

175

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY TA'LIM, FAN VA INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI**

**ISLOM KARIMOV NOMIDAGI
TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA UNIVERSITETI**

BIOFAOL MODDALAR Olish BIOTEXNOLOGIYASI



fanidan laboratoriya mashg'ulotlarni bajarish uchun

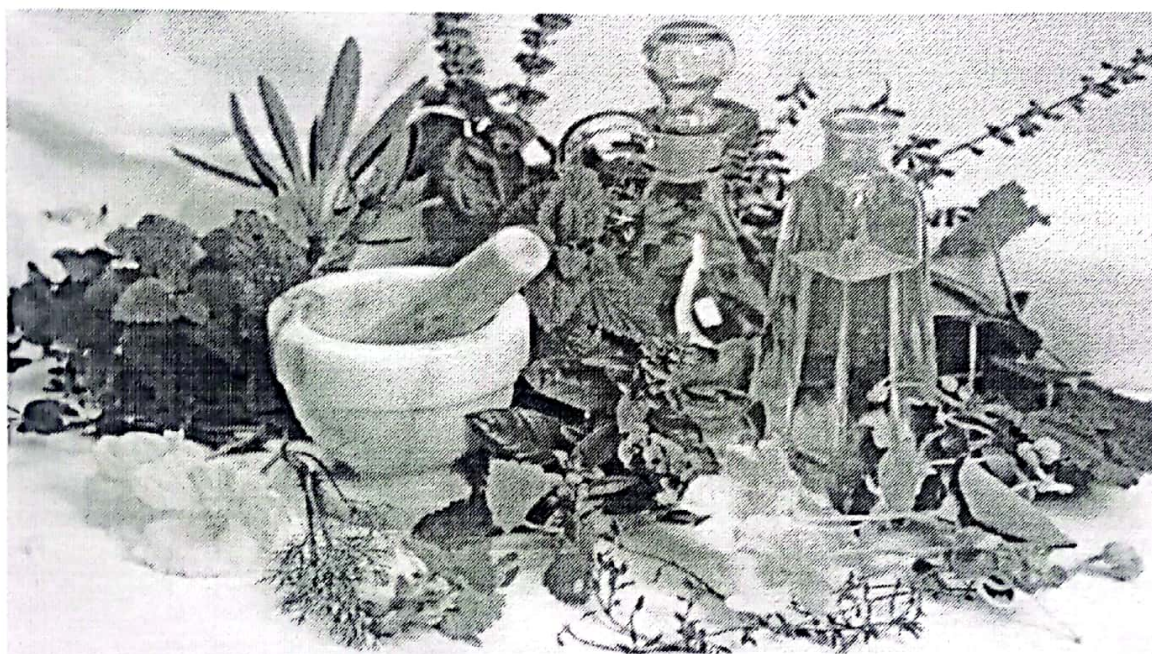
USLUBIY KO'RSATMA

Toshkent 2024

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIY TA'LIM, FAN VA INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI**

**ISLOM KARIMOV NOMIDAGI
TOSHKENT DAVLAT TEXNIKA UNIVERSITETI**

BIOFAOL MODDALAR OLISH BIOTEXNOLOGIYASI



fanidan laboratoriya mashg'ulotlarni bajarish uchun

USLUBIY KO'RSATMA

Toshkent 2024

Abdullayeva G.T., Toshtemirova M.J. Jalilova S.I. "Biofaol moddalar olish biotexnologiyasi" fanidan laboratoriya mashg'ulotlarini bajarish uchun uslubiy ko'rsatma. –T.: ToshDTU, 2024. 38 b

Ushbu uslubiy ko'rsatmada biofaol moddalarning tasniflanishi, aminokislotalarni biosintezi texnologiyasi, antibiotiklar, bakterial dori-darmonlar, fermentlarni ajratib olish hamda organik moddalarni mikrobiologik transformatsiyalash va ularni qaytarilishini amalga oshirish yo'li, vitaminlar biotexnologiyasi va boshqa turdagi biofaol moddalarni ajratib olishga qaratilgan biotexnologik uslublarga oid ma'lumotlar keltirilgan.

"Biofaol moddalar olish texnologiyasi" fanidan laboratoriya mashg'ulotlarni bajarish uchun tayyorlangan ushbu uslubiy ko'rsatma 60710200 - Biotexnologiya (tarmoqlar bo'yicha) yo'nalishida tahsil olayotgan bakalavriat talabalari uchun mo'ljallangan.

*Islom Karimov nomidagi Toshkent davlat texnika universiteti ilmiy uslubiy kengashi
qaroriga asosan chop etildi*

Taqrizchilar:

Abdullayeva M.M. -O'zMU, "Biokimyo" kafedrası professori,
biologiya fanlari doktori;

Choriyev A.J.–ToshDTU, "Biotexnologiya" kafedrası dotsenti, texnika
fanlari nomzodi.

Toshkent davlat texnika universiteti 2024

KIRISH

O'zbekiston Respublikasining kelajagi ilmiy salohiyatli, ma'nan yetuk mutaxassislar qo'lidadir. Dori vositalarining asosini tashkil etuvchi biofaol moddalar ajratib olish texnologiyalari: xomashyolardan, o'simlik, hayvon mikroorganizmlar yordamida biologik faol moddalar (fermentlar, antibiotiklar, vitaminlar, uglevodlar, aminokislotalar, lipidlar, oqsillar va boshq) ajratib olish usullari va ulardan tayyorlangan dori vositalari, ularning organizmdagi roli haqida ma'lumotlar berilgan. Dori vositalarini ishlab chiqishda mahalliy xomashyolardan olingan biofaol moddalarni qo'llash iqtisodiy jihatdan ham farmatsevtika sanoati uchun samaralidir.

Uslubiy ko'rsatmada asosan tabiiy xomashyolardan olinadigan substansiyalarning biotexnologik usullarda tayyorlangan dori vositalari namunalari keltirilgan.

Zamondoshlarimiz biotexnologiya atamasi bilan nomlangan fanning paydo bo'lishinigina emas, balki shu nom bilan atalgan mutaxassis kadrlar-magistrlar, fan nomzodlari va doktorlari tayyorlanilayotganligining guvohi bo'lib turibdilar.

Ko'rsatmada biofaol moddalarning tasniflanishi, aminokislotalarni biosintezi texnologiyasi va sanoat miqyosida ajratib olish istiqbollari, antibiotiklar, bakterial dori-darmonlar, fermentlarni ajratib olish hamda organik moddalarni mikrobiologik transformatsiyalash va ularni qaytarilishini amalga oshirish yo'li bilan biofaol moddalarni ajratib olishga qaratilgan biotexnologik uslublarga oid ma'lumotlar keltirilgan. Unda materiallarni o'zlashtirilishining samaradorligini oshirish maqsadida jadvallar, grafiklar, rasmlar va biokimyoviy formulalar hamda tenglamalar keltirilgan bo'lib, ular mavzular matnlari bayoni bilan uyg'unlashtirilgan hamda materiallarni chuqur o'zlashtirilishini ta'minlaydi. Shu asnoda fikr yuritilganda, uslubiy ko'rsatmani mualliflari ushbu fanga oid ma'lumotlarni talabalarga yetkazish, ularni o'zlashtirish ko'rsatkichlarini nazorat qilish va o'z bilimlarini o'zlari baholashlarini hisobga oluvchi yangi pedtexnologik yondashuvlarni ham qo'llashga harakat qilishgan desa bo'ladi. Ushbu uslubiy ko'rsatma bakalavrlar, biokimyogar va biotexnolog magistrlar, mikrobiologik oziq-ovqat sanoati va tibbiy sanoat xodimlari, shuningdek qishloq xo'jalik xodimlari hamda zamonaviy biotexnologiya faniga oid bilimlarini chuqurlashtirishni xohlovchi keng kitobxonlar ommasi uchun mo'ljallangan.

1-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Osimlik xom ashyosidagi biologik faol moddalarni ajratish va miqdorini aniqlash

Ishdan maqsad: Tabiiy xomashyolardan, jumladan o'simlik xomashyosidan biologik faol moddalarni ekstraksiya usuli bilan olish bir necha jarayonlar asosida amalga oshiriladi.

Ishning nazariy qismi: Avvalombor, kerakli moddani begona moddalardan ajratish juda qiyin. Kerakli modda erkin holda bo'lmaydi, u to'qimalarda boshqa moddalar bilan bog'langan holatda bo'ladi. Uni erkin holatga, ya'ni erituvchiga o'tkazib chiqarish mumkin. Bu jarayon sxemada quyidagicha keltirilgan:

Xomashyo tarkibidagi biologik faol moddalar:



Erituvchi mavjud xomashyo



Tayyor mahsulot

Yuqoridagi sxemada ko'rinib turibdiki, biologik faol moddani ko'proq erituvchiga o'tkazish maqsadga muvofiq bo'ladi.

Misol uchun, paxta urug'idan yog' olish uchun

- 1) qobig'i olib tashlanadi,
- 2) spirt, efir, xloroform, benzol kabi yaxshi, arzon bo'lgan erituvchi tanlanadi.

Buning uchun eng qulay benzin hisoblanadi. Paxta urug'i tarkibida 90-94 foiz yog', 5-6 foiz suv bo'ladi,

- 3) ekstraksiya ekstraktorda olib boriladi. Oblepixa eziladi va uni benzinda emas, balki suvda ekstraksiya (anti ekstraksiya) qilinadi.

Xomashyoning tarkibida fitin 12 % bo'ladi, zavodda o'simlikdan 3,7 % ginafitin olinadi. Chunki u o'simliklar to'qimasida oqsil va boshqa moddalar bilan mustahkam bog'langan bo'ladi. Shuning uchun oqsillar va polisaxaridlar (selluloza) xalaqit beradi. Ya'ni, biotexnologiyani qo'llab, selluloza, proteaza, amilaza fermentlarini xomashyoga qo'shib, mahsulotning chiqish unumini 8 % ga oshishini kuzatish mumkin.

Xomashyo - ishlov berish -> ekstragent -> ekstragent + ferment suv + ekstrakt -> t ra ta'sirida keraksiz moddalar cho'kmada qoladi.

Biotexnolog olim M.M. Raximov biotexnologiya uslublarini qo'llash bilan mahsulotning chiqish unumini oshirishga muvaffaq bo'ldi.

Xomashyodan olinayotgan modda ekstraksiyadan so'ng filtr qog'ozdan, filtr kartondan yoki bo'z matodan o'tkazilib suziladi, so'ng sentrifuga qilinadi.

Shundan so'ng modda ekstraktga erkin holga o'tadi. Keyin ekstraktni tozalash zarur bo'ladi. Uni cho'ktirish, bug'latib kondensatsiyalash yoki boshqa moddalarni cho'ktirib uni eritmada qoldirish kerak. Pepsin fermenti faqat oshqozon osti bezining shirasida bo'ladi. Oshqozonga ovqat tushishi bilan xlorid kislotasi paydo bo'lib, u pepsinogenni pepsinga aylantiradi.

Shirdonni olib ekstraksiya qilinsa, pepsin chiqmaydi. Xlorid kislota berilgach, reaksiya ketishini kuzatish mumkin. Bunday reaksiyaga 45-50 soat vaqt zarur bo'ladi. Ekstraksiya qilingandan so'ng eritmadan pepsin ajratib olinadi. U organik erituvchilarda cho'kmaydi. Faqat NaCl tuzi ta'sirida cho'kmaga tushadi. Dializ qilinsa, tuz suvga o'tadi, yarim o'tkazgichli membrana ichida pepsin qoladi.

Demak, ekstraksiya qilingan zahoti uni ajratib olish zarur bo'ladi. Chunki eritmada har xil reaksiyalar ketishi natijasida kerakli modda buzilishi mumkin.

Ajratish turli xil usullarda olib boriladi:

1. Kimyoviy.
2. Fizikaviy.
3. Fizik-kimyoviy.

Tabiiy xomashyolardan dorivor vositalarni ekstraksiyalab olishning har xil usullari mavjud. Ba'zi fermentlar avtolizga kam uchraydi, shuning uchun suv va tuz aralashmasi bilan ekstraksiya qilish mumkin. Masalan, karboksipeptidaza, amilaza, elastaza (pankreato-peptidaza), kollogenaza fermentlarini NaCl (elektrolit) eritmasida ekstraksiya qilish mumkin. Oshqozon osti bezi fermentlarini elektrolitga ekstraksiya qilish natijasida ribonukleazani chiqarish mumkin bo'ladi, chunki bu ferment avtolizga uchramaydi. Kislotali ekstraksiya amalga oshirilsa ribonukleaza, dezoksiribonukleaza, ximotripsin spirtlarining suvli eritmaları yoki setoplazmalarida ekstraksiya qilish mumkin bo'ladi. Gialuronidazani xloroform qo'shilgan fiziologik eritmada ekstraksiya qilinadi.

