0,13
Triptofan	0,75	0,50	0,43	0,17
Prolin	0,88	0,43	0,30	0,13

1 – Fenol - suv (4 g:1)

2 - N. Butanol - aseton kislota - suv (4:1:1).

3 - N. Butanol - asetat kislota - suv (4:5:5).

4 - N. Butanol - etanol - suv (4:1:4).

Past harorat hosil qiluvchi aralashmalar

Tuzlar	Tuzlarning miqdori, g.	Qor yoki muz miqdori, g.	Maksimal past harorat
MgSO ₄	23,4	100	- 3,9
NH ₄ Cl	30,0	100	- 15,8
NH ₄ NO ₃	45,0	100	-17,3
NaS	30,4	100	- 21,2
NaCl	27,5	100	- 33,6
CaCl ₂	42,6	100	- 55,0
NaCl	41,6		
MH ₄ NO ₃	41,6		

NaCl	41,40,0	100	- 30
NH ₄ NO ₃	20,0		

Ayrim elementlarning atom og'irligi

Element nomi	Atom og'irligi	Element nomi	Atom og'irligi
Azot	14,008	Mis	63,57
Alyuminiy	16,97	Molibden	95,95
Bariy	137,36	Natriy	22,997
Bor	10,82	Oltingugurt	32,06
Brom	79,916	Platina	195,23
		Simob	200,61
Vismut	209,0	Stronsiy	87,63
Vodorod	1,008	Temir	55,847
Volfram	183,92	Uglerod	12,01
Yod	126,92	Fosfor	30,98
Kadmiy	112,41	Xlor	35,457
		Xrom	52,01
Kaliy	39,096	Sink	65,38
Kalsiy	40,08	Qo'rg'oshin	207,21
Kislrorod	16,00		
Kremniy	28,06		
Kumush	107,88		
Magniy	24,32		
Marganes	54,93		

1 L har xil normalikka ega bo‘lgan titrlangan eritmalar ni tayyorlash uchun sarflanadigan moddalarning miqdori

Asosiy birikma	Mol massasi	Ekvivalent massasi	1N	0,5N	0,2N	0,1N	0,05N	0,02N	0,01N
H ₂ SO ₄ (zichligi 1,84)	98,08	49,04	28 ml	14ml	5,6 ml	2,8ml	1,4ml	0,56ml	0,28ml
HCl (zichligi 1,19)	36,48	35,48	82 ml	41ml	16,4ml	8,2ml	4,1ml	1,64ml	0,82ml
HNO ₃ (zichligi 1,40)	63,02	63,02	67 ml	33,5ml	13,4ml	6,7ml	3,4ml	1,34ml	0,67ml
H ₂ CO ₃ *2H ₂ O	126,07	63,04	-	-	-	6,3g	3,15ml	1,26g	0,63g
NaOH	40,00	40,00	40,02	20,0g	8,0g	4,0g	2,0g	0,80g	0,40g
KOH	56,11	56,11	56,11	28,06g	11,2g	5,6g	2,8g	1,12g	0,56g
Ba(OH) ₂ -8H ₂ O	3145	157,75 g	78,88g	31,54	15,77g	7,88g	3,15g	1,58g	

ADABIYOTLAR

1. Борисова Г.Г., Чукина Н.В., Киселева И.С., Малаева М.Г. Биохимия. Практикум. – У: 2017 – 116 с
2. Захаров А.Н. Техника безопасности химических лабораториях. Л: Химия, 1991
3. Коннова С.А., Галицкая А.А., Плешакова Е.А., Каневский М.В., Фоденко Ю.П. Методическое пособие к малому практикуму по биохимии. – С: 2017. -75с
4. Ленинджер. “Основы биохимии”. – М.: «Мир», 2015. 1.2.3 – том.
5. Матвеева И.В., Марсянова Ю.А. Практикум по биохимии: Учебное пособие 2-ое издание, исп. И.доп., Рига: 2018.-169 с
6. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. Практикум по биохимии сельскохозяйственной продукции. Санкт – Петербург, ГИОГД. 2016, - 477 с
7. Уильсон К и Дж.Уолкер. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. Москва 2013г. Изд-во. «Бином. Лаборатория знаний». 848 стр.
8. Шлейкин А.Г., Скворцова Н.Н., Бландов А.Н. Лабораторный практикум. Учебное пособие. – СПб: Университет ИТМО; ИХ и БТ, 2015
9. David Klark, Nanette, Pasdernik, Michelle Megchee – Molekulyar biology, Trird Edition, Academic Cell. USA: 2018. pp 1006
10. J.Koolman., K.H.Roehm. Color Atlas of Biochemistry. Thieme Stuttgart · NewYork. 2007.
11. Lehninger «Principles of biochemistry» New York, 2008. By W.H. Freeman and Company All rights reserved.
12. Mirxamidova P. va boshqalar. Biokimyo. Toshkent, “Universitet”. 2002 y. -176 b
- Mirxamidova P., Boboxonova D.B. **A. Zikiryayev** “Biologik kimyo va molekulyar biologiya” (1-qism). Toshkent, “Navro‘z”. 2018
13. Richard A Harvey., Denise R Ferrier . Biochemistry. Lippincott Williams and Wilkins. China. 2011.
14. Zikiryayev A., P.Mirhamidova. O‘simliklar biokimyosidan amaliy mashg‘ulotlar. Toshkent, “Mehnat”, 2001 y.109 b

GLOSSARIY

A

Adaptation - Adaptatsiya – **Moslashish**-organizmning evolutsiya jarayonida o‘zgaruvchan yashash sharoitlariga moslanishi.

Adenylate cyclase - Adenilatsiklaza – liazalar sinfiga mansub ferment ATF dan siklik AMP hosil bo‘lishida ishtirok etadi. Plazmatik membranalarda bo‘ladi.

Adenozine diphosphate acid - Adenozindifosfatkislota (ADF) – murakkab organik birikma ; adenin, fosfat kislotaning ikki qoldig‘i va ribozadan iborat nukleotid. Hujayra energetikasi-da muhim ahamiyatga ega. Adenozinmonofosfatkislota (AMP) – tarkibi adenin, ribozavafosfatkislotaning bitta qoldig‘idan iborat murakkab organik birikma. Nuklein kislotalar, kofermentlar tarkibida va erkin holda uchraydi.

Adenozine triphosphate acid - Adenozintrifosfatkislota (ATF) –adenin, riboza va fosfat kislotaning uch qoldig‘idan tashkil topgan birikma. Tirik organizmlarda universal energiya tarqatuvchi va asosiy kimyoviy energiya manbaidir.

Adenozine triphosphatase - Adenozintrifosfataza(ATFaza) – gidrolazalar sinfiga man-

sub ATF ning parchalanishini tezlashtiruvchi ferment. Bunda tirik organizmlar uchun kerak bo‘lgan energiya ajralib chiqadi. kaliy, natriy ,kalsiy , magniy ionlari yordamida faollashadi.

Active center - Aktivmarkaz – Faolmarkaz- fermentning substratni biriktirib olib, uni o‘zgartiruvchi qismi.

Enzyme activator – Ferment aktivatorlari – fermentlarning faolligini oshiruvchi moddalar. Bular ko‘pincha turli metal ionlaridir.

Actomyosin - Aktomiozin – muskul tolalarining oqsili; aktin va miozinning o‘zaro birikishidan hosil bo‘ladi. Qisqarish xususiyatini ta‘minlaydi.

Albinism - Albinizm, rangsizlanish oqarish – organizmning o‘ziga xos rangining tug‘ma yo‘qligi; bu – odam va hayvonlar teri qoplamida, ko‘z rang to‘r pardasida uchraydi. Rangli pigmentlarning sintez qilinishiga to‘sqinlik qiluvchi gen yoki plazmogenlar faoliyati buzilishi tufayli vujudga keladi. (**Pigmentatsiya**) O‘simliklarda butunlay yoki ularning ma‘lum qismlarida yashil rangning bo‘lmasligi. Irsiy o‘zgarish yoki tashqi muhit ta‘sirida yuz beradi.

Albumins - Albuminlar – suvda yaxshi eriydigan oddiy oqsillar. Ko‘pchilik o‘simlik urug‘laridagi jamg‘arma oqsillar tarkibida va boshqalar dauchraydi.

Alleles - Allellar (allelgenlar) – gomologik xromosomalar bir xil qismlari (lokuslar) da joylashgan bir genning muqobil shakllari. Bir belgining har xil ko‘rinishda rivojlanishini belgilaydi.

Amids - Amidlar– organik kislotalar hosilasi; tarkibidagi gidroksil guruh amin guruhga almashgan. O‘simliklarda azotning ko‘chib yuruvchi va jamg‘armashakllari sifatida muhim ahamiyatga ega.

Amylase - Amilaza –kraxmal va glikogenni maltoza disaxaridigacha parchalanish reaksiyasini katalizlovchi ferment. O‘simlik, hayvon va mikroorganizmlarda ko‘p.

Amylopectin - Amilopektin-kraxmalning tarkibiy qismi. Kartoshka va bug‘doy kraxmalining 75-80 % ni tashkil qiladi. Yod ta‘sirida gunafsha rangga kiradi.

Amylose - Amiloza –kraxmalning tarkibiy qismi. Kartoshka va bug‘doy tarkibidagi kraxmalning 20-25 % ni tashkil qiladi. Yod ta‘sirida ko‘k rangga kiradi.

Amino acids - Aminokislotalar –tarkibidabiryokiikkitaam-invakarboksilguruhibor organik birikmalar; tabiatdakengtarqalgan.

Aminotransferases - Aminotransferazalar – aminoguruhni bir moddadan ikkinchisiga ko‘chirish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar.

Anabolism - Anabolizm-sintezlanish – metabolizmining tarkibiy qismi bo‘lib, oddiy molekulalardan murakkab organik birikmalar vujudga keladi (**Assimilyatsiya**).

Antibiotics - Antibiotiklar–mikroorganizmlar o‘shini to‘xtatish yoki ularni nobud qilish xususiyatiga ega biologic faol moddalar. Zamburug‘lar, bakteriyalar, aktinomitsetlar va ayrim yuksak o‘simliklarda (fitonsidlar) hosil bo‘ladi. Antibiotiklardan odam, hayvon va o‘simlikda kasallik tug‘diruvchi mikroorganizmlarga qarshi foydalaniladi.

Antidotes - Antidotlar – **Ziddizaharlar** – organizmdagi zaharli moddalarni adsorbsiyalab, zararsizlantiruvchi kimyoviy birikmalar.

Antikodone - Antikodon – transport – RNK molekulasining uchta nukleotiddan tashkil topgan bir qismi; information

– RNK dagi o‘ziga mos komplementlar (to‘ldiruvchi) qismni (kodonni) aniqlash xususiyatiga ega.

Antimetabolites - Antimetabolitlar - organizmda ishlab chiqariladigan yoki sintezlangan tuzulishiga ko‘ra metabolitlarga o‘xshash kimyoviy birikmalar. Metabolitlarning organizmdagi ta‘siriga to‘sqinlik qiladi. Doridarmon, pestitsid sifatida ishlatiladi.

Acyclical amino acid - Atsiklik aminokislotalar – alifatik yoki halqasiz aminokislotalar. Glisin, metionin, leysin va boshqalar kiradi.

Ascorbate acid - Askorbat kislota, C vitamin – suvda eriydigan vitamin. Asosan o‘simliklarda, ayniqsa, na‘matak, bulg‘or qalampiri, sitrus mevalari va boshqalarda ko‘p. Organizmning noqulay sharoitlarga chidamliligini oshiradi. Askorbat kislotaning yetishmasligi lavsha (singa) kasalligiga sabab bo‘ladi.

Ascorbate oxidase - Askorbatoksidaza – askorbat kislota oksidlanishini katalizlovchi ferment.

Autotrophs - Avtotroflar – avtotrof organizmlar – anorganik moddalardan hayot faoliyati uchun zarur organik moddalarni hosil qiluvchi organizmlar. Ja-

rayon quyoshenergiyasi (**q.Fotosintez**) yoki kimyoviy reaksiyalar natijasida ajralib chiquvchi energiya (**q. Xemosintez**) hisobiga kechadi. Bularga deyarli barcha yashil o‘simliklar, suvo‘tlar, ba‘zi bakteriyalar kiradi.

B

The bazal membrane - Bazal (tayanch) membrana — qoplovchi va biriktiruvchi to‘qimalarni chegaralab turadigan hujayralararo tayanch qavat yoki qatlam. Moddalarning shimilishi va diffuziyasi uchun to‘siq hamda elastik tayanch vazifasini bajaradi. Ayrim a‘zoldagi kabi tanlab o‘tkazish xususiyatiga ega.

Bazal body, kinetosoma - Bazal tana, kinetosoma — hujayra xivchini yoki kipriklari asosidagi mayda tanacha ko‘rinishidagi tuzilma. Strukturasi, funksiyasiga ko‘ra sentrioliga o‘xshaydi.

Bioenergetics - Bioenergetika – molekulyar biologiyaning bir bo‘limi; tirik organizmlar hayot faoliyati davomida energiya aylanish mexanizmi, to‘planishi va sarflanish jarayonlarini o‘rganadi.

Biogen elements - Biogenelementlar – organism tarkibida doimo uchraydigan va

ma'lum biologic ahamiyatga ega kimyoviy elementlar (uglerod, vodorod, kislorod, azot, fosfor va boshqalar).

Biogen stimulant - Biogen stimulyatorlar– hayvon va o'simlik to'qimalarida noqulay sharoitga moslashish davomida hosil bo'ladigan biologic faol moddalar; organizm me'yori funksiyasini tiklashga yordam qiladi.

Biological membranes - Biologik membranalar – hujayra va uning ichki tuzilmalari (mitoxondriya, xloroplastlar, lizosoma, yadro va boshqalar) ni o'rab turadigan lipid – oqsil tarkibli juda mayda strukturalar. Tanlab ta'sir qilish xususiyatiga ega bo'lib, hujayra va uning tarkibiy qismlaridagi moddalar almashinuv mahsulotlari miqdorini va ular o'tkazilishini hamda almashinishini boshqaradi. Hozirgi zamon tushunchalariga ko'ra, biologik membranalar energiyaning bir turdan ikkinchi turga aylanishi ta'minlashda, fermentlarning faolligini boshqarishda, asab impluslari va hujayralararo informatsiyaning uzatilishida, gormonlarning funksional xususiyatlari va hujayradagi boshqa jarayonlarni amalga oshirishda faol ishtirok etadi.

Biological oxidation - Biologik oksidlanish – barcha tirik hujayralarda kechadigan oksidlanish – qaytarilish reaksiyalar yig'indisi. Bunda energiya hujayralarning sarflashi uchun qulay bo'lgan shakl – ATF ko'rinishida yoki energiyaga boy boshqa birikmalar holida to'planaadi. Jarayon asosan mitoxondriyalarda yuz beradi.

Biology - Biologiya –tirik organizmning tuzulishi, vazifasi, tarqalishi, kelib chiqish va rivojlanishi, tabiiy uyushmalari, sistematikasi, o'zaro va jonsiz tabiat bilan munosabatlarini o'rganadigan ilmiy fanlar majmui. Biologiya hayotga xos barcha ko'rinish va xususiyatlar (modda almashinuvi, ko'payish, irsiyat, o'zgaruvchanlik, sharoitga moslashish, o'sish, harakatlanish va boshqalar) ning umumiy hamda xususiy qonuniyatlarini tadqiq etadi.

