

30-Laboratoriya ishi

Polisaxaridlar

Polisaxaridlar tirik organizmda uchraydigan uglevodlarning asosiy qismini tashkil etadi, ular monosaxaridlar va ularning hosilalari asosida hosil bo'lgan biologik polimerlardir.

Kraxmal, glikogen (hayvon kraxmali), sellyuloza dekstrin, xitin, gialuronat va xondroitin sulfat kislotalar, geparin va boshqalar tabiatda eng ko'p tarqalgan polisaxaridlar hisoblanadi. Ular organizmda turli-tuman vazifalarni bajaradi.

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

O'simliklarning yashil barglaridagi kraxmalni aniqlash

(Laboratoriya ishi)

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

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

Ishning bajarilishi. 2 ta probirka olib, ularning biriga o'simlikning yashil bargi, ikkinchisiga sarg'aygan bargi solinadi. Har ikkala probirkaga 1-2 ml distillangan suv qo'yib, 2-3 minut qaynatiladi. So'ngra issiq suv to'kib tashlanadi va uning o'rniga 1 ml etil spirt qo'yiladi. Probirkalar qaynab turgan suv hammomiga 3-5 minut qo'yiladi va har minutda chayqatib turiladi. Yashil bargdagi xlorofil va sariq bargdagi ksantofill spirtga o'tadi, barg esa rangsizlanadi. Spirtli ekstrakt alohida idishga qo'yiladi. Rangsizlangan bargli probirkaga esa yana 1 ml dan spirt qo'yib, 3-5 minut suv hammomida qizdiriladi. Spirt yuqoridagi idishga to'kilib rangsiz barg bir necha marta distillangan suv bilan yusiladi. Shundan keyin har bir probirkaga 3-4 ml dan distillangan suv qo'yib, barg to'qimasini yumshatish uchun qaynab turgan suv hammomiga qo'yiladi. 5-10 minutdan keyin suv to'kib tashlanadi va barglar alohida nomerlangan filtr qog'izga qo'yiladi, so'ngra 3-4 tomchi 1% li

yod eritmasidan tomiziladi. Agar bargda kraxmal bo'lsa, sekin-asta ko'k nuqtalar paydo bo'lib, bargning yuzasi ko'karadi.

Kraxmalni miqdoriy aniqlash

(Laboratoriya ishi)

Kerakli asbob va reaktivlar: suv hammomi, 200 ml li o'lchov kolbasi, qaytar sovitgichli 200 ml hajmli konussimon kolba, chinni hovoncha (dismetri 60 mm), 5 va 10 ml li darajalangan pipetkalar, 25 ml li Mor pipetkasi, 25 va 50 ml li to'g'ri kranli byuretk, 100 ml li o'lchov silindri, shisha plastinka, shisha tayoqcha, xlorid kislotaning 25% li eritmasi, NaCl ning 10% li eritmasi, yodning 0,1 n eritmasi, natriy tiosulfatning 0,1 n eritmasi (yuqori aniqlikda tayyorlanishi kerak), NaCl ning 0,5 n eritmasi, H_2SO_4 ning 2 n eritmasi, kraxmalning 1% li eritmasi, Lyugol eritmasi.

Kraxmalni miqdoriy jihatdan aniqlash so'lak amilazasi yordamida fermentativ yo'l bilan parchalanganda hosil bo'ladigan glyukozani Vilshtetter va Shudl usuli bo'yicha yodometrik titrlashga asoslangan.

Ishning bajarilishi. Kraxmalni ekstraktsiya qilish uchun 5 g kartoshka (yoki boshqa kraxmali bor modda) chinni hovonchada yaxshilab maydalanib, sig'imi 200 ml li o'lchov kolbasiga solingan 30-50 ml distillangan sovuq suvdan o'tkaziladi, so'ngra ustiga darhol 100 ml distillangan issiq suv qo'yiladi va qaynab turgan suv hammomiga 1 soat qo'yiladi. Kolbadagi suyuqlik chayqatilib, aralashtirilib turiladi. Shundan keyin kolbani suv hammomidan olib, 40°C gacha sovitiladi va uning ustiga 10 ml so'lak eritmasi, 5 ml 10% li natriy xlorid eritmasidan qo'shib, 37-40°C li suv hammomiga (kartoshka bilan ishlaganda 2-3 soat, g'allasimonlar kraxmali aniqlanganda 12-18 soat) inkubatsiyaga qo'yiladi. Kraxmalning gidrolizlanish darajasi va tamom bo'lish vaqti uning yod bilan reaktyiyasi yordamida aniqlanadi. Buning uun kolbadagi aralashmadan shisha tayoqcha yordamida qattiq zarrachalar tutgan bir tomchi suyuqlik olinib buyum oynasiga tomiziladi va bir necha tomchi Lyugol eritmasi qo'shiladi. Agar ko'k rang hosil bo'lmasa, kolbaning o'lchov belgisiga qadar suv bilan to'ldirib, yaxshilab aralashtirgach, quruq filtr orqali