Saqlash usullari. Xomashyoni po'lat yoki emallangan idishlarga solinib, 40-60°C da saqlanadi. So'ng muzlagan xomashyoni 15-18°C da saqlanadi. Maydalangan xomashyoga past haroratda atseton yoki etil spirti qo'shilsa, lipidprotein komplekslari parchalanib, fermentlar yaxshi chiqadi. Suvsizlantirilgan xomashyoni bir yilgacha ishlatish mumkin. Uni

biopsifitsifik xromatografiya usuli bilan tozalasa bo'ladi. Pankreatin olish uchun tuz ishlatiladi.

Ishning borishi: Hayvon xomashyosidan ferment olish quyidagi jarayonlar orqali amalga oshiriladi:

1. Xomashyo maydalanadi.
2. Ekstraksiyalanadi.
3. Tuzlanadi.
4. Suyuq fazadan oqsil ajratiladi.
5. Tozalanadi.
6. Kristallanadi.
7. Qurtiladi.

Maydalash:

Maydalash quyidagi jarayon asosida boradi:

- muzlatish
- eritish (defrostatsiya);
- avtoliz;
- organik suyuqlik;
- bosimni o'zgartirish;
- mexanik maydalash yoki presslash;
- ekstrakti qattiq fazadan ajratish uchun vakuum filtrda va filtr presslarda filtrlash mumkin;
- ekstraktdan fermentni olish uchun organik suyuqlik (etil, metil, izopropil, spirt, atseton, xlor, dioksan) yoki tuzlar bilan (ammoniy sulfat, natriy sulfat, magniy sulfat, natriy atsetat, natriy xlor) cho'ktirish mumkin bo'ladi;
- ferment eritmasi sublimatsion usulda qurtiladi. Fermentlar sexlarda sterillangan flavonlarga, ampulalarga solinib, muzlatiladigan kameralarga quritish uchun qo'yiladi. Qurigan flavonlarni sterillangan probka bilan berkitiladi yoki ampulalar uchi kavsharlanadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Hayvon xomashyosidan ferment olish qanday jarayonlar orqali amalga oshiriladi?
2. O'simlik xomashyosidan biologik faol moddalarni qaysi usullar yordamida olish mumkin?
3. Ekstraktdan fermentni olish uchun qaysi organik suyuqliklardan foydalaniladi?
4. O'simlik xomashyosidan olinadigan biofaol moddalar?

5. Hayvon xomashyosidan olinadigan biofaol moddalar?
6. Mikroorganizmlar xomashyosidan olinadigan biofaol moddalar?

2-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Xromatografiya usullari va ularni qo'llash

Ishdan maqsad: Xromatografiya usullari haqida umumiy tushunchaga ega bo'lish. Moddalarni tozalashning xromatografiya usullari. Shuningdek biospetsefik xromatografiyada substratlarni ishlatish haqida bilimga ega bo'lish. Xromatografiya usullari, moddalarni tozalash, sorbent tayyorlash, sorbsiya desorbsiya qilish usullarini o'rganish.

Nazariy qismi: Xromatografiya tashkilotchisi M.S. Svet bo'lib, hozirgi vaqtda bu usul keng ko'lamda rivojlanib kelmoqda. hozirda xromatografiya usullarining yangi variantlari ishlab chiqarilmoqda, bularga ion almashinuv, adsorbsion xromatografiyalari kirishi mumkin. Oxirgi yillarda bu xromatografiya usullari ko'pgina bioximik kuzatuvlarda keng ko'lamda qo'llanilmoqda. Bu usul bioximiya savollariga foydali bo'lib, gormonlar, vitaminlar, antibiotiklar va boshqa biologik moddalarni kuzatish ishlarida qo'llanilib kelinmoqda. Xromatografiya usuli davolash muassasalarida, klinik analizlarni aniqlashda ham ishlatilib kelinmoqda. 1850-1910 yillar davrida ba'zi izlanuvchilar – Runge, Shenbeyn va boshqalar qog'oz xromatografiyasi usulini qo'llab kelganlar.

Adsorbsion xromatografiya uchun olim Goppelsreder o'z tadqiqotida organik va noorganik eritmalarni filtr qog'ozda aniqlash yo'llarini kuzatib chiqqan. Moddalarni filtr qog'ozida adsorbsiyalash uchun turli xil birikma komponentlari eritmasini qog'oz orqali o'tkazib, ajratib olinadi. Filtr qog'ozda moddalarni ajratish, masalan ishlov berilgan alyuminiy gidroksidi adsorbsion xromatografiya misol bo'la oladi. Ion almashinuv xromatografiyasi qog'ozda moddalarni ajratishda o'z ta'sirini ko'rsatishi mumkin. Ion aralashmasini ajratishda sellyuloza guruhi ifloslanish orqali berilishi mumkin.

Bu izlanuvchi olimlar, xromatografiyani yaratib, fraksion kolonkadagi distillyatsion jarayoniga asoslandilar. Bu ish xromatografiya kolonkasi joyini, eritilgan modda konsentratsiya jarayoni va kolonka uzunligi, ajratish qobiliyati tavsifini ko'rsatib berishi mumkin. 1860 y. Shenbeyn «kapillyar analiz» xromatografiya usulini ko'rib chiqdi. Gordon va Martin birinchi bo'lib, aminokislota aralashmasini qog'ozda birikmaydigan xromatografiya usuli asosida ajratishni e'lon qilishdi. Bu usul quyidagicha:

Bu usullardan tashqari mikrobiologik va ferment usullari mavjud. Mikrobiologik usul vitaminlar va antibiotiklarni xromatografik baholashda qo'llaniladi. Oqsil fermentlarini bo'lish usuli qooz xromatografiya yo'li bilan amalga oshiriladi.

Nazorat uchun savollar:

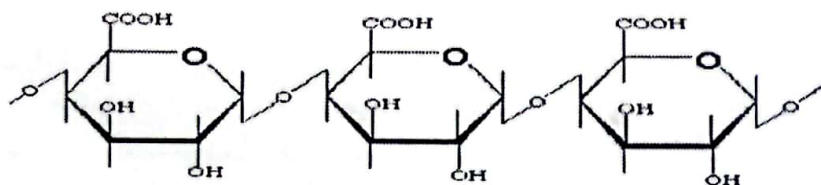
1. Xromatografiya tarixi?
2. Xromatografiya usullari va ularni amaliyotda qo'llash?
3. Adsorbsion xromatografiya nima?
4. Ion almashinuv xromatografiyasi haqida tushuntirib bering?

3-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Pektin moddalarini ajratib olish va miqdorini aniqlash

Ishdan maqsad: Laboratoriya sharoitida sitrus mevasi chiqitidan pektin ajratib olish texnologiyasida kislotalarning ta'sirini o'rganish; standart talabiga javob beradigan pektinni olishni ta'minlaydigan ekstraksiya usulini qo'llash; ajratib olingan pektin moddasining xususiyatlarini o'rganish.

Nazariy qism: Pektin moddasi - yunoncha pektos birikkan, qovushgan, muzlagan) - barcha quruqlik o'simliklari va bir qator suvo'tlar tarkibidagi eriydigan (eriydigan pektin) va erimaydigan (protopektin) yuqori molekulali polisaharidlar. Pektin kashfiyoti taxminan 200 yil oldin soidir bo'lgan bu kashfiyotni olxo'ri sharbatidan, pektin ajratib olgan fransus kimyogari Anriy Brakonno kashf etdi. Pektin moddalari mevalar va rezavor-mevalar, kanop poyasi, qand lavlagi tarkibida ayniqsa ko'p bo'ladi.



Ishning dolzorbligi shundan iboratki, pektinlarning dirildoqlik xususiyati e'kstraksiya jaraoynidagi kislotalarga bog'ligdir. Shuni nazarda tutgan holda sitrus mevalari chiqitlaridan efirlanish darajasi ygori bo'lgan pektinlarni olishda xlorid va ortofosfor kislotalarning ta'siri o'rganildi.

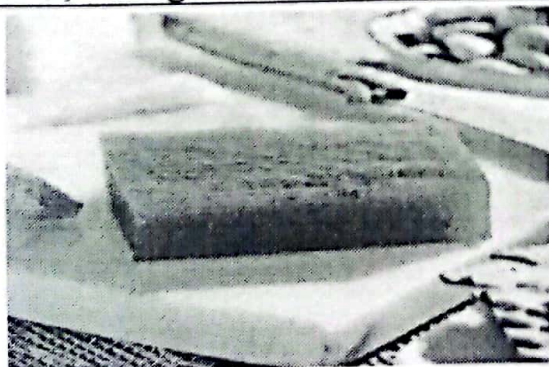
Pektinni o'simlik xomashyosidan ajratib olish suvli muhitda ekstraktsiyalash, shu jumladan protopektinni ma'lum usullarning har qanday holatda gidrolizlash, so'ngra zarur sifatni ta'minlaydigan har qanday usul bilan ekstraktdan ajratish, shu jumladan metanol yoki etanol bilan cho'ktirish orqali amalga oshiriladi yoki izopropanol yoki ularning aralashmasi, ularning har biri yoki ularning aralashmalari yakuniy mahsulotdagi qoldiq miqdori 1% dan oshmasligi kerak

Pektinning sanoat, texnologik va funktsional roli uning jellesimonligi, qalinlashuvi, barqarorlashtiruvchi va kompleks hosil qilish qobiliyati bilan belgilanadi. Pektin ishlab chiqarish jarayonida qisman esterlangan poligalakturon kislotasining ester guruhlarining bir qismi ishqoriy muhitda ammiak bilan ishlov berish orqali amid guruhlariga aylantirilishi mumkin, natijada yakuniy mahsulot sifatida amidlangan pektin olinadi. Texnologik xususiyatlarni standartlashtirish uchun pektin tarkibiga quruq shakar (saxaroza yoki glyukoza), shuningdek kislotalik regulyatorlari va yoki pektinning tuzilish hosil qiluvchi xususiyatlarini regulyatorlari sifatida foydalanish uchun tasdiqlangan oziq-ovqat qo'shimchalari (masalan, retardantlar) qo'shilishi mumkin

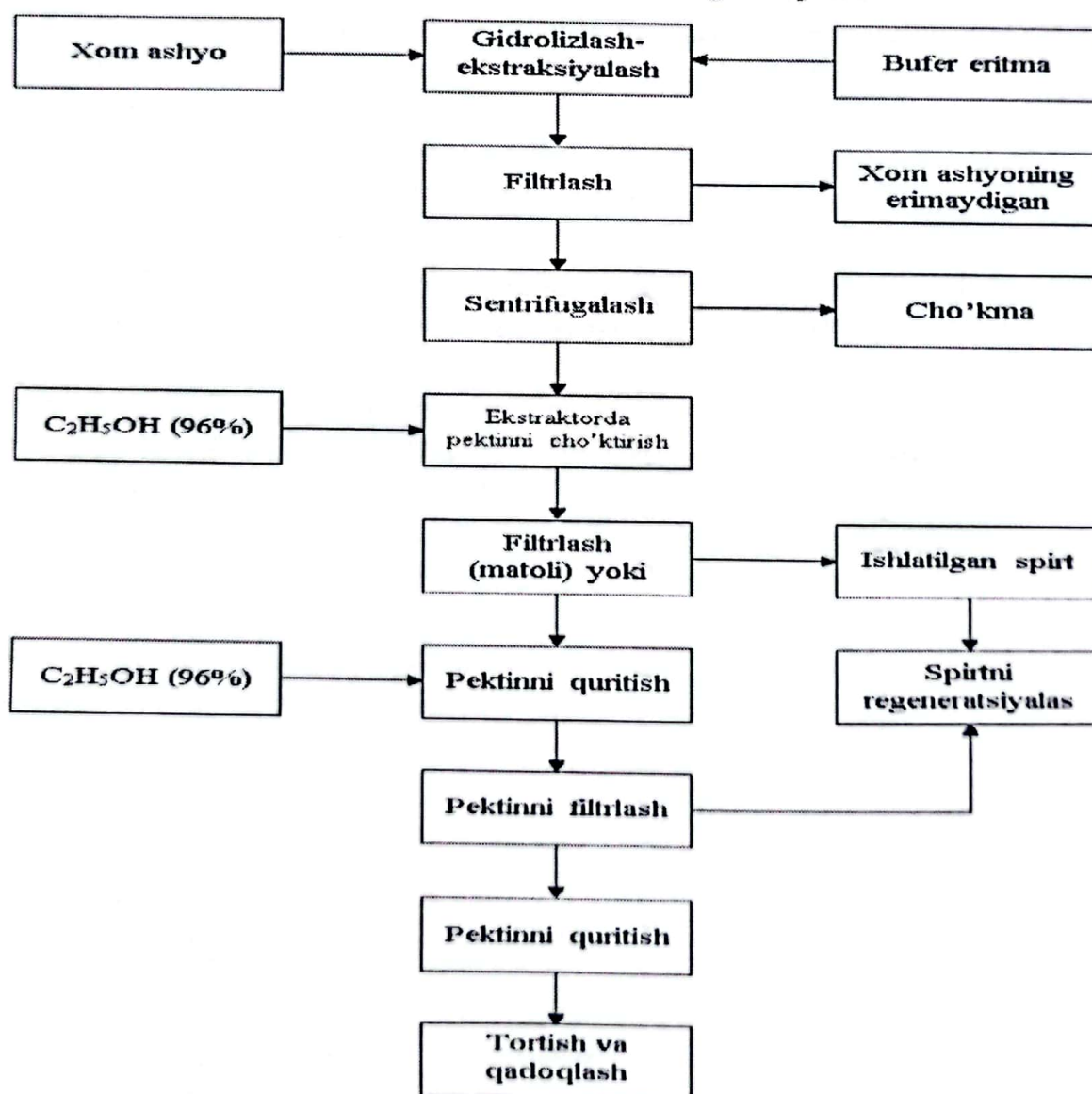
Pektin nomidan xomashyoning ma'lum bir turini ko'rsatadigan sifatlardan foydalanishga ruxsat beriladi, masalan, "olma pektinasi", "sitrus pektinasi" va boshqalar.