Biopolimers - Biopolimerlar – yuqori molekullari tabiiy birikmalar (oqsillar, nuklein kislotalar, polisaxaridlar) bo'lib, molekulasini ko'p marotaba takrorlanadigan kichik molekullari monomer yoki ularning qismlaridani borat.

Biotechnology - Biotexnologiya- biologik jarayonlar va omillardan sanoat miqyosida foydalanish. Bunga gen mu-

handisligi, to'qimalar hamda hujayralarni o'stirish usullari yordamida aminokislotalar, gormonlar va boshqa moddalarni sanoatda ishlab chiqarish, yem – xashak achitqilar, fermentlar, antibiotiklar va boshqalarni mikrobiologik yo'l bilan sintez qilish usullari kiradi.

Biochemistry - Bioxi-miya – tirik organizmlar kimyoviy tarkibini, ularda uchraydigan kimyoviy birikmalar tuzulishi, vazifasi, kimyoviy xossalari, hosil bo'lish va parchalanish yo'llarini o'rganadigan fan.

D

Dehydrogenases - Degidrogenazalar – oksidoreduktaza sinfiga mansub fermentlar. Kimyoviy birikmalarning biridan vodorodni olib boshqasiga berish reaksiyalarini kataliz qiladi.

Decarboxylase - Dekarboksilazalar – liaza sinfiga mansub fermentlar. Aminokislotaga yoki ketokislotalar karboksilguruhini ajratish reaksiyalarini katalizlaydi.

Deoxyribonucleases - **Dezoksiribonukleazalar** – gidrolazalar sinfiga mansub fermentlar. Dezoksiribonukleinkislotalarning parchalanish reaksiyalarini kataliz qilinadi.

Deoxyribonucleine acid - Dezoksiribonuklein kislotasi (DNK) - nuklein kislotaning bir turi. Tirik organizmlarda irsiy beigilarni saqlash vazifasini bajaradi. Asosan, hujayra yadrosida, qisman mitoxondriya va xloroplastlarda bo'ladi.

Deoxyribose - Dezoksiriboz – oddiy uglevod; dezoksiribonuklein kislotaning shaker komponenti.

Dialysis - Dializ ,ajratish – yuqori molekulyar birikmalardan membrana orqali idiffuziya yo'li bilan quyi molekulyar moddalarni ajratish jarayoni.

E

Environmental prediction - Ekologik bashorat – odam faoliyati ta'siri yoki tabiiy jarayonlar natijasida tabiiy tizimlarning qanday bo'lishi, rivojlanishi va oqibatini oldindan aytib berish.

Environmental disaster - Ekologik halokat – ko'pincha odam xo'jalik faoliyatining tabiiy jarayonlarga bevosita yoki bilvosita ta'siri tufayli ro'y beradigan tabiiy me'yordan chetlanishlar (masalan, uzoqqurg'oqchilik). Bu noqulay iqtisodiy oqibatlarga olib keladi. Ayrim joylarda aholi yoppasiga qirilishi ham mumkin.

Environmental wardrobe - **Ekologik javon, ekologik o‘rindiq**—tabiatning tur mavjudligini ta’minlovchi barcha omillar majmui.

Ecology - Ekologiya— biologiyaning o‘simliklar, hayvonlar va mikroorganizmlar bilan o‘zaro hamda atrof – muhit aro munosabatlarining umumiy qonuniyatlarini, shuningdek odam bilan biosferaning o‘zaro ta’sirini o‘rganuvchi bo‘limi. Bir turiga mansub bo‘lgan organizmlar ekologiyasi – aut (o) ekologiya, uyushmalar ekologiyasi – sinekologiya, odam va muhit o‘rtasidagi o‘zaro munosabatlar muammolari haqidagi ekologiya – sotsial ekologiya deyiladi.

Expression - Ekspressiya-genlar namoyon ligi, genlar ekspressiyasi- aniq gen tomonidan aniqlanuvchi belgining fenotipda organizmning yashash sharoitiga qarab namoyon bo‘lish darajasi.

Exons - Ekzonlar – gen (DNK) ning genetic axborotga ega bo‘lgan, ya’ni aminokislotalar ketma – ketligini ifodalovchi (kodlovchi) bo‘lagi. Ekzonlar intronlar bilan gallanib turadi. (q. Intron).

Elongation - Elongatsiya, cho‘zilish, uzunlanish – oqsil biosintezida ko‘p marta qaytaril-

adigan va polipeptid zanjirning uzunlashishiga olib keladigan jarayon.

Endoplasmatic lace - Endoplazmatik to‘r –ichki membrane tizimlaridan iborat hujayraning tuzilma komponenti. Ikki xil endoplazmatik to‘r mavjud: silliq (ribosomasiz; zaharli moddalarni zararsizlantirish reaksiyalarini katalizlaydi, shuningdek unda lipidlar va uglevodlar sintezida hamda glikogenning parchalanishida ishtirok etuvchi fermentlar joylashgan) va donador endoplazmatik to‘r (ribosomal; unda oqsil sintezi sodir bo‘ladi).

Enzymology - Enzimologiya –biokimyoning fermentlar tuzilishi, vazifasi va fermentativ reaksiyalar kinetikasi, fermentlarning ta’sir qilish mexanizmlari, ularning tasnifi, nomenklaturasi va boshqalarni o‘rganuvchi sohasi . (q. **Fermentlar**).

F

Phagocytosis - Fagotsitoz - 1) hayvon organizmlarining himoya vositasi. Hujayraning ichidagi katta makromolekulyar komplekslar, bakteriyalar va boshqa begona tanachalarni qamrab olib, parchalab yuboradigan jarayon; 2) bir hujayrali organizmlar yoki soda ko‘p hujayrali organizmlarning ovqat

hazm qilish usuli yoki ovqatlanishi.

Phenology - Fenologiya - biologiyaning tirik tabiat rivojlanishidagi yil fasllarining almashinuvi bilan bogʻliq mavsumiy hodisalarning namoyon boʻlish muddatlari va bu muddatlarni belgilaydigan sabablarni oʻrganadigan boʻlimi. Masalan, kurtak va gullarning ochilishi, qushlarning uchib kelishi va ketishi, hayvonlarning qishki uyqudan uygʻonishi.

Phenotype - Fenotip - organizm individual rivojlanishining maʼlum bosqichida gentipning tashqi muhit bilan oʻzaro taʼsiri natijasida yuzaga keladigan barcha xususiyat va belgilar yigʻindisi.

Enzyme inhibitors - Ferment ingibitorlari — biokimyoviy reaksiyalarda ishtirok etuvchi fermentlarning katalitik faolligini sekinlashtiruvchi birikmalar. Masalan, ogʻir metall tuzlari, har xil zaharli moddalar.

Enzymes, biological catalysts - Fermentlar, biologik katalizatorlar — barcha tirik organizmlarda hosil boʻladigan va katalizatorlik vazifasini bajardigan oqsil tabiatli moddalar. Biokimyoviy reaksiyalar tezligini oshiradi. Dastlab achitqi zamburugʻlarida aniqlangan. Ayrim ri-

bonuklein kislotalar (ribozimlar) ham fermentativ faollikka ega (q. Enzimologiya).

The number of rotation of the enzymes - Fermentlarning aylanish soni — ferment substrat bilan toʻla toʻyingan vaqt birligida reaksiya mahsuliga aylangan substrat molekulasining soni.

Tibrillyar oqsillar, tolasi-mon oqsillar — suvda erimaydigan, ipsi-mon, asosan struktura oqsillari.

Fibrin - Fibrin — qon plazmasi tarkibidagi suvda erimaydigan oqsil. Fibrinogen-dan qon ivishi paytida hosil boʻladi.

Fibrinogen, blood protein - Fibrinogen, qon oqsili — qonning ivishida asosiy rol oʻynovchi eriydigan murakkab oqsil. Fibrinogen preparatlari tibbiyotda qoʻllanadi.

Philogenez - Filogenez — maʼlum bir hayvon, oʻsimlik (tur, turkum, sinf, tip)ning evolyutsion tarixiy taraqqiyoti. Filogenezning eng qisqa davri yangi turning hosil boʻlishi bilan ifodalanadi.

Phitohormone, plant hormones - Fitogormonlar, oʻsimlik gormonlari — oʻsimliklarning maxsus (asosan uchidagi) toʻqimalarida hosil boʻladigan fiziologik faol moddalar. Taʼsiri juda past konsentratsiyada nam-

oyon boʻladi va oʻsimlikning oʻsish, rivojlanishi kabi bir qator jarayonlarini boshqarishda ishtirok etadi.

Phitopathology - Fitopatologiya — oʻsimlik kasalliklari, ularning oldini olish va davolash choralari haqidagi fan.

Follicles, bubbles - Follikulalar, pufakchalar — har xil vazifa va joylanishga ega boʻlgan yumaloq ichi boʻsh hosilalar. Masalan, sut emizuvchilarning tuxumdonidagi follikulalarida tuxumhujayralar rivojlanadi.

Phospholipids, ink oils, phosphatides - Fosfolipidlar, murakkab yogʻlar, fosfotidlar — molekularida fosfat kislotaga tutuvchi murakkab lipidlar. Tarkibiga glitserin, yogʻ kislotaga, azot tutuvchi birikma va fosfor kislotaga kiradi. Biomembranalarning tuzilishida muhim ahamiyatga ega.

Phosphoproteins - Fosfoproteinlar — aminokislotalar va fosfat kislotadan tashkil topgan murakkab oqsillar. Bularga sutdagi kazein, baliqdagi ixtulinlar misol.

Phosphorylation of proteins, special enzymes - Fosforlangan oqsillar, maxsus fermentlar — proteinkinazalar yordamida fosforlanuvchi membrana, ribosomal va boshqa oqsillar. Bun-

day fosforlanish vaqtinchalik ahamiyatga ega boʻlib, boshqaruvchilik vazifasini bajaradi.

Phosphorylation - Fosforlanish — organik moddalar molekulasiga fosfat kislotaga qoldigʻining kirishi. Bunda tashqi energetik resurslar energiyasi yuqori energetik birikmalar (ATF) energiyasiga aylanadi. Uch: substrat, oksidativ va fotosintetik fosforlanish xillari mavjud.

Photosynthesis - Fotosintez — quyoshning yorugʻlik energiyasi taʼsirida yashil bargli oʻsimliklar xloroplastlarida va ayrim mikroorganizmlarda anorganik moddalar (suv, karbonat angidrid)dan organik moddalarning hosil boʻlish jarayoni. Bunda atmosferaga erkin kislorod ajratiladi.

Light reaction of photosynthesis - Fotosintezning yorugʻlik reaksiyalari — quyosh nuri energiyasi hisobiga ATF va NADPN₂ kabi kimyoviy energiyaga boy boʻlgan birikmalarining hosil boʻlish reaksiyalari.

Does not require the light reaction of photosynthesis - Fotosintezning yorugʻlik talab qilmaydigan reaksiyasi — karbonat angidrid va suvdan fotosintez dastlabki mahsulotlarin-

ing hosil bo'lishini ta'minlovchi reaksiyalar yig'indisi.

G

Gametes, sex cell - Gameta, jinsiy hujayra — gaploid to'plamli xromosomalarga ega tuxum-hujayra va spermatozoid; hayvonlar va o'simliklarning urug'lanish jarayonida bir-biri bilan qo'shilish xususiyatiga ega.

Gametogenesis - Gametogenez — jinsiy hujayralar (gametalar)ning hosil bo'lish va yetilish jarayoni. Gametogenezning mohiyati, jinsiy hujayralarning rivojlanish va shakllanish davrida hujayralarning bo'linishini maxsus yo'l bilan amalga oshirishdan iborat. Bu yo'l meyoz deb ataladi va gaploid to'plamli xromosomalarga ega jinsiy hujayralarning hosil bo'lishini ta'minlaydi.

Gamma-aminofatty acid (GAFA) - Gamma-aminomoy-kislota (GAMK) — aminokislota; asab tizimining qo'zg'atgichlaridan biri.

Gamma rays - Gamma-nurlar — qisqa elektromagnit nurlanish, ya'ni gamma-nurlanish natijasida hosil bo'ladigan nurlar. Atom yadrolarining yemirilishi va yadro reaksiyalari natijasida hosil bo'ladi. Juda katta singish, predmet va jism ichiga kirish xususiyatiga ega. Defektoskopiya,

nazorat qilish ishlarida va boshqa sohalarda foydalaniladi.

Gangliosides - Gangliozidlar — sialat kislota qoldiqlarini tutuvchi tabiiy organik birikmalar hisoblangan glikolipidlar vakili. Neyronlarning plazmatik membranalarida ko'p miqdorda uchraydi. Bakterial toksinlarning retseptori hisoblanadi. Odam organizmida gangliozidlar miqdori va tuzilishining o'zgarishi asab kasalliklariga sabab bo'ladi.

Haploid, single, simple view - Gaploid, yakka, oddiy ko'rinish — gaploid to'plami xromosomaga ega bo'lgan hujayra yoki organizm.

Haploid set of chromosomes - Gaploid to'plamli xromosomalar — jinsiy hujayralar (gametalar)da va profilaktika tadbirlarini o'rganadigan fan. Zoologiya, tibbiyot va veterinariya fanlari bilan bog'liq.

Hemoglobin - Gemoglobin — qon oqsili. Odam, umurtqali va ba'zi umurtqasiz hayvonlar qoni tarkibidagi temir atomini tutuvchi qizil rangli nafas pigmenti. U nafas olish a'zolaridan to'qimalarga kislorodni va to'qimalardan nafas olish a'zolariga karbonat angidridni olib o'tadi.

Gene - Gen — irsiy omil. DNK (viruslarda RNK) molekulyar

lasining bir qismi. Irsiy informat-siyaning tuzilishli va funksional birligi.

Gene engineering - Gen muhandisligi — rekombinat DNKlar texnologiyasi. Genetik va biokimyoviy usullar yordamida organizm yoki hujayra biologik informat-siyasini o'zgartirish bilan tabiatda uchramaydigan, yangi xususiyatga ega bo'lgan genlar to'plamini va shu asosda yangi nav hamda zotlarni yaratish.

Genetic maps - Genetik (ir-siy) kartalar — xromosomalarda genlarning chiziqli tartibda joylashish chizmasi. Seleksion ishlarda va nazariy tadqiqotlarda muhim ahamiyatga ega.

Genetic code - Genetik (ir-siy) kod — irsiy informat-siyani ma'lum belgilar yordamida ifodalash tizimi; DNK molekulasidagi nukleotidlar tartibini, oqsil molekulasidagi aminokislotalar tartibiga aylantirish (tarjima qilish) qoidalari yig'indisi. Genetik kod birligi kodon yoki triplet deb ataladi. Hammasi bo'lib 6' kodon mavjud, shulardan 61 tasi amino-kislotalarni ifodalaydi; qolgan 3 tasi polipeptid zanjir sintezining tamom bo'lganligini bildiradi.

Genetic target, genetic marker - Genetik belgi (nis-hon), genetik marker — faqat

retsessiv gomozigotada namoyon bo'ladigan retsessiv genlar va ular tomonidan nazorat qilinadigan belgilar.

Genetic information - Gene-tik informat-siya, irsiy axborot — avlodlarga ajdodlardan genlar to'plami sifatida beriladigan irsiy tuzilmalar (genlar, xromosomalar, sitoplazma, hujayra organoidlari)da joylashgan organizmning tuzilishi va vazifasi to'g'risidagi axborot.