filtrlanadi. Amilaza ta'sirida hosil bo'lgan dekstrinlar va maltoza 2,5% li HCl eritmasi bilan gidrolizlanadi. Buning uchun 100 ml filtrat 200 ml li konussimon kolbaga qo'yiladi. Uning ustiga 12 ml 25% li xlorid kislota eritmasidan qo'yilib, kolba og'ziga qaytar sovitgich (yoki uzunligi 80 sm bo'lgan shisha nay) o'rnatgan holda qaynab turgan suv hammomiga 3 soat qo'yiladi. Gidroliz tamom bo'lgach kolba vositiladi, eritma esa 200 ml li o'lchov kolbasiga o'tkaziladi, gidroliz olib borilgan kolba bir necha marta suv bilan chayqatib qo'yiladi va umumiy hajm 200 ml ga yetkaziladi. Suyuqlik tarkibidagi glyukoza yodometrik yo'l bilan aniqlanadi. Gidrolizatdan 10 ml olib, ustiga 0,1 n yod eritmasidan 15 ml qo'yiladi va yaxshilab chayqatib turgan holda to yod ranggi yo'qolguncha 0,5 n NaOH eritmasidan sekin-asta 25 ml qo'yiladi, 10-15 minutdan keyin 2 n sulfat kislota eritmasidan 5 ml qo'shiladi va ajralgan yod 0,1 n tiosulfat eritmasi bilan titrlanadi. Eritma sariq rangga kirgandan so'ng har 50 ml hajmga 1% li kraxmal eritmasidan 1 ml tomiziladi. Parallel ravishda gidrolizat o'rniga teng miqdorda suv qo'yib kontrol qilinadi. Tekshirilayotgan mahsulotdagi kraxmal miqdori qo'yidagi formula yordamida protsentlarda hisoblab chiqiladi:

$$C = \frac{(V - V_1) \cdot V_2 \cdot 0,009 \cdot 100 \cdot 0,9}{a \cdot V_3}$$

bu yerda: V – kontrolni titrlash uchun sarflangan 0,1 n tiosulfat eritmasining miqdori (ml); V₁ – tajriba uchun sarflangan 0,1 n tiosulfat eritmasi miqdori (ml); 0,009 – titrlash natijasini glyukoza miqdoriga o'tkazish uchun koeffitsient; f- tekshirilayotgan material miqdori (g); 0,9-glyukozani kraxmalga qayta hisoblash uchun koeffitsient; V₂ – o'simlik mahsuloti ekstraktining hajmi (400 ml), V₃ – yodometrik titrlash uchun olingan aralashmaning hajmi (ml).

Kartoshkada har xil shakarlar miqdori oz, shuning uchun ularni hisobga olmasdan, topilgan glyukoza miqdorini kraxmalga aylantirib topish mumkin. Boshqa mahsulotlarda (pishmagan olma, barglar, poyalarda) shakar miqdori e'tiborga olarlik darajada bo'ladi. Bu holatda kraxmal miqdorini aniq topish uchun,

alohida qaytaruvchi mono va disaxaridlarni aniqlab, olingan qiymatni glyukoza miqdoridan chiqarib yuborib undan keyin kraxmalga aylantirish kerak.

Piyozi ekstraktidagi glyukoza va boshqa qaytaruvchi shakarlarni aniqlash

(Laboratoriya ishi)

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

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

Ishning bajarilishi. Bosh piyoz qirg'ichda yoki boshqa usulda yaxshilab maydalanadi. Tayyorlangan massadan probirkaga 0,5 g olib, uning ustiga 2 ml distillangan suv qo'yiladi va 3-4 minut qaynatiladi. So'ngra qog'oz filtr orqali filtrlanadi. Filtratdan 10 tomchi olib Felin reaksiyasi yordamida qaytaruvchi shakarlarning borligi aniqlanadi. Piyoz o'rniga sabzidan ham foydalanish mumkin. Har ikkala ish natijasi **7.3.1** -jadval ko'rinishida ifodalaniladi.

7.3.1 -jadval

| Tekshiriladigan material | Foydalanilgan reaktivlar | Kuzatilgan rang | Reaksiya nimaga bog'liq |
|--------------------------|--------------------------|-----------------|-------------------------|
| | | | |

Polisaxaridlarga xos rangli reaksiyalar

(Laboratoriya ishi)

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

Kraxmalga yod ta'sir ettirish reaksiyasi. Kraxmal yod bilan ko'k rang beradi. Bu reaksiya o'ziga xos reaksiya bo'lib, kraxmal tarkibidagi amilazaning

poliglyukozid zanjiri spiralsimon strukturaga ega bo'ladi, yod esa spiral o'rtasidagi bo'shliqqa kirib olib, koordinatsion kompleks hosil qilsa kerak. Shuning uchun kraxmal gidrolizga uchratilsa yoki spirt qo'yilsa ko'k rang yo'qoladi, shunday hodisa qizdirilganda ham kuzatiladi, lekin eritma sovutilganda ko'k rang yana hosil bo'ladi.