Turli sharoitlarda pektin chiqishi

Ekstraksiya sharoiti	Pektin chiqishi, %
PH-3,5 bo'lgan HCl eritmasi, 80-85°C	7,0
PH-3,5 bo'lgan H ₃ PO ₄ eritmasi, 80-85°C	5,0



Ishning borishi: O'simlik xomashyosidan pektin moddalarini ajratish quyidagi usul bo'yicha amalga oshiriladi. Og'irligi 100 gr bo'lgan mandarin mevasi po'stidan quritilgan boshlang'ich materialning o'lchangan qismi kolbaga solinadi va gidrolizlovchi aralashma quyiladi va 500 ml 0,03% li xlorid kislota eritmasi solinadi. Gidroliz 100°C haroratda amalga oshiriladi, gidroliz vaqti 1-4 soat oralig'ida o'zgarib turadi. Keyin aralashma filtrlab olinadi. Pektin moddalari 96% etil spirti bilan 1:1,5 nisbatda cho'ktiriladi. Pektinni 96% li etil spirit bilan yuvib, qog'oz filtrdan suzib olinadi, havoda quritiladi va maydalanadi. Olingan pektin miqdori 7,2 gr. Olingan pektin och-sarg'ish bo'lib, suvda yaxshi eriydi. Kislotalik gidroliz natijasida tarkibi galakturonan kislota, galaktoza, glyukoza, arabinoza va ksilozadan iborat ekanligi aniqlanadi.



Nazorat uchun savollar:

1. O'simlik xomashyosidan pektin moddalarini ajratish qanday usullar yordamida amalga oshiriladi?
2. Pektinni o'simlik xomashyosidan ajratib olish uchun qaysi muhitdan foydalaniladi?
3. Pektin moddasi asosan qaysi mahsulotlarda ko'p uchraydi?
4. Pektin nima?

4-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Dorivor o'simliklar tarkibidagi umumiy moy miqdorini aniqlash

Ishdan maqsad: Dorivor o'simliklar tarkibidagi umumiy moy miqdorini aniqlash usullarini o'rganish.

Nazariy qism: Efir moyi deb, o'simliklardan suv bug'i yordamida haydab olinadigan, o'ziga xos hid va mazaga ega bo'lgan uchuvchan organik moddalar aralashmasiga aytiladi. Xushbo'y hidli o'simliklar va ulardan olinadigan ba'zi mahsulotlar (tarkibida efir moyi bo'lgan o'simliklardan olinadigan xushbo'y suvlar, efir moylari) qadimdan ma'lum. Efir moyining miqdori o'simliklarda 0,001-20% bo'lishi mumkin. Bu moyning miqdori va tarkibiy qismi o'simliklarning o'sish joyiga, rivojlanish davriga, yoshiga qarab o'zgarib turadi. Shuningdek, efir moyining o'simlik tarkibida ko'p yoki kam miqdorda to'planishi havo haroratiga, namligiga, tuproqdagi mineral moddalarning miqdoriga bog'liq. Efir moylari ko'pincha rangsiz yoki ba'zan turli rangda (yashil, och-sariq, to'q ko'k, qizil, qo'ng'ir) bo'lib, o'ziga xos hidga va o'tkir mazaga ega bo'lgan uchuvchan tiniq suyuqliklardir. Ularning zichligi ko'pincha suvning zichligidan kichik bo'ladi. Juda yengil efir moyining zichligi 0,8, eng og'irini esa 1,18 g/sm³ ga teng.

Efir moylari barcha organik erituvchilarda yaxshi eriydi, yog'lar bilan har xil nisbatda aralashadi, suvda erimaydi. Suv bilan chayqatilganda hidi va mazasi suvga o'tadi. Bu usulda olingan xushbo'y suvlar, masalan, Agua Rosae, Agua Menthae, Agua Foeniculi va boshqalar tibbiyotda ishlatiladi. Efir moylari organik moddalar aralashmasidan iborat bo'lib, tarkibiga barcha to'yingan va to'yinmagan birikmalar, alifatik, siklik va aromatik

uglevodorodlar, terpenlar, spirtlar, yog' kislotalar, fenollar, murakkab efirlar, aldegidlar, ketonlar, laktonlar va boshqa organik birikmalar kiradi. Tarkibida kislorod saqlagan birikmalar va ularning efirlari efir moylariga xushbo'y hid beradi.

Efir moylari tibbiyotda dori sifatida ichiladi yoki badanga surtiladi va inyeksiya qilinadi. Bundan tashqari ba'zi dorilar aralashmasi tarkibiga kiradi. Efir moyli o'simliklardan tayyorlangan dori turlari tibbiyotda keng qo'llaniladi. Efir moylari farmatsevtikada va xalq tabobatida boshqa dorilar mazasi va hidini yaxshilash uchun qadimdan ishlatib kelingan. Efir moylarini tahlil qilishdan maqsad, uning o'simliklar tarkibidagi miqdorini, xossalarini, fizik va kimyoviy konstantalarini hamda moy tarkibidagi ahamiyatga ega bo'lgan ayrim qismlar miqdorini aniqlashdir. Odamlar bu mahsulotlardan turli kasalliklarni davolashda, ovqat tayyorlashda keng foydalanib kelganlar.

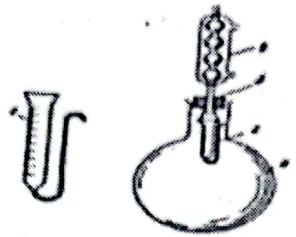
O'rta asrlarda arablar o'simliklardan efir moylarini suv bilan haydab olish va ularni ajratish usullarini yaxshi bilganlar. XVIII asrdan boshlab efir moylarining xossalari va tarkibiy qismi o'rganila boshlangan bo'lsada, bu sohadagi ishlar XIX asrning ikkinchi yarmi va XX asr boshlarida, ayniqsa avj oldi. A.M.Butlerov, A.N. Reformatskiy, Gildemeyster, Gofman, E.E. Vagner va uning shogirdlari, boshqa olimlar efir moylarini o'rganishga katta hissa qo'shdilar. O'simliklar dunyosida efir moylari ko'p farqalgan. Ma'lumotlarga ko'ra, yer shari florasidagi o'simliklardan taxminan 2500 dan ortiq turi tarkibida efir moyi bor. O'simliklarning deyarli barcha organlarida efir moyi bo'ladi. Odatda, o'simliklar gullash davrida efir moylarini maksimal miqdorda to'playdi.

Kerakli asbob va reaktivlar: Yumaloq tubli kolba, sovutgich, Ginzberg asbobi, atirgul gultojibarglari, kashnich mevasi, yalpiz, rayhon.

Ishning borishi: O'simliklar tarkibidagi efir moyi miqdorini aniqlash uchun 1000 ml hajmdagi yumaloq tubli kolbaga 20-30 g maydalangan o'simlik (yalpiz, rayhon, atirgul gultojibarglari, kashnich mevasi va boshqa efir moyi tutgan o'simliklar) organidan solib, ustiga 300 ml suv quyiladi. So'ngra kolbaga sharikli sovutgich vertikal holda o'rnatiladi. Sovutgichning pastki uchiga Ginzberg asbobchasini osib qo'yib kolba qizdiriladi. Ginzberg asbobchasi U - shaklidagi shisha naycha bo'lib, bir uchi ingichka va qisqaroq, ikkinchi uchi esa uzunroq, keng va millimetrlarga bo'lingan.

Kolbadagi suyuqlik qaynagandan so'ng, suv bug'lari efir moyi bug'lari bilan sovutgichga ko'tariladi va u yerda kondensatlanib Ginzberg asbobchasiga tomchilab qaytib tushadi. Agar asbobcha ichidagi efir moyi

miqdori 10-20 minut ichida o'zgarmasa (ko'paymasa), kolbani qizdirish to'xtatiladi.



Kolba sovigandan so'ng asbobchani olib, efir moyi necha ml ekanligi aniqlanadi va miqdori quyidagi formula bo'yicha aniqlanadi:

$$X = \frac{V \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - a)}$$

Bunda: X - o'simlikdagi efir moyining hajm og'irlikdagi miqdori;

V - Ginzberg asbobchasidagi efir moyining ml hajmi;

m - tahlil uchun olingan o'simlik organining massasi;

a - mahsulotning namligi.

Masalan, tahlil uchun 10 g rayhon bargidan 0,2 ml efir moyi ajralib chiqdi. Bargning namligi 14% deylik, absolyut quruq bargdagi moyning hajm og'irlikdagi (%) miqdori esa quyidagicha bo'ladi:

$$X = \frac{0,2 \cdot 100 \cdot 100}{10 \cdot (100 - 14)} = 2,3\%$$

Nazorat uchun savollar:

1. Dorivor o'simliklar tarkibidagi efir moyi miqdorini aniqlash.
2. Efir moylaridan tibbiyotda nima maqsadda foydalaniladi?
3. Nechanchi asrdan boshlab efir moylarining xossalari va tarkibiy qismi o'rganila boshlangan?

5-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Substansiya tarkibidagi oqsilni sifat va miqdoriy tahlili. Folin reaktivini tayyorlash

Ishdan maqsad: Substansiya tarkibidagi oqsilning sifat va miqdoriy tahlili. Folin reaktivini tayyorlash.

Nazariy qism: Bu usul oqsillar misning ishqoriy eritmasi va Folin reaktividan tashkil topgan aralashma bilan o'zaro ta'sirlashganda paydo bo'ladigan ko'k rangning kolorimetriyasiga asoslangan. Usul 10 dan 100 mikrogram/ml gacha konsentratsiyali eritmalaridagi oqsilni aniqlash uchun ishlatiladi.

Kerakli reaktivlar:

- 1) 2% li Na_2CO_3 eritmasi va 0,1% li NaOH eritmasi;
- 2) 0,5% li $\text{SuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ eritmasi va 1% natriy yoki kaliy bilan almashtirilgan eritma;
- 3) Folin reaktivi:

Ishning borishi: 100 g natriy volfram va 25 g natriy molibdat 2 litr uchun kolbaga qo'shiladi va 700 ml suvda eritiladi. Aralashma 50 ml 85% N_3RO_4 eritmasi va 100 ml konsentrlangan NCl qo'shiladi. Keyin kolbaga 150 g litiy sulfati, 50 ml suv va 5 tomchi brom qo'shiladi. Ortiqcha bromni olib tashlash uchun aralash tortish ostida muzlatgichsiz qaynatiladi. Sovutgandan so'ng, aralashmaning hajmi bir litrga keltiriladi, filtrlanadi va sovuqda qorong'i kolbada uzoq vaqt saqlanadi. Tahlil qilish uchun taxminan 1 n. kislota bilan Folin reaktivi ishlatiladi. Shuning uchun 1-2 ml eritma titrlash kolbasiga o'tkaziladi, 30 ml N_2O , 2 tomchi fenolftaleinning spirtli eritmasi qo'shiladi va 0,1 n. NaOH eritmasi biroz pushti rangga titrlanadi. Titrlash natijalariga ko'ra, reaktiv distillangan suv bilan suyultiriladi, shunda kislotalilik 1 n ga teng bo'ladi. Kalibrlash egri chizig'ini tahlil qilish va qurish uchun folin reagentidan foydalanish kerak, teng ravishda suyultiriladi.