Genetics - Genetika — irsiyat va o'zgaruvchanlik haqidagi fan. Hozirgi zamon genetikasiga irsiy omillarni nasldan naslga o'tish qonuniyatlarini kashf etgan G. Mendel va irsiyatning xromosoma nazariyasini yaratgan T. Morgan asos solgan.

Genes connection - Genlar ulanishi (tutashishi, birikishi) — genlarning ma'lum tartibda bir xromosomada joylanishi va nasldan naslga ma'lum bir kombinatsiyada, birgalikda tutashgan holda o'tishi. Bu hoi belgilarning mustaqil taqsimlanishidan farq qiladi. Tutashgan genlar krossin-gover paytida buziladi.

Cloning genes - Genlarni klonlash — o'ta toza holdagi ma'lum genni yoki shu gen yordamida hosil bo'ladigan oqsilni ko'p miqdorda ajratib olish usuli.

Gene fond - Genofond — tur yoki populyatsiya individlarida mavjud genlar to‘plami. Mazkur guruh organizmlariga xos 'mutatsiyalarning tez-tez qaytarilishi bilan xarakterlanadi. Atamani fanga A. S. Serebrovskiy kiritgan (1928). Genofond populyatsiyaning allel tarkibini belgilaydi.

Genome - Genom — Genlar yig‘indisi, xromo- G somalarning asosiy gaploid to‘plami. Genomning genotipdan farqi shundaki, u ayrim zot yoki navni emas, balki bir turni xarakterlab beradi.

Gene systematics - Genosistematika — tirik organizmlar barcha taksonomik guruhleri DNKsining nukleotidli tarkibini o‘rganuvchi fan.

Genotype- Genotip — biron bir zot yoki nav barcha genlarining yig‘indisi bo‘lib, irsiy informatsiya asosini tashkil qiladi.

Hybridoma - Gibridoma, qo'sh hujayra — biron bir foydali birikmaning sintezlanishini nasldan naslga o‘tkazaoladigan me‘yorli hujayra bilan amalda cheksiz o‘sish (ko‘payish) xususiyatiga ega bo‘lgan rak, shish hujayralarining qo‘shilishidan hosil bo‘lgan duragay hujayra.

Hypophysis - Gipofiz — umurtqali hayvonlar boshmiyasi asosida joylashgan ichki sekret-

siya bezi. Gipofiz ishlab chiqaradigan gormon organizmdagi moddalar almashinuvi jarayonini uyg‘unlashtirishda katta ahamiyatga ega.

Histidine - Gistidin — ko‘pchilik oqsillar tarkibida uchraydigan zaruriy aminokislota.

Histones - Gistonlar — o‘simlik va hayvon hujayralari yadrosida uchraydigan arginin va lizin qoldiqlartga boy ishqoriy xususiyatli oqsillar.

Glycogen - Glikogen — hayvon kraxmali. Molekulasi glukozadan iborat; odam, umurtqali hayvonlarning asosan jigari va muskullarida hamda achitqi zamburug‘larda, ko‘k-yashil suvo‘tlarida to‘planadigan polisaxarid. Glikogen makkajo‘xori donida ham topilgan.

Glycolipids - Glikolipidlar — uglevodlar va lipidlardan tashkil topgan murakkab birikma. Biologik membranalarining tashqi qismida uchraydi.

Glycolysis - Glikoliz — tirik organizmlarda glukozaning sut kislotasigacha fermentativ yo‘l bilan parchalanishini ta‘minlovchi anaerob jarayon.

Glycoproteins - Glikoproteinlar — uglevodlar va aminokislotalardan tashkil topganmurakkab oqsillar. Qon

zardobidagi oqsillar; ko'pchilik fermentlar, membrana oqsillari misol bo'ladi.

Glycoside - Glikozidlar — shakar qoldiqlari va boshqa organik birikmalardan tashkil topgan moddalar guruhi. Ko'pchiligi achchiq ta'mga ega. Ba'zilar tibbiyotda ishlatiladi.

Glycerides - Glitseridlar — glitserin va yuqori molekulyar yog' kislotalar efiri; o'simlik va hayvon hujayralarida to'planadigan yog'larning asosiy qismi.

Globine - Globin — gemoglobin oqsili. Har xil hayvonlar gemoglobinidagi farq asosan globin bilan belgilanadi.

Globulins - Globulinlar — suyultirilgan tuzli eritmalarda eruvchi oddiy oqsillar. Dukkakli va moyli ekinlar urug'ining asosiy oqsili hisoblanadi. Qon zardobidagi zidditanachalar, ya'ni gamma-globulinlar ham shu oqsillar vakilidir.

Glucagon - Glukagon — oshqozon osti bezi gormoni. Insulin gormoni antagonisti. Glukagon ta'sirida glikogenning parchalanishi tezlashadi va qonda glyukoza miqdori ortadi.

Gluconeogenesis - Glukoneogenez — glukozaning uglevod bo'lmagan moddalardan biokimyoviy jarayonda hosil bo'lishi.

Glucose - Glukoza, uzum shakari — geksozalar guruhi-ga mansub monosaxarid. Keng tarqalgan. Hayvonlar va mikroorganizmlarning muhim energiya manbai hisoblanadi.

Glutamine - Glutamin — o'simliklarda azot almashinuvida muhim rol o'ynaydigan aminokislota.

Glutamate acid - Glutamat kislota — muhim aminokislotalardan biri, ko'pchilik oqsillar tarkibida uchraydi.

Glutathione - Glutation — barcha tirik organizmlarda uchraydigan tripeptid. Oksidlanish qaytarilish reaksiyalarida ishtirok etadi.

Glutelins - Glutelinlar — g'alla o'simliklari donida uchraydigan, kuchsiz ishqoriy eritmalarda eriydigan oddiy oqsil.

Glutamin kislotasi va lizinga boy. G'o'za chigitida ham oz miqdorda uchraydi.

Golgi complex - Golji apparati, Golji majmuasi — diskasimon membranalar to'plami va pufakchalardan tashkil topgan hujayra organoidi.

Homology chromosomes - Gomologik (o'xshash) xromosomalar — morfologik belgilariga ko'ra o'xshash bo'lgan bir xildagi juft xromosomalar. Bular bir xil genlar to'plamiga

ega. Diploidli organizmlarda gomologik xromosomalari soni doimo juft boʻladi.

Guanine - Guanin — purin asosi; nuklein kislotalar, nukleotidlar va boshqalar tarkibida uchraydi.

H

Cell - Hujayra — barcha tirik organizmlarning oʻzidan koʻpayish va oʻzini boshqarish xususiyatlariga ega struktura-funksional birligi; elementar tirik tizimi. Har bir hujayra uch asosiy qism: plazmalemmayadro va sitoplazma hamda undagi organoidlardan tashkil topadi.

Cell aggregation - Hujayra agregatsiyasi, hujayraning toʻplanishi — hujayralardan koʻp hujayrali toʻplamlarning shakllanish jarayoni. Organizm meʼyorli rivojlanishida yuz beradi.

Cell differentiation - Hujayra differentsiatsiyasi — dastlabki hujayra bir xil massasidan har xil ixtisoslashgan toʻqima hujayralarining shakllanishi.

Cell entry - Hujayra kiritmalari — sitoplazmadagi no-turgʻun hosilalar — moddalar almashinuvi mahsulotlari jamgʻarma holda toʻplanuvchi oqsil va kraxmal donachalari, moy tomchilari, turli xil pig-

mentlar, ayrim tuzlarning kristallari va boshqalar.

Cell center - Hujayra markazi — membranasi tuzilishga ega bir-biriga nisbatan perpendikular joylashgan ikkita sentrioladan iborat organoid.

Cell membrane - Hujayra membranasi, sitoplazmatik membrana, plazmolemma — asosan oqsillar va lipidlardan tashkil topgan hujayra sitoplazmasini tashqi muhitdan yoki hujayra qobigʻidan (oʻsimlik hujayralarida) ajratib turadigan membrana. U hujayraning yaxlitligini taʼminlaydi, hujayra bilan tashqi muhit oʻrtasidagi aloqalarni boshqarib turadi.

Cell theory - Hujayra nazariyasi — biologiyaning eng muhim nazariyalaridan biri boʻlib, unga koʻra barcha tirik organizmlar hujayra va uning hosilalaridan tashkil topgan. 1838—1939 yillarda M.Shleydin va T.Shvann ishlab chiqqan.

Cell layer - Hujayra qobigʻi — faqat oʻsimlik hujayralariga xos va plazmatik membrana tashqarisida joylashgan qobiq. Hujayraga qattiqlik beruvchi seluloza tolalaridan iborat boʻlib, shaklni saqlab turadi.

I

Secondary structure - Ik-kilamchi struktura — oqsillar, nuklein kislotalar va uglevodlarning vodorod bog'lar tufayli hosil bo'ladigan tuzilishi.

The immune system - Immun tizim — Himoya qiluvchi tizim, organizmdagi kimyoviy moddalarni aniqlash, bilish xususiyatiga ega bo'lgan tizim. Bu tizimning vazifasi hayvon va odam organizmiga kirgan har qanday begona modda (mikroorganizm)ni aniqlash va uni bartaraf etishdan iborat.

Immunoglobuline - Immunoglobulin, himoya oqsili — begona (yot) moddalar — antigenlar bilan o'ziga xos birikish xususiyatiga ega murakkab oqsil. Odam va umurtqali hayvonlar qonida bo'ladi.

Immunology - Immunologiya, organizmning himoya reaksiyalari — immunitet haqidagi fan.

Induction, stimulation - Induksiya, qo'zg'atish — ikki asosiy fiziologik jarayon — qo'zg'alish va to'xtash jarayonlariga asab markazlarining o'zaro ta'siri. Bunda bir jarayonning hosil bo'lishi qaramaqarshi hisoblangan ikkinchisining ham rivojlanishiga sabab bo'ladi.

Inductor - Induktor, qo'zg'atuvchi — indutsirlangan

fermentlarning hosil bo'lishini tezlatuvchi modda.

Information RNA - Informatsion RNK, vositachi RNK, qolip RNK — hujayra oqsillarining sintezi uchun qolip, vositachi bo'lib, genetik informatsiyani DNK dan poliribosomalarga ko'chiradi.

Informasomes - Informosomalalar — eukariotlar hujayrasidagi ribonuklein kislota va oqsildan iborat zarrachalar.

Inhibitors - Inhibitorlar — o'simliklarning o'sish inhibitorlari, o'simliklar o'sishini sekinlashtiruvchi tabiiy yoki sintetik moddalar. Bularga etilen, absizinat kislota, xlorxolinxlorid (tur) kabilar kiradi.

Inoculation - Inokulyatsiya — tirik mikroorganizmlarni ozuqa muhitiga, o'simlik yoki hayvon organizmiga kiritish. Masalan, dukkakli o'simliklar urug'ini tuganak bakteriyalari bilan emlash (yuqtirish).

Insulin - Insulin — oshqozon osti bezi ishlab chiqaradigan oqsil tabiatli gormon. Qondagi shakar miqdorini boshqaradi.

Introduction - Introduksiya, joriy etish, kiritish — hayvon yoki o'simlik turlarini ilgari yashamagan yoki o'smagan, tabiiy sharoiti boshqacha joylarga ko'chirish, iqlimlashtirish,

tarqatish. Yovvoyi o'simliklarni madaniylashtirish.

Intron - Intron, oraliq qism — gen (DNK) ning irsiy axborotga ega bo'lmagan va ekzonlarni ajratib turuvchi bir qismi. Faqat eukariotlarga va ularning viruslariga xos.

Heredity - Irsiyat — organizmning avlodlar o'rtasidagi moddiy va funksional izchilligini, ya'ni ota-onadagi belgi hamda xususiyatlarning keyingi avlodga o'tishini ta'minlash xususiyati.

Irsiyat hayotning doimiyligini va turli shakllarda namoyon bo'lishini ta'minlab, tirik organizmlar evolutsiyasining asosini tashkil etadi.

Heredity - Irsiylanish, nasldan naslga o'tish — organizmlarning irsiy informatsiyasini avloddan avlodga o'tkazish jarayoni.

Izoelectric point - Izoelektrik nuqta — amfoter moddalarning anodga ham, katodga ham harakat qilmaydigan muhit -- rN ning qiymati. Oqsil moddalarining muhim ko'rsatkichlaridan biri hisoblanadi. Izoelektrik nuqtada oqsil beqaror bo'ladi va osonlik bilan cho'kmaga tushadi.

Izoferments - Izofermentlar — bir biologik turda bir-biriga o'xshash katalitik reaksiyalarni bajaruvchi, biroq tuzilishi va

fizik-kimyoviy hamda immunologik xususiyatlari bilan farq qiluvchi fermentlar guruhi.

Izoleysin - Izoleysin — zaruriy aminokislota. Ko'pchilik oqsillar tarkibida uchraydi.

Isomerazis - Izomerazalar — organik birikmalarning o'zaro almashinuv reaksiyalarini kataliz qiluvchi fermentlar sinfi.

K

Cario - Kario... — hujayra yadrosiga taalluqni anglatuvchi murakkab so'zning tarkibiy qismi.

Carioplazma - Karioplazma — Yadro plazmasi yadro shirasi — xromatin iplar, yadrocha va boshqa ko'pgina yadro tuzilishlari oraliq'ini to'ldiruvchi modda.

Carotene - Karotinlar — sarg'ish-pushti tusli, asosan yashil o'simliklarda hosil bo'ladigan karotinoidlarga mansub pigment. Sabzi va na'matak mevasida ko'p. Karotin — A vitamin provitaminidir.

Catabolism - Katabolizm, parchalanish reaksiyalari — tirik organizmlarda murakkab organik moddalar — oqsillar, nuklein kislotalar, uglevodlar, yog'larning yoki organizmlarning o'zida to'plangan ozuqa moddalarning fermentativ yo'l

bilan parchalanishi. Bunda ular-da to‘plangan energiya ajralib chiqadi va ATF yoki membrane potensiali shaklida to‘planadi (q. Dissimilatsiya).

Catalysis - Katalaza, oksidlovchi ferment — oksidoreduk-taza sinfiga mansub vodorod per-oksiding suv va kislorodgacha parchalanish reaksiyasini katali-zlovchi ferment. Barcha tirik or-ganizmlar tarkibida uchrab, ular-ni vodorod peroksidining zaharli ta’siridan saqlanishiga imkon beradi.

Clone - Klon — jinssiz ko‘payish yo‘li bilan bir ajdod-dan vujudga kelgan individ, av-lod yoki hujayralar majmui.

The code table - Kod jadvali — kodonlarning qaysi aminokis-lotani ifodalashini ko‘rsatib be-ruvchi jadval.

Codon, triplet - Kodon, triplet — irsiy informatsiya (ax-borot) birligi. Uchta ketma-ket turuvchi nukleotiddan iborat in-formatsion RNK ning bir qismi.

Cofermets - Kofermentlar, koenzimlar — ba’zi fermentlar faol markazining tarkibigakiru-vchi oqsil bo‘lmagan organik birikmalar. Ko‘pchilik kofer-mentlar vitaminlar hosilasidir.

Cocarbocylasis - Kokar-boksilaza, tiamindifosfat — vi-tamin B ning pirofosforli efiri.