Ishning bajarilishi. Probirkaga 0,1% li kraxmal eritmasidan 3 ml qo'yib, ustiga 2-3 tomchi Lyugol eritmasidan tomiziladi. Hosil bo'lgan ko'k rangli eritmani uch qismga bo'lib biriga teng hajmda 10% li natriy gidrooksid eritmasi, ikkinchisiga shuncha miqdorda etil spirt qo'shiladi, uchinchisini esa qaynatiladi. Bu vaqtda uchala probirkadagi suyuqlik rangsizlanadi. Lekin oxirgi probirkadagi suyuqlik sovutilgandan so'ng ranggi tiklanadi.

Alohida probirkaga 2-3 ml glikogen eritmasi qo'yib, unga 2-3 tomchi Lyugol eritmasidan tomiziladi. Probirkadagi suyuqlik qizil-qo'ng'ir rangga kirishi kuzatiladi.

Saxarozaning tanlanuvchanligini aniqlash

(Laboratoriya ishi)

Saxaroza, saxarozani glyukoza va fruktozaga parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Reaksiya natijasida hosil bo'lgan glyukozani Trommer reaksiyasi bilan aniqlash mumkin. Saxaroza Trommer reaksiyasini bermaydi, chunki u glyukozadagi poluatsetalgidroksil fruktoza bilan bog'langan.

Tekshiriluvchi material: quritilgan xamirturushdan ajratilgan saxaroza.

Reaktivlar: kraxmalning 1% li eritmasi, saxarozaning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis (II) sulfatning 1% li eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, chinni hovoncha, voronkalar, filtrlar, termostat yoki suv hammomi, tarozi va qadoqlar.

Bajariladigan ish tartibi. 0,5 g quritilgan xamirturush chinni hovonchada yaxshilab eziladi. So'ng uning ustiga 5 ml distillangan suv solib yana eziladi.

Olingan aralashma filtrdan o'tkaziladi. Filtrdan o'tgan suyuqlik saxaroza fermentini tutadi.

7.4.1.-jadvalga muvofiq fermentga ta'sir qiluvchi aralashma – suyuqlik tayyorlanadi. Tayyorlangan aralashmalar 38°C li suv hammomi yoki termostatda 15 daqiqa ushlanadi.

7.4.1.-jadval

| Ishlatiladigan reaktivlar | 1 tajriba | 2 tajriba | 3 nazorat |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Saxaroza fermenti, ml | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| Saxaroza eritmasi, ml | 1,0 | - | - |
| Kraxmal eritmasi, ml | - | 1,0 | - |
| Distillangan suv, ml | - | - | 1,0 |
| 38°C da 15 daqiqa ushlanadi | | | |

Trommer reaksiyasi («+», «-»)

Trommer reaksiyasi. 5 tomchi aralashmaga 10% li natriy gidroksid eritmasidan 10 tomchi va mis (II) sulfatning 1% li eritmasidan 1-3 tomchi solib aralashtiriladi qaynaguncha qizdiriladi. Qizil rangli mis (II) gidroksid yoki mis (I) oksid cho'kmasi hosil bo'ladi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter. Molecular biology of cell. 6th edition. Garland science. USA. 2012.
2. В.В.Племенков. Введение в химию природных соединений. Казань.2001.
3. Н.А. Тюкавкина, Ю.И.Бауков. Биоорганическая химия. 3-е издание. Москва. 2004.
4. Ю.А.Овчинников. Биоорганическая химия. М. Просвещение. 1987.
5. Тюкавкина Н.А. Биоорганическая химия. Медицина. 1985.
6. Ю.Б.Филлипович и др. Практикум по общей биохимии. М., 1975, 239 с.
7. Асланов Х.А., Ауелбеков С.А., Юнусов Т.К. Методическое указание по курсу «Основы биоорганической химии. Часть 1. 1989

8. Асланов Х.А., Касимов Ш.К., Бегишева А.И., Ауелбеков С.А. Методическое указание по курсу «Основы биоорганической химии. Часть 2. 1989
9. Асланов Х.А., Кушмурадов Ю.К., Зияев А.А. Юнусов Т.К. Ауелбеков С.А. Методическое пособие «Практикум по биоорганической химии». 1991.
- 10.. Камолов Л.С. Алкалоиды и другие низкомолекулярные метаболиты токсического гриба *Stachydjtrus alternans*. Изд-во (монография) «Каршинский государственный университет». Карши-2014.
- 11.Ауелбеков С.А., Кушмурадов Ю.К., Зияев А.А., Юнусов Т.К. Тен Л.Н. Бадалбаева Т.А. «Биоорганик кимёдан амалий машғулотлар. 1995.
- 12.Naxatov I., Qodirov A., Gulboyeva D., Mukarramov N. Organik kimyo.o‘quv –uslubiy qo‘llanma. Qarshi.2020
- 13.Naxatov I., Kamolov L.S. Tabiiy birikmalar kimyosidan laboratoriya mashg‘ulotlari. ‘Nasaf’. 2021.