1 va 2 reaktivlar aralashmasi 50:1 nisbatda. Aralashtirish aniqlashdan oldin amalga oshiriladi. Ekstraktni tayyorlash: oqsil eritmasini tayyorlash uchun 200 mg urug'ning maydalangan namunasi 5 ml 0,1 n bilan qayta ishlanadi. NaOH eritmasi 20% spirt bilan sentrifuga naychasida 30 daqiqa davomida sentrifugada tayyorlanadi. Sentrifugalashdan so'ng cho'kma yana 5 ml bir xil eritma bilan 30 daqiqa davomida ishlanadi. Superadding suyuqliklari birlashtirilib, oqsil tarkibini aniqlash uchun ishlatiladi. Ish kursi 1 ml ekstrakt olinadi, 5 ml 0,5% CuSO_4 eritmasi qo'shiladi (1 va 2 reaktivlar aralashmasi 50:1 nisbatda), aralashtiriladi va 10 daqiqa

davomida saqlanadi. Keyin aralashmaga 0,5 ml folin ishchi eritmasi qo'shiladi. Ular 30 daqiqa davomida saqlanadi va rang intensivligi qizil nurli filtrli fotokolorimetrdagi (yoki 750 nm spektrofotometrdagi) aniqlanadi. Eritmadagi oqsil miqdori kalibrlash jadvaliga muvofiq topiladi. Kalibrlash grafigini qurish: 20 mg sof oqsil (kristalli albumin, sarum globulin) namunasi 100 ml 0,1 n. NaOH da eritiladi. Proteinni to'liq eritish uchun uni qaynoq suv hammomida 15 daqiqa qizdiring. Ushbu eritmaning 1 ml tarkibida 200 oqsil mavjud. Kalibrlash grafigini yaratish uchun dastlabki eritmadan 1 ml bo'lgan eritmalar tayyorlanadi 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 va 10 O'rganilgan eritmalaridan 1 ml oling, 5 ml mis sulfat eritmasini qo'shing va 10 daqiqa turing. Keyin aralashmaga 0,5 ml folin ishchi eritmasi qo'shiladi va qo'shimcha tahlil ekstraktidagi oqsil miqdorini aniqlashda bo'lgani kabi amalga oshiriladi (tahlil jarayoniga qarang). Protein miqdori mg / ml da hisoblanadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Substansiya tarkibidagi oqsilni sifat va miqdoriy tahlilini aniqlash.
2. Folin reaktivi qanday tayyorlanadi.
3. Ekstraktni tayyorlash uchun nimadan foydalanamiz.

6-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: O'simlik (sabzi)to'qimalaridagi lipidlarni ekstraksiyalash

Ishdan maqsad: Talabalarga o'simlik (sabzi) to'qimalaridagi lipidlarni organik erituvchilar yordamida ajratib olish texnologiyasi haqida ma'lumot berish. Suyuq fazalar chegarasida lipidlar monoqatlamining hosil bo'lishi, shuningdek mitsella hosil qilish xususiyatlari haqida ma'lumot beriladi. Xloroformli qatlamni benzol bilan suyultirib, vakuumda bug'latish va eritish jarayonlari tushuntiriladi.

Kerakli asbob va reaktivlar: xloroform, qirg'ich, filtr, voronka, sabzi yoki shpinat.

Ishning borishi: 100 gr yangi shpinat yoki sabzi maydalanadi va darhol ustiga 300 ml xloroform aralashmasi quyiladi. Aralashma 2 daqiqa davomida gomogenizatsiyalanadi. Gomogenat so'rib oluvchi voronkada filtrlanadi, filtrda qolgan to'qima 300 ml xloroform va 80 ml suvda qayta gomogenizatsiyalanadi. Gomogenat filtrlanadi, qoldiq esa filtrda 150 ml

xloroform bilan yuviladi. Birlashtirilgan filtratga 250 ml xloroform va 290 ml suv qo'shiladi. Xloroformli qatlamlar ajratuvchi voronkada ajratiladi. Xloroformli qatlam benzol bilan suyultiriladi va vakuumda konsentratsiyalanadi. Qoldiq darhol xloroformda eritiladi, zarur bo'lsa sentrifugalanib ajratib oli

7-Laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Aminokislotalarni ajratib olish usullari

Ishdan maqsad: Aminokislotalarni ajratib olish usullari va ularning inson organizmidagi roli.

Nazariy qism: Organizmda minokislotalar ko'p miqdorda 300 ga yaqin turi uchraydi, lekin ularning ichida asosiy bo'lgan 20 ta aminokislotalar bo'lishi lozim deb topilgan, bularsizorganizmda oqsil sintezi sodir bo'lmaydi. Bu 20 ta aminokislotalar organizmda engzarur birikmalardir. Organizmda almashinadigan va almashilmaydigan aminokislotalar uchraydi.

Almashinadigan	Almashilmaydigan
1. Alanin	1. Valin
2. Arginin	2. Leytsin
3. Gistidin	3. Izoleytsin
4. Glitsin	4. Metionin
5. Tirozin	5. Trionin
6. Aspartat	6. Fenilalanin
7. Glutomat	7. Lizin
8. Serin	8. Tritofan
9. Asparagin	
10. Glutamin	
11. Tsistein	
12. Prolin	

Oxirgi yillarda tibbiyotda va xalq xo'jaligida turli xil aminokislotalardankeng ko'lamda qo'llanilmoqda. Ba'zi oziq-ovqat va o'simlik don maxsulotlari o'z tarkibida kerak bo'lgan miqdorda almashmaydigan aminokislotalar, xususan lizinsaqlamaydi. Bunday maxsulotga bug'doy, jo'xori, guruch va boshqalar kiradi. Sanoatda em-

xashak ishlab chiqarishda, tarkibiga aminokislotalar kiritiladi. Bundan tashqari oziq-ovqat mahsulotlarini qadrlashda plyonka sifatida ishlatiladi. Yaponiyada aminokislotalar oziq-ovqat sanoati uchun 65%, chorvachilik uchun 18%, tibbiyot uchun 15% va boshqalar uchun 2% to'g'ri keladi. Hozirgi kunda dunyo bo'yicha aminokislotalar ishlab chiqarish, yiliga bir necha million tonnani tashkil qiladi. Dunyoda ko'p miqdorda glutamin kislota, lizin, metianin, asparagin kislota vaglitsin ishlab chiqarilmoqda.

Aminokislotalarni ajratib olishning asosiy usullari quyidagilardan iborat:

1. O'simlik xom-ashyosidan oqsil gidrolizatlaridan ekstraksiya olish;
2. Kimyoviy sintez; o'sayotgan hujayradan, immobillangan ferment yoki mikroob xujayrasini qo'llab, mikrobiologik sintez orqali olish; mikroorganizmlardan ajratib olish.

Hozirgi vaqtda ko'p aminokislotalarni mikrobiologik sintez usuli bilan ajratib olish iqtisodiy foydali hisoblanadi. Aminokislotalarni mikrobiologik sintez yo'li bilanyuqori faol shtammlar, produtsentlar olishda genetik muhandisligi usuli asosiy masalalardan biri hisoblanadi. Xuddi shu usul bilan yuqori faol shtamm produtsentL-treanin olingan. Aminokislotalarni mikrobiologik sintezi uchun produtsentlarni o'stirishda sirtidan faol moddalar, biotin va ba'zi antibiotiklar sifatli muhit komponentlari sifatida keng ko'lamda ishlatiladi. Biosintez jarayonida birmikroorganizm kichik konsentratsiyalik biotinda glutamin kislotasini yig'ishi mumkin, yuqori konsentratsiyada esa lizinni.

Oxirgi yillarda immobillangan fermentlar ishtirokida aminokislotalar olish usullari izlanuvchilarning e'tiborini jalb etmoqda. Chunki bu usulda oxirgi mahsulot yuqori konsentratsiyasi va tozaligi bilan farq qilib, reaksiya davomida boshqa mikroorganizm bilan zararlanish xavfini tug'dirmaydi. Mikroorganizmlar fermentlarning asosiy manbasi hisoblanadi. Fermentlar gidroliz reaksiyasida qatnashib, kovalent bog' yo'li bilan ionalmashinuv polisaxarididan immobillanishi mumkin. Reaksiya katalizida aspartaza aktivligi hisobiga asparagin kislotasini fermentativ yo'li bilan olish keng tarqalgan usul hisoblanadi.

Bu usulda - alanin sintezi ham qo'llaniladi. Organizmda oqsillarning parchalanishi va hosil bo'lishi bir-biri bilan chambarchas bog'liq. Tanada oqsillarning yangilanishi uchun oziqa oqsillarining parchalanishidan hosil bo'lgan aminokislotalar ularning umumiy manbaini hosil qiladi. Aminokislotalar miqdori taxminan 500 g ga to'g'ri keladi. Inson 20 ta aminokislotalardan faqat 10 tasini sintez qilish qobiliyatiga ega. Qolgani almashilmaydigan aminokislotalar bo'lib, ovqatdan organizmga tushadi.

Insonga almashinadigan aminokislota sintezi uchun azotning faqat ammoniy birikmasi kerak.

Hayvon organizmiga nisbatan o'simliklarning aminokislotalarni sintez qilish qobiliyati shundaki, ularga azot sifatida ammiak, nitrat va nitritlar qo'llaniladi. Bunda o'simliklarda uglerod sifatida CO_2 (karbonat angidrid) xizmat qiladi. Aminokislotalarning asosiy qismi xususiy oqsillar, purin, pirimidin asoslari va shu kabi birikmalar hosil bo'lishi uchun sarflanadi. Aminokislotalarning organizm uchun ahamiyati hammadan ilgari shu bilan belgilanadiki, ulardan oqsillar va peptirlar sintezi uchun foydalaniladi. Organizm erkin aminokislotalarining fondi taxminan 30g ni tashkil etadi.

Qondagi aminokislotalar miqdori 35-65 mg ga teng. Organizm aminokislotalarining juda ko'pchilik qismi oqsillar tarkibiga kiradi. Katta yoshli odam organizmida 15 kg atrofida oqsillar bo'ladi. Kun sayin 400 g oqsil aminokislotalarga parchalanib turadi. Shuningdek shuncha oqsillar ham kun sayinsintezlanadi. Bularga aminokislotalarning birlamchi va asosiy manbai bo'lib, ovqatoqsillari xizmat qiladi. Oqsil almashinuvi murakkab jarayon bo'lib, bir nechtabosqichda amalga oshiriladi. Oqsil almashinuvining birinchi bosqichi me'da-ichaksistemasida amalga oshiriladi. Proteolitik fermentlar ya'ni pepsin, tripsin va boshqalar ta'sirida oqsillar aminokislotalarga parchalanadi.

Hosil bo'lgan aminokislotalar qonga so'rilib, hujayralarga yetkaziladi va asosan oqsillar, peptidlar, tourin, aminlar va boshqa ko'pgina birikmalar sintezi uchun ishlatiladi. Ozuqa oqsillar organizmgaalmashtirib bo'lmaydigan aminokislotalarni (fenilalanin, gistidin, triptofan, valin, leysin, izoleysin, metionin, trionin, lizin va argininnid) yetkazib beradi. Yuqorida aytilgan aminokislotalarning birortasi etishmaganda oqsillar sintezi buziladi.

Oqsillarning ko'pchiligi go'sht, baliq, tuxum, pishloq orqali organizmga o'tadi. O'simlik mahsulotlaridan loviya, no'xat, mosh kabi dukkaklilar ham oqsillarga boy. Oqsillar almashinuvining ikkinchi bosqichi hujayra (sitoplazmasida) amalga oshiriladi. Bunda aminokislotalar parchalanib, ulardan ammiak, CO_2 (karbonat angidrid) H_2O , ATF, azotsiz uglevodli birikmalar va aminlar hosil bo'ladi. Sutkalik azot tengligini saqlash uchun odam 30-50 gr oqsil iste'mol qilishi kerak. Ammo bu miqdor inson sog'lig'i va ishlash qobiliyatini saqlash uchun yetarli emas. Bir sutkalik oqsil normasi 100 g gacha bo'lishi kerak.

Nazorat uchun savollar:

1. Aminokislotalarning oziq - ovqat sanoatida qo'llanilishi?
2. Aminokislotalarni ajratib olishning asosiy usullari?
3. Aminokislotalarni mikrobiologik sintez orqali olish usullari?
4. Imobilizatsiya ferment ishtirokida aminokislotalar olish usullari?

8-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Aminokislotalarga xos sifat reaksiyalari

Ishdan maqsad: Aminokislotalarni ajratish uchun ko'pincha qog'ozdagi tarqaluvchi xromatografiya usuli qo'llaniladi. Bu metod ikkita faza: qog'ozga erimaydigan qattiq va suvli yoki organik erituvchilar fazasi, orasida aminokislota komponentlarining ajralish darajasiga asoslangan.

Nazariy qism: Xromatografiya organik erituvchi (masalan, suvga to'yintirilgan fenol yoki butyl spirti, sirka kislota va suv aralashmasi) filtr qog'oz orasidan o'tkazilganda, qog'ozga tomizilgan aminokislota eritmasi uning eruvchanligiga qarab bir-biridan ajraladi. Har xil aminokislota qog'ozda har xil tezlik bilan harakat qiladi. Aminokislotalarning harakatlanish tezligi har xil omillarga: aminokislota molekulasining tuzilishiga, organik erituvchilarda va suvda eruvchanligiga, qog'ozga adsorbsiyalanishiga, qog'oz turiga, tajriba olib borilish sharoitiga bog'liq bo'ladi. Aminokislota organik erituvchida qanchalik yaxshi erisa, qog'ozda shuncha ko'p harakatlanadi.