Odam va hayvon organizmida glukozaning parchalanishida muhim ahamiyatga ega, piruvat-dekarboksilaza fermentining ko-fermenti.

Colonial organisms - Kolo-nial organizmlar, to‘dalashib yashovchi organizmlar — jins-siz ko‘payish (kurtaklanish)dan so‘ng yuzaga kelgan avlod indi-vidlarining ona organizm bilan qolib, to‘da — koloniya holida yashashi. Masalan, suvo‘tlar.

Complementary - Komple-mentarlik, to‘ldiruvchanlik — biopolimerlarning kimyoviy tuzilishidagi o‘zaro muvofiqlik. Masalan, DNK molekulasidagi bir polinukleotid zanjir nukle-otidlarning ketma-ketligi ikkin-chi zanjirdagi nukleotidlar ket-ma-ketligini aniqlab beradi va to‘ldiradi.

Complementation - Kom-plementatsiya, to‘ldirish — bir genning ikki mutant allelini bir zigotada birlashuvi. Bunda yov-voyi yoki unga yaqin fenotip o‘zining boshlang‘ich holatiga qaytadi.

Cseniobiotics - Ksenobio-tiklar — organizm uchun yot moddalar: pestisidlar, maishiy xi-zmatda qo‘llaniladigan kimyoviy preparatlar, dorivor moddalar va shunga o‘xshash birikmalar.

L

Compromise - Labillik, no-turg'unlik, beqarorlik — organizmning tashqi va ichki muhit o'zgaruvchanligiga bog'liqligi, ya'ni ularning ta'siriga turg'un-sizligini bildiradi.

Lactation - Laktatsiya — sut emizuvchi hayvonlarning sut bezlarida sutning hosil bo'lishi, to'planishi va uning vaqti-vaqti bilan ajralib turishi.

Lactase - Laktaza — sut shakari fermenti; laktoza disaxaridini ikki molekulaga glukozagacha parchalaydi.

Lactose - Laktoza — Sut shakari — ikki molekulaga glukozadan tashkil topgan disaxaridlar. Ko'p miqdorda sutda va ba'zi o'simliklar tarkibida qisman uchraydi.

Leysine - Leysin — zaruriy aminokislota. Ko'pgina hayvon va o'simlik oqsillarining tarkibida bor.

Liases - Liazalar — ma'lum birikmalarning substratdan suv ishtirokisiz ajralishini katalizlovchi fermentlar. Ularning faoliyati tufayli qo'shbog'lar hosil bo'ladi yoki yo'qoladi.

Ligases - Ligazalar, sintetazalar — ATF yoki shunga o'xshash birikmalar energiyasi hisobiga oddiy molekulalardan murakkab birikmalar hosil bo'lish reaksiyalarini katalizlov-

chi fermentlar sinfi.

Lipase - Lipaza — yog'lar-ni glitserin va yog' kislotalariga parchalanish reaksiyasini katalizlovchi gidrolazalar sinfiga mansub ferment.

Lipids - Lipidlar — organik erituvchilar (benzin, benzol, xloroform, geksan) da yaxshi eriydigan va suvda erimaydigan yuqori yog' hamda yog'simon moddalar. Glitserin yoki boshqa spirtlar va molekulali yog' kislotalarining murakkab efiri hisoblanadi. Hayotiy jarayonlarda favqulodda muhim ro'l o'ynaydi. Lipidlar biologik membranalar tarkibiga kiradi. Hujayraning o'tkazuvchanligiga ta'sir qiladi, muhim energetik manba bo'lib, himoya vazifasini bajaradi.

Binary lipid - Lipidli qo'shqavat, yog'li qo'sh-qavat — biologik membranalarning asosiy tuzilmasi. Ko'pchilik suvda eruvchi birikmalar uchun o'ta olmaydigan to'siq hisoblanadi.

Lipoproteins - Lipoproteinlar - yog'lardan tashkil topgan murakkab oqsillar. Biologik membranalarning tuzilish elementlari hisoblanadi. Lipotsit — yog'li hujayra.

Lyposome - Liposoma — Yog'li tanacha, yog'li pufakcha — 1) ichida eritma bo'lgan va lipidli membrana bilan o'ralgan

pufakcha. Hujayradagi ayrim jarayonlarni o'rganishda qulay model bo'lib xizmat qiladi; 2) yog'dan iborat hujayra globulalari, Sun'iy ravishda tayyorlanadi va biologik tadqiqotlarda foydalaniladi.

Lysosome - Lizasoma — hujayra tuzilmasi. Ularda murakkab organik birikmalarni parchalovchi gidrolitik fermentlar mujasmlashgan bo'ladi. Hujayraning himoya, hazm qilish, ajratib chiqarish va boshqa vazifalarini bajaradi.

Lysine - Lizin — zaruriy aminokislota. Barcha to'la qiymatli oqsillar tarkibida uchraydi. Ozuqa va yem-xashaklar sifatini oshirish uchun sintetik lizindan foydalaniladi.

M

Macroenergetic compounds - Makroenergetik birikmalar, energiyaga boy birikmalar — ATF va fermentativ reaksiyalarda ATF hosil qilish xususiyatiga ega bo'lgan birikmalar. Bu birikmalarni gidroliz qilinganda ko'p miqdorda energiya ajralib chiqadi.

Macromolecule - Makromolekula — kichik molekullarning takrorlanishi natijasida hosil bo'lgan polimerlar. Murakkab va o'ziga xos tuzilishga ega

bo'lib, hujayrada ma'lum vazifalarni bajaradi.

Macronucleus - Makronucleus, yirik yadro — infuzoriyalardagi katta somatik yadro. Modda almashinuvi jarayonlarini boshqarishda ishtirok etadi.

Maltoze - Maltoza, don shirasi, don shakari — ikkita glukoza molekulasidan iborat disaxarid. Unayotgan don shiralarida ko'p miqdorda uchraydi.

Matrix - Matriks (sitologiyada) — hujayraning asosiy moddasi.

Matrix - Matritsa — genetik informatsiya nusxasini olish uchun qobip yoki asos. Bu DNK ning polinukleotid zanjiri bo'lib, undan yangi nusxa olish uchun xizmat qiladi.

Matritsali-RNK — q. Informatsion RNK.

Membrane - Membrana, parda — oqsil va lipiddan tashkil topgan yarim o'tkazgich molekular to'siq. Hujayra va hujayra organoidlari — yadro, mitoxondriya, xloroplast va boshqalarni o'rab turadigan parda.

Membrane proteins - Membrana oqsillari — biologik membranalarning maxsus vazifalarini amalga oshiruvchi oqsillar.

Membrane receptors - Membrana retseptorlari — Biriktiru-

vchi membranalar — plazmatik membranalardagi gormonlarni biriktirib olish xususiyatiga ega murakkab birikmalar.

Metabolism - Metabolizm, moddalar almashinuvi — hujayrada fermentlar ishtirokida boradigan moddalarning hosil bo'lishi, parchalanishi va o'zaro almashinuvidan iborat bo'lgan barcha reaksiyalarning yig'indisi. Bunda organizm hayot faoliyati, o'sishi, ko'payishi uchun zarur moddalar va energiya bilan ta'minlanadi (q. Anabolizm, Katabolizm).

Metalloproteins - Metalloproteinlar — tarkibida metall atomi bo'lgan va organizmda xilma-xil vazifalarni bajaradigan oqsillar. Bularning ko'pchiligi fermentlardir. Ularning faolligi magniy, kaliy, natriy, kalsiy va boshqalarga bog'liq. Temir, mis, marganets, molibden kabi elementlar muhim oqsillarning tarkibiy qismi hisoblanadi. Bunday oqsillarga gemoproteinlarni misol qilib ko'rsatish mumkin.

Metionine - Metionin — tarkibida oltingugurt bo'lgan zaruriy aminokislota. Barcha to'la qimmatli oqsillar tarkibiga kiradi. Sintetik metionin yem, ozuqalar qiymatini oshirishda va tibbiyotda dori-darmon sifatida ishlatiladi.

Microsomal oxidation - Mikrosomal oksidlanish — mikrosomalarda kechadigan oksidlanish jarayonlari. Mikrosomalarda kislorodni to'g'ridan-to'g'ri har xil substratlarga biriktiruvchi faol oksigenazalar ko'p bo'ladi.

Microsomes - Mikrosomal, kichik tanachalar — hujayra sitoplazmasidagi fraksiyalar.

Mitochondria - Mitoxondriya — hujayraning quvvat markazlari; eukariot organizmlarni energiya bilan ta'minlaydigan donador hujayra organoidi.

DNA of Mitochondria - Mitoxondriya DNKsi — mitoxondriyaning uncha katta bo'lmagan halqasimon DNK molekulasidir. Sitoplazmatik irsiyat molekular antropologiya va paleogenomikada muhim ahamiyatga ega.

Metabolism - Modda almashinuvi — tirik organizmlarda sodir bo'ladigan modda va energiyaning qonuniy tartibda o'zgarib, almashinishi. Hayot asosini tashkil etuvchi kimyoviy reaksiyalar majmui (q. Metabolizm).

Molecular biology - Molekular biologiya — tiriklik belgilari va asosiy xususiyatlarini molekular darajada o'rganuvchi fan. Asosiy vazifasi muhim bi-

ologik birikmalar hisoblangan oqsil va nuklein kislotalarning o'zaro ta'siri, xususiyatlari va strukturasi bilan bog'liq bolgan irsiyat, oqsil biosintezi, informat-siyani saqlash hamda uni uzatish kabi hayotga xos xususiyatlarni tadqiq etishdan iborat.

Molecular genetics - **Molekular genetika** — geneti-ka va molekular biologiyaning bo'limi. Organizmlar irsiyat va o'zgaruvchanligining mod-diy asoslarini hujayradan past bo'lgan organoidlar va moleku-lar darajada o'rganadi. Moleku-lar genetikaning rivojlanishi mutatsion jarayonlar, ya'ni irsiy informatsiyaning o'zgarishini chuqurroq o'rganish imkonini beradi (q. Gen muhandisligi).

The monoclonal antibody - **Monoklonal antitanalar** — Yakka payvand zidditanalar, — gibridom klonlar tomonidan sintez qilinadigan moddalar. Ular xususiyatlari bo'yicha bir xil, anti-genga (yot tanachaga) nisbatan bir xil o'xshashlikka ega va faqat bitta antigen bilan bog'lanadi.

Monoculture - **Monokultura** — Ekin yakka hokimligi — bir xil ekinning ko'p yil davomida uzluksiz, almashlab ekishga ri-oya qilmay, bir maydonga ekili-shi.

Monosaxarides - **Monosax- aridlar** — Oddiy uglevodlar, oddiy shakarlar — aldegidospirt- lar yoki ketospirtlardan iborat. Tarkibidagi karbon atomining soniga qarab geksoza, pentoza, tetроза va triozalarga bo'linadi. Ularga glukoza, fruktoza, galak- toza, riboza va boshqalar kiradi.

Mutation - **Mutatsiya, o'zgarish, almashish** — barcha tirik organizmlarga xos xusu- siyat. Bunda irsiy informatsiya yoki irsiy belgilar tabiiy yoki irsiy omillar ta'sirida birdaniga o'zgarib, yangi barqaror belgilar hosil qiladi, keyinchalik bu bel- gilar nasldan-naslga o'tish xus- usiyatiga ega bo'ladi. Irsiy asos- ning o'zgarish xarakteriga qarab mutatsiya genomli, xromosomal va genili mutatsiyalarga bo'lina- di. Hujayra yadrosi bilan bog'liq bo'lmagan genlarning mutatsi- yasi sitoplazmatik mutatsiya deb ataladi.

N

Respiratory chain - **Nafas olish zanjiri** — organik birik- malarning oksidlanishini amalga oshiruvchi fermentlar to'plami.

Neofites - **Neofitlar** — ma'lum bir hududga yangi olib kelingan o'simliklar.

Nuclease - **Nukleaza** — nuk- lein kislotalarni nukleotidlarga

parchalovchi fermentlar.

Nucleic acid - Nuklein kislotalar — nukleotidlardan tashkil topgan yuqori molekulari organik birikmalar. Tirik organizmlarda irsiy belgilarni saqlaydi va oqsil biosintezida ishtirok etadi. Ayrim nuklein kislotalar fermentativ faollikka ega. Tirik organizmning barcha hujayralarida uchraydi. Ularning makromolekulari bir yoki qo'sh polimer zanjirdan iborat bo'lib, monomer nukleotidlardan tashkil topgan.

Nucleoplazme - Nukleoplazma — 1) yadroning xromosomalar va yadrochadan tashqari tarkibiy qismlari; 2) bakteriya, ko'k- yashil suvo'tlari hujayrasining yadro vazifasini bajaruvchi qismi.

Nucleoproteins - Nukleoproteinlar — nuklein kislotaga va aminokislotalardan tashkil topgan murakkab oqsillar.

Nucleosome - Nukleosoma, yadro tanachasi — xromosomaning asosiy tuzilma elementi.

Nucleotides - Nukleotidlar — azot asoslari: uglevod komponentlari va fosfor kislotadan tashkil topgan organik birikmalar. Irsiy informatsiyaning elementar tuzilma birligi hisoblanadi. Fermentlarning kofermentlari sifatida muhim ahamiyatga ega.

Nucleosydes - Nukleozidlar — azot asoslari va uglevod komponentlaridan tashkil topgan organik birikmalar. Masalan, adenozin, uridin.

Radiation - Nurlanish — tirik organizmlarga nurlarning ta'siri. Bu odatda ta'sir qilayotgan nurning xiliga (radioaktiv, rentgen va hokazo), dozasiga va organizmning fiziologik holatiga bog'liq.

O

Ocsidoreductases - Oksidoreduktazalar — oksidlanish va qaytarilish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar sinfi. Hamma tirik hujayralarda uchraydi.

Oligosaxarides - Oligosaxaridlar — molekulasida ikkitadan o'ntagacha monosaxarid qoldiqlarini tutgan uglevodlar. Bular o'z navbatida disaxaridlar, trisaxaridlar, tetrasaxaridlar va boshqalarga bo'linadi.

Oncogenes - Onkogenlar — rak (shish, o'sma) hosil qiluvchi genlar. Bular me'yori hujayrani xavfli shish hujayralarga aylantirish xususiyatiga ega.

Ontogenesis - Ontogenez — organizmning individual rivojlanishi. Bunga organizmning paydo bo'lganidan to hayotining

oxirigacha ketma-ket yuz beradigan morfologik, fiziologik va biokimyoviy o'zgarishlar kiradi. Ko'p hujayrali organizmlar ontogenezi ikki: pusht davri va pusht davridan keyingi (postembryonal) bosqichlardan iborat. Odam va yuqori tuzilishga ega bo'lgan umurtqali hayvonlarda bu davrlarantenatal (tug'ilguncha) va postnatal (tug'ilgandan keyingi) davrlarga bo'linadi.

Operator gene - Operator gen — struktura genlarning faol holga kelishini ta'minlovchi genlar.

Operone - Operon — nazorat qiluvchi bir nechta struktura genlarining to'plami.

Optimal factors - Optimal omillar — yorug'lik, harorat, namlik, tuproq va boshqa ekologik omillarning organizm uchun eng yaxshi, qulay shakllari.

Proteins - Oqsillar — yuqori molekulali tabiiy organik birikmalar: 20 xil aminokislota qoldiqlaridan tashkil topgan. Tirik organizmlar hayot faoliyatida muhim ahamiyatga ega. Turli-tuman vazifalarni, jumladan, boshqaruvchilik (gormonlar), katalitik (fermentlar), himoya qilish (zidditanachalar) va boshqalarni bajaradi.

Minimum of protein - Oqsil minimumi — oqsilning ozuqa tarkibidagi eng kam miqdori bo'lib, bunda oqsil tangligi vujudga keladi. Insonning oqsilga bo'lgan kunlik o'rtacha talabi 80—100, og'ir mehnat qilganda esa 150 grammacha.

Organelles - Organelalar — hujayra hayot faoliyati jarayonida o'ziga xos biron vazifani bajaruvchi struktura (tuzilma).

Pancreas - Oshqozon osti bezi — umurtqali hayvonlarning ovqat hazm qilish tizimidagi muhim bezlardan biri. Ovqat hazm qilish uchun pankreatik suyuqlik va modda almashinuv jarayonini boshqarishda ishtirok etuvchi insulin, glukagon gormonlarini ishlab chiqaradi.

P

Pantotenic acid - Pantotemat kislota, B₅ vitamini — yashil o'simliklar va mikroorganizmlarda sintezlanadi. Koferment A ning tarkibiy qismi.

Papaine - Papain — proteinaza fermenti. Oqsillarning gidroliz reaksiyalarini katalizlaydi. Qovun daraxtining pishmagan mevalaridan olinadi.

Papaverine - Papaverin — ko'knoridan olinadigan alkaloid.

Paramicoviruses - Paramiksoviruslar — Shilimshiqsi-

mon viruslar — tarkibida RNK bor viruslar oilasi. Umurtqali hayvon hujayrasining sitoplazmasida ko‘payib, nafas yo‘llari kasalliklarini tarqatadi.

Pectin substances - Pektin moddalar — o‘simlik polisaxaridlari. Ular ayniqsa mevalarda ko‘p to‘planadi. Oziq-ovqat sanoatida ishlatiladi.

Pellagra - Pellagra — Dag‘al teri — odamda vitamin RR va triptofan aminokislotasining yetishmasligidan kelib chiqadigan kasallik. Bunda teri po‘st tashlab dag‘allashadi.

Pentozes - Pentozalar — 5-uglerodli monosaxaridlar. Masalan, riboza, dezoksiriboza.

Pentose phosphate road - Pentozofosfat yo‘li — geksozalarning pentozofosfat orqali hosil bo‘lishi va parchalanishi.

Pepsine - Pepsin — oqsillarning gidrolizlanish reaksiyasini katalizlovchi ferment. Me‘da shirasi tarkibida uchraydi.

Peptide bun - Peptid bog‘ — bir aminokislolaning karboksil guruhi bilan ikkinchi aminokislolaning amin guruhi o‘rtasidagi bog‘ hisoblanadi. Peptid bog‘lariniboshqa birikmalar ham hosil qilishi mumkin. Masalan, karbamid.

Peptidase - Peptidazalar — peptidlar va peptonlarning gidro-

litik parchalanish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar. Reaksiya natijasida erkin aminokislotalar hosil bo‘ladi.

Peptides - Peptidlar — ikki va undan ortiq aminokislota qoldiqlarining peptid bog‘ orqali birikishi natijasida hosil bo‘ladigan organik birikmalar.

Permeases - Permeazalar — ko‘chiruvchi oqsillar. Membranalar orqali moddalarning faol ko‘chishini ta‘minlaydi. Masalan, aminokislotalar, shakarlar va boshqalarni.

Peroxidases - Peroksidazalar — oksidareduktaza sinfiga mansub turli polifenollarning vodorod peroksidi yordamida oksidlanishini katalizlovchi fermentlar.

Pesticides - Pestitsidlar — qishloq xo‘jalik o‘simliklarini kasal va zararkunan-dalardan, begona o‘simliklardan himoya qilish, shuningdek, o‘simlik barglarini to‘kish, quritish hamda boshqa tadbirlar uchun qo‘llaniladigan zaharli kimyoviy birikmalar. Pestitsidlar odam va hayvon organizmi uchun xavfli. Shuning uchun uni ishlatish qat‘iy nazorat qilinadi.

Pyrethroids - Piretroidlar — hasharotlarga qarshi qo‘llanadigan moddalar — insektitsidlar. Siklopropankarbonat kis-

lotalarning hosilalari boʻlgan tabiiy birikmalar. Oʻsimliklardan hamda sunʼiy yoʻl bilan olinadi.

Plasmids - Plazmidalar — hujayraning xromosomalari bilan bogʻliq boʻlmagan irsiy omillari. Koʻpchilik plazmidalar halqali qoʻshzanjirli DNK molekulasi-dan iborat. Ular tirik organizmlarda keng tarqalgan boʻlib, gen muhandisligida boshqa genlarni koʻchirish uchun foydalaniladi.

Plasmogenes - Plazmogenlar — yadrodan boshqa hujayra organoidlari — mitoxondriya, xloroplastlarda joylashgan genlar. Irsiy informatsiyani koʻchirish xususiyatiga ega. Plazmogenlar toʻplami plazmon deb ataladi.

Plasmolemma - Plazmolemma — protoplazmaning tashqi membranasi boʻlib, uni hujayra qobigʻidan ajratib turadi.

Polimerases - Polimerazalar — kichik molekullari birikmalardan polimer birikmalar hosil boʻlish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar. Masalan, RNK-polimeraza.

Polymorphic genes - Polimorf genlar — tashqi koʻrinishdan bir xil taʼsir qilish xususiyatiga ega boʻlgan noallel genlar.

Poly nucleotides - Polinukleotidlar — Murakkab nukleotidlar — mononukleotid qoldiqlaridan tashkil topgan murakkab

biorganik birikmalar.

Polypeptides - Polipeptidlar — Murakkab peptidlar — juda koʻp aminokislota qoldiqlaridan tashkil topgan peptidlar.

Polyribosomes - Poliribosomalar — bir informat-ion-RNK zanjirida yigʻilgan ribosomalar toʻplami.

Promoter - Promotor — operondan oldinda joylashgan triplet guruhlaridan biri boʻlib, RNK va DNK sintezini katalizlovchi RNK-polimeraza bilan birikish xususiyatiga ega.

Pro-DNA - Pro-RNK — oʻtmishdosh-RNK — DNKning genetik faol va sust qismlari toʻgʻrisida informatsiyaga ega hamda matritsali-RNKning oʻtmishdoshi boʻlgan RNK.

Prosthetic group - Prostetik guruh — murakkab oqsillarning, jumladan, ikki komponentli fermentlarning ham oqsil boʻlmagan qismi.

Proteinkinases - Proteinkinazalar — oqsillarning fosforlanishini katalizlovchi fermentlar. Fosforlangan oqsillar hujayra metabolizmini boshqarishda faol ishtirok etadi.

Proteolitik enzims-Proteolitik fermentlar — proteazalar, oqsil va peptidlarning gidrolitik parchalanishini katalizlovchi fermentlar.

Protoplazm -Protoplazma — tirik hujayra asosini tashkil qiluvchi rangsiz suyuq modda. Hozirgi zamon tushunchalariga ko'ra protoplazma biokalloid bo'lib, membrana yoki mikronaychalarni yig'ish, ortiqcha moddalarni chiqarib tashlash, oqsil molekula

larining konfiguratsiyasini o'zgartirish kabi hujayraning ichida sodir bo'ladigan juda ko'p o'zgarishlarni amalga oshiradi.

Protssessing -Protssessing, yetilish, yetilib pishish — funksional jihatdan faol bo'lgan RNK va oqsil molekularining hosil bo'lishi.

Q

Shield gland- Qalqonoldi bezlar — umurtqali hayvonlarda paratireoid gormonlarini ishlab chiqaruvchi ichki sekretiya bezlari.

Thiroid gland- Qalqonsimon bez — umurtqali hayvonlar va odam tomog'idagi maxsus ichki sekretiya bezi. Tarkibida yod tutuvchi terioid gormoni ishlab chiqaradi va to'playdi. Bu gormonlar organizmning modda va energiya almashinuvida katta ahamiyatga ega.

Comments spiral- Qo'sh spiral — ikki polinukleotid zanjirdan tashkil topgan DNK molekula

lasi. Zanjirlar bitta umumiy o'qqa ega va qarama-qarshi tomonga yo'nalgan. Qo'sh spiralni D.Uotson va F.Krik kashf etgan (1953).

R

Radiation genetics- Radiatsion genetika — genetikaning nurlanishni irsiyatga ta'siri, ya'ni nurlangan organizmlarda irsiy o'zgarish (mutatsiyalar)ning paydo bo'lishini o'rganuvchi bo'limi. GVzaga radiatsiya ta'sir ettirilib, bir qator yangi navlar olishga muvaffaq bo'lindi.

Radiation- Radiatsiya (ionlashuvchi) — Ionlashtiruvchi radiatsiya, ionlashtiruvchi nurlanish — u yoki bu darajada tirik organizmlarga yutiluvchi va ularda keskin o'zgarishlar paydo qiluvchi elektromagnit (rentgennurlar, gamma nurlar) hamda molekular (alfa-zarracha, betta-zarracha, proton va neytron oqimlari) radiatsiya. Tabiiy dozadan yuqori bo'lgan ionlantiruvchi nurlar tirik organizmlar uchun xavflidir.

The radiation balance- Radiatsiya muvozanati — atmosferada radiatsiya nurlanishi va yutilishining yig'indisi.

Radioactive pollution - Radioaktiv ifloslanish — radioaktiv moddalarning atrof-muhitda tabiiy me'yordan ortib ketishi. Radioaktiv ifloslanish yadro

quollarini (sinovdan o'tkazish) portlatish, atom elektrostansiyalari yoki boshqa atom bilan bog'liq bo'lgan tashkilotlarda sodir boladigan falokatlar, radioaktiv moddalari bo'lgan asbob-uskunalarining ishdan chiqishi natijasida vujudga keladi.

Light distribution - Radioaktivlik, nur tarqatish — bir element beqaror izotopining boshqa element izotopiga o'z-o'zidan yemirilish yo'li bilan aylanishi. Bunda tirik organizmlarga salbiy ta'sir qiluvchi nur ajraladi.

Radiobiology- Radiobiologiya — ionlashtiruvchi nurlarning barcha tirik organizmlarga ta'siri va radiatsiyadan himoyalalanish yo'liarini o'rganadigan fan.

Radioprotektors- Radioprotektorlar — nurdan himoya qiluvchi tabiiy moddalar yoki kimyoviy birikmalar. Undan tirik organizmlarni ionlashtiruvchi nurlardan himoya qilishda va radiatsiyaga bo'lgan chidamliligini oshirishda foydalaniladi.

Radio sensivity- Radiosezgirlik — Nurga sezgirlik — tirik organizmlarning ionlashtiruvchi nurlar ta'sirini sezish xususiyati.

Regulations- Regulatorlar (o'simlikda), o'simlik o'sishini boshqaruvchi moddalar — o'simlik o'sishini tezlashtiruvchi yoki sekinlashtiruvchi turlituman

organik birikmalar.

Recombination - Rekombinatsiya — tirik organizmlarning kombinativ o'zgaruvchanligi. Meyoz va mitoz jarayonida irsiy belgilarning qayta taqsimlanishi (rekombinatsiyasi) natijasida genlarning yangi o'zgargan birikishlari hosil bo'ladi.

Rekon- Rekon — rekombinatsiya birligi. DNK ning bir yoki bir necha juft nukleotidiga mos keladigan va keyingi qayta taqsimlanishlarda bo'linmaydigan eng qisqa qismi.

Rekultivation- Rekultivatsiya — mashina va mexanizmlarni qo'llab, foydali qazilmalar olish, qurilish ishlari va boshqalar ta'sirida unumdorligi hamda o'simliklari nobud qilingan tuproqlarni sun'iy ravishda qayta tiklash, shuningdek, atrofmuhit sharoitini yaxshilash.

Renaturation- Renaturatsiya — biopolimerlar molekulasini, masalan, oqsil yoki nuklein kislotalarning tabiiy xususiyatlarini yo'qotish (denaturatsiya) holatidan biologik faol holatga qaytishi.

Reparatation- Reparatsiya, o'z holiga qaytish — mutagenlar ta'siridan yoki tabiiy buzilgan DNK birlamchi tuzilishining o'z-o'zidan qayta tiklanishi.

Replication- Replikatsiya — DNK molekulasi o'zidan nusxa olishi. Bunda ota-ona DNK sining nukleotidlar ketma-ketligida ifodalangan informativiyasi yuqori aniqlik bilan DNK larga beriladi.

Repressor- Repressor — hujayrada fermentlarning hosil bo'lishini susaytiruvchi modda.

Retrovirus- Retroviruslar — tarkibida RNK tutuvchi viruslar. Ularning hayot sikli uchun RNK dan tashkil topgan genomning teskari transkripsiyasi xos. Ko'pchilik retroviruslar leykoz (oq qon), sarkoma (et, go'sht shishi) va sut bezlari shishi hosil qilishda ishtirok etadi.

Reverteaze- Revertaza — RNK dan DNKga irsiy informativiyani ko'chirish reaksiyasini katalizlovchi qaytar transkriptaza fermenti.

Ribonucleic acid-Ribonuclein kislotalar — tarkibida uglevod komponentlaridan riboza; azot asoslaridan adenin, guanin, sitozin, urasil tutuvchi nuklein kislota turi. Asosan hujayra sitoplazmasida joylashgan. Bitta polinukleotid zanjiridan tashkil topgan. Tirik organizmlarda sodir bo'ladigan oqsil biosintezida muhim ahamiyatga ega. Ayrimlarida fermentativ faollik xususiyatlari mavjud.

Ribosome- Ribosoma — RNK va oqsildan tashkil topgan, oqsil biosintezini amalga oshiruvchi hujayra organoidi. Sitoplazmada erkin yoki endoplazma tik to'r va yadro qobig'iga birikkan holda uchraydi. Ribosoma ikki qismdan iborat bo'lib, tashqi ko'rinishidan yosh qo'ziqorinni eslatadi. Ular ko'pincha bir-birlari bilan birikib, poliribosomalar holida uchraydi.

S

acid- Salitsilat kislota, aspirin — aromatik oksikarbonat kislota. Ko'pchilik o'simliklar tarkibida erkin holda uchraydi. Masalan, moychechakda.

Saproph dogs- Saprof itlar — tayyor organik moddalar (hayvon yoki o'simlik qoldiqlari, chi-rindilar) bilan oziqlanadigan organizmlar. Bularga ko'pchilik zamburug'lar, bakteriyalar va ayrim o'simliklar kiradi.

Sarcoplasmatic Sarkoplazmatik to'r — muskul to'larining organellasi. Muskul hujayralarida nozik kanallardan iborat to'rlar hosil qiladi va muskullarning qisqarishini nazorat qiladi. Bunga miofibrillarda kalsiy ionlarining regulatsiyasini nazorat qilish tufayli erishiladi.

Satelit DNA- Satelit DNK — Yo'ldosh DNK — hujayra sentromalaridan ajratib olingan

yuksak ketma-ketlikka ega DNK.

Saxarazae- Saxaraza — invertaza, saxarozani gidroliz qiluvchi ferment.