Aminokislotalarni qog'ozdagi tarqaluvchi xromatografiyasining ikki xili mavjud: yuqoriga ko'tariluvchi va pastga harakatlanuvchi. Yuqoriga ko'tariluvchi xromatografiyada erituvchi qog'ozda pastdan yuqoriga qarab ko'tariladi. Pastga tushuvchi xromatografiyada esa erituvchi yuqoridan pastga qarab harakatlanadi. Har bir aminokislota qog'ozdagi o'rni, qog'ozni quritib, ningidrin bilan ishlov berib, uni 100°C temperaturada quritilgandan so'ng aniqlanadi. Shundan keyin qog'ozda har xil binafsha, ko'k, sarik, qizg'ish va jigarrang dog'lar ko'rinib qoladi. Har bir aminokislota uchun o'ziga xos siljish tezligi ma'lum bo'lib, bu koeffitsiyenti bilan belgilanadi.

Rf koeffitsiyenti deb, aminokislota tomizilgan joyidan to hosil bo'lgan dog'ning o'rtasigacha bo'lgan masofaning, aminokislota

tomizilgan joydan to erituvchining harakatlangan masofasiga bo'lgan nisbatiga aytiladi.

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

bu yerda:

a - aminokislota aralashmasi tomizilgan joydan, ma'lum bir aminokislota hosil qilgan dog'ning o'rtasigacha bo'lgan masofa mm larda,

b - erituvchi harakatlangan masofa, mm larda.

Har bir aminokislota o'zining R_f ko'effitsiyentiga ega bo'lib, bu ko'effitsiyent qog'ozning turiga, erituvchining turiga, temperaturaning o'zgarishiga va muhit rN-ining o'zgarishiga qarab o'zgarishi mumkin. Aminokislotalarni ajratish uchun yuqori sifatli maxsus xromatografiya qog'ozi ishlatiladi. Qog'oz bir xil qalinlikda va zichlikda bo'lishi kerak. FN-11 (Germaniya) nomerli qog'oz ishlatilsa xromatografiya yaxshi natija beradi.

3-jadval

BA'ZI BIR AMINOKISLOTALARNING R_f KO'RSATKICHLARI

Aminokislotalar	Erituvchilar	
	Suvga to'yingan fenol	Butil spirti-sirka kislota-suv (4:1:1)
Fenilalanin	0,87	0,66
Lizin	0,82	0,16
Arginin	0,90	0,18
Gistidin	0,69	0,17
Serin	0,36	0,32
Treonin	0,47	0,36
Glitsin	0,41	0,34
Asparagin kislota	0,15	0,33
Glyutamin kislota	0,25	0,37
Tirozin	0,63	0,53
α -alanin	0,56	0,39
Metionin	0,83	0,58
Triptofan	0,75	0,62
Prolin	0,89	0,50
Leysin	0,87	0,72
Valin	0,76	0,56
Sistin	0,03	0,13

Kerakli reaktivlar va asboblari:

- 1) aminokislotalar aralashmasining eritmasi (10 ml suvda 60 mg asparagin kislota, 40 mg glitsin va 50 mg leysin eritilgan);
- 2) suvga to'yintirilgan fenol (100 g haydalgan fenolga 35 ml suv qo'shib, erishini tezlashtirish uchun ozgina isitiladi);
- 3) butanol-sirka kislota-suv aralashmasi (4:1:1);
- 4) ningidrin, 0,2% li spirdagi eritmasi.

Asboblari:

- 1) termostat (37-38 °C);
- 2) quritish shkafi (100-105 °C);
- 3) katta hajmdagi probirkalar (uzunligi 18-20 sm, diametri 2-2,5 sm) po'kaklari bilan birga;
- 4) chizg'ich;
- 5) mikrokapillyarlar;
- 6) purkagich (pulverizator);
- 7) qaychi;
- 8) ip va igna;
- 9) probirkalar uchun shtativ.

Material: maxsus yuqori sifatli xromatografiya qog'ozi.

Ishning borishi: Xromatografiya qog'ozidan eni 1,2 sm, bo'yi 12-15 sm qilib kesiladi. Bir uchi igna bilan teshilib, ip o'tkazib qo'yiladi. Ikkinchi uchidan 1-1,5 sm qoldirib, oddiy qora qalam bilan kichkina doiracha chizib qo'yiladi. Shu doiracha ichiga aminokislotalar aralashmasini mikrokapillyar yordamida tomiziladi va havoda quritiladi. Quruq probirkaga 1 ml suvga to'yintirilgan fenol eritmasidan yoki butanol-sirka kislota-suv aralashmasidan solinadi (bunda probirkalar devori ho'l bo'lmasligi kerak).

Tayyorlangan xromatografiya qog'ozi sekinlik bilan probirkaga tushiriladi va yuqoridagi ipi po'kak bilan yaxshilab siqib qo'yiladi. Bunda qog'oz erituvchiga 0,5-1 sm.cha kirib turishi va probirka devoriga tegmasligi kerak. Probirka 37-38°C li termostatga 1,5 soatga qo'yiladi. Vaqt o'tgandan keyin qog'oz olinib, 100-105°C temperaturadagi quritish shkafida 10-12 minut davomida quritiladi. Bunda u shkaf ichiga qog'ozning bir uchidagi ip yordamida osib qo'yiladi.

Qog'ozdagi erituvchi uchib ketgandan so'ng, qog'ozni shkafdan olib, unga purkagich yordamida nigidrinning 0,2% li spirtidagi eritmasi purkaladi va yana bir necha minutga quritish shkafiga osib qo'yiladi. Qog'ozda (xromatogrammada) bo'yalgan aminokislota dog'lari paydo bo'ladi. Chizg'ich yordamida ularning masofasi o'lchanadi: a) aminokislotalar aralashmasi tomizilgan joydan, to ma'lum bir aminokislota dog'iniig o'rtasigachabo'lgan masofa, b) erituvchi siljigan masofa. Shundan so'ng har bir aminokislota Rf koeffitsiyenti hisoblanadi.

Nazorat uchun savollar:

1. Rf ko'rsatkich nimani anglatadi va qanday hisoblanadi?
2. Ajralish jarayoni asosida yotadigan hodisalar belgisi bo'yicha xromatografik usullar qanday klassifikatsiyalanadi?
3. Harakatdagi va qo'zg'almas fazalarning agregat holati bo'yicha xromatografik usullar qanday klassifikatsiyalanadi?
4. Tahlilni o'tkazish uslubiyotiga asoslangan klassifikatsiya qanday amalga oshiriladi?

9-Laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Qoramol shirdonidan pepsin ajratib olish

Ishdan maqsad: qoramol oshqozoni shilliq qavatidan pepsin fermentini ajratish.

Nazariy qism: Pepsin-gidrolazalar sinfiga kiruvchi proteolitik ferment. Fermentlar bo'yicha xalqaro komissiya tasdiqlagan shifr-3.4.23.1. Pepsin so'zi yunoncha hazm bo'lish degan ma'noni anglatadi. Lotincha nomi-pepsinum. Oshqozon osti bezining shilliq qavatida sintezlanadi. Oqsillardagi markaziy peptid bog'lariga ta'sir qilib, ularni erkin aminokislotalar va oddiy peptidlarga parchalaydi. Ayniqsa, aromatik aminokislotalar bo'lgan tirozin va fenilalanin hosil qilgan peptid bog'larini juda katta tezlikda gidrolizlaydi. Biroq boshqa proteolitik fermentlar-tripsin va ximotripsin kabi qat'iy spetsifiklikka ega emas. Pepsin fermenti sut emizuvchilar, qushlar, sudralib yuruvchilar va ayrim baliqlar oshqozonida ham mavjud. Pepsin dastlab 1836- yil Teodor Shvann tomonidan aniqlangan. Djon Nortrop 1930- yil kristall ko'rinishda ajratib olgan. Pepsin globulyar (sharsimon) oqsil bo'lib, uning molekulyar massasi – 34500 dalton. 1dalton- $1.661 \cdot 10^{-24}$ gramm Uning molekulasida 340 ta aminokislota, 3 ta disulfid bog' va fosfat kislotadan iborat bo'lgan uzun polipeptid zanjirdir. Biotexnologik laboratoriyada pepsin oqsillarning birlamchi strukturasi aniqlashda, oziq-ovqat sanoatida pishloq ishlab chiqarish va tibbiyotda oshqozon-ichak kasalliklarini davolashda ishlatiladi.

Kerakli jihozlar:

- muzlatish kamerasi
- termostat
- go'sht qiymalagich
- chinni idish
- magnit aralashtirgich
- suv hammomi
- nutch-filtr
- pH-metr
- lioofil yoki termoradiatsion quritkich
- pergament paketlar

Kerakli reagentlar:

- qoramol oshqozoni shilliq qavati
- distillangan suv
- konsentrlangan xlorid kislota
- osh tuzi (natriy xlorid)
- etil spirti (96%)
- atseton (suvsizlantirilgan)

Ishning borishi: Pepsin fermenti olish uchun xom ashyo sifatida sog'lom, normal rivojlangan qoramol oshqozonining shilliq qavatidan foydalaniladi. Yangi so'yilgan qoramol oshqozonining shilliq qavati ajratilib, iliq suvda yuviladi. So'ngra xom ashyo muzlatgichda past (-30-60°C) haroratda 3 soat qoldiriladi. Muzlatilgan xomashyo termostatda 27°C haroratda 3 soat muzdan tushiriladi. Muzlatish va muzdan tushirish (defrostatsiya) jarayoni 2-3 marta takrorlanadi. Muzdan tushirilgan xom ashyo kichik bo'laklarga (2-3mm) maydalanadi. Maydalash uchun go'sht qiymalagichdan foydalanish mumkin.

Maydalangan xom ashyodan 5 gramm olinib, chinni idishga solinadi. Ustiga 15 ml distillangan suv quyiladi va 5 daqiqa magnit aralashtirgichda aralashtiriladi. Aralashmaga konsentrlangan xlorid kislota qo'shiladi va ekstraksiyalanadi. Ekstraksiya davomida aralashma $pH=2-2.2$ bo'lishi kerak. Ekstraksiya suv hammomida 43-45°C haroratda 100 daqiqa to'xtovsiz aralashtirilib turilgan holda olib boriladi. 100 daqiqadan so'ng aralashma termostatga 50-60 soat qo'yiladi. Termostat harorati 35-37°C ga keltirilgan bo'lishi kerak. 50-60 soatdan so'ng idishning o'rta qismida tiniq avtolizat hosil bo'ladi. Avtolizat dekantatsiyalanadi. Idishning yuqori qismini yog'lar va lizisga uchramagan to'qimalar, eng pastki qismini esa

avtolizlanmagan xomashyo tashkil etadi. Idishning pastki qismidagi massani qayta avtolizlab qo'shimcha pepsin olish mumkin. Dekantat sovutiladi ($18-20^{\circ}\text{C}$) pH ko'rsatkichi tekshiriladi va xlorid kislota qo'shib, $\text{pH}=2.0-2.2$ ga keltiriladi. Xlorid kislota qo'shishda dekantat aralashtirilib turilishi lozim. So'ngra dekantatga 230-250 g/l miqdorda natriy xlorid tuzi qo'shiladi ya'ni 1 litr dekantatga 230-250 gramm tuz solinadi. Aralashma yana 2 soat dekantatsiyaga qoldiriladi. Bunda pepsin idish yuzasiga qalqib chiqadi. Idishning pastki qismidagi suyuqlik esa dekantatsiyalanadi. Idishda qolgan pepsin liofil quritkichda yoki termoradiatsion quritkichda $30-35^{\circ}\text{C}$ haroratda quritiladi. Quritilgan pepsin qumoqlanib qoladi. Shuning uchun u chinni hovonchada maydalanadi. Maydalangan pepsinga 3 hissa ko'p miqdorda 96% etil spirti solinadi (masalan, 5 gramm pepsin uchun 15 gramm spirt). Aralashma nutch-filtrda quruq kukun hosil bo'lguncha filtrlanadi. Spirt bilan olib borilgan ushbujarayon 3 marta takrorlanadi. Keyin yuqoridagi ishlar suvsizlantirilgan atseton bilan olib boriladi. Faqat atseton 3 hissa emas, 2 hissa ko'p miqdorda qo'shiladi. Tayyor bo'lgan preparat 0.1, 0.25, 0.5 va 1 kg bo'lgan pergament paketlarga 2 qavat qilib qadoqlanadi. Preparat salqin va quruq joyda yoki muzlatgichda 1 yil saqlanishi mumkin. 20 ta qoramol oshqozonidan 1 kg pepsin ajratib olish mumkin.

Nazorat uchun savollar:

1. Pepsin fermenti olish uchun qanday xom ashyodan foydalaniladi?
2. Pepsin qanday ferment?
3. Ishning bajarilishi tartibini aytib bering.

10-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Pepsinning faolligini aniqlash

Ishdan maqsad: Pepsin moddasini ajratib olish va faolligini aniqlash.