Saxarozae- Saxaroza — shakarqamish yoki qandlavlagi shakari. Disaxaridlar guruhiga mansub bo'lib, glukoza va fruktozadan tashkil topgan. o'simliklar dunyosida juda keng tarqalgan.

Site-Sayt, mutatsiya o'rni — mutatsiya yoki rekombinatsiyaning eng kichik birligi. DNKdagi bir juft nukleotidga teng. Nuqtali mutatsiyadagi gen o'rnini belgilaydi.

Pulp- Selluloza — glukoza qoldiqlaridan tashkil topgan uglevod. o'simlik hujayrasining qobig'i asosan sellulozadan tashkil topgan.

Salitsilatic acid- Salitsilat kislota, aspirin — aromatik oksikarbonat kislota. Ko'pchilik o'simliklar tarkibida erkin holda uchraydi. Masalan, moychechakda.

Saproph dogs- Saprof itlar — tayyor organik moddalar (hayvon yoki o'simlik qoldiqlari, chirindilar) bilan oziqlanadigan organizmlar. Bularga ko'pchilik zamburug'lar, bakteriyalar va ayrim o'simliklar kiradi.

Satelit DNA -Satelit DNK — Yo'ldosh DNK — hujayra

sentromeralaridan ajratib olingan yuksak ketma-ketlikka ega DNK.

Saxarazae- Saxaraza — invertaza, saxarozani gidroliz qiluvchi ferment.

Saxarozae- Saxaroza — shakarqamish yoki qandlavlagi shakari. Disaxaridlar guruhiga mansub bo'lib, glukoza va fruktozadan tashkil topgan. o'simliklar dunyosida juda keng tarqalgan.

Site-Sayt, mutatsiya o'rni — mutatsiya yoki rekombinatsiyaning eng kichik birligi. DNKdagi bir juft nukleotidga teng. Nuqtali mutatsiyadagi gen o'rnini belgilaydi.

Senobiozis- Senobioz — organizmlarning guruh (uyushma) larda birgalikda hayot kechirishi.

Sentrosome- Sentrosoma — hujayra organoidi. Ikkita sentrioladan tashkil topgan. Sentrosomaning vazifasi hujayra bo'linishi bilan bog'liq.

Seryn- Serin — proteinogen aminokislota. Barcha oqsillar tarkibida uchraydi. Ayniqsa, u ipak oqsili (fibroin)da ko'p.

Cyclic DNA- Siklik DNK — halqasimon DNK molekulasi.

Cyclic nucleotid- Siklik nukleotidlar, halqali nukleotidlar — gormonlar va boshqa hujayra tashqarisidagi regulatorlarning

hujayra ichidagi kimyoviy vositachilari. Bularga siklik adenozinmonofosfat (sAMF) va siklik guanozinmonofosfat (sAMF) kiradi.

Simbiozis- Simbioz, hamxonalik — ikki va undan ortiq turlarning hamxona va oʻzaro manfaatdorlikda yashashi.

Simplast- Simplast, sinsiy — organizmning hujayra tuzilishiga ega boʻlmagan koʻp yadroli protoplasti. Ular hujayralarning birikishidan yoki yadroning sitotomiyasiz koʻpayishidan hosil boʻladi.

Sistein- Sistein — koʻpchilik tabiiy oqsillar tarkibida uchraydigan oltingugurttutuvchi aminokislota. Organizmni har xil zaharli moddalardan saqlashda katta ahamiyatga ega.

Cytogenetics- Sitogenetika, hujayra genetikasi— irsiyat va oʻzgaruvchanlik qonuniyatlarini hujayra va hujayradan kichik tuzilishlar (asosan xromosomalar) darajasida oʻrganadigan fan. Sitogenetika asosan xromosomalarning tuzilma va kimyoviy tuzilishlari, morfologiyasi, vazifasini, shuningdek, boʻlinayotgan va boʻlinmaydigan hujayralardagi holatni genetika hamda sitologiya usullari yordamida tadqiq etadi.

Sytokinin- Sitokininlar — hujayra boʻlinishini boshqaruvchi oʻsimlik gormoni; adenin hosilasi. oʻsimlik ildizlarida hosil boʻlib, uning yer ustki qismlariga ksilema orqali koʻtariladi.

Sytology- Sitologiya — hujayra tuzilishi, vazifasi hamda individual rivojlanishini oʻrganuvchi fan. Hayvonlar gistologiyasi va oʻsimliklar anatomiyasi kabifanlarning tarkibiy qismi.

Cytoplasm- Sitoplazma hujayra qobigʻi bilan oʻralgan boʻlib, sitozol, sitoskelet va hujara organoidlaridan tashkil topgan. Hujayra magʻizining nazoratida oʻsish va koʻpayish xususiyatiga ega.

Cytoplasm heredity- Sitoplazmatik irsiyat — hujayra yadrosi bilan bogʻliq boʻlmagan irsiyat. Bunda ayrim irsiy belgilarning avloddan-avlodga koʻchirilishi oʻsimlik va hayvon hujayralarining sitoplazmasidagi omillar (xloroplast yoki mitoxondriya) orqali amalga oshiriladi.

Cytoskeleton- Sitoskelet, hujayra skeleti — barcha eukariot hujayralarining tarkibiy qismi. Mikronaylar va faol iplar (filamentlar)dan iborat. Hujayra shakli va harakatlanish xususiyatini belgilaydi.

Cytochrome system- Sitoxrom tizimi — sitoxromlardan va

sitoxrom-oksidadaza fermentidan tashkil topgan tizim. Hujayraning nafas olish jarayonida muhim ahamiyatga ega.

Cytochrome -Sitoxromlar — tarkibida temir-porfirinlar tutuvchi oqsillar guruhi. Oksidlanish-qaytarilish jarayonining barcha jabhalarida ishtirok etadi.

Cytozin- Sitozin — nuklein kislotalar tarkibiga kiruvchi azot asoslar.

Cytozole- Sitozol — sitoplazmaning shaklsiz, gelsimon qismi. Hujayraning 50foizdan ortiq qismini tashkil qiladi. Oraliq almashinuvining ko'pchilik reaksiyalari sitozol bilan bog'liq.

Somatic cells- Somatik hujayralar, tana hujayralari, diploid hujayralar — organizmning urug'lanish yoki otalanishdan tashqari vazifalarini bajaruvchi hujayralar.

Somatotropin- Somatotropin — o'sish garmoni. Gipofiz bezining oldingi bo'lagi ishlab chiqaradi.

AIDS- SPID — OITS (ortitirilgan immun taqchilligi sindromi) — odam organizmi himoya tizimining sustlashishi bilan bog'liq virusli kasallik. Kasallik jinsiy aloqa, donor qoni yoki yaxshi tozalanmagan shpris ignalari orqali yuqishi mumkin. Kasalning oldi olinmasa, hozir-

cha davolash qiyin.

Splyasing -Splyasing, ulab uzaytirish — RNK jarayoni (yetilishi) turlaridan biri. Juda katta molekulali geterogen yadroli RNKlarning kichikroq sitoplazmatik RNK molekulalarga aylanishi.

Stearyn —Stearin — qattiq yuqori molekular yog' kislotalar aralashmasi (asosan stearin va palmitin kislotalar). Hayvon yog'laridan olinadi.

Steroid gormonlar — odam va hayvonlar hayot faoliyatini nazorat qiluvchi va modda almashinuvi jarayonini boshqaruvchi bir guruh fiziologik faol moddalar. Masalan, jinsiy gormonlar.

Steroid-Steroidlar — hayvon va o'simliklarda uchraydigan tabiiy organik birikmalar sinfi. Bularga o't (safro) kislotalar, jinsiy gormonlar kiradi.

Stop codon- Stop kodonlar, ifodasiz kodonlar— hech bir aminokislotani ifodalamaydigan kodonlar. Ular polipeptid zanjir sintezini to'xtatish vazifasini bajaradi.

Structure of gene- Struktura geni — organizmlar belgi va xususiyatlarining rivojlanishida bevosita ishtirok etuvchi, biron-bir oqsilning aminokislotali tarkibini ifodalovchi DNK yoki RNKning eng kichik bo'lagi.

Substrate- Substrat, muhit — 1) mikroorganizm va oʻsimliklar oʻsadigan ozuqali muhit; 2) biokimyoda — ferment taʼsir qiladigan modda.

Supernatant - Supernatant — choʻkma ustidagi suyuqlik. Suspenziyalarning sentrifuga qilish jarayonida hosil boʻladi.

Suppressor gene - Suppressor gen — gomo yoki geterozigota holatdagi allal boʻlmagan mutant genlar taʼsirini siqib qoʻyadigan gen. Oqsil molekulasining hosil boʻlishini sekinlashtirib, toʻxtatadi.

T

Dizziness in the wild- Ta- biatda moddalar aylanishi — moddalarning bir komponentdan ikkinchisiga oʻtishi bilan kechuvchi, nisbatan takrorlanuvchi oʻzaro bogʻliq fizik, kimyoviy va biologik jarayonlar tabiiy halqasi.

Tannin substances- Tannin moddalar, oshlovchi moddalar, tanninlar — choy, eman kabi oʻsimliklar bargida uchraydigan polimer fenol birikmalar. Teri va moʻynani oshlashda oqsil moddalarni denaturatsiyaga uchratadi. Bular oʻsimlik, hayvonlardan va sunʼiy yoʻl bilan olinadi. Tishni qamashtirish xususiyatiga ega; tibbiyotda dori-darmon sifatida

ishlatiladi.

External environment- Tashqi muhit — fizik, kimyoviy, biologik xususiyatlar hamda ijtimoiy omillar yigʻindisi boʻlib, tirik organizmga bevosita yoki bilvosita taʼsir koʻrsatadi.

Telomers- Telomerlar — xromosomalarning oxirgi uchlari; DNK replikasiyada ishtirok etadi, xromosomalarni yopishib qolishdan saqlaydi va aniq qutblanish xususiyatiga ega.

Termination- Terminatsiya, chegaralash, tamomlash — maʼlum terminator — kodonlar yordamida polipeptid zanjir sintezining tamomlanishi.

Termination- Terminator, chegaralovchi — sintezlanib boʻlgan polipeptid zanjirning ribosomadan ajralishini chegaralovchi, belgilovchi triplet.

Reverse transkriptaze — **Teskari transkriptaza** — RNK dan DNK ni sintezlanish reaksiyasini katalizlovchi ferment.

Testosteron — **Testosteron** — umurtqalilarning asosan erkak jinsiy aʼzolari, shuningdek, buyrak usti bezlari, tuxumdonlar, platsenta, jigar ishlab chiqaradigan gormon.

Technological gibridome- Texnologiya gibrodomali, du-ragay hujayra texnologiyasi, gi-

bridoma texnologiyasi — o'sma (shish) hosil qiluvchi hujayralar bilan zidditana yoki qimmatli moddalar ishlab chiqaruvchi me'yorli hujayrani qo'shish yo'li bilan duragay hujayralar (gibridomalar) olish va olingan gibrodomali hujayra tizim (nasl)larini klonlash yoki ko'paytirish.

Tiamin - Tiamin — vitamini — o'simliklar va ayrim mikroorganizmlarda sintezlanadigan, suvda eriydigan birikma. Sholi va bug'doy kepagida, kartoshkada ko'p bo'ladi.

Timin - Timin — DNK ning muhim azot asoslaridan biri.

Timopoetin- Timopoetinlar — T-limfotsitlarning differentsiatsiyalanishini tezlashtiruvchi oqsil tabiatli gormonlar, timusda hosil bo'ladi.

Thireohlobulin- Tireoglobulin — glikoproteinlarga mansub qalqonsimon bezlarda hosil bo'ladigan murakkab oqsil.

Thiroid hormone- Tireoid gormonlar, qalqonsimon bez gormonlari — odam va hayvonlar qalqonsimon bezi ishlab chiqaradigan gormonlar. Organizmning ko'pgina vazifalariga ta'sir qiladi.

Tyroksin- Tiroksin, tetraiodtironin — umurtqali hayvonlar qalqonsimon bezi ajratadigan yod tutuvchi gormon. Tiroksin

yetishmasligi yoki ortiqchaligi og'ir kasalliklarni vujudga keltiradi.

Tirozin -Tirozin — oqsillar tarkibida uchraydigan halqali aminokislota. Dofamin, adrenalin, melaninlar kabi birikmalarning biosintezida ishtirok etadi.

The roots of the teeth - Tish ildizi — tishning jag'dagi chuqurchaga botib kirgan qismi.

T-limphotsites- T-limfotsitlar — timusda rivojlanuvchi limfositlar bo'lib, keyinchalik qon bilan limfatik tugunchalar hamda ovqat hazm qilish yo'lining boshqa qismlariga o'tadida, T-limfotsitlarga aylanadi. Hujayra immunitetining shakllanishida muhim ahamiyatga ega.

Tokoferol — Tokoferol — E vitamini — o'simliklarda sintezlanadigan va yog'da eriydigan vitamin. Organizm jinsiy jarayonlarida muhim ahamiyatga ega.

Transduktion-Transduksiya, ko'chirish, joyni o'zgartirish — genetik informatsiya (DNK molekulasining bir qismi) ni bir bakteriyadan (donor) ikkinchisi o (retsipiyent)ga viruslar (bakterio- s faglar) yordamida ko'chirish hodisasi. Bu jarayonda retsipiyent hisoblangan bakterial hujayra genotipida o'zgarish so'dir bo'ladi.

Transferazaes- Transferazalar — bir birikmadan ikkinchisiga har xil kimyoviy guruhlar yoki radikallarning ko'chirilish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar sinfi.

Transformation- Transformatsiya — belgilar va xususiyatlarni ekzogen (begona) DNK (m preparatlari yordamida hujayraga kiritish jarayoni. Bunda transformatsiyaga uchragan hujayrada yangi belgilar paydo bo'ladi.

Transgenezis — **Transgenezis** — irsiy belgilarning koqayta namoyon bo'lishi. o'simliklarda irsiy informatsiyaning bir hujayradan boshqasiga ko'chirilib, keyinchalik fenotipda namoyon bo'lishi.

Transkription- Transkripsiya, ko'chirib yozish — irsiy informatsiyani DNK molekulasidan informatsion-RNK molekulasiga ko'chirish. Bunda DNK molekulasidagi nukleotidlar ketma-ketligi RNK lik molekulasidagi nukleotidlar ketma ketligiga mos keladi. Irsiy informatsiya ko'chirilishining dastlabki bosqichi hisoblanadi.

Translocation- Translokatsiya — mutatsiya davrda yoki crossingoverda gomologik va omologik bo'lmagan xromosomalar qismlarining o'rin almashib

qolishi.

Translation- Translatatsiya — irsiy informatsiyani RNKning nukleotidli tuzilishidan oqsillarning aminokislotali tizimiga o'chirib yozish jarayoni. Bu jarayonda -RNK va ribosomalar ishtirok etadi.

Transpiration of water - Transpiratsiya intensivligi, suv bug'latish jadalligi — belgilangan vaqt birligida ma'lum og'irlikka ega bo'lgan barg yuzasidan yoki yuza birligidan bug'langan suv miqdori.

Transplantation- Transplantatsiya, ko'chirib o'tkazish — o'simliklar, hayvonlar va damlarda biror to'qima yoki a'zoni ko'chirib o'tkazish.

Active transport - faol transport, faol ko'chirilish — ATF yoki membrana potentsiali energiyasi yordamida biologik membranalardan orqali konratsiya gradiyentiga qarshi ion (molekula) larning ko'chirilishi.