Nazariy qism: Hozirgi vaqtda ferment preparatlariga bo'lgan talab kuchaymoqda. Ferment preparatlarini birgina tibbiyotda bir necha maqsadlar uchun ishlatish mumkin. Agar pepsinni oladigan bo'lsak, u ham yiringli yaralarni davolashda, ferment yetishmovchiligida va jarrohlik amaliyotida ishlatiladi.

Laboratoriya sharoitida-toza pepsin anion almashuvchi sellulozadan xromatografiya qilish bilan olinadi. Pepsin olishda uning faolligini aniqlashda turli oqsil substratlarining bijg'itish usuli qo'llaniladi. Bu ferment oziq-ovqat sanoatida go'shtni qayta ishlash va uning sifatini oshirish uchun ishlatiladi. Bundan tashqari, kiyimlarni oqartirish uchun kir yuvish kukunlari ishlab chiqishda qo'shimcha tarzda ishlatiladi. Jarrohlik amaliyotida u yiringli yaralarni va nobud bo'lgan to'qimalarni davolashda qo'llaniladi. Bu usul yiringli yaralardagi nobud bo'lgan to'qimalarning oqsillarini fermentativ parchalashga asoslangan.

Tibbiyotda pepsin ferment yetishmovchiligida ishlatiladi. Pepsin mol oshqozoni qobig'idan yoki nafaol formada bo'lgan yosh qoramol oshqozonidan, ya'ni oshqozon qobig'idan yaxshi ajralib chiqadi. Bu proferment HCl ta'sirida faollanadi.

Pepsin ajratish uchun xomashyo tayyorlash. Fermentlar olishda ularning manbalari, o'simlik, hayvon va mikroorganizmlarning turli qismlari xizmat qiladi. O'simlik fermentlari o'simlikning urug'i, mevasi va ba'zi hujayralaridan ajratib olinadi. Ular birmuncha qisqa faollikka ega bo'lib, ma'lum miqdorda ishlatiladi. Texnik mikrobiologiyada mikroblardan olinadigan fermentlarni ishlab chiqarish va qo'llash keng miqyosda yo'lga qo'yilmoqda. Ulardan boshqa ko'rinishdagi mikroorganizmlar va ularni seleksiyalash hamda kerakli fermentni birmuncha miqdorda olish mumkin. Mikroorganizmlar fermenti fermentatsiya muhitidan yengil ajraluvchi, ya'ni kulturada konsentratsiyalanadigan hujayralarga aloqador. Kulturalash uchun xomashyo begona mikroflora bilan ifloslanmasligi uchun steril holatlarda tavsiya etiladi. Hayvon organizmidan olinadigan fermentativ preparatlar ishlab chiqarish uchun yetuk, sog'lom va normal rivojlangan hayvonlarning bezlari xomashyo manbayi bo'la oladi.

Xomashyoning mikroorganizmlar va boshqa omillarning ta'sirida barqarorligi kam bo'lganligi sababli hayvon so'yilgandan keyin bezni tezda qayta ishlash yoki zudlik bilan konservatsiya qilish kerak. Oshqozon osti bezini konservatsiya qilish uchun buzilishdan saqlashning asosiy usuli, ya'ni - 30° r-60°C haroratda tez muzlovchi shkaflarda 5-6 soat davomida muzlatishdir. Muzlatilgan xomashyo - 15-18°C da va nisbiy namligi 90-95 % bo'lgan sharoitda 6 oy davomida saqlanishi mumkin. Ba'zi hollarda bezni suv bilan cheksiz aralashuvchi va bir vaqtning o'zida fermentlarga zararli ta'sir etmaydigan organik erituvchilar bilan suvi chiqariladi. Bunday maqsadlarda ko'pincha atseton yoki etil spirtidan foydalaniladi. Fermentlarni muvaffaqiyatli ajratib olish uchun 50 kerakli materialni

tarkibida individual fermentlar saqlovchi subhujayra tuzilmalari (mikrosomal, mitoxondriya, yadro) gacha parchalanguncha juda kichik bo'laklarga maydalanadi.

Yangi xomashyoni qayta ishlash hollarida oshqozon osti bezi go'sht qiymalagichda maydalanadi va yuqori tezlikda qum bilan ishqalanib gomogen (bir xil massa) holatiga keltiriladi. Muzlatilgan bezning maydalanishi volchokda amalga oshirilib, bunda maydalanish darajasi volchokning teshiklari diametri va maydalanish uchun ketgan vaqt orqali boshqariladi. Teshiklarning diametri 1,5-2,0 mm bo'lib, 5 daqiqa davomida volchokda maydalanganda miqdoriy ekstraksiya qilish uchun yadroli oqsil tabiatli fiziologik faol biopolimerlarni xomashyo sifatida olish imkoniyati bo'ladi. Hujayrani nozik tuzilmalariga ajratish gomogenizator, shuningdek, ma'lum quvvatga ega bo'lgan ultratovush yordamida amalga oshiriladi. Afsuski, ultratovushli uslub istiqbolli bo'lishiga qaramay, apparatning yuqori narxlarda bo'lishi sababli ishlab chiqarishda nisbatan juda kam qo'llaniladi. Xomashyoni maydalashning samarali uslublaridan biri mikroatom usulidir.

Buning uchun muzlatilgan oshqozon osti bezi maxsus qurilmalar yordamida qalinligi 0,1 mm va uzunligi 1 sm gacha bo'lgan bo'laklarga kesiladi. Bu uslub ekstraksiyaning tezligi va to'liqligini ta'minlaydi hamda keyinchalik sentrifugalanganda oshqozon osti bezi qoldiqlaridan ekstrakti ajratib olishni yengillashtiradi. Xomashyoni istalgan darajada maydalashning yana bir muvaffaqiyatli yechimi uni S.P. Barashev va V.P. Kuznetsov konstruksiyalari bo'yicha mashinada qayta ishlash hisoblanadi. Bunday maydalashning ta'sir mohiyati quyidagicha bo'lib, u randalaydigan mashinalardan o'zlashtirilgan va shunga asoslanganki, bunda muzlatilgan bez pichoqlar yordamida bir daqiqada bir necha ming aylanishga ega bo'lgan tezlikdagi barabanga uzatiladi.

Ushbu usul xomashyoni nafaqat istalgan darajada maydalash, balki bezdan qobig'ini ajratishga ham imkon beradi. Bunda fermentlarni ekstraksiya qilish tezligi oddiy uslubda maydalashga nisbatan 1,5-2 barobar, maydalanish to'liqligi esa 10-20 ga oshadi. Ferment preparatlarini ishlab chiqarishning texnologik jarayonlarini asosiy bosqichi hayvon xomashyosini moydan ajratish hisoblanadi. Atsetonli kukun uslubi ham o'z ahamiyatini yo'qotmagan uslublardan bo'lib, bunda maydalangan bez uncha katta bo'lmagan miqdorda atsetonda ehtiyotkorlik bilan aralashtiriladi va 5-10 li haroratda aralashtirgichli bo'lgan reaktorga quyiladi. Suyuqlik tindirilgandan so'ng sifonlanadi va atsetonning yangi miqdori quyiladi. Erituvchini almashtirish 3-4 marta amalga oshiriladi.

Tindirilgan atseton sifonlangandan so'ng xomashyo gidravlik pressda siqiladi va 2-3 sm qalinlikda xona harorati havosida quritiladi. Quritilgan bez maydalanadi va ipak matoda elanadi va o'lchovi 1,5 mm dan yirik bo'laklar olinadi. Materialni ekstraksiya qilish uchun xomashyoni ekstraksiya qilish usuli texnologik sikl jarayonida yuqori darajada tozalangan va ajratilgan ferment miqdorini olish imkoniyatini berishi kerak. Bunda asosiy e'tiborni fermentativ faollikning yo'qotilishi bilan bog'liq bo'lgan oqsil denaturatsiyasining oldini oluvchi muhit yaratishga qaratish kerak. Fermentativ moddalarning ekstraksiyalash xususiyatiga qarab 3 guruhga bo'linadi. Birinchi guruh suv-tuzli va kislotada eriydigan hamda past pH muhitda (1,0-2,0) barqaror oqsil moddalarni birlashtiradi. Ikkinchi guruhga yirik suv-kislotali erituvchida eriydigan, lekin kuchsiz kislotali pH (4,0—8,0) ishqoriy muhitda barqaror bo'lgan moddalar kiradi. Uchinchi guruhga esa konsentrlangan organik erituvchilar (etil va metil spirtlari, atseton, glitserin va boshqalar) da miqdoriy ekstraksiya qilinadigan moddalar kiradi.

Mol oshqozonining shilliq qavatidan pepsin-pepsinum va atsidin-pepsin atsidin pepsinum olinadi. It va boshqa uy hayvonlarini yolg'ondan ovqatlantirish usuli bilan oshqozon orqali tabiiy oshqozon shirasi olinadi. Ko'rsatib o'tilgan preparatlar ovqat hazm qilishi buzilganda, oshqozon bezlari faoliyatining yetishmovchiligida, dispepsiyalarda va apatsidli gastritlarda ishlatiladi.

Kerakli asbob va reaktivlar: xomashyo, ekstrakt, natriy xlorid 0,5 % li eritmasi, ammoniy sulfat, spirt.

Ishning borishi: Pepsinning olinishi: Mol oshqozonining shilliq va shilliq osti qavati boshqa to'qimalardan ajratilib, iliq suvda yuvilib, maydalanadi va 18 soat davomida aralashtirilib turilgan holda xlorid kislotaning 0,5 % li eritmasi emallangan yoki chinni idishda ekstraksiya qilinadi. Polotni orqali so'rib tindirib olish yo'li orqali tortib olinadi, benzin bilan yog'i ajratiladi va quyuq ekstrakt hosil bo'lguncha vakuum ostida bug'latiladi. Olingan preparat oq yoki sarg'ish rangli kukun bo'lib, gigroskop suv bilan xira kuchsiz kislotali eritma hosil qiladi. Yuqori sifatli preparatni olish uchun dializ, tuzlantirish yoki adsorbsiya yordamida ekstraktni yog'sizlantirish yo'li bilan qo'shimcha tozalash o'tkaziladi. Dializ oqib turgan suv ishtirokida pepsinning koagulyatsiyasigacha davom ettirilib, keyin yig'iladi, spirt hamda efir bilan yuviladi va havoda quritiladi. Pepsinni cho'ktirish uchun yog'sizlantirilgan ekstraktga natriy xlorid yoki ammoniy sulfat qo'shish bilan amalga oshiriladi. Hosil bo'lgan cho'kma spirt, efir bilan yuviladi va quritiladi. Adsorbsion uslub bo'yicha

esa moyli ajratilgan suvli ekstrakt pepsinni adsorbsiyalovchi fosfor kislotali kalsiy qo'shilgan ammiak eritmasi bilan ishqorlanadi. Cho'kma filtr yordamida ajratilib, suv bilan yuviladi va shavel kislotasi bilan qayta ishlanib, kalsiy ionlaridan tozalanadi. Eritmadan olingan pepsin pH 2,4-2,6 bo'lgan muhitda spirt - efir aralashmasi, efir ketma-ketligida yuviladi va havoda quritiladi. Tozalangan pepsin sut qandi bilan aralashtiriladi.

Nazorat uchun savollar:

1. Laboratoriya sharoitida toza pepsin qanday usulda olinadi?
2. Tibbiyotda pepsin nima maqsadda ishlatiladi?
3. Pepsin ajratish uchun qanday xomashyodan foydalaniladi?

11-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Qoramol oshqozon osti bezidan tripsin olish va uning faolligini aniqlash

Ishdan maqsad: qoramol oshqozon osti bezidan tripsin fermentining faolligini o'rganish, proteolitik fermentlar, ularning xossalari va farmatsiyadagi o'rni haqidagi bilimlarni oshirish.

Kerakli jihozlar:

- pH-metr (I-130) •termometr
- filtr qog'oz
- magnit aralashtirgich
- fotoelektrokolorimetr (FEK-56)

Kerakli reagentlar:

- qoramol zardob albumini
- 0.1M universal bufer •tripsin fermenti
- 0.3M uchxlorsirka kislota
- 0.5M natriy karbonat eritmasi
- Folin reaktivi

Har bir ferment o'zining faolligi bilan xarakterlanadi. Proteolitik fermentlar faolligini aniqlash usullari ko'p. Lekin aksariyat hollarda Anson usulidan foydalaniladi. Bu usulda substrat sifatida qoramol zardob albumini ishlatiladi. Albuminning gidroliz reaksiyasi 0.1M universal buferda (kerakli rN ko'rsatkich proteinazaga nisbatan tanlanadi)

o'tkaziladi. Buferga tarkibida 0.02-0.03 birlik proteinaza saqlagan 1% eritmada 1ml qo'shiladi. Aralashma 10 daqiqa ma'lum temperaturada inkubatsiyaga qoldiriladi. Inkubatsiya uchun temperatura proteinazaga nisbatan tanlanadi, ya'ni ferment qanday temperaturada faolligi eng yuqori bo'lsa, ana shu ko'rsatkichda inkubatsiya o'tkaziladi. So'ngra fermentativ reaksiyani to'xtatib, gidroliz mahsulotlarini cho'ktirib olish uchun aralashmaga 2 ml 0.3M uch xlor sirka kislota eritmasidan tomiziladi. Aralashma 20 daqiqaga qoldiriladi. So'ngra filtrlanib, 5 ml 0.5 M natriy karbonat eritmasi qo'shiladi va aralashtirib turilgan holda zudlik bilan 1ml Folin reaktividan solinadi. 20 daqiqa tindirilgandan keyin aralashma havorang tusga kiradi. Rang intensivligi fotoelektrokolorimetrdan (FEK-56) ko'riladi. Bunda yorug'lik filtri (№9) va devorining qalinligi 10mm bo'lgan kyuvetalardan foydalaniladi. Proteolitik faollik (A, birlik/mg) quyidagi formula orqali hisoblanadi:

$$A = \frac{D \cdot 4}{1,72 \cdot 10 \cdot m}$$

D- fotoelektrokolorimetrdan o'lchangan optik zichlik;

4- uchxlor sirka kislota qo'shilganidan keyin ferment va reaksiya aralashma hajmlari nisbati;

1.72- tirozin koeffitsiyenti (kalibrovka grafigidan aniqlanadi);

10- substratning gidroliz vaqti, daq.;

m- proteoliz uchun olingan ferment miqdori;

Nazorat uchun savollar:

1. Tripsinning farmakologik xossalari haqida ma'lumot bering.
2. Tripsin fermentini dori vositasi ko'rinishida qaysi davlatlar ishlab chiqarmoqda?
3. Tripsin tibbiyotda qanday maqsadlarda qo'llanilmoqda?

12-laboratoriya mashg'uloti

Mavzu: Vitamin C ning sanoatda olinishi

Ishdan maqsad: Askorbin kislota yoki vitamin C ning sanoatda olinishi usullarini o'rganish.

Nazariy qism: Askorbin kislota yoki vitamin C - bu singa kasalligiga qarshi bo'lgan vitamin bo'lib, barcha yuksak o'simlik va hayvonlarda bo'ladi, faqatgina inson va mikroblar bu vitaminni sintezlamaydilar, biroq bu vitamin inson organizmi uchun juda zarur bo'lib, mikroblar esa bu vitamanga ehtiyoj sezmaydilar. Shunga qaramasdan, nordon bakteriyalarning ma'lum turlari, bu vitaminning yarim mahsuloti bo'lgan L-sorbozaning biosinteziga aloqadordir. Shunday qilib, askorbin kislotasining olinish jarayoni aralash, ya'ni kimyoviy-fermentativ jarayonni o'z ichiga oladi. Jarayonning biologik bosqichi membranaga bog'langan polioldegidrogenaza bilan katalizlanadi, so'nggi kimyoviy bosqich esa quyidagi bosqichlarni o'z ichiga oladi: sarbozaning diatseton bilan kondensatsiyalanishi va diatseton L-sarbozani hosil bo'lishi, diatseton-L-sarbozaning diatseton-2-keto-1-gulon kislotasigacha oksidlanishi, shundan so'ng gidrolizga uchratilib 2-keto-1-gulon kislota olinadi; oxirgisi fenollanish reaksiyasiga uchratilib, keyin L-askorbin kislotaga transformatsiyalanadi.

Gluconobakter oxydans fermentatsiyasini 20% gacha sorbit, makkajo'xori yoki achitqi ekstraktini tutgan muhitlarda, kuchli aeratsiya sharoitida (8-10 g O₂/l/s) olib boriladi. L-sorbozaning chiqishi 1-2 sutkada 98% tashkil etishi mumkin. Aniqlanishicha, oxydans jarayonning so'nggi bosqichlarida hosil qilinadigan polispirtning yuqori konsentratsiyalari (30-50%) ham oksidlashi mumkin. Bu o'z navbatida hujayra biomassasidagi polioldegidrogenaza hisobiga amalga oshiriladi. Bakteriyalarni fermentatsiyasi davriy yoki uzluksiz rejimda olib borilishi mumkin.

Kerakli reaktivlar va jihozlar: o'simlik materiali, xlorid kislotaning 1% li eritmasi, oksalat kislotaning 1% li eritmasi, 2,6 - dixlorfenolindofenolning 0,001 n eritmasi.

Ishning borishi: Vitamin C (askorbin kislota) dorivor o'simliklar tarkibida ko'p miqdorda uchraydi. Ayniqsa, ho'l mevalarda (qarag'at, apelsin, limon, na'matak) va sabzavotlarda (bulg'or qalampiri, gulkaram, ukrop, karam, kartoshka) ko'p bo'ladi. Askorbin kislotani aniqlash uning qaytaruvchanlik xususiyatiga asoslangan.

Na'matak o'simlik materialidan 1-5 g olib, chinni hovonchada, shisha kukunlari yordamida yaxshilab ezilada va xlorid kislotaning 1% li

eritmasidan 5 ml qo'shib, ezishni yana davom ettiriladi. Keyin yana 15 ml xlorid kislota eritmasidan qo'shiladi va aralashmani 100 ml li o'lchov kolbaga quyiladi. Chinni hovoncha oksalat kislota yordamida yuviladi va u ham kolbaga quyiladi. Keyin oksalat kislota yordamida kolbadagi suyuqlik cheklangan hajmgacha chayqatilib, filtdan o'tkaziladi. Filtdan o'tkazilgan suyuqlikda askorbin kislota miqdori aniqlanadi. Ikkita kolba olib, birinchisiga 5-10 ml filtrat, ikkinchisiga 5-10 ml xlorid kislota va oksalat kislota (1:5) aralashmasidan solinadi va 0,001 n 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan titrlanadi. Askorbin kislota miqdori quyidagicha aniqlanadi:

$$X=(a-b) \cdot T \cdot 100/C$$

Bu yerda:

X - o'simlik materialidagi askorbin kislota miqdori, % hisobida

a - tajriba uchun sarflangan indikator miqdori

T - tuzatma, 0,088ga teng bo'lib, 1 ml 0,001n indikator eritmasiga teng bo'lgan askorbin kislota miqdori

C - tahlil uchun olingan o'simlik miqdori, gr hisobida

b - nazorat namuna uchun sarflangan indikator miqdori

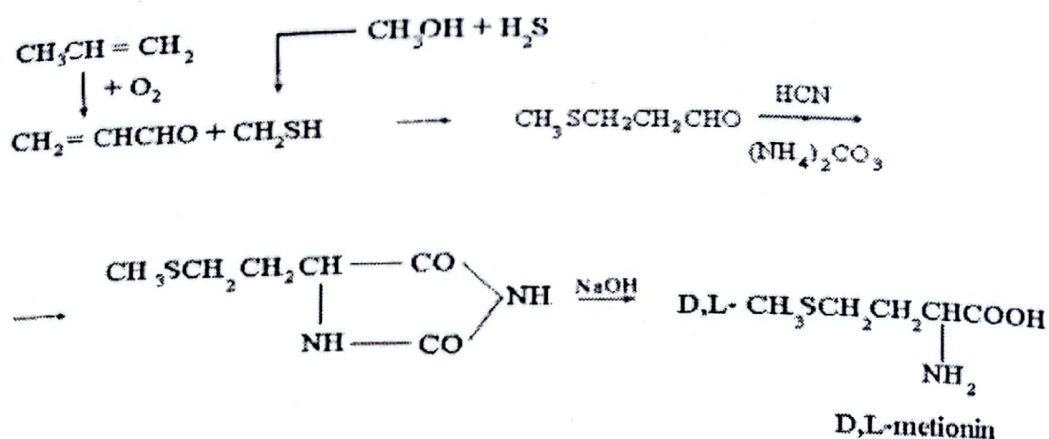
Nazorat uchun savollar:

1. Vitamin C qaysi o'simliklar tarkibida ko'p miqdorda uchraydi?
2. Vitamin C ning sanoatda olinishi
3. Vitamin C ning organizm uchun foydali va zararli xususiyatlari haqida gapirib bering?

13-laboratoriya mashg'uloti

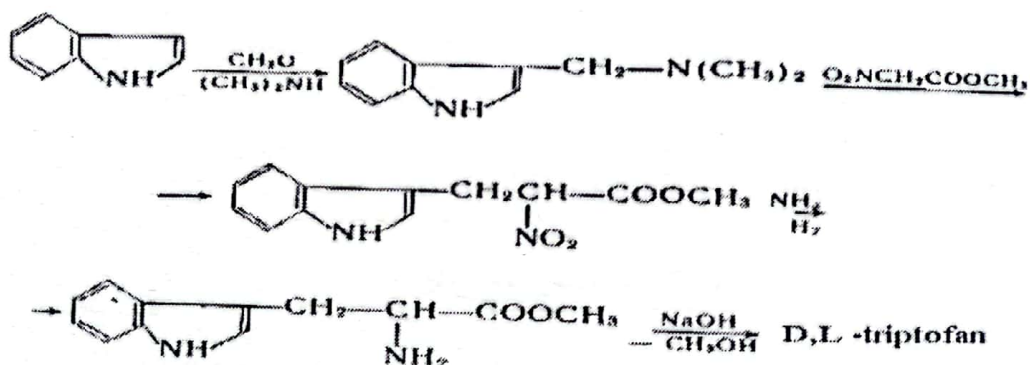
Mavzu: Aminokislotalarni kimyoviy sintez asosida ajratib olish

Nazariy qism: D, L-metioninni kimyoviy yo'l bilan ajratib olish juda murakkab va ko'p bosqichli jarayon bo'lib, uni akroleindan olinadi. Quyidagi sxemaga muvofiq bo'lgan kimyoviy reaksiyalar orqali ajratib olinadi:



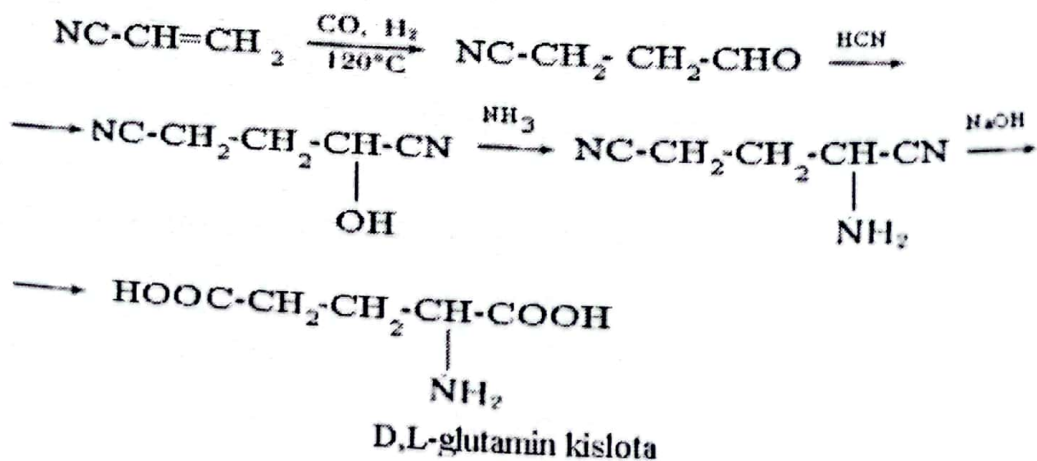
Bu uslubda 1 t D, L-metionin ajratib olish uchun 0,6 t akrolein sarflanadi, rasematni ajratish esa talab qilinmaydi.

D, L-triptofanni indol va nitrosirka efirdan ajratib olish



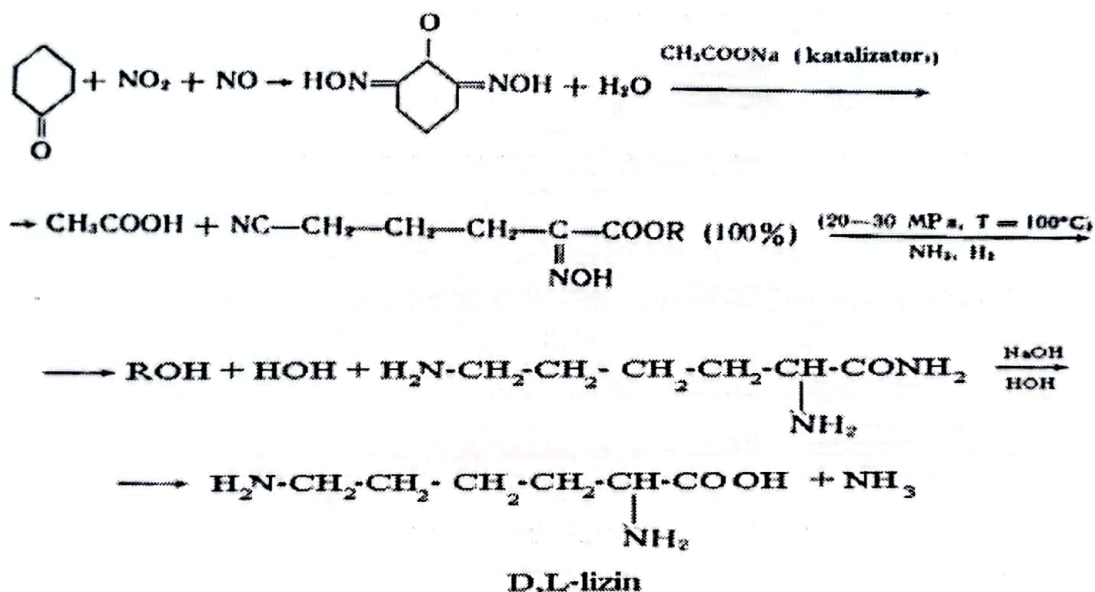
Bu sxema asosida ajratib olingan D, L-triptofan yem-oziqa sifatida ishlatilganda uni rasematidan, ya'ni D va L- shakllarini bir biridan ajratish talab qilinmaydi.