Transport RNA- Transport RNK (t-RNK), tashuvchi RNK — faol holdagi aminokislotalarni o'ziga biriktirib, oqsil sintez qilinadigan joyga — ribosomaga ko'chirilishini hamda polipeptid zanjirdagi o'rning aniqlanishini ta'minlovchi ribonuklein kislotalar tipi.

Transpozone- Transpozonlar, sakrovchi irsiy elementlar — genomdagi o‘z o‘mini almashtirish xususiyatiga ega bo‘lgan DNK fragmenti (q. Harakatchan genlar).

Treonin -Treonin — deyarli barcha oqsillar tarkibida uchraydigan zaruriy aminokislota. Trilobitlar — dengiz bo‘g‘im oyoqli hayvonlarining qirilib bitgan ajdodlari.

Triplete - Triplet — irsiy informatsiyaning elementar ma‘nosini ifodalovchi birligi. Ma‘lum tratibda joylashgan uchta nukleotiddan iborat.

Trypsyn -Tripsin — oshqozon osti bezida dastlab faol bo‘lmagan tripsinogen holda sintezlanadigan va oqsillarni gidroliz qiladigan ferment.

Tropism- Tropizm, bu-rilish, yo‘nalish — muhit omil (qo‘zg‘atgich)laridan biri (yorug‘lik, yerning tortish kuchi, kimyoviy moddalar kabilar)ning ta‘sirida o‘simlik, hayvon a‘zolarining yoki ayrim hujayraning harakati. Harakat yoki o‘shishning yo‘nalishi qo‘zg‘atgich yo‘nalishi bilan aniqlanadi. Bular foto-, geo-, gidro-, termo-, xemotropizmlarga bo‘linadi.

The fourth structure-To‘rtlamchi struktura — oqsil molekulasini tashkil qiluvchi

polipeptid zanjirlarning o‘zaro fazoviy joylanishi. Bu faqat ikki va undan ortiq polipeptid zanjirlardan tashkil topgan oqsillarga xos.

U

Ubichinon- Ubixinonlar — vitaminlik xususiyatiga ega bo‘lgan modda. o‘simliklar, hayvonlar va mikroorganizm hujayralarida uchraydi.

Carbohydrate- Uglevodlar, karbon suvlar, glisidlar — tabiatda keng tarqalgan muhim organik birikmalar. o‘simliklarning asosiy qismi karbon suvlardan tashkil topgan.

Ultrasentrifugation- Ultratsentrifugalash — asbobning asosi — rotorni haddan tashqari tez aylantirish hisobiga Yerning tortish kuchidan yuz ming, million marta yuqori bo‘lgan markazdan qochish kuchini hosil qilish usuli. Biologiyada makromolekulalarni o‘rganishda ishlatiladi.

Ureazae- Ureaza — gidrolaza sinfiga mansub ferment. Karbamidni karbonat anhidrid va ammiakkacha parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Tarvuz va soya urug‘larida ko‘p.

Uremia- Uremiya — qonda ortiqcha miqdorda karbamidning to‘planishi. Odatda, bunday holat

buyrak faoliyatining buzilishi bilan bogʻliq.

Ubiquinones - Ubixinonlar — vitaminlik xususiyatiga ega boʻlgan modda. oʻsimliklar, hayvonlar va mikroorganizm hujayralarida uchraydi.

Carbohydrate - Uglevodlar, karbon suvlar, glisidlar — tabiatda keng tarqalgan muhim organik birikmalar. oʻsimliklarning asosiy qismi karbon suvlardan tashkil topgan.

Ultraviolet radiation - Ultrabinafsha nurlar — koʻzga koʻrinmaydigan, toʻlqin uzunligi oʻn nanometrdan kichik boʻlgan elektromagnit tabiatli nurlar.

Ultracentrifuge - Ultratsentrifugalash — asbobning asosi — rotorni haddan tashqari tez aylantirish hisobiga Yerning tortish kuchidan yuz ming, million marta yuqori boʻlgan markazdan qochish kuchini hosil qilish usuli. Biologiyada makromolekulalarni oʻrganishda ishlatiladi.

Urease - Ureaza — gidrolaza sinfiga mansub ferment. Karbamidni karbonat angidrid va ammiakkacha parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Tarvuz va soya urugʻlarida koʻp.

Uremia - Uremiya — qonda ortiqcha miqdorda karbamidning toʻplanishi. Odatda, bunday holat

buyrak faoliyatining buzilishi bilan bogʻliq.

Arogenesis - Ureogenez — organizmda karbamidning hosil boʻlishi.

V

Vaccines - Vaksinalar — kuchsizlantirilgan yoki oʻldirilgan mikroob hujayralari, shuningdek, mikroorganizmlar hayot faoliyati mahsulotidan tayyorlanadigan preparatlar. Yuqumli kasalliklarga qarshi qoʻllanib, organizmning chidamliligini oshiradi.

Vaccination - Vaksinatsiya, emlash — kasallikning oldini olish maqsadida vaksinalar qoʻllab, organizmda immunitet hosil qilish.

Valine - Valin — koʻpchilik oqsillar tarkibiga kiradigan zaruriy aminokislota.

Valinomycin - Valinomitsin — membranalar orqali kaliy ionining oʻtishini oshiruvchi polipeptid. Antibiotik sifatida foydalaniladi.

Vector - Vektor — retsipiyent (qabul qiluvchi) genomi yoki plazmoniga koʻchirilgan, mustaqil qayta tiklana olish xususiyatiga ega genetik tizim (DNK ning maʼlum uzunlikdagi kes- V masi).

Vektorlar (klo nlo v chi) , payvandlash vektorlari — klonlash (payvandlash) vektorlari sifatida plazmada DNK sidan foydalaniladi (q. Plazmidalar).

Viroids - Viroidlar — yuqumli agentlar; kichik molekulali bir polinukleotid zanjirdan tashkil topgan halqali RNK dan iborat. Kasalliklarga sabab boʻladi.

Vitamins - Vitaminlar, darmondorilar — tirik organizmlarning hayot faoliyati uchun juda zarur boʻlgan, kichik molekulali organik birikmalar; asosan oʻsimliklarda va mikroorganizmlarda hosil boʻladi. Odam va hayvon organizmidagi fiziologik, biokimyoviy jarayonlarning meʼyorli kechishini taʼminlaydi.

Hydrogen bundle - Vodorod bogʻlar — azot, kislorod kabi elektromanfiy hisoblangan atomlar va vodorod atomi oʻrtasida hosil boʻladigan bogʻlar. Biopolimerlar tuzilishlarini hosil qilishda muhim ahamiyatga ega.

X

Chemogenesis - Xemogenez — otalanmagan tuxum- hujayralarning kimyoviy moddalar taʼsirida boʻlinishi.

Chemolysis - Xemoliz — kimyoviy agentlar taʼsirida organik birikmalarning parchalan-

ishi.

Chemoresistance - Xemorezistentlik — tirik organizmlarning kimyoviy moddalar taʼsiriga chidamliligi.

Chemosensitivity - Xemosenzuvchanlik — organizmning kimyoviy moddalarga nisbatan sezgirligi.

Chemosynthesis - Xemosintez — mikroorganizmlarning oziqlanish turlaridan biri. Bunda bakteriyalarning karbonat angidrid gazidan organik moddalarni sintez qilishi, anorganik moddalarning oksidlanishi natijasida hosil boʻladigan energiya hisobiga amalga oshadi. Jarayonni S.N.Vinogradskiy kashaf qilgan (1887).

Chimera DNA - Ximera DNK — gen muhandisligi usullari yordamida har xil tabiiy DNK qismlaridan tuzilgan sunʼiy molekula. Ximera oʻsimliklar — irsiy sifat- dan farq qiluvchi qismlar, gistologik qatlamlar yoki hujayralarni ulashdan hosil boʻladigan oʻsimliklar. Masalan, har xil oʻsimliklarni payvandlash.

Chemotherapy - Ximioterapiya, kimyoviy davolash, xemoterapiya — kasallik qoʻzgʻatuvchilarga qarshi kimyoviy preparatlar qoʻllab, bemorni davolash.

Chymotrypsin - Ximotripsin — ozuqa tarkibidagi oqsillarning parchalanish reaksiyalarini katalizlovchi gidrolitik ferment. Oshqozon osti bezlari ishlab chiqaradi.

Chitin - Xitin — organizm qobig'iga qattqlik beruvchi modda. Bo'g'imoyoqlilar va boshqa umurtqasiz hayvonlar tashqi skeletining asosiy qismini tashkil qiladi. Zamburug' va bakteriyalar hujayra devorining tarkibiga kiradi.

Chloroplast - Xloroplast — o'simlik hujayrasining organel-lasi. Xloroplastlarda quyoshning yorug'lik energiyasi kimyoviy energiyaga aylantirilib, uglevod-lar sintezlanadi.

Cholesterol - Xolesterin — sterinlar guruhiga mansub yarim halqali spirt. Barcha tirik orga-nizmlarda uchraydi. Ayniqsa, asab hujayralari, sperma va er-itrositlarda ko'p.

Choline - Xolin — barcha tir-ik organizm hujayralarida uchra-ydigan vitamiga o'xshash moda. Fosfolopidlar, atsetilxolin tarkibiga kiradi.

Cholinesterases - Xolines-terazalar — xolin efirlarining gidrolitik yo'l bilan parchalan-ish reaksiyalarini katalizlovchi fermentlar. Odam va hayvon to'qimalarida ko'p.

Chondrioma - Xondriom — mitoxondriya DNKsi genlarining majmui.

Chondrogenesis - Xondro-genez — tog'ay to'qimalarining hosil bo'lish jarayoni.

Chondroitinsulfate - Xon-droitinsulfatlar — biriktiruvchi to'qima (pay, tog'ay)larning aso-siy tarkibiy qismi.

Chromatin - Xromatin — DNK va yadro oqsillari hisoblan-gan gistonlardan tashkil topgan nukleoprotein tolalar.

Set of chromosomes - Xro-mosoma to'plami — hayvon yoki o'simliklar organizmining har qanday hujayra yadrosida-gi xromosomalar majmui. Har bir biologik tur o'zining doimiy xromosomalar to'plamiga ega bo'lib, ular ma'lum kattalikka va morfologik xususiyatga ega.

Chromosomes - Xromosom-alar — hujayra mag'izi (yad-rosi)dagi o'zidan ko'payadigan xromatin iplaridan hosil bo'lgan yaxshi bo'yaluvchi donachalar. Ular DNK va oqsil molekular-idan tashkil topgan. Xromosom-alar yig'indisi organizmning asosiy irsiy xususiyatlarini bel-gilaydi.

Chromotype - Xromotip — organizm mag'iz genlari tizimi.

Y

Nucleus - Yadro — evkariot organizmlar hujayrasidagi organoid tarkibida oqsillar, nuklein kislotalar, oz miqdorda unga katta boʻlmagan organik molekullar va ionlar boʻladi. Yadro qobiq va yadro shirasiga ega.

Nuclear shell - Yadro qobigʻi, magʻiz poʻsti — perinuklenar boʻshliq bilan ajralgan, ikki qatlamdan iborat qobiq. Yadro qobugʻida juda koʻp teshikchalar boʻlib, ular orqali yadrodan sitoplazmaga va aksincha, turli-tuman moddalarning koʻchirilishi amalga oshadi.

Living environment - Yashash muhiti — organizm yashayotgan joydagi abiotik, biotik va antropogen omillar majmui.

The fight for survival - Yashash uchun kurash — Ch.Darvinning evolutsion nazariyasidagi asosiy tushunchalardan biri. Bu atama turlararo, shuningdek, organizmlar bilan turli-tuman yashash muhiti omillari oʻrtasidagi barcha oʻzaro munosabatlarni ifodalash uchun qoʻllanadi.

Light diffusion - Yengil difuziya — moddalarning koʻchirilishini taʼminlovchi oqsillar ishtirokida energiya sarflamasdan ularni biologik membranalar orqali koʻchirish.

Eugenics - Yevgenika — odamning irsiy sogʻligi va uni

yaxshilash yoʻllari haqidagi fan. Odam evolutsiyasini oʻrganish va insoniyatni irsiy kasal-liklardan himoya qilish, kishilik jamiyatini sogʻlomlashtirish masalalari bilan shugʻullanadi.

Oils - Yogʻlar — glitserin va yogʻ kislotalarning murakkab efiri. Biologik membranalar tarkibiga kiradi, asosan energiya manbai; hujayradagi jarayonlarni boshqarishda ishtirok etadi.

High energy compounds - Yuqori energetik birikmalar — ATF va fermentativ reaksiyalarda ATF hosil qilish xususiyatiga ega moddalar. Bularning gidrolizlanishi natijasida koʻp miqdorda kimyoviy energiya ajralib chiqadi.

Z

Serum - Zardob — odam yoki hayvon qonining shaklli elementlardan tozalangan suyuq qismi boʻlib, diagnostik yoki davolash ishlarida qoʻllaniladi.

Zygote - Zigota — onalik va otalik jinsiy hujayralari — gametalarning qoʻshilishidan hosil boʻlgan hujayra.

Zoology - Zoologiya — biologiyaning asosiy boʻlimlaridan biri; hayvonlarning xilma-xilligi, tuzilishi, hayot faoliyatining xususiyatlari, tarqalishi, yashash muhiti, oʻzaro aloqasi va boshqalarni oʻrganadi.

Zoosphora - Zoospora —

ba'zi zamburug'lar va yashil suvo'tlarining harakatchan sporalari.

Zoocenosis - Zootsenozlar — ma'lum sharoitlarda birlikda yashayotgan hayvonlar majmui. Biotsenozning tarkibiy qismi.

O'

Plant morphology - O'simliklar morfologiyasi — O'simliklar (barg, poya, ildiz)ning shakllanishi va tashqi ko'rinishini o'rganuvchi fan.

Plant water balance - O'simliklar suv muvozanati — o'simlikning ma'lum vaqt oralig'ida qabul qilgan va sarflagan suvi o'rtasidagi nisbat.

Plant protection - O'simliklarni himoya qilish — ekinlar va ko'chatlarga, madaniylashtirilgan yerlarga hamda tabiiy o'tloqlarga zarar keltiruvchi organizmlarga qarshi kurash choralari. Agrotexnik, biologik, kimyoviy, fizik va mexanik usullari bor.

Plant repose period - O'simliklarning tinim davri — o'simlikning o'sishdan to'xtagan, modda almashinuv jarayonining jadalligi eng past bo'lgan davri. Yilning ma'lum davrida, mavsumida tashqi noqulay sharoitlarni yengish uchun moslanish xususiyati hisoblanadi.

Plant growth activators - O'simlikning o'sish aktivator-

lari — o'sishni tezlashtiruvchi moddalar. O'simlik organizmida hosil bo'ladi (q. Fitogormonlar).

Plant growth point - O'simlikning o'sish nuqtasi — poya va ildizning eng uchki hosil qiluvchi (o'suvchi) to'qimali qismi.

Plant water regime - O'simlikning suv rejimi — o'simlikning suvni shimish (yutish), o'zlashtirish va chiqarish jarayonlari majmui. Suv o'simliklar massasining 80—95 foizini tashkil qilib, biokimyoviy reaksiyalar uchun qulay muhit yaratadi, sitoplazma kolloidlarining tuzilishini ta'minlaydi.