Natriy L-glutamatni akrilnitritdan ajratib olish



Bu uslubda olingan rasemat ikkala optik izomerlarni alohida olingan toza shaklidagiga nisbatan suvda yaxshiroq eriydi, Shu sababli to'yingan eritma tarkibidagi L-shaklni ajratib olish uchun aralashmaga natriy L-glutamat kristallari qo'shiladi.

Siklogeksanonidan L-lizinni ajratib olish



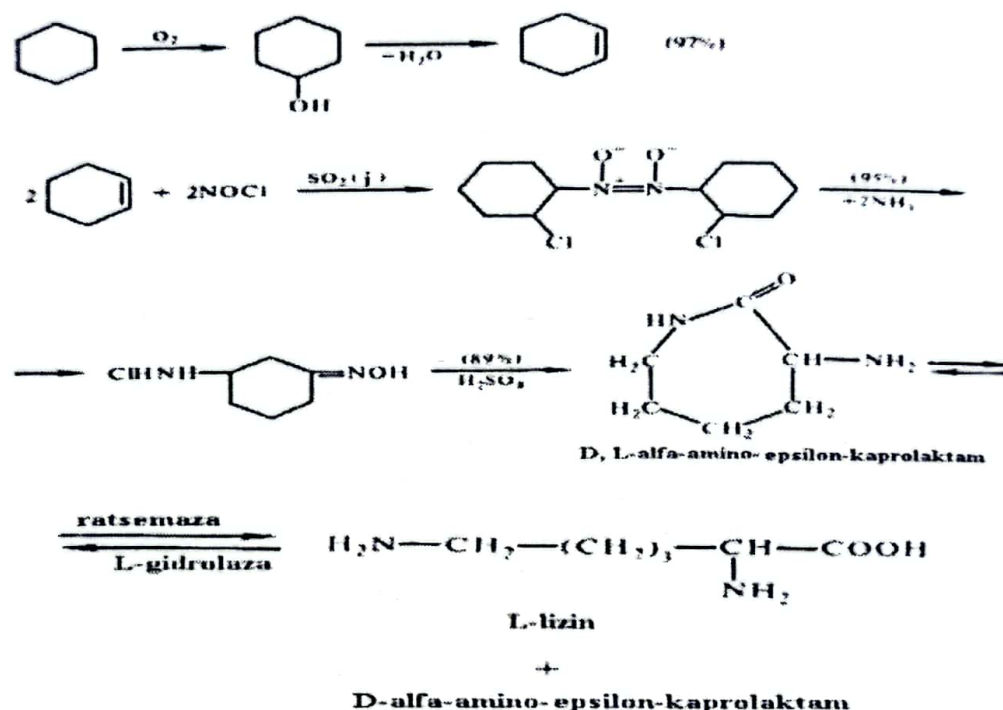
Bu uslub asosida olingan lizinning D va L- shakllarini bir - biridan ajratib olish uchun ularning tuzli aralashmalariga L- vino kislota qo'shib o'zaro ta'sirlantiriladi.

D-lizin va vino kislotaning tuzlari suvda kamroq eriydi. Shu xossadan foydalanib D va L-lizinlar bir biridan ajratiladi. Bundan keyin lizinning L-shaklini vino kislotadan ajratish uchun kolonkada ion-almashinuv xromatografiyasi o'tkaziladi. Ajralib qolgan D-lizin salitsil aldegid bilan o'zaro ta'sirlantirilib qaytadan rasematsiyalash uchun qaytadan qurilmaga yo'naltiriladi.

L-lizinni kombinatsiyalangan yoki fermentativ uslubda ajratib olish

L-lizinni bu uslubda ajratib olishni o'tgan asrning 70-yillarida Yaponiyaning «Toyoreyon» firmasi tomonidan taklif qilingan. L-lizinni bu uslubda ajratib olishda mahsulotni hosil bo'lish samarasi 95 % ni, kimyoviy tozalik darajasi 99 % ni tashkil qilar ekan. Bunda reaksiyon muhitdagi aminokislotaning miqdoriy ko'rsatkichi 200 g/l ga yetishi mumkin ekan. Jarayonning texnologiyasi o'z ichiga D, L-alfa-

aminoepsilon-kaprolaktamni siklogeksandan organik yo'l bilan sintezlanishini va uning fermentativ gidrolizlanishini oladi. Bu texnologiya asosida L-lizinni ajratib olish quyidagi kimyoviy sxema asosida amalga oshiriladi.



Muayyan sxemaga binoan ishlab chiqarish sanoatini tashkil qilish ikkita ferment L-gidrolaza va rasemazalardan foydalanishni hisobga oladi. Ularning birinchisi organik sintez natijasida hosil bo'ladigan D, L-alfa-amino-epsilon-kaprolaktamni gidrolizlaydi, ikkinchisi ratsematsiyani amalga oshirib, D -va L shakllardagi lizinning hosil bo'lishini ta'minlaydi. Jarayonning amalga oshirishini ta'minlovchi shart-sharoit shundan iborat-ki, ferment mikroba tomonidan ishlab chiqilgan bo'lishi kerak. Ma'lumki, L-alfa-amino-epsilon-kaprolaktamning gidrolazasini zamburug'larning *Cryptococcus*, *Candida*, *Trichosporon* avlodlarini vakillari ishlab chiqaradi, bu fermentning faollovchilari sifatida ikki valentli metallar marganes, magniy va ruxning ionlari xizmat qiladi. D-alfa-amino-epsilon-kaprolaktamning rasemazasini bakteriyalarning *Achromobacter*, *Flavobacterium* avlodlarini o'stirish yo'li bilan ajratib olish mumkin.

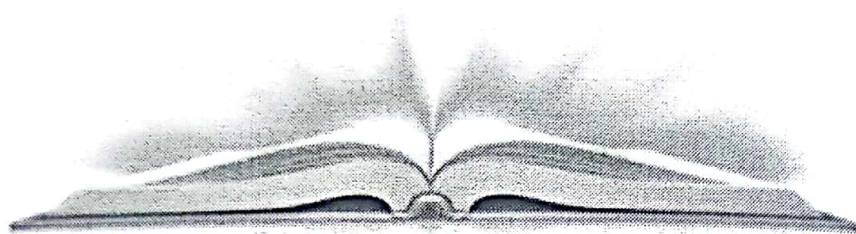
Har ikkala ferment immobilizatsiyalangan uzluksiz ishlaydigan apparatga joylashtirilib, D, L-alfa-amino-epsilon-kaprolaktam substrati bilan bu fermentlarning birgalikdagi ta'siriga asoslangan fermentativ reaksiya o'tkaziladi. Yuqorida keltirilgan kimyoviy reaksiyalarning

murakkabligidan ko'rinib turibdiki, organik sintezga asoslangan uslubni qo'llash qator texnologik operatsiyalarni amalga oshirishni talab qiladi. Bu reaksiyalarning har birini amalga oshirish tegishli qurilmani va uni amalga oshirilishini nazorat qiluvchi moslamalarni bo'lishini talab qiladi. Bu xildagi sanoat ishlab chiqarishini tashkil qilishda ko'pincha qator toksik moddalardan va ancha qimmat bo'lgan o'ta toza kimyoviy moddalardan foydalanishni, shuningdek rasematlarni ajratib olish bilan bog'liq qiyinchiliklarni yengishga to'g'ri keladi

Nazorat uchun savollar:

1. Aminokislotalarni kimyoviy sintez asosida ajratib olish.
2. Aminokislotalarni ishlab chiqarish sanoatini tashkil qilishda qanday fermentdan foydalaniladi?
3. L-lizinni ajratib olishni nechanchi yilda, qaysi olim tomonidan aniqlangan?

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YXATI



Asosiy adabiyotlar

1. Komilov X.M., Maxmudov A.A. Biologik faol moddalar texnologiyasi fanidan darslik.-Toshkent: 2010 y.

Qo'shimcha adabiyotlar

1. Mirziyoyev Sh.M. Erkin va farovon demokratik O'zbekiston davlatini birgalikda barpo etamiz. -Toshkent, O'zbekiston NMIU, 2017. - 29 b.
2. Mirziyoyev Sh.M. Qonun ustuvorligi va inson manfaatlarini ta'minlash yurt taraqqiyoti va xalq farovonligining garovi. O'zbekiston NMIU, 2017. - 47 b.
3. Mirziyoyev Sh.M. Buyuk kelajagimizni mard va olijanob xalqimiz bilan birga quramiz. O'zbekiston NMIU, 2017. - 485 b.
4. O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi O'zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo'yicha harakatlar strategiyasi to'g'risidagi PF-4947-sonli Farmoni. O'zbekiston Respublikasi qonun hujjatlari to'plami, 2017 y., 6-son, 70-modda.
5. Satoshi Omura Editor. The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms. © 2012 Springer-Verlag New York, Inc. Softcover reprint of the hardcover 1st edition 2012.
6. Komilov X.M., Maxmudov A.A., Tuxtayev F.X. Biologik faol moddalar texnologiyasi fanidan elektron darslik.- Toshkent 2007 y.
7. Komilov X.M., Isaeva B.T., Maxmudov A.A. Biologik faol moddalar texnologiyasi fanidan uslubiy qo'llanma.- Toshkent. 2013 y.
8. Gary Walsh «Pharmaseutical Biotechnology» Concepts and Applications. John Wiley& Sons, Ltd. 2007.

9. Hardy K.G., Bacterial Plasmids, Van Nostrand Reinhold, London. 2011.
10. British Pharmacopeia 2013. EXE IMAGE TXT.
11. Davronov Q. Mikroblar dunyosi. Toshkent. ToshDAU. 2001.
12. Davronov Q., Xo'jamshukurov N. Umumiy va texnik mikrobiologiya. -Toshkent. ToshDAU. 2004.
13. Abzalov A.A., Xoshimova M.A. va boshqalar Molekulyar biologiyadan amaliy mashg'ulotlar O'quv-qo'llanma Toshkent 2009 y.
14. Ismailova M.G., Sagdullayev B.T., Turayeva D.T., Abzalova N.A. Biologik faol moddalar texnologiyasi fanidan o'quv-uslubiy qo'llanma. (1-qism) .-Toshkent 2015y.
15. Ismailova M.G., Sagdullayev B.T., Turayeva D.T., Abzalova N.A. Biologik faol moddalar texnologiyasi fanidan o'quv-uslubiy qo'llanma.(2-qism).-Toshkent 2015 y.

INTERNET SAYTLARI

1. www.bio.ru
2. www.promega.com
3. www.molbio.ru
4. www.biotex.ru
5. www.ziyonet.uz

MUNDARIJA

Kirish.....	3
1. Xom ashyo tarkibidan biofaol moddani ekstraksiya qilish va erituvchilarni tanlash.....	4
2. Xromotografiya usullari va ularni qo'llash.....	7
3. Pektin moddalarini ajratib olish va miqdorini aniqlash.....	8
4. Dorivor o'simliklar tarkibidagi umumiy moy miqdorini aniqlash.....	11
5. Substansiya tarkibidagi oqsilni sifat va miqdoriy taxlili. Folin reaktivini tayyorlash.	14
6. O'simlik (sabzi) to'qimalaridagi lipidlarni ekstraksiyaalsh.....	15
7. Aminokislotalar ularni ajratib olish usullari.....	16
8. Aminokislotalarga xos sifat reaksiyalari.....	19
9. Qoramol shirdonidan pepsin ajratib olish.....	22
10. Pepsinni faolligini aniqlash.....	24
11. Qoramol oshqozon osti bezidan tripsin olish va uning faolligini aniqlash.....	28
12. Vitamin C ni sanoatda olinishi.....	30
13. Aminokislotalarni kimyoviy sintez asosida ajratib olish.....	31
Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati.....	36

Muharrir: Miryusupova Z.M.

Bosishga ruhsat etildi 01.04.2024 y. Bichimi 60*84 1/16.
Shartli bosma tabog'i 2,5. Nusxasi 50 dona. Buyurtma № 125.
TDTU bosmaxonasida chop etildi. Toshkent sh, Universitet ko'chasi 2.