Lawn - O'simta, maysa — urug' o'sishining boshlang'ich davridan avtogrof oziqlanish boshlangungacha bo'lgan o'simta yoki o'simlik.

Growth cone - O'sish konusi — poya yoki ildiz uchidagi o'suvchi meristemali qism.

O'sma — butguldoshlarga mansub o'simliklar turkumi. Ba'zi turi barglaridan to'q ko'ktusli bo'yoq olinadi.

Bile - O't, safro — jigarning maxsus bez hujayralarida hosil bo'ladigan ovqat hazm qilish shiralari (suyuqlik).

Asosan yog'larning hazm bo'lishida ishtirok etadi.

Conducting tissues - O'tkazuvchi to'qimalar — o'simlik bo'ylab suv va unda erigan moddalarni o'tkazuvchi to'qimalar;

to'rsimon naylar hamda traxeyalardan iborat.

Conducting tissue of plants - O'tkazuvchi to'qimali o'simliklar — naysimon va g'alvirsimon o'tkazuvchi to'qimalarga ega o'simliklar. Bu to'qimalar suv, mineral va organik moddalarni o'tkazadi. Yo'sinlardan tashqari barcha yuksak o'simliklar kiradi.

Variability - O'zgaruvchanlik — tashqi muhit ta'sirida organizm belgi va xususiyatlarining o'zgarishi, ya'ni biron-bir belgini yo'qotish yoki yangisiga ega bo'lish jarayoni. Irsiyatga qarama-qarshi hodisa.

Self-fertilization - O'zidan ko'payish — DNK molekulasining o'zidan xuddi o'ziga o'xshash molekula hosil qilish xususiyati.

Self-management - O'zini o'zi boshqarish — tirik organizmning hatto tashqi muhitning o'zgaruvchan sharoitlarida ham o'ziga xos ichki doimiylik xususiyatlarini saqlab turish qobiliyati. Bunda qaytar bog'lanish prinsipidan foydalaniladi.

SH

Nyctalopia - Shabko'rlik — ko'z to'r pardasidagi yorug'likni sezuvchi tayoqchasimon hujayralar vazifasining buzilishidan kelib chiqadigan kasallik. Kasallik A vitamini yetishmasligidan

yoki tug'ma bo'ladi.

Pedigree - Shajara, shajara daraxti — evolutsiya jarayonida turli guruhga mansub bo'lgan organizmlarning rivojlanish yo'lini (qarindoshchilik aloqalarini) chizma ravishda tasvirlash. Shajara daraxtini tuzish g'oyasining nazariy asoslari Ch.Darvin nomi bilan bog'liq.

Conditional reflexes - Shartli refleklar — odam va hayvon organizmining individual hayoti davomida orttirilgan moslanish reaksiyalari. Ma'lum sharoitda shartli qo'zg'atgich bilan shartsiz reflektor harakati o'rtasida vaqtinchalik aloqaning vujudga kelishi tufayli paydo bo'ladi.

Unconditional reflexes - Shartsiz refleklar — evolutsiya davomida shakllangan, avloddan avlodga o'tish xususiyatiga ega tug'ma refleklar.

Strain - Shtamm — ma'lum manbadan olingan mikroorganizmning genetik jihatdan bir xildagi (toza) kulturasi.

Shvann cells - Shvann hujayralari — asab tolalari qobig'ini shakllantiruvchi hujayralar.

MUNDARIJA

Qisqartirilgan soʻzlar	3
Kirish.....	4
I BOB. BUFER ERITMALAR	6
Vodorod koʻrsatkichi	6
Buf eritmal ar.....	6
Buf er sigʻimi.....	8
Universal indikator yordamida pH ini aniqlash	10
Potensiometrik usul bilan eritmaning pH ini aniqlash.....	11
II BOB. OQSILLAR	12
Oqsil va aminokislotalarga xos rangli reaksiyalar	12
Biuret reaksiyasi	13
Ksantoprotein reaksiyasi.....	15
Oltinugurt tutuvchi aminokislotalar uchun reaksiya	16
Tirozin reaksiyasi.....	18
Adamkevich reaksiyasi.....	19
Ningidrin reaksiyasi.....	19
Oqsillarning fizik va kimyoviy xususiyatlari. Oqsillarni choʻktirish reaksiyalari.....	20
Oqsillarni neytral tuzlar yordamida choʻktirish.....	22
Oqsillarni ammoniy sulfat taʻsirida choʻktirish	22
Oqsillarni natriy xlorid taʻsirida choʻktirish	22
Oqsillarni mineral kislotalar taʻsirida choʻktirish.....	23
Oqsillarni organik erituvchilar bilan choʻktirish	23
Oqsillarni organik kislotalar bilan choʻktirish.....	24
Oqsillarni ogʻir metall tuzlari taʻsirida choʻktirish.....	25
Oqsillarni alkaloidlar reaktivi bilan choʻktirish	26
Oqsillarni yuqori harorat taʻsirida choʻkmaga tushirish.....	27
Oqsillarni dializ qilish	27
Oqsillarning izoelektrik nuqtasini aniqlash	28
Aminokislotalarning qogʻoz xromatografiyasi yordamida ajratish.....	31
III BOB. MURAKKAB OQSILLAR	33
Nukleoproteinlar	33
Dezoksiribonukleoproteinlarni jigar va taloqdan ajratib olish.....	34
DNK uchun rangli reaksiya	34
Xromoproteinlar.....	35

Oksigemoglobin kristallarini ajratib olish	36
Geminni olish reaksiyasi	37
Geminni amidopirin bilan aniqlash	38
Glikoproteinlar	38
So‘lakdan mutsinni ajratib olish	39
Fosfoproteinlar	40
Kazein tarkibidagi fosfatni aniqlash	41
O‘simliklardan umumiy oqsillarni ajratib olish	41
Oqsillarni ayrim fraksiyalarga ajratish	43
Qondagi qoldiq azot miqdorini aniqlash	45
Aminoguruhlardagi azotni formaldegid bilan titrlab aniqlash	47
Oqsil miqdorini Biuret metodi bo‘yicha aniqlash	49
Oqsil miqdorini mikrobiuret metodi bilan aniqlash	50
Oqsil miqdorini Louri usuli bilan aniqlash	50
Oqsillarni gidrolizlash va ularning aminokislotali tarkibini aniqlash	52
Aminokislotalarni yupqa qavatli xromatografiya usulida aniqlash	53
Oqsillar fraksiyalarini poliakrilamid gelida elektroforez usuli bilan aniqlash	55
Oqsillar elektroforegrammalarining ko‘rinishi	59
Pereaminlash reaksiyasi	59
Piridoksofosfat	60
Piridoksaminfosfat	60
IV BOB. LIPIDLAR	63
Yog‘larning erishi va emulsiya hosil qilishi	64
Yog‘larni aniqlashda qo‘llaniladigan sifat reaksiyalari	64
Yog‘ tarkibidagi glitserinni aniqlash (akrolein reaksiyasi)	65
Yog‘larning sifat ko‘rsatkichlarini aniqlash	65
Yog‘larning kislotali soni	66
Yog‘larning sovunlanish soni	67
Yog‘larning yodli sonini aniqlash	68
O‘t kislotalarining sifat reaksiyasi	69
Xolanat kislota	70
Organ va to‘qimalarda xolesterin miqdorini aniqlash	70
Xolesterin	71
Tovuq tuxumi sarig‘idan lesitinni ajratib olish	73

Siydikdagi aseton tanachalarini aniqlash	74
Siydikda sirka asetat kislotasini aniqlash	76
Yog'larning perekisli sonini aniqlash.....	76
Lipidlarning perekisli oksidlanishini aniqlash	77
Trimetin kompleksi	78
Ishchi eritmalar quyidagicha tayyorlanadi.....	78
Lipidlarning perikisli oksidlanishini aniqlash uchun quyidagi i shlar amalga oshiriladi	79
V BOB. UGLEVODLAR.....	80
Monosaxaridlar	81
Monosaxaridlarning qaytaruvchanlik xossalari	81
Monosaxaridlarni aniqlashda qo'llaniladigan rangli reaksiyalar...	83
Disaxaridlar	85
Polisaxaridlar	87
Kraxmalning yod bilan reaksiyasi	88
Kraxmalni qaytaruvchanlik xossalari aniqlash	89
Qaytaruvchanlik xususiyatiga ega bo'lgan shakarlarni Bertran usulida aniqlash	89
Biologik suyuqliklarda glyukoza miqdorini Xagedorn-Iensen metodi bilan aniqlash	93
Qaytaruvchan shakarlarni Berr usulida aniqlash	95
Fruktozani aniqlash.....	96
Saxaroza miqdorini aniqlash	97
Kraxmalni aniqlash.....	99
Kraxmal miqdorini Pochinka usulida aniqlash.....	99
Kletchatka miqdorini aniqlash	101
Glikogen miqdorini aniqlash.....	102
Pirouzum kislota miqdorini aniqlash	103
Glikoliz jarayonini aniqlash	105
To'qimalardagi ATP miqdorini aniqlash	108
VI BOB. NUKLEIN KISLOTALAR.....	112
DNK ning sifat reaksiyasi.....	114
Hayvon to'qimasidagi nuklein kislotalarining umumiy miqdorini aniqlash	115
Nukleoproteinlar	116
Dezoksiribonukleoproteinlarni jigar va taloqdan ajratib olish....	116

Nukleoproteinlarni achitqidan ajratib olish va ularni gidrolizlash.....	117
VII BOB. FERMENTLAR	120
Amilazaning kraxmalga ta'siri	121
Saxaraza fermentining aktivligini aniqlash.....	123
Fermentlarning termolabiligi.....	124
Fermentlar aktivligiga muhit pH ning ta'siri.....	125
Fermentlarning o'ziga xosligi	126
Fermentlarning aktivligiga ta'sir qiluvchi moddalar (ingibitorlar va aktivatorlar).....	127
Peroksidaza aktivligini aniqlash.....	128
Peroksidaza aktivligini ferrosianid kaliy bilan aniqlash	130
Supernatant tayyorlash	131
Glutamatdehidrogenaza fermentining aktivligini aniqlash.....	132
Lipaza aktivligiga safroni ta'siri	133
Lipaza fermentining aktivligini aniqlash	134
Ureazani aktivligini aniqlash.....	135
Pepsin fermenti ta'sirida oqsillarning parchalanishi.....	136
Tirozinaza fermentining aktivligini aniqlash	137
Fosfotaza fermentining aktivligini o'simliklarda aniqlash.....	138
VIII BOB. VITAMINLAR.....	139
A guruh vitaminlari	140
Umumiy karotinoidlarni aniqlash.....	141
D guruh vitaminlarining rangli reaksiyalari	142
E vitamini (Tokoferol).....	142
Vitamin E ning miqdorini aniqlash	143
E vitaminining rangli reaksiyalari.....	145
K vitamini	147
K vitaminining sifat reaksiyalari.....	147
Suvda eriydigan vitaminlar	148
B ₁ vitamin.....	149
B ₂ vitamini.....	150
Riboflavinning sifat reaksiyalari	150
B ₅ vitamini.....	152
B ₅ vitaminining sifat reaksiyalari.....	152
C vitamini	154
C vitaminining sifat reaksiyalari.....	155

Oziqa mahsulotlarida C vitaminining miqdorini aniqlash	157
Sitrinni (P vitamin) aniqlash	159
IX BOB. ORGANIK KISLOTALAR	160
O‘simliklarning umumiy kislotaliligini aniqlash	160
Sitrat kislotani aniqlash	162
Sitrat kislota miqdorini aniqlash	162
Suksinat kislotani aniqlash	163
X BOB. GORMONLAR	166
Qalqonsimon bez gormonida yodni ochish reaksiyasi	166
Buyrak usti bezining miya qavati gormonlari	168
Adrenalinning sifat reaksiyalari	169
Buyrak usti bezlari po‘stloq qavatining gormonlari	170
Kortizonning sifat reaksiyalari	171
Oshqozon osti bezi gormoni – insulin	172
XI BOB. QON	173
Qon zardobining oqsil fraksiyalarini aniqlash	173
Qon, siydikda glyukoza miqdorining ortotoluidin reaktivi bilan aniqlash	175
Qon zardobidagi kalsiy miqdorini aniqlash	176
Qon zardobidagi fosfor miqdorini aniqlash	179
Qon zardobidagi umumiy fosforning miqdoriga qarab umumiy fosfolipidlarni aniqlash	181
Xolinesteraza fermentining aktivligini aniqlash	183
XII BOB. SUT	185
Sutning sifat reaksiyalari	186
Sut shakarining sifat reaksiyalari	188
Sutdagi C vitamini miqdorini aniqlash	189
Sutning fermentlari	189
Sut tarkibidagi kalsiy miqdorini aniqlash	191
Sutning kislotaliligini aniqlash	192
XIII BOB. MUSKUL TO‘QIMASI	193
Miozinni ajratish	194
Muskul to‘qimasida kreatin va kreatinfosfatni aniqlash	194
Kreatinfosfatni kreatinga qarab aniqlash	196
Muskul to‘qimasida adenozintrifosfatazaning aktivligini aniqlash	197

XIV BOB. BIOLOGIK OB’EKTLARDA FOSFORNI	
ANIQLASH	200
Fosfor miqdorini eykonogen yordamida aniqlash	201
Fosfor miqdorini askorbat kislota yordamida aniqlash	201
Fosforli birikmalarning ayrim fraksiyalarini aniqlash	203
Kislotada eriydigan fosforni ajratish	203
Kislotada eruvchi umumiy fosforni aniqlash	204
Kislotada eruvchi anorganik fosforni aniqlash	204
Osonlik bilan gidrolizlanuvchi kislotada eruvchi anorganik fosforni aniqlash	205
Fosfolipid fraksiyasini ajratish	206
Nuklein kislota tarkibidagi fosforni aniqlash	206
Nuklein kislotalarni ekstraksiya qilish	207
XV BOB. Funktsional sistemalarda antioksidlanish aktivligini aniqlash metodlari	207
Lipidlarning perikisli oksidlanishini aniqlash	208
Biologik materiallarda flavonoidlar miqdorini aniqlash	210
Suvda eriydigan antioksidantlar miqdorini aniqlash	212
Umumiy antioksidantlar miqdorini aniqlash	215
Superoksiddismutaza aktivligini aniqlash	218
Glutationreduktaza fermentini aniqlash	219
Katalaza fermentini aktivligini aniqlash	220
Sitoxrom-C-oksidaza aktivligini aniqlash	221
ILOVA	223
Adabiyotlar	228
GLOSSARIY	229

**Mirhamidova Parida,
Boboxonova Dilnoza Baxodirovna,
Muxamedov Gafurdjan Israilovich**

BIOKIMYO

(Amaliy mashg'ulotlar)

Muharrir: X. Tahirov
Texnik muharrir: T. Raxmatullayev
Musahhah: N. Ismatova
Sahifalovchi: A. Muhammad

Nashr. lits № 2244. 25.08.2021 y.
Bosishga ruxsat etildi 16.08.2021 y.
Bichimi 60x84 $\frac{1}{16}$. Ofset qog‘ozi. “Times New Roman”
garniturası. Hisob-nashr tabog‘i. 14,5.
Adadi 100 dona. Buyurtma № 22.

«ZEBO PRINTS» MCHJ bosmaxonasida chop etildi.
Manzil: Toshkent sh., Yashnobod tumani, 22-harbiy shaharcha.